



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**RECURSOS GENÉTICOS DE *Passiflora* spp.: DIVERSIDADE
GENÉTICA, CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA,
MOLECULAR, GERMINAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE
SEMENTES**

JAMILE DA SILVA OLIVEIRA

TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA

**BRASÍLIA/DF
MARÇO/2018**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**RECURSOS GENÉTICOS DE *Passiflora* spp.: DIVERSIDADE
GENÉTICA, CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA,
MOLECULAR, GERMINAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE
SEMENTES**

JAMILE DA SILVA OLIVEIRA
Matrícula: 14/0092790

ORIENTADOR: FÁBIO GELAPE FALEIRO
COORIENTADOR: NILTON TADEU VILELA JUNQUEIRA

TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA

PUBLICAÇÃO: 062D/2018

**BRASÍLIA/DF
MARÇO/2018**



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**RECURSOS GENÉTICOS DE *Passiflora* spp.: DIVERSIDADE
GENÉTICA, CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA,
MOLECULAR, GERMINAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE
SEMENTES**

JAMILE DA SILVA OLIVEIRA

**TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM AGRONOMIA.**

APROVADA POR:

**Fábio Gelape Faleiro, Dr. (Embrapa Cerrados).
(Orientador) e-mail: fabio.faleiro@embrapa.br**

**Francisco Ricardo Ferreira, Dr. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia)
(Examinador externo) e-mail: francisco.ferreira@embrapa.br**

**Vânia C. Rennó Azevedo, Dra. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia)
(Examinador externo) e-mail: vania.azevedo@embrapa.br**

**Juliano Gomes Pádua, Dr. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia)
(Examinador externo) e-mail: juliano.padua@embrapa.br**

**Marcelo Fagioli, Dr. (UnB)
(Examinador interno) e-mail: mfaoli@unb.br**

BRASÍLIA/DF, 07 de MARÇO de 2018.

FICHA CATALOGRÁFICA

Oliveira, Jamile da Silva

Recursos genéticos de *Passiflora* spp.: Diversidade genética, caracterização morfoagronômica, molecular, germinação e armazenamento de sementes. / Jamile da Silva Oliveira; orientação de Fábio Gelape Faleiro; Co-orientação de Nilton Tadeu Vilela Junqueira – Brasília, 2018.

205 p. : il.

Tese de Doutorado (D) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2018.

1. Passifloraceae. 2. Melhoramento Genético. 3. Recursos Genéticos. 4. Caracteres morfoagronômicos. 5. Análise Multivariada. 6. Parâmetros Genéticos.

I. Faleiro, F. G. II. Doutor.

CDD ou CDU
Agris / FAO

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

OLIVEIRA, J. S. **Recursos genéticos de *Passiflora* spp.: Diversidade genética, caracterização morfoagronômica, molecular, germinação e armazenamento de sementes.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2018, 205 p. Tese de Doutorado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: JAMILE DA SILVA OLIVEIRA

TÍTULO DA TESE: Recursos genéticos de *Passiflora* spp.: Diversidade genética, caracterização morfoagronômica, molecular, germinação e armazenamento de sementes.

GRAU: Doutor ANO: 2018

É concedida à Universidade de Brasília de Brasília permissão para reproduzir cópias desta tese de doutorado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta tese de doutorado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada à fonte.

Nome: Jamile da Silva Oliveira

CPF: 035.475.735-05

Endereço. Quadra 12, conjunto C, 6, Sobradinho, DF.

Tel. (61) 98232-8509 E-mail: jamile.oliveira54@gmail.com

Dedico a minha família, especialmente aos meus pais,

que tudo fazem pela minha formação.

Dedico ao meu orientador, Fábio Gelape Faleiro,

pela sua valiosa orientação e ensinamentos.

Dedico ao meu coorientador, Nilton Junqueira,

pela coorientação e ensinamentos.

Agradecimentos

Agradeço a Deus pela vida, por me manter na fé e me proporcionar força para tudo, nessa fé sigo com o coração cheio de paz e gratidão por nunca me desamparar.

Agradeço a minha família e a todas as famílias que me acolheram durante toda a minha vida (que são muitas), por todo apoio, sem eles, não teria condições para caminhar em nenhuma área da minha vida. Obrigada a todos vocês pela admiração direcionada a mim, essa admiração é recíproca. Vivo pela misericórdia de Deus e sustentada no amor de todos vocês.

Agradeço de todo o meu coração ao meu orientador, Fábio Gelape Faleiro. Professor, obrigada por todos os momentos de ensinamento e acima de tudo, de compreensão. O senhor é um exemplo de profissional e acima de tudo de ser humano. Sem a sua profunda participação não seria possível a realização do nosso trabalho. Acima de tudo, obrigada por toda confiança dedicada a mim. Obrigada por sua valiosa amizade.

Agradeço ao meu coorientador, Nilton Tadeu Vilela Junqueira, obrigada pelos ensinamentos, pelos momentos de descontração e acima de tudo pela nossa amizade.

Agradeço ao meu grande e singular amigo, Lauro Saraiva Lessa, pois, graças a Deus e a você, fiz seleção para UnB. Obrigada meu sempre amigo e comparsa. Obrigada por sua amizade tão verdadeira e, que se Deus quiser será para todo o sempre. Agradeço por acreditar tanto em mim. E principalmente, me encorajar muito, dizendo que, eu poderia ser orientada do Faleiro.

Agradeço ao funcionário do setor de fruticultura, Geovane Andrade, pela ajuda durante todo período de desenvolvimento do nosso trabalho, por todos os ensinamentos, por toda sua dedicação em tudo o que faz e acima de tudo pela nossa grande amizade.

Agradeço a toda equipe do Portal de informações de recursos genéticos (ALELO), especialmente, o Renato Salles, por toda ajuda com a plataforma Alelo, por me atender sempre, e principalmente, por sua amizade.

Agradeço ao pesquisador Eduardo Alano, que nos ajudou com os cálculos de entropia desse trabalho, obrigada especialmente por toda sua disposição em ajudar e por sua amizade.

Agradeço ao Professor, Carlos Alberto da Silva Ledo, meu coorientador e professor de mestrado. Que em uma visita ao Cpac, dias antes de minha defesa, me ajudou muito, principalmente em relação as análises multivariadas.

Agradeço a todos os professores da UnB, especialmente, Osvaldo Yamanishi e José Ricardo Peixoto, obrigada pelos ensinamentos, momentos de descontração e amizade.

Agradeço ao meu amigo especial, Henrique Petry, primeiramente por sua amizade e toda ajuda e incentivo na minha vida profissional, me ajudando sempre a evoluir na minha trajetória acadêmica. Te agradeço muito por acreditar tanto em mim e, me incentivar sempre para o melhor.

Agradeço aos meus amigos, que mesmo distantes estão sempre comigo, Denison, Wellington, Kelly Anselmo, Ademir Trindade, Juliana Marques, Áurea Xavier, Aldérica e Rafael Marques. Obrigada por todo incentivo e por nunca se distanciarem, mesmo na imensa distância física que há entre nós.

Agradeço ao meu grande amigo, Marcelo Libindo Viana, por toda ajuda no nosso trabalho, sua ajuda foi fundamental. Obrigada principalmente por sua amizade, e por me colocar em contato com toda a sua família.

Agradeço a minha colega de curso e amiga, Kenia Gracielle da Fonseca (Cumadi Vera). Na verdade, fomos separadas na maternidade, e nos reencontramos na Embrapa Cerrados. Obrigada por toda ajuda neste trabalho e principalmente pelos momentos de descontração, que foram muitos. Obrigada por sua amizade verdadeira, e que, com a benção de Deus será para todo sempre.

Agradeço a minha colega de curso e amiga, Susan Araya, por toda a sua ajuda no desenvolvimento deste trabalho. Obrigada sempre pelos seus bons conselhos e valiosos ensinamentos.

Agradeço ao meu grande amigo, Roberto de Carvalho (Bob), por todos os seus conselhos, incentivos profissionais, e acima de tudo, por todos os nossos incontáveis momentos de descontração. Obrigada especialmente, por nossa amizade.

Agradeço aos meus colegas de curso e amigos, Cloh Neves, Tamara Ferreira e Ricardo Sayd. Vocês são pessoas singulares, que me ensinaram muito. Obrigada pela nossa amizade, e principalmente por todos os nossos momentos de descontração. Vocês moram no meu coração.

Agradeço aos estagiários e amigos, Carolina Gomes Viana, João Pedro Basso, Vera Lúcia, Nelson, Antonio, Wallisson e Lucas. Obrigada pela dedicação de vocês para com os nossos trabalhos, e principalmente por nossa amizade.

Agradeço a todos os meus colegas de curso e amigos, em especial, a Anne Pinheiro, Paulo Roberto e André Leão.

Agradeço a todos os funcionários da Embrapa Cerrados pela ajuda e amizade, especialmente, Alessandra Faleiro, Tiana, Wellington Cavalcanti, Fabiano Bastos, Alexandre, seu Jair, Zé de Abel, Silvano, Idelbrando, Osmir, Zé Marcos, Raimundinho da soja, Batatinha, Daniela, João Bola, Maria da Pena, Conceição e Manuela.

Agradeço a Universidade de Brasília pela oportunidade de qualificação.

Agradeço a Embrapa Cerrados pela oportunidade de qualificação, além da disponibilização da orientação e da estrutura necessária para desenvolvimento deste estudo.

Agradeço a Capes pela concessão da bolsa para que essa qualificação fosse possível.

Aos ilustres participantes da banca de qualificação desse trabalho, ao Francisco Ricardo Ferreira, Renato Fernando Amabile, Juliano Gomes Pádua, Vânia Azevedo e o professor Marcelo Fagioli. Obrigada pelas imensas contribuições e por dedicarem um pouco do vosso valioso tempo na leitura deste trabalho.

Agradeço a todos que direta ou indiretamente colaborou para execução deste estudo.

Toda estrada é uma subida escorregadia
Mas sempre há uma mão na qual você pode se segurar

Jason Mraz

Gênero *Passiflora*

I

O gênero *Passiflora* é constituído
Por planta trepadeira, herbácea, arbustiva.

Caule esverdeado e aderido
Entrenós com folha ou botão produtivo.

II

As flores geralmente são hermafroditas
Radial simetria e somam cinco sépalas.
Porém é a corola o que as faz bonitas
Pela incomparável cor das suas pétalas.

III

Os frutos quase sempre são bagas ovais
De múltiplas cores tendendo ao amarelo.
Protegendo as sementes, o arilo por demais,
Enche o interior de três ou quatro carpelos.

IV

Assim o maracujá propaga ou multiplica
Seja por estaquia ou também por semente.
Ampla condição intra e interespecífica
Potencializa o uso, embeleza o ambiente.

V

Notáveis descobertas nos brinda a pesquisa
Prova científica e sem valor errôneo,
De um recurso genético que o Brasil precisa
Para perpetuar o rico patrimônio.

**RECURSOS GENÉTICOS DE *Passiflora* spp.: DIVERSIDADE GENÉTICA,
CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA, MOLECULAR,
GERMINAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES**

RESUMO GERAL

O gênero *Passiflora* é considerado o mais representativo da família Passifloraceae, com cerca de 500 espécies, a maioria das quais tem como centro de origem a América Tropical, das quais 139 estão dispersas no território brasileiro, colocando o Brasil, entre os principais centros de diversidade genética do gênero. Objetivou-se, neste trabalho, avaliar a diversidade genética e caracterizar germoplasma do gênero *Passiflora* com base em características qualitativas, quantitativas, marcadores moleculares, na germinação de sementes e na emergência de plântulas. O estudo foi realizado na Unidade de Apoio da Fruticultura, no Laboratório de Análises de Alimentos e no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Cerrados. Nos cinco primeiros capítulos foram caracterizados 15 acessos de *Passiflora* spp. utilizando 58 descritores morfoagronômicos qualitativos multicategóricos (23 de folha, 25 de flor e 10 de fruto) e 14 descritores quantitativos (8 de flor e 6 de fruto). Na sexta etapa foram caracterizados 125 acessos de *Passiflora* spp. utilizando 48 descritores qualitativos multicategóricos (23 de folha e 25 de flor). Na etapa de germinação e emergência de plântulas foram avaliados 10 acessos de *Passiflora* spp. Matrizes de distâncias genéticas, com base nos descritores qualitativos multicategóricos, quantitativos, marcadores moleculares ISSR e RAPD foram calculadas e análises de agrupamento foram realizadas, utilizando o método do UPGMA como critério de agrupamento, a dispersão gráfica foi baseada em escalas multidimensionais usando o método das coordenadas principais. Foi realizada a análise descritiva (mínimo, média, máximo, variância e desvio padrão) das estimativas de distâncias genéticas obtidas com base nos diferentes grupos de características, bem como estimadas as correlações entre tais estimativas. No sétimo capítulo, características quantitativas foram analisadas com base na análise de variância, foram estimados parâmetros genéticos e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade de erro. Houve uma clara diferenciação dos acessos a nível inter e intraespecífico com base na análise multivariada dos descritores de folhas, flores e frutos. E uma tendência de agrupamento dos acessos de *P. alata*. A caracterização morfoagronômica contribuiu para a diferenciação dos 15 acessos *Passiflora* spp. e para a quantificação da variabilidade existente dentro do gênero *Passiflora*. A caracterização baseada em descritores multicategóricos contribuiu para a diferenciação dos 125 acessos *Passiflora* spp., para quantificar a diversidade existente e diferenciar os acessos das espécies, sendo importante para estudos mais completos de caracterização e diversidade de recursos genéticos do gênero *Passiflora*. As sementes de *P. alata* e *P. maliformis* devem ser colocadas para germinar logo após a colheita sem necessidade do regulador vegetal. Sementes de *P. suberosa* podem ser armazenadas por até seis meses e deve-se utilizar regulador vegetal. Sementes de *P. caerulea* e *P. hatschbachii* podem ser armazenadas por até três meses e regulador vegetal deve ser usado. As sementes de *P. sidifolia* devem ser colocadas a germinar logo após a colheita, com uso do regulador. As sementes de *P. cincinnata* mostraram uma baixa porcentagem de germinação e uma baixa uniformidade no processo germinativo, típico de muitas passifloras.

Palavras-chave: Passifloraceae, Melhoramento Genético, Recursos Genéticos, Caracteres morfoagronômicos, Análise Multivariada, Parâmetros Genéticos.

**GENETIC RESOURCES OF *Passiflora* spp.: GENETIC DIVERSITY,
MORFOAGRONOMIC AND MOLECULAR CHARACTERIZATION,
GERMINATION AND STORAGE OF SEEDS**

ABSTRACT

The *Passiflora* genus is considered the most representative of the Passifloraceae family, with about 500 species. The majority of *Passiflora* species are originate from Tropical America and 139 are dispersed in Brazilian territory. Brazil is a main center of genetic diversity of the *Passiflora* genus. The objective of this work was to evaluate the genetic diversity and *Passiflora* germplasm characterization based on qualitative, quantitative, molecular traits. The viability and physiological quality of stored and freshly harvested seeds was also evaluated. The study was carried out in the Fruit Support Unit, Food Analysis Laboratory, Genetics and Molecular Biology Laboratory at the Embrapa Cerrados. In the five initial chapters, it were characterized 15 accessions of *Passiflora* spp. using 58 descriptive morphagronic descriptors (23 from leaves, 25 from flowers and 10 from fruits) and 14 quantitative descriptors (8 from flowers and 6 from fruits). In the sixth chapter, 125 accessions of *Passiflora* spp. were characterized using 48 multicategorical descriptors (23 from leaves and 25 from flowers). Seeds germination and seedlings emergence of 10 accessions of *Passiflora* spp. were evaluated. Genetic distance matrices, based on the quantitative and quantitative traits, ISSR and RAPD molecular markers were calculated and clustering analyzes were performed using the UPGMA method as a clustering criterion. Graphic dispersion of the accessions was performed based on multidimensional scales using the method of principal coordinates. Descriptive statistical analysis (minimum, mean, maximum, variance and standard deviation) of the genetic distances estimates obtained from different characteristics groups were carried out, as well as the correlation between these estimates. In the seventh chapter, quantitative traits were analyzed by variance analysis, genetics paramters were estimated and the means compared by the Tukey test at 1% of probability. There was a clear differentiation among inter and intraspecific accessions based on multivariate analysis using leaves, flowers and fruits descriptors. A tendency of grouping of the *P. alata* accessions were verified. The morphoagronomic characterization contributes to the differentiation of the 15 *Passiflora* spp. accessions and to quantify the variability within the *Passiflora* genus. The characterization based on multicategoric descriptors contributed to the differentiation of the 125 *Passiflora* spp. accessions. This characterization was important to quantify the existing diversity and to differentiate the accessions of the species. Seeds of *P. alata* and *P. maliformis* should be placed to germinate after harvested without plant regulator treatment. *P. suberosa* seeds can be stored for up to six months and plant regulator should be used. *P. caerulea* and *P. hatschbachii* seeds should be stored for up to three months and a regulator must be used. The seeds of *P. sidifolia* should be germinated after harvested, using the regulator treatment. *P. cincinnata* seeds showed a low percentage of germination and a low uniformity in the germination process without regulator treatment. The seed germination and storage are a challenge for many wild species of *Passiflora*.

Key words: *Passifloraceae*, genetic breeding, genetic resource, morphoagronomic characteristic, multivariate analysis, genetic parameter.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1.** Análise de agrupamento de 125 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 48 descritores morfoagronômicos. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016 70

CAPÍTULO II

- Figura 1.** Análise de agrupamento e dispersão gráfica de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 58 descritores morfoagronômicos. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,85. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 90

- Figura 2.** Análise de agrupamento e dispersão gráfica de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 23 descritores morfoagronômicos de folha. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,88. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 91

- Figura 3.** Análise de agrupamento e dispersão entre 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 25 descritores morfoagronômicos de flor. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,88. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 91

- Figura 4.** Análise de agrupamento e dispersão de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 10 descritores morfoagronômicos de fruto. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,87. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 93

CAPÍTULO III

- Figura 1.** Análise de agrupamento e dispersão de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 14 descritores morfoagronômicos quantitativos. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,89. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 103

- Figura 2.** Análise de agrupamento e dispersão de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 8 descritores morfoagronômicos quantitativos de flor. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,83. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 104

Figura 3. Análise de agrupamento e dispersão de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 6 descritores morfoagronômicos quantitativos de fruto. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,92. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 105

CAPÍTULO V

Figura 1. Gel ilustrando o perfil de distribuição dos marcadores ISSR (A) e RAPD (B) para os 15 acessos de *Passiflora* spp. usando o *primer* TriCAG3'RC e OPE-16, respectivamente. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 136

Figura 2. Análise de agrupamento e dispersão gráfica de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando-se 146 marcadores ISSR. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento. O método das coordenadas principais foi utilizado na análise de dispersão gráfica. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) foi de 0,83. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 137

Figura 3. Análise de agrupamento e dispersão gráfica de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando-se 271 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,79. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 140

CAPÍTULO VI

Figura 1. Análise de agrupamento de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 58 descritores morfoagronômicos. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,85. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 153

Figura 2. Análise de agrupamento de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 14 descritores morfoagronômicos quantitativos. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,89. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 154

Figura 3. Análise de agrupamento de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando-se 146 marcadores ISSR. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento. O método das coordenadas principais foi utilizado na análise de dispersão gráfica. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) foi de 0,83. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 155

Figura 4. Análise de agrupamento de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando-se 271 marcadores RAPD. O

método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,79. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 155

Figura 5. Distribuição de frequências de distâncias genéticas entre 15 acessos do gênero *Passiflora* obtidas com base em: descritores multicategóricos (A), descritores quantitativos (B), marcadores ISSR (C) e RAPD (D). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 156

CAPÍTULO VII

Figura 1. Porcentagem de emergência de plântulas a partir de sementes de *Passiflora suberosa* (CPAC MJ-35-02), *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01) e *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02) em cinco tempos de armazenamento das sementes. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016 171

Figura 2. Desdobramento da interação entre as fontes de variação, tempo de armazenamento das sementes e utilização do regulador vegetal Promalin® para a variável porcentagem de emergência de plântulas a partir de sementes de *Passiflora caerulea* (CPAC MJ-14-01) e *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016 172

CAPÍTULO VIII

Figura 1. Análise de agrupamento e dispersão gráfica de nove acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 35 descritores morfoagronômicos. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,88. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2017 194

Figura 2. Análise de agrupamento de três seleções de *Passiflora edulis* Sims, com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 28 descritores morfoagronômicos. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,88. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2017 196

Figura 3. Flores das cultivares exemplo e das seleções de *Passiflora* spp. A – BRS Pérola do Cerrado, B – *Passiflora auriculata*, C – *P. maliformis*, D – *P. quadrangularis*, E – *P. nitida* (Cerrado), F – *P. sidifolia*, G – *P. biflora*, H – *P. phoenicea*, I – *P. nitida* (Amazônia), J – BRS Gigante Amarelo (BRS GA1), L – *P. edulis* (roxo nativo) e M – *P. edulis* (amarelo nativo) 197

Figura 4. Frutos das cultivares exemplo e das seleções de *Passiflora* spp. A – BRS Pérola do Cerrado, B – *Passiflora auriculata*, C – *P. maliformis*, D – *P. quadrangularis*, E – *P. nitida* (Cerrado), F – *P. sidifolia*, G – *P. biflora*, H – *P. phoenicea*, I – *P. nitida* (Amazônia), J – BRS Gigante Amarelo (BRS GA1), L – *P. edulis* (roxo nativo) e M – *P. edulis* (amarelo nativo) 198

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1.** Descrição dos 125 acessos de *Passiflora* spp. caracterizados no estudo, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016 60
- Tabela 2.** Descritores das folhas e respectivas classes fenotípicas ou categorias, níveis de entropia de Shannon e frequência de distribuição (%) dos 125 acessos de *Passiflora* spp. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016 65
- Tabela 3.** Descritores das flores e respectivas classes fenotípicas ou categorias, níveis de entropia de Shannon e frequência de distribuição (%) dos 125 acessos de *Passiflora* spp. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016 67

CAPÍTULO II

- Tabela 1.** Descrição dos 15 acessos de *Passiflora* spp. caracterizados no estudo, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 82
- Tabela 2.** Descritores morfoagronômicos da folha e respectivas classes fenotípicas ou categorias, frequência de distribuição (%) e níveis de entropia de Shannon (NE) dos 15 acessos de *Passiflora* spp. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 83
- Tabela 3.** Descritores morfoagronômicos das flores e respectivas classes fenotípicas ou categorias, frequência de distribuição (%) e níveis de entropia de Shannon (NE) dos 15 acessos de *Passiflora* spp. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 86
- Tabela 4.** Descritores morfoagronômicos dos frutos e respectivas classes fenotípicas ou categorias, frequência de distribuição (%) e níveis de entropia de Shannon (NE) dos 15 acessos de *Passiflora* spp. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 88
- Tabela 5.** Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre as distâncias genéticas calculadas com base nos diferentes grupos de descritores morfoagronômicos categóricos, em *Passiflora* spp. Todas as variáveis (58), Folha (23), Flor (25) e Fruto (10). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 94

CAPÍTULO III

- Tabela 1.** Descrição dos 15 acessos de *Passiflora* spp. caracterizados no estudo, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 101

- Tabela 2.** Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre as distâncias genéticas calculadas com base nos diferentes grupos de descritores morfoagronômicos quantitativos, em *Passiflora* spp. Todos (14), Flor (8) e Fruto (6). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 106
- Tabela 3.** Contribuição relativa dos caracteres para divergência – SINGH (1981), comprimento do androginóforo (CAN), diâmetro externo da cavidade da corona (DEEC), diâmetro interno da cavidade da corona (DIC), comprimento do pedicelo (CPD), comprimento da antera (CA), largura da antera (LAN), comprimento do ovário (COV), diâmetro do ovário (DOV), massa da casca (MCA), massa das sementes (MSE), massa da polpa (MPO), rendimento de suco (RES), acidez total titulável (AT) e razão entre sólidos solúveis e acidez total titulável (RATIO) de 15 acessos de *Passiflora* spp. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 107

CAPÍTULO IV

- Tabela 1.** Descrição dos tratamentos (15 acessos de *Passiflora* spp.), caracterizados no estudo, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 115
- Tabela 2.** Análises de variância, estatística descritiva (valor mínimo, médio e máximo), parâmetros genéticos e comparação das médias das características das flores comprimento do androginóforo (CAN), diâmetro externo da cavidade da corona (DEEC), diâmetro interno da cavidade da corona (DIC), comprimento do pedicelo (CPD), comprimento da antera (CA), largura da antera (LAN), comprimento do ovário (COV) e diâmetro do ovário (DOV), de 15 acessos de *Passiflora* spp. 118
- Tabela 3.** Análises de variância, estatística descritiva (valor mínimo, médio e máximo), parâmetros genéticos e comparação das médias das características dos frutos massa da casca (MCA), massa das sementes (MSE), massa da polpa (MPO), rendimento de suco (RES), acidez total titulável (AT) e razão entre sólidos solúveis e acidez total titulável (RATIO) de 15 acessos de *Passiflora* spp. 120
- Tabela 4.** Estimativas dos coeficientes de correlação fenotípica, genotípica e ambiental entre as variáveis comprimento do androginóforo (CAN), diâmetro externo da cavidade da corona (DEEC), diâmetro interno da cavidade da corona (DIC), comprimento do pedicelo (CPD), comprimento da antera (CA), largura da antera (LAN), comprimento do ovário (COV), diâmetro do ovário (DOV), massa da casca (MCA), massa das sementes (MSE), massa da polpa (MPO), rendimento de suco (RES), acidez total titulável (AT) e razão entre sólidos solúveis e acidez total titulável (RATIO) de 15 acessos de *Passiflora* spp. 123

CAPÍTULO V

- Tabela 1.** Descrição dos 15 acessos de *Passiflora* spp. caracterizados no estudo, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015 132

Tabela 2. <i>Primers</i> testados e utilizados para obtenção dos marcadores ISSR e RAPD, para 15 acessos de <i>Passiflora</i> spp., sequência 5'→3' e o número de bandas polimórficas (BP). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015	134
Tabela 3. Matriz de dissimilaridade genética entre 15 acessos de <i>Passiflora</i> spp., calculadas com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei & Li, utilizando 146 marcadores ISSR. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015	136
Tabela 4. Matriz de dissimilaridade genética entre 15 acessos de <i>Passiflora</i> spp., calculadas com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei & Li, utilizando 271 marcadores RAPD. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015	138

CAPÍTULO VI

Tabela 1. Descrição dos 15 acessos de <i>Passiflora</i> spp. caracterizados no estudo, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015	148
Tabela 2. <i>Primers</i> utilizados para obtenção dos marcadores ISSR e RAPD, para 15 acessos de <i>Passiflora</i> spp., sequência 5'→3' e o número de bandas polimórficas (BP). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015	151
Tabela 3. Estatística descritiva para os descritores multicategóricos e quantitativos, marcadores ISSR e RAPD em <i>Passiflora</i> spp. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015	152
Tabela 4. Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre as distâncias genéticas calculadas com base nos diferentes grupos de descritores morfoagronômicos multicategóricos e quantitativos, marcadores ISSR e RAPD em <i>Passiflora</i> spp. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015	158

CAPÍTULO VII

Tabela 1. Descrição dos 10 acessos de <i>Passiflora</i> spp. caracterizados no estudo, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016	165
Tabela 2. Resumo da análise de variância da porcentagem de emergência de plântulas a partir de sementes de quatro genótipos de <i>Passiflora alata</i> , com e sem uso do regulador vegetal Promalin [®] e em três tempos de armazenamento das sementes. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016	168
Tabela 3. Interação entre as médias da porcentagem de emergência de plântulas a partir de sementes de quatro genótipos de <i>Passiflora alata</i> recém-coletadas e armazenadas por seis meses. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016	169
Tabela 4. Resumo da análise de variância da porcentagem de emergência de plântulas a partir de sementes de <i>Passiflora suberosa</i> (CPAC MJ-35-02), <i>P. caerulea</i> (CPAC MJ-14-01), <i>P. hatschbachii</i> (CPAC MJ-50-01), <i>P. maliformis</i> (CPAC	

MJ-58-01), *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02) e *P. cincinnata* (PC) recém-coletadas e armazenadas durante cinco períodos de armazenamento com uso e sem uso do regulador vegetal Promalin®. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016 169

Tabela 5. Médias da porcentagem de emergência de plântulas (%) a partir de sementes de *Passiflora suberosa* (CPAC MJ-35-02), *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02) e *P. cincinnata*, sem uso (SP®) e com uso do regulador vegetal Promalin® (CP®). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016 170

CAPÍTULO VIII

Tabela 1. Descrição das 12 seleções de *Passiflora* spp. caracterizados no estudo, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2017 183

Tabela 2. Descritores morfoagronômicos (35) preconizados pelo SNPC, para realização de ensaios de DHE de espécies silvestres de *Passiflora* spp., com suas respectivas classes fenotípicas ou categorias, e caracterização da cultivar exemplo (BRS Pérola do Cerrado – BRS PC), SPA – Seleção *P. auriculata*, SPM – Seleção *P. maliformis*, SPQ – Seleção *P. quadrangularis*, SPNC – Seleção *P. nitida* (Cerrado), SPS – Seleção *P. sidifolia*, SPB – Seleção *P. biflora*, SMA – Seleção Mini alata e SPNA – Seleção *P. nitida* (Amazônia). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2017 185

Tabela 3. Descritores morfoagronômicos (28) preconizados pelo SNPC, para realização de ensaios de DHE de *Passiflora edulis* Sims, com suas respectivas classes fenotípicas ou categorias, e caracterização da cultivar exemplo (BRS GA1) e dos acessos SPERN – Seleção *P. edulis* ‘roxo nativo’ e SPEAN – *P. edulis* ‘amarelo nativo’. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2017 190

Tabela 4. Matriz de dissimilaridade genética entre nove acessos de *Passiflora* spp., calculadas com base no complemento do coeficiente de coincidência simples, utilizando 35 descritores morfoagronômicos preconizados pelo SNPC. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2017 192

Tabela 5. Matriz de dissimilaridade genética entre três acessos de *Passiflora edulis* Sims, calculadas com base no complemento do coeficiente de coincidência simples, utilizando 28 descritores morfoagronômicos preconizados pelo SNPC para *P. edulis* Sims. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2017 194

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1 INTRODUÇÃO GERAL	21
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1 Passifloras	23
2.2 Recursos genéticos	24
2.3 Caracterização morfológica	26
2.4 Caracterização agronômica	27
2.5 Caracterização molecular	29
2.5.1 Marcador RAPD	31
2.5.2 Marcador ISSR	32
2.6 Parâmetros genéticos	33
2.7 Pré-melhoramento	34
2.8 Armazenamento de sementes de <i>Passiflora</i> spp.	36
2.9 Germinação e qualidade de sementes de <i>Passiflora</i> spp.	37
2.10 Emergência de plântulas de <i>Passiflora</i> spp.	41
2.11 Utilização dos descritores morfoagronômicos do SNPC (Mapa) na caracterização de <i>Passiflora</i> spp.	42
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
CAPÍTULO I – CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E DIVERSIDADE GENÉTICA DE <i>Passiflora</i> spp. BASEADA EM DESCRITORES MULTICATEGÓRICOS	56
RESUMO	57
ABSTRACT	58
1.1 INTRODUÇÃO.....	59
1.2 MATERIAL E MÉTODOS	60
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
1.4 CONCLUSÃO	73
1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
CAPÍTULO II – DIVERSIDADE GENÉTICA DE <i>Passiflora</i> spp. POR MEIO DA CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA BASEADA EM DESCRITORES MULTICATEGÓRICOS DE FOLHAS, FLORES E FRUTOS.....	77
RESUMO	78
ABSTRACT	79
2.1 INTRODUÇÃO	80
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	81
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
2.4 CONCLUSÃO	94
2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94

CAPÍTULO III – DIVERSIDADE GENÉTICA E MORFOAGRONÔMICA DE <i>Passiflora</i> spp. BASEADA EM VARIÁVEIS QUANTITATIVAS DAS FLORES E FRUTOS.....	97
RESUMO	98
ABSTRACT	99
3.1 INTRODUÇÃO	100
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	101
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	103
3.4 CONCLUSÃO	108
3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	108
 CAPÍTULO IV – VARIABILIDADE GENÉTICA DE <i>Passiflora</i> spp. BASEADA EM MARCADORES ISSR E RAPD	111
RESUMO	112
ABSTRACT	113
4.1 INTRODUÇÃO	114
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	115
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	117
4.4 CONCLUSÃO	124
4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	125
 CAPÍTULO V – ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS E CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA DE ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Passiflora</i>	128
RESUMO	129
ABSTRACT	130
5.1 INTRODUÇÃO	131
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	132
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	135
5.4 CONCLUSÃO	141
5.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	141
 CAPÍTULO VI – DIVERSIDADE GENÉTICA DE <i>Passiflora</i> spp. BASEADA EM DESCRITORES MULTICATEGÓRICOS, QUANTITATIVOS E EM MARCADORES ISSR E RAPD	144
RESUMO	145
ABSTRACT	146
6.1 INTRODUÇÃO	147
6.2 MATERIAL E MÉTODOS	148
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	152
6.4 CONCLUSÃO	158
6.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	159
 CAPÍTULO VII – GERMINAÇÃO DE SEMENTES RECÉM-COLETADAS E ARMAZENADAS DE ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Passiflora</i>	161
RESUMO	162
ABSTRACT	163
7.1 INTRODUÇÃO	164
7.2 MATERIAL E MÉTODOS	165
7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	168

7.4 CONCLUSÃO	175	
7.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	175	
CAPÍTULO VIII – AVALIAÇÃO DOS DESCRITORES DO SNPC (MAPA) NA CARACTERIZAÇÃO DE ACESSOS SILVESTRES DE <i>Passiflora</i> spp. COM POTENCIAL COMERCIAL		179
RESUMO	180	
ABSTRACT	181	
8.1 INTRODUÇÃO	182	
8.2 MATERIAL E MÉTODOS	183	
8.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	184	
8.4 CONCLUSÃO	199	
8.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	199	
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	203	
APÊNDICE	205	

1 INTRODUÇÃO GERAL

O gênero *Passiflora* possui ampla variabilidade genética intra e interespecífica de grande importância. Espécies de passiflora silvestres possuem características interessantes, em relação a *Passiflora edulis*, como longevidade, período de florescimento ampliado e androginóforo mais curto que facilita a polinização por insetos menores, e maior concentração de componentes químicos (MELETTI et al., 2003; JUNQUEIRA et al., 2006a).

A investigação da diversidade genética é uma atividade de grande relevância para o melhoramento de plantas e para a conservação de espécies vegetais, pois por meio desse conhecimento, é possível identificar materiais contrastantes, com características de interesse, como fontes de resistência a doenças e alta produtividade, a fim de realizar cruzamentos promissores, para serem utilizados em programas de melhoramento (CRUZ e CARNEIRO, 2006).

Há uma preocupação em conservar os recursos genéticos, porém, para conhecimento e utilização dos materiais conservados é imprescindível que estes sejam caracterizados e avaliados. Para que os acessos conservados possam ser utilizados efetivamente, faz-se necessário à caracterização destes. A atividade de caracterização é primordial na geração de conhecimentos sobre o germoplasma conservado em bancos de germoplasma e/ou coleções, por permitir um melhor manejo e fornecer subsídios aos programas de pré-melhoramento e melhoramento.

A utilização de recursos genéticos tem viabilidade fundamentada na coleta, introdução, conservação e intercâmbio de acessos de germoplasma, bem como em sua caracterização e avaliação, o que permite conhecer as qualidades e potencialidades do material (FALEIRO et al., 2012). Em um levantamento das demandas de pesquisa na cultura do maracujazeiro, Faleiro et al. (2006) indicaram a caracterização como um dos pontos prioritários. Uma importante etapa deste processo é a avaliação e elaboração dos descritores que deverá levar em consideração características morfológicas, agrônômicas, citológicas, bioquímicas, fisiológicas e moleculares. Independente do método utilizado, o importante é que possibilite distinção dos acessos, identificação de duplicatas e acessos com características de interesse que possam ser usadas nos programas de melhoramento. Por outro lado, mesmo caracterizada, a variabilidade genética pode estar ameaçada, uma vez que podem ocorrer alterações nas frequências alélicas, bem como a perda ou fixação destes, comprometendo a variabilidade futura dos acessos conservados.

Segundo Vieira et al. (2007), os melhoristas têm utilizado descritores morfoagronômicos para caracterizar os acessos selecionados ao longo do programa de melhoramento. Esses descritores têm um papel fundamental na caracterização e seleção de plantas, sendo decisivos na escolha dos genótipos ao longo dos ciclos de recombinação e também na escolha de genótipos para uso como novos genitores. A caracterização morfoagronômica para estudos de variabilidade genética tem sido feita com base em caracteres que sejam de fácil detecção e mensuração, e sofram pouca influência ambiental.

Desta forma, ao longo do processo de conservação do germoplasma, descritores morfoagronômicos e os marcadores moleculares podem ser utilizados para monitorar a variabilidade genética dos acessos. A aquisição de informações científicas por meio da caracterização de acessos de *Passiflora* spp., permite a valoração, a conservação e o uso de uma biodiversidade, com o intuito de acessar novas fontes potenciais de variabilidade genética, orientar e aumentar a eficiência do programa de melhoramento e contribuir para o desenvolvimento de novos materiais, e especialmente, para contribuir com os processos de registro e proteção desses novos materiais selecionados ou desenvolvidos em tais programas.

As investigações realizadas sobre a germinação e qualidade de sementes de passifloras ainda são incipientes e são muitas as barreiras que envolvem o processo de germinação, como a dormência que pode estar ligada a fatores físicos (impermeabilidade do tegumento à água e gases), químicos (presença de fatores inibidores), mecânicos (resistência do tegumento ao crescimento do embrião) ou fisiológicos (dormência, maturidade, vigor) (DELANOY et al., 2006).

A germinação das sementes ocorre quando, sob condições apropriadas, o eixo embrionário reinicia seu desenvolvimento que tinha sido interrompido por ocasião da maturidade fisiológica (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). O potencial fisiológico dos lotes de sementes é rotineiramente avaliado pelo teste de germinação, conduzido sob condições favoráveis de umidade, temperatura, luz e substrato, permitindo a expressão máxima do potencial de germinação.

Em vista do exposto acima, objetivou-se avaliar a diversidade genética e caracterizar germoplasma do gênero *Passiflora* com base em características qualitativas, quantitativas, marcadores moleculares, na qualidade fisiológica e no armazenamento de sementes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Passifloras

O gênero *Passiflora* pertence à família Passifloraceae, classificada na ordem Malpighiales. A família comporta 18 gêneros e cerca de 630 espécies (MILWARD-DE-AZEVEDO e BAUMGRATZ, 2004). Souza e Lorenzi (2008) descrevem a família Passifloraceae como sendo composta por plantas trepadeiras herbáceas ou lenhosas, com gavinhas originadas de modificações das inflorescências; possuindo folhas alternas espiraladas, simples ou raramente compostas, frequentemente lobadas, em geral com nectários extraflorais no pecíolo ou lâmina, com ou sem estípula, margem inteira ou serrada.

As plantas da família Passifloraceae possuem inflorescência cimosa ou racemosa, em geral reduzida a uma única flor geralmente bissexuada, actinomorfas, com androginóforo bastante desenvolvido, diclamídeas ou raramente monoclamídeas, perígins; cálice geralmente dialissépalo, prefloração imbricada, frequentemente petalóide; corola geralmente dialipétala, prefloração imbricada; corona disposta no ápice do hipanto, formada por um ou mais ciclos de apêndices; estames geralmente livres entre si, anteras rimosas; disco nectarífero as vezes presente ao redor do ovário ou do androginóforo; ovário súpero carpelar, unilocular, placentação parietal, pluriovulado, estiletos em geral livres entre si. Possuindo fruto baga ou cápsula (SOUZA e LORENZI, 2008).

Admite-se que vários grupos de plantas foram os ancestrais do gênero *Passiflora*, e tenham-se originado em regiões da África, a partir da qual foram dispersos para Europa e Ásia e tenham-se diversificado a partir da chegada à América Central (MUSCHNER et al., 2012).

O gênero *Passiflora* é considerado como o mais representativo da família Passifloraceae, com cerca de 500 espécies, a maioria das quais com centro de origem na América Tropical, das quais 139 estão dispersas no território brasileiro, colocando o Brasil, especificamente a Região Centro Norte do País entre os principais centros de diversidade genética do gênero (BERNACCI et al., 2008; BERNACCI et al., 2013). Ulmer e MacDougal (2004) propuseram quatro subgêneros para o gênero *Passiflora*, sendo eles, *Astrophea*, com 57 espécies, *Deidamioides*, 13, *Decaloba*, 214 e *Passiflora*, 236. Essas classificações foram baseadas em caracteres morfológicos e ecológicos.

O gênero *Passiflora* é constituído de plantas trepadeiras herbáceas ou arbustivas, raramente eretas. Em geral, possuem caule cilíndrico ou quadrangular, ramificado,

anguloso, suberificado, glabro ou piloso (VANDERPLANK, 2000). As espécies do gênero *Passiflora* possuem uma enorme variação fenotípica, em especial nas folhas, que podem ser alternadas, simples ou compostas, inteiras ou lobadas e de forma variável, de margem inteira ou serrilhada. É possível observar glândulas nectaríferas, no pecíolo, na margem da bráctea ou na parte dorsal da folha (FEUILLET e MACDOUGAL, 2007; NUNES e QUEIROZ, 2007; CERVI et al., 2010).

A presença de brácteas é uma característica marcante na maioria das espécies, com exceção de algumas do subgênero *Decaloba*. A posição, tamanho e forma das brácteas são características importantes para a separação taxonômica de gêneros (VANDERPLANK, 2000).

As plantas do gênero *Passiflora* possuem flores hermafroditas e apresentam uma grande variação de formas e cores, variando de branco a vermelho intenso. Possuem simetria radial com o cálice tubuloso herbáceo ou subcarnoso, com cinco sépalas. A corola apresenta cinco pétalas membranáceas, alternadas as sépalas. A corona geralmente é colorida e soldada ao androginóforo, que se apresentam elevados, o que é característico da família Passifloraceae (VANDERPLANK, 2000; ULMER e MACDOUGAL, 2004).

Os frutos comumente são bagas indeiscentes ou cápsulas deiscentes de forma globosa ou ovoide. Podem possuir coloração amarela, porém existem frutos com coloração vermelha ou roxa (VANDERPLANK, 2000; ULMER e MACDOUGAL, 2004). A casca é de textura coriácea, quebradiça e lisa, a qual protege as sementes, que são envolvidas por um arilo mucilaginoso (BERNACCI et al., 2008; NUNES e QUEIROZ, 2007).

2.2 Recursos genéticos

Recursos genéticos envolvem a variabilidade de espécies de plantas, animais e microrganismos integrantes da biodiversidade, de interesse socioeconômico atual ou potencial para uso em programas de melhoramento genético, biotecnologia e áreas afins. Quando se utiliza o termo recursos genéticos vegetais, o universo da biodiversidade fica reduzido àqueles relativos a flora (NASS, 2011).

Os recursos genéticos vegetais, segundo Faleiro et al. (2011a) constituem-se reservatório natural de genes com potencial de uso para a produção de gêneros essenciais à humanidade, tais como alimentos, fibras e medicamentos. Esses recursos apresentam grande importância, pois estão relacionados com necessidades básicas do

ser humano. Plantas cultivadas, espécies silvestres relacionadas às comerciais, variedades antigas e variedades melhoradas representam recursos genéticos que devem ser conservados e caracterizados, pois poderão ser utilizados em programas de melhoramento.

O Brasil é considerado centro de diversidade das passifloras, possui ampla variabilidade genética, sendo esta fundamental para o sucesso de qualquer programa de melhoramento genético de uma espécie (GANGA et al., 2004). O grande potencial do uso de espécies silvestres em programas de melhoramento genético do maracujazeiro tem sido relatado nos últimos anos (JUNQUEIRA et al., 2006; FALEIRO et al., 2008; FALEIRO e JUNQUEIRA, 2009; FALEIRO et al., 2011a; 2011b).

O gênero *Passiflora* possui ampla variabilidade intra e interespecífica possuindo potencial para usos diversos, tanto alimentar e medicinal, quanto ornamental. Espécies nativas e silvestres de maracujá possuem potenciais não apenas para o consumo *in natura*, mas também para a produção de fármacos, plantas ornamentais e alimentos funcionais. Espécies silvestres são fontes de genes para o melhoramento do maracujazeiro-azedo, servem como porta enxerto e na obtenção de híbridos de maracujazeiro ornamental (FALEIRO et al., 2006; FALEIRO et al., 2008).

Quantificar essa variabilidade genética é fundamental para avaliar o desempenho dessas espécies e assim identificar recursos genéticos de grande valor, tanto aqueles passíveis de serem introduzidos de forma direta em sistemas de produção, como aqueles com potencial para serem usados em programas de melhoramento genético (FALEIRO et al., 2011a).

A conservação de diferentes acessos em bancos ativos de germoplasma (BAGs) para futuros programas de melhoramento genético visando o melhor aproveitamento agrônomico é importante, já que é uma frutífera que apresenta ampla diversidade. De acordo com Alves et al. (2005), a variabilidade genética existente em nível populacional das espécies nativas é um dos fatores mais importantes no que se refere à conservação e aproveitamento de recursos genéticos em programas de melhoramento.

A conservação oferece suporte aos trabalhos de melhoramento genético, viabiliza o intercâmbio de germoplasma e, notadamente, a preservação da variabilidade genética, enquanto a caracterização e avaliação permitem conhecer qualidades e potencialidades do material (FALEIRO et al., 2011a).

A conservação do germoplasma que se constitui em atividade indispensável para que haja disponibilidade de material ao melhoramento, pode ser realizada *in situ*

(manutenção dos materiais nos próprios locais de ocorrência) ou *ex situ* (em locais distintos daqueles de ocorrência natural). A conservação *in situ* objetiva conservar os habitats naturais nos quais a diversidade genética existe, incluindo áreas nativas e de proteção ambiental, reservas e sistemas agrícolas tradicionais. Já a conservação *ex situ* compreende a retirada dos recursos genéticos de seu ambiente de ocorrência natural e sua transferência para condições de armazenamento artificiais que podem ser desde a conservação em condições de campo, como em laboratório, por curtos ou longos períodos de tempo (SCHERWINSKI-PEREIRA e COSTA, 2010).

Apesar da importância dos recursos genéticos do gênero *Passiflora* para o Brasil, observa-se uma carência de pesquisa, notadamente nas áreas básicas, principalmente com relação ao germoplasma. Além disso, são necessários trabalhos minuciosos de caracterização morfológica, agrônômica, citogenética e molecular de todos os acessos tendo em vista a sua utilização prática em cultivos comerciais, em programas de melhoramento genético, como porta-enxertos, em intercâmbio de germoplasma e mesmo utilização de princípios ativos, moléculas e genes desse valioso patrimônio genético (FALEIRO et al., 2005a; FALEIRO et al., 2011a; 2011b).

2.3 Caracterização morfológica

Para conhecimento e utilização dos materiais conservados é imprescindível que esses estejam caracterizados e avaliados. Em um levantamento das demandas de pesquisa na cultura do maracujazeiro, Faleiro et al. (2006) indicaram a caracterização e domesticação de espécies como pontos prioritários para as pesquisas em maracujazeiros. Sendo a primeira etapa do processo de caracterização e avaliação, a elaboração dos descritores que deverá levar em consideração características morfológicas, agrônômicas e moleculares entre outras (FALEIRO et al., 2006).

Para o desenvolvimento de um programa de melhoramento, dentre outras coisas, primeiramente é necessário a obtenção e caracterização do germoplasma, de modo a conseguir informações básicas sobre os genótipos, para utilização prática e aplicada dos produtos gerados pelo programa (FALEIRO et al., 2008). A constatação da variabilidade intra e interespecífica é de essencial importância, pois permite o uso mais eficiente dos recursos genéticos por parte dos melhoristas.

Caracterizar e explorar a variabilidade genética existente nas espécies de passiflora pode revelar fontes de características buscadas nos programas de melhoramento, tais como, resistência ou tolerância a pragas (FALEIRO et al., 2006). O

estudo da diversidade consiste em uma atividade importante tanto para o melhoramento de plantas quanto para a conservação de muitas espécies. Esse possibilita descrever e diferenciar acessos, o que permite identificar genótipos contrastantes a fim de realizar cruzamentos promissores (CRUZ e CARNEIRO, 2006).

A diversidade genética reflete diferenças nas populações, que podem ser estimadas por intermédio de diversos marcadores, como os descritores morfoagronômicos, fisiológicos, bioquímicos e moleculares (AMARAL JUNIOR et al., 2010). Os estudos de diversidade genética permitem inferir sobre organização do germoplasma, a eficiência da amostragem de genótipos, a definição de cruzamentos artificiais e a incorporação de genes de germoplasma nativo e exótico (VIEIRA et al., 2007).

A caracterização morfológica é a forma mais acessível e utilizada para se quantificar a diversidade genética do germoplasma disponível. Segundo Vieira et al. (2007), os melhoristas têm utilizado descritores morfoagronômicos para caracterizar os acessos e as plantas selecionadas ao longo do programa de melhoramento. Esses descritores têm um papel fundamental na caracterização e seleção de plantas, sendo decisivos na escolha da nova cultivar, além de permitir a estimação de parâmetros genéticos e de diversidade genética em acessos conservados nos bancos de germoplasma. A caracterização morfoagronômica tem sido feita com base em caracteres que sejam de fácil detecção e mensuração, e sofram pouca influência ambiental.

A divergência genética de *P. cincinnata* foi estudada em 32 acessos conservados na coleção de trabalho da Embrapa Semi-Árido de Petrolina - PE, através da observação de descritores morfológicos, sendo estimada com base em 23 caracteres. Os acessos de *P. cincinnata* apresentaram variabilidade genética para todos os descritores morfológicos utilizados na avaliação (ARAÚJO et al., 2008).

Castro et al. (2012) selecionaram descritores morfológicos mínimos para caracterizarem genótipos de *P. edulis*. O resultado foi obtido por meio da análise de componentes principais, com a qual foram indicados 22 dos 28 descritores analisados para a caracterização de *P. edulis*, com alta contribuição na variação total observada.

2.4 Caracterização agronômica

Características agronômicas podem ser exploradas a partir de recursos genéticos, sobretudo visando obter variabilidade que pode ser empregada na geração de variedades

mais produtivas, na busca de resistência à pragas e doenças, entre outras (FALEIRO et al., 2011a).

Na caracterização agronômica, muitos descritores são considerados, exigindo maior esforço e tempo para coleta dos dados. Todavia, em muitas situações, não há necessidade de um grande número de descritores, sendo mais racional a seleção daqueles que melhor representam a variabilidade existente para a cultura estudada. Essa caracterização tem sido efetuada em coleções de germoplasma para gerar informações sobre a descrição e a classificação do material conservado.

Silva et al. (2012) estimaram parâmetros genéticos relacionados com onze características agronômicas de uma população de maracujazeiro-azedo sob o método de seleção recorrente. Os caracteres avaliados foram o número de dias para o florescimento, o peso médio dos frutos, o comprimento médio dos frutos, a largura média dos frutos, a espessura média de casca, o teor de sólidos solúveis totais, a coloração da polpa, a média percentual de polpa, o número total de frutos, a produção total e o peso médio de frutos. Com essas características, os autores encontraram a existência de variabilidade genética disponível na população, assim, há possibilidade de seleção de progênes superiores de maracujazeiro-azedo.

Sousa et al. (2012) com o objetivo de caracterizar e estudar a divergência genética de acessos de *P. edulis* e *P. cincinnata* com base em descritores agronômicos, observaram que os acessos de *P. edulis* e *P. cincinnata* analisados apresentaram variabilidade genética para a maioria das características estudadas, possibilitando a seleção de genitores divergentes com relação às características físicas e químicas dos frutos. As características de maior importância na seleção de genótipos de maracujazeiro foram: número de sementes, diâmetro do fruto, tamanho do fruto e peso do fruto, sendo que tamanho do fruto, rendimento de suco e diâmetro do fruto foram as que mais contribuíram para a divergência total entre os acessos de maracujazeiro, e a que menos contribuiu foi a acidez titulável.

Por meio de avaliação agronômica de parentais e híbridos de maracujazeiro-azedo, Neves et al. (2013) identificaram pelo menos quatro híbridos de maracujazeiro-azedo (H09-08, H09-10, H09-13 e H09-14) que apresentam médias de produtividades de frutos acima de 40 t.ha⁻¹. E que alguns híbridos (H09-10, H09-14 e H09-20) possuem bom equilíbrio para as principais características, como produtividade de frutos, número de frutos, massa de frutos, rendimento de suco, produtividade de suco e teor de sólidos solúveis totais.

Negreiros et al. (2008) caracterizaram frutos de progênies de meios-irmãos de maracujazeiro-azedo em Rio Branco no estado do Acre, e observaram que alguns frutos apresentaram características desejáveis tanto para o mercado *in natura* como para a indústria, assim como superioridade de alguns acessos para futuros trabalhos de melhoramento. Notaram também que algumas progênies apresentaram aptidões apenas para o mercado *in natura* enquanto outras apresentaram apenas para a indústria. Esses resultados indicam que os descritores agronômicos são úteis para diferenciar acessos de maracujazeiro.

A compreensão da base genética das características agronômicas é primordial para os programas de melhoramento; as estimativas de parâmetros genéticos, correlações e da herança genética das características é essencial para a afirmação das melhores estratégias de melhoramento (FALEIRO et al., 2006).

2.5 Caracterização molecular

Acompanhando o avanço da biotecnologia moderna, ferramentas estão sendo criadas e aprimoradas para auxiliar as pesquisas agropecuária, a exemplo dos marcadores de DNA. Esses marcadores apresentam aplicações em programas de caracterização de germoplasma, complementando as informações das características morfológicas e agronômicas, aumentando o poder de resolução e de análise da variabilidade genética dos acessos e também nos programas de melhoramento, aumentando a eficiência de cada etapa e reduzindo o tempo gasto no desenvolvimento de novas cultivares (FALEIRO et al., 2008).

O desenvolvimento de equipamentos cada vez mais automatizados e da bioinformática têm favorecido a geração de uma quantidade ilimitada de marcadores moleculares, permitindo a cobertura completa do genoma de interesse. Tais avanços vêm potencializar a incorporação dos marcadores moleculares nos programas de melhoramento (PEREIRA et al., 2005). Uma grande vantagem dos marcadores moleculares é a investigação direta das características genotípicas, o que permite a detecção de variação ao nível de DNA, excluindo, portanto, influências ambientais.

O uso de marcadores moleculares é uma ferramenta complementar na caracterização de germoplasma e, conseqüentemente, para a identificação espécies silvestres. No que se refere ao estudo da variabilidade genética de passiflora, o uso de marcadores moleculares do DNA tem sido muito útil por permitirem a obtenção de um

grande número de polimorfismo genético em qualquer estágio do desenvolvimento da planta ou a partir de cultura de células ou tecidos (FALEIRO, 2007).

A escolha de uma técnica de marcador molecular depende de sua reprodutibilidade e simplicidade. Os diferentes tipos de marcadores moleculares disponíveis hoje se diferenciam pela tecnologia utilizada para revelar a variabilidade ao nível de DNA, e assim variam de acordo com a habilidade de detectar diferenças entre os indivíduos, custos, facilidade de uso, consistência e repetibilidade (BORÉM e CAIXETA, 2009).

Marcadores ligados a diferentes características de importância econômica têm sido desenvolvidos (BORÉM e CAIXETA, 2009). Paula et al. (2010) utilizando marcadores moleculares análogos a genes de resistência (RGA – *Disease Resistance Gene Analogs*), avaliaram espécies de passifloras silvestres, nas quais encontraram uma grande variedade de marcadores RGA. Essa variabilidade possibilita estabelecer graus de similaridade genética entre os materiais, além de identificar sequências relacionadas a genes de resistência a doenças em plantas, que podem ser úteis em cruzamentos futuros.

Em maracujazeiro, os marcadores moleculares podem ser utilizados de forma eficiente nas diversas etapas dos programas de melhoramento. Na etapa de pré-melhoramento podem ser utilizados na caracterização e avaliação de bancos de germoplasma, bem como no mapeamento e análise de genes de interesse. Na etapa do melhoramento propriamente dito, os marcadores podem ser empregados tanto no melhoramento populacional quanto em atividades de hibridação, auxiliando na maximização não só dos ganhos genéticos, mas também da heterose. Na etapa de pós-melhoramento, podem ser utilizados para assegurar a paternidade de cultivares, seminais ou clonais, desenvolvidas, bem como para monitorar a pureza das sementes ou clones produzidos e repassados aos agricultores (PEREIRA et al., 2005). Sendo essa, uma etapa fundamental para o registro e proteção de cultivares.

Reis et al. (2011) utilizou 23 pares de iniciadores microssatélites na genotipagem de 66 genótipos de maracujá-azedo, onde foram selecionados 25 genótipos utilizando dados agronômicos e moleculares. O autor relatou que para produtividade, número de frutos e dias de florescimento, as progênies selecionadas por marcadores moleculares apresentaram maiores médias, concluindo que as análises moleculares foram mais eficientes na seleção de genótipos.

Contudo, a utilização dos marcadores moleculares no melhoramento de plantas, teoricamente, é viável em muitas das aplicações. O custo da tecnologia dos marcadores moleculares, o tempo consumido nas análises laboratoriais, o custo da avaliação das características, entre outros, determina a viabilidade do seu uso em cada caso (BORÉM e MIRANDA, 2009).

2.5.1 Marcador RAPD

O *Random Amplification of Polymorphic DNA* (RAPD) tem se mostrado eficiente na identificação e na quantificação da variabilidade genética em diversos grupos de plantas, motivo pelo qual vem sendo usado como ferramenta auxiliar em programas de caracterização e uso de recursos genéticos e programas de melhoramento (FALEIRO, 2007). A técnica é capaz de detectar variações diretamente no DNA, e isso têm sido intensamente utilizados para diferentes estudos genéticos de diversas cultivares, incluindo importantes trabalhos sobre a variabilidade genética do maracujazeiro (FALEIRO et al., 2005b).

A técnica RAPD apresenta como principais vantagens a facilidade e rapidez na obtenção dos marcadores, a necessidade de quantidades mínimas de DNA e a universalização das análises. Os marcadores RAPD tem como características principais a obtenção de '*fingerprints*' (impressões digitais) genômicos de indivíduos, variedades e populações, a análise estrutural e diversidade genética em populações de melhoramento e bancos de germoplasma, o estabelecimento de relacionamentos filogenéticos entre diferentes espécies, a construção de mapas genéticos de alta cobertura genômica e a localização de genes de interesse econômico (FALEIRO, 2007).

Populações de *P. alata*, *P. cincinnata*, *P. edulis*, *P. foetida*, *P. gibertii*, *P. malacophylla*, *P. maliformis*, *P. mucronata* e *P. suberosa*, e plantas provenientes de cultivos de *P. edulis*, foram avaliadas com marcadores RAPD (VIANA et al., 2003).

Estudos comparativos entre diferentes espécies de passiflora têm obtido grande sucesso ao utilizar marcadores moleculares do tipo RAPD (VIANA e SOUZA, 2010). Enquanto que, Bellon et al. (2007) em Planaltina no Distrito Federal, avaliaram a divergência com marcadores RAPD em genótipos comerciais e acessos silvestres de *P. edulis*, a fim de direcionar os cruzamentos para uso futuro nos programas de melhoramento, visando a introdução de acessos nas linhas de pesquisa do maracujazeiro para o mercado de consumo *in natura*, ornamental e medicinal.

2.5.2 Marcador ISSR

O marcador molecular ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) é uma dentre muitas técnicas de *fingerprinting* baseada em PCR (*Polymerase Chain Reaction*) que utiliza *primers* de sequência simples repetitiva para amplificar regiões entre sequências alvo. Essa técnica tem a capacidade de gerar um grande número de marcadores multiloci e podem ser aplicados para analisar praticamente qualquer organismo, mesmo aqueles para os quais se dispõe de pouca ou nenhuma informação genética prévia (FALEIRO, 2007). O uso de marcadores ISSR em plantas superiores são conhecidos por serem altamente reprodutíveis, polimórficos, e informativos, rápidos de usar e pouco onerosos (ZIETKIEWICZ et al., 1994; BARTH et al., 2002).

O ISSR revela o polimorfismo multiloco com a utilização de apenas um primer, ancorado ou sem âncora, baseado em regiões SSRs (*Simple Sequence Repeats*). O polimorfismo observado pode ser utilizado na inferência da diversidade genética e no estudo evolutivo e taxonômico (REDDY et al., 2002; ISSHIKI et al., 2008).

Os *primers* ISSR são compostos por uma sequência do microsatélite usualmente de 16 a 25 bp de comprimento e são utilizados para amplificar principalmente as sequências Inter-SSR de diferentes tamanhos (FALEIRO, 2007). Em contraste com outros marcadores moleculares, as sequências alvo dos *primers* ISSR são abundantes em todo o genoma eucariótico, o que, por conseguinte, ajuda a revelar um número muito maior de loci polimórficos do que outros marcadores dominantes (ANSARI et al., 2012).

Os produtos amplificáveis são geralmente de 200-2000 pb (pares bases) de comprimento e apresentam alta reprodutibilidade, possivelmente devido ao uso de iniciadores longos e de alta temperatura de anelamento. A limitação dessa classe de marcadores está relacionada ao fato de serem dominantes que impossibilita estabelecer relações alélicas entre os indivíduos. A técnica de ISSR possui vantagens como reprodutibilidade, fácil uso e baixo custo em comparação com diversos outros tipos de marcadores moleculares (REDDY et al., 2002).

Estudos comparativos entre diferentes espécies de passiflora têm obtido grande sucesso ao utilizar marcadores moleculares do tipo ISSR (SANTOS et al., 2011). No entanto germoplasma de maracujazeiro envolvendo várias espécies ainda são incipientes. A variabilidade genética presente no gênero *Passiflora* torna-se uma ferramenta valiosa para ações de melhoramento em busca de genótipos mais adequados ao sistema intensivo de cultivo.

No sudoeste do estado da Bahia, populações nativas de *P. setacea* foram avaliadas por meio de 11 *primers* de ISSR e quatro pares de *primers* RGA (*Analog Markers of Resistance Gene*) (PEREIRA et al., 2015). Neste estudo, foi detectada variação na porcentagem de locos polimórficos e considerável diferenciação genética entre as populações.

2.6 Parâmetros genéticos

A obtenção dos valores de parâmetros genéticos é imprescindível para identificação da natureza de ação dos genes envolvidos no controle das características de importância (caracteres quantitativos). Assim sendo, a estimação avalia a eficiência de diferentes estratégias de melhoramento para que sempre haja possibilidade de ganhos e que a variabilidade genética seja mantida (CRUZ e CARNEIRO, 2006).

O termo parâmetro é usado para designar as constantes características de uma população, especialmente, a média e a variância. Estimar os parâmetros genéticos é necessário para: a) obter informações sobre a natureza da ação dos genes envolvidos na herança dos caracteres sob investigação; e b) estabelecer a base para a escolha dos métodos de melhoramento aplicáveis à população. Ao discutir a estimação de parâmetros genéticos, é preciso, contudo, considerar que as estimativas obtidas só são válidas para a população da qual o material experimental constitui algum tipo de amostra, e para as condições de ambiente em que o estudo foi conduzido. Assim, quando se pretende estimar, experimentalmente, as variâncias genéticas, tanto os genótipos quanto os ambientes de experimentação devem constituir amostras apropriadas da população e da área geográfica de interesse, respectivamente (COCKERHAM, 1956).

É necessário ainda considerar que não se consegue estimar o componente da variação genética, quando um ensaio é conduzido, independentemente, do componente, devido à interação genótipo x ambiente (GARDNER, 1963). A estimativa de parâmetros genéticos é essencial na quantificação da magnitude da variabilidade e a extensão em que os caracteres desejáveis são herdados, a fim de efetuar o planejamento com vistas a promover o avanço de um programa eficiente de melhoramento genético (VENCOVSKY e BARRIGA, 1992).

Conhecer o grau de associação entre os caracteres é de grande valor nas estratégias do melhoramento, pois esclarecem e quantificam as relações entre eles, principalmente, quando a seleção de um caráter promove modificações em outros

caracteres correlacionados (KHALIQ et al., 2004; RAMALHO et al., 2008). É uma importante ferramenta que permite a seleção indireta usada quando a seleção de um caráter de interesse for dificultada devido à baixa herdabilidade ou a problemas de mensuração e de aferição (CRUZ e CARNEIRO, 2006). Além disso, outra importante aplicação das correlações é contribuir para a eficiência na seleção simultânea de características de interesse (SANTOS e VENCOVSKY, 1986).

2.7 Pré-melhoramento

A palavra pré-melhoramento foi traduzida a partir de termos vindos da língua inglesa como *pre-breeding*, *introgression breeding*, *genetic base broadening* ou *germplasm enhancement*. É usada para definir a fase do desenvolvimento do germoplasma em materiais mais atrativos aos melhoristas, entretanto, o conceito de pré-melhoramento pode também variar conforme a espécie em estudo, por exemplo, o que é pré-melhoramento em espécies anuais é considerado melhoramento em espécies perenes (FALEIRO et al., 2008).

De acordo com Nass (2011), os programas de pré-melhoramento podem contribuir, de muitas maneiras, tanto para as atividades relacionadas aos recursos genéticos quanto para os programas de melhoramento genético. Entre as contribuições desses programas podem-se citar:

- Síntese de novas populações base para os programas de melhoramento;
- Identificação de genes potencialmente úteis;
- Identificação e estabelecimento de novos padrões heteróticos;
- Melhor conhecimento do comportamento *per se* e em cruzamento dos acessos;
- Maior quantidade e qualidade das informações sobre os acessos;
- Estabelecimento de coleções nucleares (*core collections*);
- Maior probabilidade de uso dos recursos genéticos vegetais.

Dentre as possibilidades referidas anteriormente, pode-se afirmar que a geração de novas populações base para o melhoramento e a identificação de padrões heteróticos, os quais são fundamentais em programas de melhoramento que exploram o vigor de híbrido ou heterose, são as contribuições mais palpáveis e significativas dos programas de pré-melhoramento. Estes programas podem tornar-se importantes estratégias de ligação dos programas de melhoramento com as ações biotecnológicas, em especial

aqueles dedicados à informação genômica funcional. Assim, as ações de pré-melhoramento poderão tornar-se importantes instrumentos na composição dos bancos de caracteres para as mais variadas funções biológicas (NASS, 2011).

Nos últimos anos, busca-se aumentar a base genética dos programas de melhoramento visando a seleção de genótipos de maracujá-azedo e maracujá doce mais produtivos, mais resistentes a doenças e com melhor qualidade física e química dos frutos, sendo que uma das alternativas é o pré-melhoramento com a identificação de características de interesse em espécies silvestre e suas transferências para genótipos elite por meio da hibridação interespecífica e ações sucessivas de seleção e recombinação (FALEIRO et al., 2011b). Devido a isso, é que é cada vez mais imprescindível a realização de estudos ligados a caracterização das espécies silvestres.

Em um programa de pré-melhoramento há a realização de atividades fundamentais nas coleções mantidas em bancos de germoplasma que se constituem em uma etapa indispensável, já que visa à identificação, caracterização e posterior uso dos genótipos promissores em cruzamentos com germoplasma elite (FALEIRO et al., 2011a) ou mesmo a utilização direta do material.

O sucesso do pré-melhoramento abrange, pelo menos, duas fases, a primeira refere-se ao conhecimento de genes ou características potencialmente úteis de espécies silvestres, ou de populações não-melhoradas; e a segunda, a sua utilização prática com a introgressão em materiais elite agronomicamente adaptados com caracteres comerciais prontamente utilizadas nos sistemas agrícolas (FALEIRO et al., 2008).

As atividades de pré-melhoramento, envolvendo o conhecimento de genes potencialmente úteis de espécies silvestres e sua incorporação em variedades com características comerciais, são de grande importância para subsidiar a utilização prática dos recursos genéticos e ampliar a base genética dos programas de melhoramento. Desse modo, as pesquisas que envolvem prospecção, conservação e caracterização de germoplasma assumem importância estratégica e são fundamentais para viabilizar o uso de características agrônomicas encontradas nos materiais silvestres, como os componentes primários relacionados com a produtividade, qualidade de frutos e resistência a estresses bióticos e abióticos (FALEIRO et al., 2011a).

As plantas do gênero *Passiflora* apresentam potencial agrônomico, funcional e medicinal sendo necessária a intensificação dos trabalhos de pesquisa visando ao maior conhecimento do germoplasma de maracujazeiro silvestre (COSTA e TUPINAMBÁ, 2005).

Peixoto et al. (2005) descrevem a importância das plantas do gênero *Passiflora* que apresentam grande valor ornamental que é conferido pelas suas belas flores, que exercem atração pelo seu tamanho, exuberância das cores e originalidade das formas, apresentando grandes perspectivas em relação à exploração do seu potencial paisagístico; também pelos seus frutos que além de serem consumidos *in natura*, são usados para fazer sucos, doces, refrescos e sorvetes.

Assim, a utilização diversificada do maracujazeiro como planta frutífera, ornamental, medicinal e como porta-enxerto é considerada uma importante demanda para as ações de pesquisa e desenvolvimento visando atender às demandas do setor produtivo, industrial e dos consumidores (FALEIRO et al., 2006).

Para que haja exploração de todo o potencial das espécies silvestres de maracujazeiro é necessário o envolvimento da pesquisa básica nas áreas de conservação e caracterização dos recursos genéticos e da pesquisa aplicada voltada para o melhoramento genético. Para maximizar o sucesso do pré-melhoramento é essencial haver integração das etapas com as atividades e demandas dos programas de melhoramento e pós-melhoramento. Sendo assim, é indispensável o conhecimento abrangente da variabilidade genética intraespecífica disponível para o melhoramento e das demandas de mercado, considerando novas opções de produtos e novas alternativas para os sistemas de produção (FALEIRO et al., 2011a).

2.8 Armazenamento de sementes de *Passiflora* spp.

As condições de armazenamento são os fatores mais importantes para a conservação da viabilidade das sementes, especificamente a temperatura e umidade relativa. Para sementes ortodoxas, as melhores condições para a manutenção da qualidade são a baixa umidade relativa do ar e a baixa temperatura, por reduzirem a atividade metabólica do embrião e, conseqüentemente, a deterioração (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012; MARCOS FILHO, 2005).

A deterioração das sementes é um processo que se inicia a partir do ponto de máxima maturação fisiológica, em ritmo progressivo, reduzindo a qualidade e culminando com a morte da semente (MARCO FILHO, 2005). Deste modo, o principal desafio do armazenamento de sementes é o de reduzir a velocidade de deterioração, visto que a melhoria da qualidade não é possível, mesmo em condições ideais (VILLELA e PEREZ, 2004). O sucesso do armazenamento depende do conhecimento

prévio do comportamento fisiológico no armazenamento, já que sementes de diferentes espécies exigem condições especiais para a sua conservação.

Visando avaliar a germinação de sementes de *P. mucronata* recém-colhidas e após armazenamento, Santos et al. (2012) observaram que as sementes recém-colhidas, em rolos de papel Germitest® e colocadas em câmara de germinação com alternância de temperatura de 20-30 °C, e fotoperíodo de 16 h. Possuem alto potencial germinativo, mas com o passar do tempo a germinação diminui, sendo zero aos quatro e 12 meses de armazenamento. Pré-tratamentos em banho-maria e escarificação com lixa promoveram um aumento na germinação das sementes de *P. mucronata*, mas não o suficiente para aquelas armazenadas por 12 meses.

Nogueira Filho et al. (2005) trabalhando com *P. caerulea*, observaram germinação de 55% das sementes recém colhidas e, após 37 dias de armazenamento, as sementes do mesmo lote que o anterior não germinaram. Meletti et al. (2002) relataram que sementes de *P. setacea* apresentam período de dormência longo, sendo necessário armazenamento superior a dois anos para a quebra de dormência. Esta necessidade de armazenamento para a quebra de dormência também foi verificada para a espécie *P. cincinnata* (ZUCARELI et al., 2009).

Souza et al. (2015) avaliando tempo e condições de armazenamento das sementes na germinação e desenvolvimento de *P. ligularis* (granadilla), observaram que a obtenção de mudas de granadilla deve ser feita a partir de sementes mantidas em câmara fria, por período superior a 3 meses. Sementes recém-retiradas de frutos possuem baixa porcentagem de germinação e menor crescimento em altura quando comparadas com plantas provenientes das sementes armazenadas por 24 meses em temperatura de 7 a 10 °C.

2.9 Germinação e qualidade de sementes de *Passiflora* spp.

A germinação das sementes ocorre quando, sob condições apropriadas, o eixo embrionário reinicia seu desenvolvimento que tinha sido interrompido por ocasião da maturação fisiológica (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). O potencial fisiológico dos lotes de sementes é rotineiramente avaliado pelo teste de germinação, conduzido sob condições ótimas de umidade, temperatura, luz e substrato, permitindo a expressão máxima do potencial de germinação.

As investigações realizadas nessa esfera são ainda incipientes e são muitas as barreiras que envolvem o processo de germinação para as espécies de maracujazeiro,

como a dormência que pode estar ligada a diversos fatores físicos (impermeabilidade do tegumento à água e gases), químicos (presença de fatores inibidores), mecânicos (resistência do tegumento ao crescimento do embrião) ou fisiológicos (dormência, maturidade, vigor), mecanismos fisiológicos de inibição da germinação (DELANOY et al., 2006).

Os problemas relacionados à qualidade fisiológica das sementes podem ser apontados como os mais importantes, em relação a manutenção das sementes armazenadas, e também, quanto a formação de mudas, causando problemas como a desuniformidade na germinação, que podem comprometer diretamente a formação de mudas (NEGREIROS et al., 2006). Pádua et al. (2011) ressaltaram ainda, que é importante conhecer os outros aspectos que afetam a germinação das sementes. Dentre estes, destacam-se os de origem genética (variação entre espécies e cultivares), de pré e pós-colheita (ponto de maturação do fruto, injúrias mecânicas durante a colheita, processamento, problemas fitossanitários, variações climáticas, secagem, armazenamento), morfológicos, dentre outros.

Para obtenção de sementes de alta qualidade, um dos aspectos que deve ser atendido é o momento de sua coleta, que pode ser determinada pelo estágio de desenvolvimento dos frutos. Pensando nisso, Negreiros et al. (2006) buscaram verificar a influência do estágio de maturação dos frutos e do período de armazenamento pós-colheita sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de maracujazeiro-azedo (*P. edulis*). Observaram que a extração de sementes de maracujazeiro-azedo deve ser feita nos frutos em estágio de maturação 2 (fruto com 5 até 50% de coloração amarela) e 3 (fruto com mais de 50% de coloração amarela). Verificaram, também, que o desenvolvimento das mudas de maracujazeiro-azedo é melhor observando quando, mantêm-se os frutos durante 3 a 6 dias em armazenamento antes da extração de suas sementes.

Segundo Delanoy et al. (2006), diversos autores revelaram que a germinação de maracujazeiros pode se estender de dez dias a três meses, apresentando baixa porcentagem de germinação e irregularidade na formação de mudas. Fowler e Bianchetti (2000) observaram que algumas espécies possuem dormência em suas sementes. A dormência das sementes de maracujazeiro pode estar ligada ao tegumento das sementes e que, provavelmente combina fatores mecânicos e químicos (MIRANDA et al., 2009).

As sementes dos maracujazeiros cultivados em sua maioria são recalcitrantes e na natureza perdem a viabilidade muito rápido. A germinação geralmente diminui quando o período de armazenamento é aumentado. Quando as sementes são beneficiadas e armazenadas apresentam uma baixa taxa de germinação, além de apresentar uma menor velocidade de germinação e menor vigor (GURUNG et al., 2014).

Pesquisas relacionadas aos fatores que têm interferência na viabilidade e vigor são úteis para a avaliação do potencial fisiológico das sementes. Têm importância na definição das estratégias de armazenamento, principalmente para espécies não cultivadas, em que a heterogeneidade genética e fisiológica das amostras é pronunciada. Dada a importância, Pádua et al. (2011) avaliaram a germinação de *P. setacea* em resposta a níveis de desidratação, exposição a baixas temperaturas e a tratamentos pré-germinativos. Estes autores observaram que as sementes são tolerantes à dessecação até níveis próximos de 4% de teor de água, que baixas umidades e temperatura de armazenamento induzem as sementes à dormência; e a longevidade é maior quando armazenadas em temperaturas subzero.

Meletti et al. (2007) buscando avaliar a qualidade fisiológica das sementes de seis acessos de maracujazeiro submetidas à criopreservação, observaram que tanto com 30% quanto com 20% de umidade, as sementes de *P. nitida* se comportaram como do tipo recalcitrante, não aceitando a desidratação para armazenamento à ultra-baixa temperatura. A secagem para 20% provocou danos ainda maiores às sementes. Após a criopreservação, no teste padrão de germinação, as sementes, em sua maioria, apresentaram tegumentos estourados, com danos no embrião, em função do congelamento das estruturas.

As espécies *P. edulis* e *P. ligularis*, têm níveis diferentes de tolerância à dessecação, devido à sensibilidade das sementes à secagem. A espécie *P. edulis* se comporta como intermediária, ao contrário de *P. ligularis* que mostra ser do tipo ortodoxa. Além das diferenças interespecíficas, devido às diferenças de sensibilidade à secagem das sementes de diferentes acessos, sugere-se que haja tipos intermediários e ortodoxos entre acessos da mesma dentro de uma mesma espécie (OSPINA et al., 2000).

A germinação pode ser promovida ou acelerada pela aplicação de reguladores de crescimento, tais como auxinas, citocininas, giberelinas (GAs), etileno e outros. As giberelinas estão diretamente relacionadas à germinação de muitas sementes, uma vez que sua aplicação exógena promove a expressão dos genes que controlam a síntese das

enzimas envolvidas na degradação de paredes celulares do endosperma, induzindo o crescimento do embrião e estimulando o processo germinativo. O tipo de giberelina mais utilizado *in vitro* é o ácido giberélico (GA₃) (BRAUN et al., 2010; SANTOS et al., 2010).

A germinação natural de *P. cincinnata* é baixa e bastante irregular, fazendo-se necessário o uso de indutores de germinação. No caso da cultivar melhorada geneticamente, a *P. cincinnata* cv. BRS Sertão Forte, deve-se fazer a imersão das sementes na solução contendo 12 mL de Promalin® (GA₄+7+N-fenilmetil-aminopurina) em 988 mL de água destilada. Nesta solução a concentração do princípio ativo é de 225 mg por litro. Deixar as sementes na solução por 24 horas. Retirar as sementes da solução e semear diretamente em saquinhos plásticos ou outro recipiente destinado a semeadura e formação de mudas. Utilizaram-se sacos plásticos preto de polietileno medindo 9 cm de diâmetro e 15 cm de altura (EMBRAPA, 2017b).

O tratamento de sementes com reguladores de crescimento tem permitido uma sensível melhoria da porcentagem e uniformidade de germinação de cultivares comerciais de *P. setacea* cv. BRS Pérola do Cerrado e de *P. cincinnata* cv. BRS Sertão Forte (EMBRAPA 2017a; EMBRAPA, 2017b). Neste contexto e devido ao potencial uso dessas espécies como cultivares comerciais e de porta-enxerto, estudos mais aprofundados sobre a germinação e armazenamento das sementes tornam-se de extrema importância para a produção de mudas.

Estudos comparativos entre *P. gibertii*, *P. cincinnata* e *P. edulis*, constataram que estas espécies apresentam grande variabilidade quanto à porcentagem de sementes germinadas, uniformidade e velocidade de germinação, fato esse que influencia no manejo das mudas na fase de viveiro (VASCONCELLOS et al., 2005).

Para sementes de *P. edulis*, a extração do arilo por meio de fricção sobre peneira de malha de aço por três minutos, imersão em cal virgem a 10% durante 10 minutos, fricção sobre peneira de malha de aço com areia grossa por três minutos e fermentação natural por seis dias, promoveram uma germinação mais rápida (MARTINS et al., 2006).

Martins et al. (2010) fizeram uma prospecção fitoquímica do arilo de sementes de *P. edulis* e observaram a influência na germinação de sementes. No extrato de arilo das sementes de *P. edulis*, foram observadas a presença de substâncias inibidoras da germinação, tais como: esteróides, triterpenóides, açúcares redutores, que interferiram direta ou indiretamente na absorção de água.

Rosseto et al. (2000) estudaram os efeitos de tratamentos pré-germinativos em sementes de *P. alata*, aplicando soluções de ácido giberélico. Em um primeiro estudo as sementes foram colocadas para germinar em substrato umedecido com soluções de 0; 100 e 300 ppm de ácido giberélico; no segundo as sementes foram mergulhadas em soluções de 0 e 300 ppm, durante 24 horas. Constataram que apenas o tratamento da imersão das sementes em soluções de ácido giberélico apresentou resultados de germinação.

A temperatura também influencia a germinação, pois é determinante na velocidade de absorção de água e, portanto, nas reações bioquímicas que determinam todo o processo. Assim, a germinação só ocorrerá dentro de determinados limites de temperatura, os quais englobam uma temperatura, ou faixa de temperatura, em que o processo ocorre com máxima eficiência (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

Marostega et al. (2015) estudando o efeito da temperatura e do tempo de imersão em água, na superação da dormência em sementes de *P. suberosa*, observaram que a imersão de sementes em água destilada a 50°C por 5 minutos apresentou melhor porcentagem de germinação para a espécie (35 %), entretanto, os autores sugerem que novas análises com uso de outras técnicas para aumentar esse porcentual germinativo, sejam testadas e adaptadas.

Junghans et al. (2006) estudando o potencial germinativo de maracujazeiro, a partir da avaliação da germinação *in vitro* e *ex vitro* de sementes de *P. gibertii* com e sem tegumento parcialmente removido. Observaram que as sementes de maracujazeiro apresentam dormência sob condições *in vitro*, ocasionando taxas de germinação baixas e desuniformes. Roncatto et al. (2006) mencionam a germinação de *P. gibertii* sob condições de viveiro coberto com sombrite proporcionando 50% de sombreamento, proporcionou taxa de germinação de 47%, que é considerada baixa. Carvalho et al. (2012) avaliando a germinação *in vitro* de *P. gibertii*, com escarificação mecânica e ácido giberélico. Observaram que a escarificação da extremidade de sementes com pinça e bisturi proporciona maiores médias para a germinação e índice de velocidade de germinação de sementes de *P. gibertii*. A adição do regulador de crescimento GA₃ ao meio de cultura não afeta a germinação *in vitro* de *P. gibertii*.

2.10 Emergência de plântulas de *Passiflora* spp.

Estudos têm sido realizados com o intuito de reduzir o tempo necessário entre a semeadura e a emergência das plântulas. Alguns tratamentos têm se mostrado eficientes

neste sentido. Alexandre et al. (2004) trabalhando com a emergência e o índice de velocidade de emergência em maracujazeiro-azedo, constataram que essas características são fortemente influenciadas pelo genótipo das plantas.

Ferreira et al. (2007) avaliando a emergência de plântulas de maracujazeiro-azedo oriundas de sementes tratadas com bioestimulante, verificaram durante todo o período de emergência, que as sementes do tratamento testemunha apresentaram menor desempenho em relação aquelas tratadas com bioestimulante.

O maracujá-doce (*P. alata*) apresentou melhor emergência de plântulas (62; 60,5 e 57,75 %), respectivamente, quando foi removido o arilo mediante fricção em malha de arame com areia, imersão em solução com cal ou ácido clorídrico, ambos com agitação por trinta minutos (OSIPI et al., 2011).

Aguiar et al. (2014) avaliaram métodos de extração da mucilagem e também substratos na emergência e no desenvolvimento de plântulas de maracujazeiro-azedo, em câmara de nebulização. Estes autores observaram que a extração da mucilagem das sementes por meio da lavagem em água ou fermentação em água e os substratos casca de arroz carbonizada e a fibra de coco foram os mais indicados na emergência e o desenvolvimento de plântulas de maracujazeiro-azedo.

Diferentes fatores externos podem afetar negativa ou positivamente o desempenho das sementes, dentre estes fatores, encontra-se o uso de biostimulantes. Ferraz et al. (2014) ao estudarem os efeitos de bioestimulante na emergência e crescimento de plântulas de maracujazeiro 'Roxinho do Kênia' (*P. edulis* Sims). Observaram que a aplicação de bioestimulante nas doses de 6 e 12 mL.kg⁻¹ promoveu o aumento da porcentagem de emergência.

Sementes frescas obtidas de frutos maduros recém-colhidos de *P. alata*, *P. cincinnata*, *P. edulis*, *P. gibertii* e *P. setacea* apresentam uma rápida e elevada taxa de emergência, após a imersão em solução de GA₃ entre 500 e 1.000 mg L⁻¹ (SANTOS et al. 2016). Assim como na emergência, os reguladores também podem proporcionar um aumento significativo no crescimento das plântulas, o que pode resultar em uma formação mais rápida e uniforme das mudas.

2.11 Utilização dos descritores morfoagronômicos do SNPC (MAPA) na caracterização de *Passiflora* spp.

A proteção dos direitos relativos à propriedade intelectual referente a cultivar se efetua mediante a concessão de um Certificado de Proteção da Cultivar, considerado

bem móvel para todos os efeitos legais e única forma de proteção de cultivares e de direito que poderá obstar a livre utilização de plantas ou de suas partes de reprodução ou de multiplicação vegetativa, no país (WOLFF, 2009).

A Lei de Proteção de Cultivares criou, no âmbito do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), responsável pela gestão dos aspectos administrativos e técnicos da matéria. Dentre as diversas competências que lhe são atribuídas, destacam-se a análise de requerimentos e a outorga dos certificados de proteção aos obtentores. É dever função do SNPC manter a base de dados e conservar as amostras vivas para fins de fiscalização, além de monitorar as características originais de cultivares protegidas no território nacional (AVIANI, 2011).

Para a obtenção dos descritores, o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), órgão vinculado ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), responsável por executar e acompanhar ações de proteção de cultivares no país estabeleceu e publicou um conjunto de instruções oficiais para realização de testes de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE) de cultivares de maracujá. No entanto, a aplicação segura e eficaz desses instrumentos requer a validação experimental com diversos cultivares conhecidos, a fim de se estabelecer cultivares-exemplo, fundamentais para viabilizar a harmonização de metodologias aplicadas em diferentes regiões e por distintos avaliadores (MAPA, 2017).

Em um esforço conjunto, profissionais do Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC/MAPA) e do grupo de pesquisa Maracujá: germoplasma e melhoramento genético liderado pela Embrapa, desenvolveram um conjunto de descritores para ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de *Passiflora edulis* Sims. Esse trabalho gerou um manual prático, que foi idealizado com o objetivo de contribuir para a melhoria do instrumento legal para proteção de cultivares de maracujazeiro-azedo (*P. edulis* Sims).

Para o desenvolvimento desse manual prático ilustrado para aplicação dos descritores de *P. edulis* Sims, foram realizadas ações de pesquisa para a validação de descritores para caracterização de cultivares de maracujazeiro-azedo e operacionalização das instruções oficiais para realização de testes de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade.

No manual prático, que apresenta 28 descritores de ramos e folhas, flor e fruto. Cada descritor e respectivas classes fenotípicas são apresentadas de forma ilustrada para

uniformizar, padronizar e evitar erros no processo de obtenção dos descritores. Os descritores morfoagronômicos utilizados em ensaios de DHE de cultivares de maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims), apresentam-se divididos em três grupos (ramos-folhas, flores e frutos), sendo sete descritores dos ramos-folhas, 13 das flores e oito dos frutos.

Esse manual é de grande utilidade para os pesquisadores de passifloras, especialmente para as equipes de melhoristas, que a cada dia vem trabalhando no desenvolvimento de novas cultivares para atender as demandas da sociedade. Segundo Borges et al. (2005), para que os produtos tecnológicos desenvolvidos pelos programas de melhoramento genético cheguem aos produtores e beneficiem toda cadeia produtiva, ações de validação e transferência de tecnologia são essenciais.

As instruções para realização dos ensaios de DHE e a tabela dos descritores mínimos para *P. edulis* Sims foram desenvolvidas e publicadas em dezembro de 2008, no Diário Oficial da União Nº 246 (BRASIL, 2014). Para a aplicação segura e eficaz desses instrumentos e para a obtenção dos descritores, é importante uma harmonização de metodologias aplicadas em diferentes regiões e por avaliadores distintos.

Segundo Jesus et al. (2015) com o objetivo de buscar a harmonização necessária para aquisição dos descritores, foi feita uma validação experimental dos descritores utilizados, na qual foram consideradas as variações (tamanho dos frutos, formato dos frutos, formato das folhas) que ocorrem na mesma planta, a natureza quantitativa de alguns descritores, as características específicas do maracujazeiro e a importância da utilização de cultivares exemplo na avaliação de algumas características quantitativas.

Assim como foi desenvolvido o manual prático para *P. edulis* Sims, também foi confeccionado um manual prático ilustrado para aplicação dos descritores para todas espécies e híbridos interespecíficos do gênero *Passiflora*. Esse esforço foi realizado com o objetivo de contribuir para a melhoria do instrumento legal para proteção de cultivares das diferentes espécies e híbridos interespecíficos do gênero *Passiflora*.

Segundo Jesus et al. (2015) para obtenção desse manual prático, foram realizadas ações de pesquisa para a validação de descritores utilizados em ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de maracujazeiro-doce, ornamental, medicinal, incluindo espécies silvestres e híbridos interespecíficos do gênero *Passiflora*. Cada descritor e respectivas classes fenotípicas são apresentadas de forma ilustrada para uniformizar, padronizar e evitar erros no processo de obtenção dos descritores.

Assim como para o maracujazeiro-azedo (*P. edulis* Sims) as instruções para realização dos ensaios de DHE e a tabela dos descritores mínimos para maracujazeiro-doce, ornamental, medicinal, incluindo espécies silvestres e híbridos interespecíficos (*Passiflora* spp.) foram desenvolvidas e publicadas em dezembro de 2008, no Diário Oficial da União Nº 246 (BRASIL, 2014).

Os descritores morfoagronômicos utilizados em ensaios de DHE de cultivares de maracujazeiro-doce, ornamental, medicinal, incluindo espécies silvestres e híbridos interespecíficos (*Passiflora* spp.), possui uma divisão proposta pelo manual prático, que apresenta os descritores divididos em três grupos (ramos-folhas, flores e frutos), sendo 11 descritores dos ramos-folhas, 16 das flores e oito dos frutos, totalizando 35 descritores da planta.

Os descritores usados em ensaios DHE, serão úteis, especialmente para pesquisadores em maracujá, que necessitem levantar os descritores para registro e proteção dos materiais desenvolvidos em programas de melhoramento. Mas, também, serão úteis para trabalhos acadêmicos e diferenciação prática das cultivares já disponíveis no mercado.

Meletti et al. (2003) e Martins et al. (2003) verificaram que dentro da mesma espécie podem haver diferenças na morfologia dos frutos como comprimento, diâmetro, peso da polpa, semente, coloração e espessura da casca e teor de sólidos solúveis totais. Estas variações intrínsecas da espécie devem ser contempladas em um processo de ajustes e validação dos atuais descritores. Porém, essas variações são importantes e, extremamente necessárias nos processos de registro e proteção de cultivares, pois, os mesmos, exigem um grau mínimo de diferenciação entre os materiais a serem registrados e protegidos dos demais materiais, e até dos materiais que os deram origem.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, R. S.; YAMAMOTO, L. Y.; PRETI, E. A.; SOUZA, G. R. B.; SBRUSSI, C. A. G.; OLIVEIRA, E. A. P.; ASSIS, A. M.; ROBERTO, S. R.; NEVES, C. S. V. J. Extração de mucilagem e substratos no desenvolvimento de plântulas de maracujazeiro-amarelo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 605-612, 2014.

ALEXANDRE, R. S.; WAGNER JÚNIOR, A.; NEGREIROS, J. R. S.; PARIZZOTTO, A.; BRUCKNER, C. H. Germinação de sementes de genótipos de maracujazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 12, p. 1239-1245, 2004.

ALVES, R. E.; SOUZA, F. X. de; CASTRO, A. C. R. de; RUFINO, M. do S. M.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; VIANA, A. P.; GONÇALVES, L. S. A.; BARBOSA, C. D. Procedimentos Multivariados em Recursos genéticos vegetais. In: PEREIRA, T. N. S.(ed.). **Germoplasma: Conservação, Manejo e Uso no Melhoramento de Plantas**. Viçosa, 2010, p. 205-254.

AMARAL JÚNIOR, A. T.; FREITAS JÚNIOR, S. P.; RANGEL, R. M.; PENA, G. F.; RIBEIRO, R. M.; MORAIS, R. C.; SCHUELTER, A. R. Improvement of a popcorn population using selection indexes from a fourth cycle of recurrent selection program carried out in two different environments. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 1, p. 340-370, 2010.

ANSARI, S. A.; NARAYANAN, C.; WALI, S. A.; KUMAR, R.; SHUKLA, N.; RAHANGDALE, S. K. Marcadores ISSR para análise da diversidade molecular e estrutura genética de teca indiana (*Tectona grandis* Lf) populações. **Annals of Forest Research**, Romênia, v. 55, n. 1, p. 11-23, 2012.

ARAÚJO, F. P.; SILVA, N.; QUEIROZ, M. A. Genetic divergence among *Passiflora cincinnata* Mast accessions based on morphoagronomic descriptors. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 3, p. 723-730, 2008.

AVIANI, D. M. Proteção de cultivares no Brasil. In: **Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Proteção de Cultivares no Brasil / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. – Brasília: Mapa/ACS, 2011. p.27-33.

BARTH, S.; MELCHINGER, A. E.; LUBBERSTEDT, T. Genetic diversity in *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. Investigated by cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. **Molecular Ecology**, Reino Unido, v.11, n. 3, p. 495-505, 2002.

BELLON, G.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, K. P.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SANTOS, C. E.; BRAGA, M. F.; GUIMARÃES, C. T. Variabilidade genética de selvagem e comercial maracujá (*Passiflora edulis* Sims) acessos utilizando marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 124-127, 2007.

BERNACCI, L. C.; CERVI, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; NUNES, T. S., IMIG, D. C.; MEZZONATO, A. C. Passifloraceae. **Lista de Espécies da Flora do**

Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>.

BERNACCI, L. C.; SOARES-SCOTT, M. D.; JUNQUEIRA, N. T. V.; PASSOS, I. R. S.; MELETTI, L. M. M. *Passiflora edulis* SIMS: The correct taxonomic way to cite the yellow passion fruit (and of others colors). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 566-576, 2008.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores Moleculares**. 2 ed. Viçosa: UFV, 2009. 374 p.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 5 ed. Viçosa: UFV, 2009. 525 p.

BORGES, R. S.; SCARANARI, C.; NICOLI, A. M.; COELHO, R. R. Novas variedades: validação e transferência de tecnologia. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Ed.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 619-639.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Proteção de cultivares**. 2014. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/registros-autorizacoes/protecao-cultivares>. Consultado em 12 de maio de 2017.

BRAUN, H.; LOPES, J. C.; SOUZA, L. T.; SCHMILDT, E. R.; CAVATTE, R. P. Q.; CAVATTE, P. C. Germinação *in vitro* de sementes de beterraba tratadas com ácido giberélico em diferentes concentrações de sacarose no meio de cultura. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 539-546, 2010.

CARVALHO, M. A. F.; RENATO PAIVA, R.; VARGAS, D. P.; PORTO, J. M. P.; HERRERA, R. C.; STEIN, V. C. Germinação *in vitro* de *Passiflora gibertii* N. E. Brown com escarificação mecânica e ácido giberélico. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 1027-1032, 2012.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590 p.

CASTRO, J. A.; NEVES, C. G.; DE JESUS, O. N.; OLIVEIRA, E. J. Definition of morpho-agronomic descriptors for the characterization of yellow passion fruit. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 145, n. 1, p. 17-22, 2012.

CERVI, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; BERNACCI, C. Passifloraceae. **Lista de espécies da flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. Disponível em <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>.

COCKERHAM, C.C. Effects of linkage on the covariances between relatives. **Genetics**, Bethesda, v. 41, n. 1, p. 138-141, 1956.

COSTA, A. M.; TUPINAMBÁ, D. D. O maracujá e suas propriedades medicinais – estado da arte. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (eds.)

Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. 475-508 p.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** v. 2, ed. 2, Viçosa: Editora UFV, 2006. 144 p.

DELANOY, M.; VAN DAMMEA, P.; SCHELDEMAN, X.; BELTRAN, J. Germination of *Passiflora mollissima* (Kunth) L H Bailey, *Passiflora tricuspidata* Mast. And *Passiflora* nov sp. Seeds. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 110, n. 30, p. 198-203, 2006.

EMBRAPA. **Lançamento da cultivar de maracujazeiro silvestre BRS Pérola do Cerrado.** Disponível em: <<<http://www.cpac.embrapa.br/lancamentoperola/>>. Acesso em: 27 nov. 2017a.

EMBRAPA. **Lançamento Oficial da Cultivar de Maracujazeiro Silvestre BRS Sertão Forte (BRS SF).** Disponível em: <<http://www.cpac.embrapa.br/lancamentosertaoforte/>>. Acesso em: 20 jan. 2017b.

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

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Passion fruit (*Passiflora* spp.) improvement using wild species. In: MARIANTE, A. S.; SAMPAIO, M. J. A.; INGLIS, M. C. V. **The state of Brazil's plant genetic resources. Second National Report. Conservation and Sustainable Utilization for food and agriculture.** Brasília: Embrapa Technological Information. 2009, p. 101-106.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Recursos genéticos: conservação, caracterização e uso. In: FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M.; REIS JÚNIOR, F. B. **Biociência: estado da arte e aplicações na agropecuária.** Planaltina: Embrapa Cerrados, 2011b. p. 513-551.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro – desafios da pesquisa. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético.** Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005a, p. 187-210.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: demandas para a pesquisa.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2006, 54p.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. Maracujá: potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F.G., JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds.). **Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro – desafios da pesquisa.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. p.81-107. 2005b.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; COSTA, A. M. **Conservação e caracterização de espécies silvestres de maracujazeiro (*Passiflora***

spp.) e utilização potencial no melhoramento genético, como porta-enxertos, alimentos funcionais, plantas ornamentais e medicinais - resultados de pesquisa. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2012. (Documentos, Nº 312). 34p.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. Pré-melhoramento do maracujá. *In*: LOPES, M. A.; FAVERO, A. P.; FERREIRA, M. A. J. F.; FALEIRO, F. G.; FOLLE, S. M.; GUIMARÃES, E. P. (Eds.) **Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2011a. 550-570p.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. **Caracterização de germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro assistidos por marcadores moleculares: resultados de pesquisa 2005-2008**. Planaltina: Embrapa Cerrados, (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Nº 207), 2008. 59 p.

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

FERRAZ, R. A.; SOUZA, J. M. A.; SANTOS, A. M. F.; GONÇALVES, B. H. L.; REIS, L. L.; LEONEL, S. Efeitos de bioestimulante na emergência de plântulas de maracujazeiro ‘Roxinho do Kênia. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 6, p. 1787-1792, 2014.

FERREIRA, E. G. **Produção de fruteiras nativas**. Fortaleza: Instituto Frutal, 2005. 213 p.

FERREIRA, G.; COSTA, P. N.; FERRARI, T. B.; RODRIGUES, J. D.; BRAGA, J. F.; JESUS, F. A. Emergência e desenvolvimento de plântulas de maracujazeiro-azedo oriundas de sementes tratadas com bioestimulante. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 595-599, 2007.

FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J. M. Passifloraceae. *In*: KUBITZI, K. **The Families and Genera of Vascular Plants**. Berlin: Springer, v. IX, p. 270-281, 2007.

FOWLER, J. A. P.; BIANCHETTI, A. **Dormência em sementes florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. 27 p.

GANGA, R. M. D.; RUGGIERO, C.; LEMOS, E. G. M.; GRILI, G. V. G.; GONÇALVES, M. M.; CHAGAS, E. A.; WICKERT, E. Diversidade genética em maracujazeiro amarelo utilizando marcadores moleculares AFLP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 494-498, 2004.

GARDNER, O. G. Estimates of genetic parameters in cross fertilizing plants and their implications in plant breeding. *In*: Hanson, W.D.; Robinson, H.F. (Eds). **Statistical genetics and plant breeding**. Washington: National Academy of Science, 1963. p. 225-252.

GURUNG, N.; SWAMY, G. S. K.; SARKAR, S. K.; BHUTIAAND, S. O.; BHUTIA, K. C. Studies on seed viability of passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.). **Journal of Crop and Weed**, Nadia, v. 10, n. 2, p. 484-487, 2014.

ISSHIKI, S.; IWATA N.; KHAN, M.M.R. ISSR variations in eggplant (*Solanum melongenal*) and related *Solanum* species. **Science horticulturae**, Amsterdam, v. 117, n. 3, p. 186-190, 2008.

JESUS, O. N.; MARTINS, C. A. D.; MACHADO, C. F.; OLIVEIRA, E. J.; SOARES, T. L.; FALEIRO, F. G. et al. **Aplicação de descritores morfoagronômicos utilizados em ensaios de DHE de cultivares de maracujazeiro-doce, ornamental, medicinal, incluindo espécies silvestres e híbridos interespecíficos (*Passiflora* spp.)**. Manual prático. Ed. I, Brasília- DF: Embrapa, 45 p. 2015.

JUNGHANS, T. G.; VIANA, A. J. C.; JUNGHANS, D. T. Germinação *in vitro* e *ex vitro* de sementes de maracujá gibertii com e sem tegumento parcialmente removido. In: Congresso brasileiro de fruticultura, 19, 2006, Cabo Frio. **Anais...** Cabo Frio: SBF/UENF/ UFRuralRJ, 2006. 191 p.

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: Embrapa Cerrados, 2005, p.81-108.

JUNQUEIRA, N. T. V.; FALEIRO, F. G.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. Uso de espécies silvestres de *Passiflora* no pré-melhoramento do maracujazeiro. In: LOPES, M. A.; FÁVERO, A. P.; FERREIRA, M. A. J. F.; FALEIRO, F. G. (Eds.) **Curso Internacional de pré-melhoramento de plantas**. Brasília: Embrapa, 2006, p.133-137.

JUNQUEIRA, N. T. V.; LAGE, D. A. C.; BRAGA, M. D.; PEIXOTO, J. R.; BORGES, T. A.; ANDRADE, S. R. M. Reação a doenças e produtividade de um clone de maracujazeiro-azedo propagado por estaquia e enxertia em estacas herbáceas de *passiflora* silvestre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 97-100, 2006 a.

KHALIQ, I.; PARVEEN, N.; CHOWDHRY, M. A. Correlation and path coefficient analyses in bread wheat. **International Journal of Agriculture & Biology**, Pakistan, v. 6, n. 4, p. 633-635, 2004.

MAPA. **Proteção de cultivares**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/registros-autorizacoes/protecao-cultivares>>. Acessado em: 19 de junho de 2017.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.

MAROSTEGA, T. N.; CUIABANO, M. N.; RANZANI, R. E.; LUZ, P. B.; PAIVA SOBRINHO, S. Efeito de tratamento térmico na superação de dormência de sementes

de *Passiflora suberosa* L. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 31, n. 2, p. 445-450, 2015.

MARTINS, C. M.; VASCONCELLOS, M. A. S.; ROSSETTO, C. A. V.; CARVALHO, M. G. Prospecção fotoquímica do arilo de sementes de maracujá-amarelo e influência em germinação de sementes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 9, p.1934-1940, 2010.

MARTINS, M. R.; REIS, M. C.; MENDES NETO, J. A.; GUSMÃO, L. L.; GOMES, J. J. A. Influência de diferentes métodos de remoção do arilo na germinação de sementes de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. flavicarpa Deg.). **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, Uruguaiana, v. 13, n. 2, p. 28-38, 2006.

MARTINS, M.R.; OLIVEIRA, J.C.; DI MAURO, A.R.; SILVA, P.C. Avaliações de populações de maracujazeiro doce (*Passiflora alata* Curtis) obtidas de população aberta. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, p.111-114, 2003.

MELETTI, L. M. M.; BARBOSA, W.; VEIGA, R. F. A.; PIO, R. Crioconservação de sementes de seis acessos de maracujazeiro. **Scientia Agrária Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 6, n. 1-2, p. 13- 20, 2007.

MELETTI, L. Novas tecnologias melhoram a produção de mudas de maracujá. **O Agrônomo**, Campinas, n. 54, p. 30-33, 2002.

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**, Jaboticabal, v.25, p. 275-278, 2003.

MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A., BAUMGRATZ, J. F. A. *Passiflora* L. subgênero *decaloba* (DC.) Rchb. (Passifloraceae) na Região Sudeste do Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 55, n. 85, p. 17-54, 2004.

MIRANDA, D.; PEREA, M.; MAGNITSKIY, S. Propagacion de especies *Pasifloraceas*. In: MIRANDA, D.; FISCHER, G.; CARRANZA, C.; MAGNITSKIY, S.; CASIERRA, F.; PIEDRAHITA, W.; FLOREZ, L. E. **Cultivo, poscosecha y comercializacion de las pasifloraceas en Colombia: maracuya, granadilla, gulupa y curuba**. Eds. Bogota: Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas. 2009, p. 69-96.

MUSCHNER, V. C., ZAMBERLAN, P. M., BONATTO, S. L., FREITAS, L. B. Phylogeny, biogeography and divergence times in *Passiflora* (Passifloraceae). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.35, n. 4, p. 1036-1043, 2012.

NASS, L. L. Pré-melhoramento vegetal. In: LOPES, M. A.; FAVERO, A. P.; FERREIRA, M. A. J. F.; FALEIRO, F. G.; FOLLE, S. M.; GUIMARÃES, E. P. (Eds.) **Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2011. p. 25-38.

NEGREIROS, J. R. S.; ARAÚJO NETO, S. E.; ÁLVARES, V. S.; LIMA, V. A.; OLIVEIRA, T. K. Caracterização de frutos de progênies de meios-irmãos de maracujazeiro-amarelo em Rio Branco – Acre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 431-437, 2008.

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

NEVES, C. G.; JESUS, O. N.; LEDO, C. A. S.; OLIVEIRA, E. J. Avaliação agrônômica de parentais e híbridos de maracujazeiro-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 1, p. 191-198, 2013.

NOGUEIRA-FILHO, G. C.; RONCATTO, G.; RUGGIERO, C.; OLIVEIRA, J. C.; MALHEIROS, E. B. Propagação vegetativa do maracujazeiro – Conquista de novas adesões. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. p. 341-383.

NUNES, T. S., QUEIROZ, L. P. Uma nova espécie de *Passiflora* L. (Passifloraceae) para o Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 21, n. 2, p. 499-502, 2007.

OSIPI, E. A. F.; LIMA, C. B.; COSSA, C. A. Influência de métodos de remoção do arilo na qualidade fisiológica de sementes de *Passiflora alata* Curtis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, (Volume especial), p. 680-685, 2011.

OSPINA, J. A.; GUEVARA, C. L.; CAICEDO, L. E.; BARNEY, V. Effects of moisture on *Passiflora* seed viability after immersion in liquid nitrogen. In: ENGELMANN, F.; HIROKO, T. (eds.). **Cryopreservation of Tropical Plant Germplasm: Current research progress and application Japan International Research Center for Agricultural Sciences**. Tsukuba. 2000. p. 384-388.

PÁDUA, J. G.; SCHWINGEL, L. C.; MUNDIM, R. C.; SALOMÃO, A. N.; ROVERIJOSÉ, S. C. B. Germinação de sementes de *Passiflora setacea* e dormência induzida pelo armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n. 1 p. 080-085, 2011.

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

PEIXOTO, M. Problemas e perspectivas do maracujá ornamental. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005, p. 457-463.

PEREIRA, D. A.; CORRÊA, R. X.; OLIVEIRA, A. C. Molecular genetic diversity and differentiation of populations of ‘somnus’ passion fruit trees (*Passiflora setacea* DC):

Implications for conservation and pre-breeding. **Biochemical Systematics and Ecology**, Amsterdam, v. 59, n. p. 12-21, 2015.

PEREIRA, K. J. C.; DIAS, D. C. F. Germinação e vigor de sementes de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) submetidas a diferentes métodos de remoção da mucilagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n. 1, p.288-291, 2000.

PEREIRA, M. G.; PEREIRA, T. N. S.; PIO VIANA, A. Marcadores moleculares aplicados ao melhoramento do maracujazeiro. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds). **Maracujá- germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005, p. 277-292.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. B. **Genética na agropecuária**. 4. ed. Lavras: UFLA, 2008. 463 p.

REDDY, P. M.; SARLA, N.; ANDSIDDIQ, E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, Netherlands, v. 128, n. 1, p.9-17, 2002.

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. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 1, p. 51-57, 2011.

RONCATTO, G.; LENZA, J. B.; VALENTE, J. P.; FERREIRA, L. G.; DAMASCENO, M. A. P. Avaliação da germinação de espécies nativas de maracujazeiro. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 19, Cabo Frio. **Anais...** Cabo Frio: SBF/UENF/ UFRural-RJ, 2006, p.165.

ROSSETO, C. A. V.; CONEGLIAN, R. C. C.; NAKAGAWA, J. Germinação de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryand) em função de tratamento pré-germinativo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 247-252, 2000.

SANTOS, C. H. B.; CRUZ NETO, A. J.; JUNGHANS, T. G.; JESUS, O. N.; GIRARDI, E. A. Estádio de maturação de frutos e influência de ácido giberélico na emergência e crescimento de *Passiflora* spp. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 47, n. 3, p. 481-490, 2016.

SANTOS, F. C.; RAMOS, J. D.; PASQUAL, M.; REZENDE, J. C.; SANTOS, F. C.; VILLA, F. Micropropagação do maracujazeiro-do-sono. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n. 1, p. 112-117, 2010.

SANTOS, J.; VENCOVSKY, R. Correlação fenotípica e genética entre alguns caracteres agronômicos do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Prática**, Lavras, v.10, n.3, p.265-272, 1986.

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

SANTOS, T. M.; FLORES, P. S.; OLIVEIRA, S. P.; SILVA, D. F. P.; BRUCKNER, C. H. Tempo de armazenamento e métodos de quebra de dormência em sementes do maracujá-de-restinga. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, Viçosa, v. 2, n. 1, p. 26-31, 2012.

SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; COSTA, F. H. S. Conservação *in vitro* de recursos genéticos de plantas: estratégias, princípios e aplicações. In: BARRUETO CID, L. P. (Org.). **Cultivo *in vitro* de plantas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2010, p. 177-234.

SILVA, M. G. M.; VIANA, A. P.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; GONÇALVEZ, L. S. A.; REIS, R. V. Biometria aplicada ao melhoramento intrapopulacional do maracujazeiro amarelo. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 3, p. 493-499, 2012.

SIQUEIRA, D. L.; PEREIRA, W. E. Propagação. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado**. Porto Alegre: Editora Cinco Continentes, 2001, p. 85-137.

SOUSA, L. B.; SILVA, E. M.; GOMES, R. L. F.; LOPES, A. C. A.; SILVA, I. C. V. Caracterização e divergência genética de acessos de *Passiflora edulis* e *P. cincinnata* com base em características físicas e químicas de frutos, **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 3, p. 832-839, 2012.

SOUZA, A. D.; AOYAMA, E. M.; FURLAN, M. R. Tempo e condição de armazenamento das sementes na germinação e desenvolvimento de *Passiflora ligularis* Juss. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá, v. 8, n. 1, p. 181-192, 2015.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2ª Ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008, 640 p.

ULMER, T.; MACDOUGAL, J. M. **Passiflora: Passionflowers of the World**. Portland-Cambridge: Timber Press. 2004, 430 p.

VANDERPLANK, R. J. R. **Passion flowers**. 3ªed. Cambridge: The MIT Press. 2000, 224 p.

VASCONCELLOS, M. A. S.; SILVA, A. C., SILVA, A. C.; REIS, F. O. Ecofisiologia do Maracujazeiro e implicações na exploração diversificada. In: FABIO G. F.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds.), **Maracujá: Germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados. 2005, p. 295-313.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992, 496 p.

VIANA, A. J. C.; SOUZA, M. M. Identification of the pattern of heterochromatin distribution in *Passiflora* species with C-banding. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 3, p. 1908-1913, 2010.

VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SOUZA, M. M.; MALDONADO, F.; AMARAL JÚNIOR, A. T. Diversidade entre genótipos de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de passifloras determinada por marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 489-493, 2003.

VIEIRA, E. A.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; MARTINS, L. F.; BENIN, G.; SILVA, J. A. G.; KOPP, M. M.; HARTWIG, I.; CARVALHO, M. F.; VALÉRIO, I. P. Associação da distância genética em trigo estimada a partir de caracteres morfológicos, caracteres fenológicos e dos componentes do rendimento de grãos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 2, p. 161-168, 2007.

VILLELA, F. A.; PEREZ, W. B. Tecnologia de sementes – coleta, beneficiamento e armazenamento. In: FERREIRA, A. G. E BORGHETTI, F. (Coord.). **Germinação – do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 265-280.

WOLFF, S. **Subsídios ao IV Relatório Nacional para a Convenção sobre Diversidade Biológica - CDB: Diagnóstico sobre a Legislação Ambiental Brasileira**. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Secretaria de Biodiversidade e Florestas. Departamento de Conservação da Biodiversidade. 2009, 120p.

ZAIDAN, L. B. P.; BARBEDO, C. J. Quebra de dormência em sementes. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed. 2004, p. 135-146.

**CAPÍTULO 1. CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E DIVERSIDADE
GENÉTICA DE *Passiflora* spp. BASEADA EM DESCRITORES
MULTICATEGÓRICOS**

CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Passiflora* spp. BASEADA EM DESCRITORES MULTICATEGÓRICOS

Resumo: Neste trabalho, objetivou-se realizar a caracterização fenotípica e analisar a diversidade genética de acessos de *Passiflora* spp. baseada em descritores multicategóricos de folhas e flores. O estudo foi realizado no Banco Ativo de Germoplasma 'Flor da Paixão' da Embrapa Cerrados. Foram caracterizados 125 acessos de *Passiflora* spp. utilizando 48 descritores qualitativos multicategóricos (23 de folha e 25 de flor). Com base na distribuição de frequência dos acessos nas diferentes classes fenotípicas de cada descritor, foi estimado o coeficiente de entropia de cada descritor. Foram estimadas distâncias genéticas entre os acessos, por meio do complemento do índice de coincidência simples. A partir da matriz de distâncias genéticas, foi realizada a análise de agrupamento via dendrograma, utilizando como critério o método *Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages*. A caracterização fenotípica baseada em descritores multicategóricos contribuiu para a diferenciação dos 125 acessos de *Passiflora* spp., servindo como importante instrumento para quantificar a diversidade existente e clara separação entre as espécies, sendo importante para estudos mais completos de caracterização e diversidade de recursos genéticos do gênero *Passiflora*.

Palavras-chave: Banco de germoplasma, recursos genéticos, distância genética, Passifloraceae.

PHENOTYPIC CHARACTERIZATION AND GENETIC DIVERSITY OF *Passiflora* spp. USING QUALITATIVE MULTICATEGORIC DESCRIPTORS

Abstract: This study aimed to perform phenotypic characterization and to analyze the genetic diversity of *Passiflora* spp. accessions using qualitative multicategoric descriptors from leaves and flowers. The study was conducted in the Active Germplasm Bank 'Flor da Paixão' at Embrapa Cerrados. One hundred and twenty five *Passiflora* spp. accessions were characterized using 48 qualitative multicategoric descriptors (23 from sheet and 25 from flower). Frequency distribution of accesses on different phenotypic classes of each descriptor was used to estimate the entropy coefficient for each descriptor. Genetic distances between accessions were estimated using a simple coincidence index. From the genetic distance matrix, grouping analysis via dendrogram were performed using as criterion the Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic method Averages. Phenotypic characterization based on qualitative multicategoric descriptors contributed to the 125 *Passiflora* spp. accessions differentiation. These characterization serving as an important tool to quantify the existing diversity and accessions differentiation. It is important for more comprehensive studies of genetic diversity and characterization of *Passiflora* genetic resources.

Key words: Bank of germplasm, genetic resources, genetic distance, Passifloraceae.

1.1 INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* é considerado como o mais representativo da família Passifloraceae, com cerca de 500 espécies, a maioria das quais tem como centro de origem a América Tropical, das quais 139 estão dispersas no território brasileiro, colocando o Brasil, especificamente a Região Centro Norte do País entre os principais centros de diversidade genética do gênero (BERNACCI et al., 2013).

A diversidade genética é a distância genética entre populações, indivíduos ou organismos, tomando por base uma série de características, que podem ser morfoagronômicas, fisiológicas, bioquímicas, polimorfismo de DNA, entre outras (AMARAL JÚNIOR et al., 2010).

Apesar da ampla diversidade genética existente nas espécies do gênero *Passiflora*, as pesquisas com maracujazeiro estão sendo amplamente dirigidas às espécies cultivadas, especialmente a *P. edulis*, sabe-se que algumas espécies, não cultivadas, podem contribuir para os programas de melhoramento genético, por apresentarem diversas características desejadas no melhoramento, tais como: resistência a doenças e pragas, longevidade, adaptação a condições climáticas adversas, período de florescimento diferenciado e outras potencialidades. A maioria dessas ainda não foram exploradas (MELETTI, 2011) ou com ações de pesquisa e desenvolvimento ainda incipientes (FALEIRO et al., 2011).

A manutenção e a conservação da diversidade em bancos de germoplasma é de fundamental importância para o melhoramento genético, pela possibilidade de identificação de genes que podem conferir melhores características as espécies cultivadas (FALEIRO et al., 2011). Porém, para conhecimento e utilização dos materiais conservados é imprescindível que estes estejam caracterizados e avaliados.

Em um levantamento das demandas de pesquisa na cultura do maracujazeiro, Faleiro et al. (2006) indicaram a caracterização, domesticação e desenvolvimento dessas novas espécies como pontos prioritários para as pesquisas em maracujazeiros. Sendo a primeira etapa do processo de caracterização e avaliação, a elaboração dos descritores que deverá levar em consideração características morfológicas, agronômicas e moleculares entre outras (FALEIRO et al., 2006). Em vista do exposto acima, objetivou-se, neste trabalho, realizar a caracterização fenotípica e analisar a diversidade genética de acessos de *Passiflora* spp. baseada em descritores multicategóricos de folhas e flores.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) ‘Flor da Paixão’ na Embrapa Cerrados, em Planaltina-DF. Foram caracterizados 125 acessos de *Passiflora* spp. (Tabela 1). As plantas de cada acesso conservadas em campo, foram clonadas via estaquia para produção das mudas. Três plantas de cada acesso são cultivadas em vasos dentro da estufa telada e conduzidas no sistema de espaldeira vertical, seguindo as recomendações técnicas da cultura quanto à adubação, irrigação e controle fitossanitário.

Os acessos 125 caracterizados neste estudo, foram cadastrados na Plataforma Alelo (<http://alelo.cenargen.embrapa.br/>), e toda a caracterização realizada nesse estudo foi inserida na plataforma e está disponível para que qualquer usuário possa acessar.

Tabela 1. Descrição dos 125 acessos de *Passiflora* spp. caracterizados no estudo, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016.

ACESSO	NOME CIENTÍFICO	CÓDIGO LOCAL
1	<i>Passiflora galbana</i> Mast., 1896	CPAC MJ-06-03
2	<i>Passiflora edulis</i> Sims, 1818 (amarelo nativo)	CPAC MJ-21-06
3	<i>Passiflora cervii</i> M.A.M.Azevedo, 2008	CPAC MJ-84-01
5	<i>P. eichleriana</i> Mast. 1872 x <i>P. gibertii</i> N.E.Br., 1894	CPAC MJ-23-01
6	<i>Passiflora alta</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-21
7	<i>Passiflora sidifolia</i> M. Roem., 1846	CPAC MJ-16-01
8	<i>Passiflora edulis</i> Sims, 1818 (amarelo nativo)	CPAC MJ-21-07
11	<i>Passiflora galbana</i> Mast., 1896	CPAC MJ-06-04
12	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-22
14	<i>Passiflora suberosa</i> L., 1753	CPAC MJ-35-01
15	<i>Passiflora nitida</i> Kunth, 1817	CPAC MJ-01-21
16	<i>Passiflora sidifolia</i> M. Roem., 1846	CPAC MJ-16-02
21	<i>Passiflora quadrangularis</i> Triana & Planch, 1873	CPAC MJ-07-03
22	<i>Passiflora vitifolia</i> Kunth., 1817	CPAC MJ-46-02
23	<i>Passiflora tholozanii</i> Sacco, 1967	CPAC MJ-65-01
24	<i>P. quadrangularis</i> x <i>P. alata</i>	CPAC MJ-H-44
25	<i>Passiflora coccinea</i> Aubl., 1775	CPAC MJ-08-05
27	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-16
30	<i>Passiflora quadrangularis</i> Triana & Planch, 1873	CPAC MJ-07-04
31	<i>Passiflora galbana</i> Mast., 1896	CPAC MJ-06-05
32	<i>Passiflora nitida</i> Kunth, 1817	CPAC MJ-01-03
33	<i>Passiflora nitida</i> Kunth, 1817	CPAC MJ-01-10
34	<i>Passiflora mucronata</i> Lam., 1789	CPAC MJ-10-04
35	<i>Passiflora coccinea</i> Aubl., 1775	CPAC MJ-08-03

37	<i>P. coccinea</i> X <i>P. setacea</i> DC., 1828	CPAC MJ-H-36
39	<i>Passiflora</i> x <i>decaisneana</i> G. Nicholson	CPAC MJ-60-01
41	<i>Passiflora junquerae</i> Imig & Cervi, 2014	CPAC MJ-02-16S
44	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-09
45	<i>Passiflora tholozanii</i> Sacco, 1967	CPAC MJ-65-02
47	<i>Passiflora mucronata</i> Lam., 1789	CPAC MJ-10-05
49	<i>Passiflora galbana</i> Mast., 1896	CPAC MJ-06-06
51	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-17S
54	<i>Passiflora coccinea</i> Aubl., 1775	CPAC MJ-08-02
55	<i>Passiflora coccinea</i> Aubl., 1775	CPAC MJ-08-01
57	<i>Passiflora mucronata</i> Lam., 1789	CPAC MJ-10-06
59	<i>P. quadrangularis</i> x <i>P. alata</i>	CPAC MJ-H-44S
60	<i>Passiflora rubra</i> L., 1753	CPAC MJ-69-01
61	<i>Passiflora micropetala</i> Mart. ex. Mast., 1872	CPAC MJ-41-01
62	<i>Passiflora alta</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-23
63	<i>Passiflora amethystina</i> J. C. Mikan, 1820	CPAC MJ-13-05
66	<i>Passiflora suberosa</i> L., 1753	CPAC MJ-35-01S
67	<i>Passiflora cerradensis</i> Sacco, 1971	CPAC MJ-45-01
68	<i>Passiflora quadriglandulosa</i> Rodschied, 2003	CPAC MJ-62-01
71	<i>Passiflora morifolia</i> Mast., 1872	CPAC MJ-48-01
76	<i>Passiflora amethystina</i> J. C. Mikan, 1820	CPAC MJ-13-06
78	<i>Passiflora amethystina</i> J. C. Mikan, 1820	CPAC MJ-13-07
79	<i>P. edulis</i> X <i>P. gardneri</i> Mast., 1872	CPAC MJ-H-48
80	<i>Passiflora suberosa</i> L., 1753	CPAC MJ-35-01S
81	<i>Passiflora laurifolia</i> L., 1753	CPAC MJ-03-01
82	<i>Passiflora biflora</i> Lam., 1789	CPAC MJ-71-01
83	<i>Passiflora amethystina</i> J. C. Mikan, 1820	CPAC MJ-13-08
84	BRS Roseflora X <i>P. incarnata</i> Ker Gawl., 1818	CPAC MJ-H-47
87	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-24
89	<i>Passiflora galbana</i> Mast., 1896	CPAC MJ-06-07
90	<i>Passiflora hatschbachii</i> Cervi, 1994	CPAC MJ-50-01
91	<i>P. mucronata</i> X <i>P. edulis</i>	CPAC MJ-01-19
95	<i>Passiflora gardneri</i> Mast., 1872	CPAC MJ-39-04
96	<i>P. mucronata</i> X <i>P. edulis</i>	CPAC MJ-H-45
97	<i>Passiflora tholozanii</i> Sacco, 1967	CPAC MJ-65-03
99	<i>Passiflora foetida</i> L., 1753	CPAC MJ-28-03
100	<i>Passiflora amethystina</i> J. C. Mikan, 1820	CPAC MJ-13-09
101	BRS Céu do Cerrado	BRS CC
108	<i>Passiflora galbana</i> Mast., 1896	CPAC MJ-06-08
110	<i>Passiflora caerulea</i> L., 1753	CPAC MJ-14-03
112	<i>Passiflora malacophylla</i> Mast., 1872	CPAC MJ-43-02
115	<i>P. speciosa</i> Gardner X <i>P. coccinea</i>	CPAC MJ-H-52
118	<i>P. speciosa</i> X <i>P. coccinea</i>	CPAC MJ-H-52
121	<i>P. coccinea</i> X <i>P. alata</i>	CPAC MJ-H-67

122	BRS Rubiflora	BRS Rubiflora
123	BRS Rubiflora	BRS Rubiflora
124	BRS Rubiflora	BRS Rubiflora
126	<i>Passiflora racemosa</i> Brot., 1818	CPAC MJ-76-01
130	<i>P. kermesina</i> Link & Otto, 1826 X <i>P. loefgrenii</i> Vitta, 1997	CPAC MJ-H-68
131	<i>Passiflora hatschbachii</i> Cervi, 1994	CPAC MJ-50-01
132	<i>Passiflora trintae</i> Sacco, 1968	CPAC MJ-40-02
133	<i>Passiflora tholozanii</i> Sacco, 1967	CPAC MJ-65-01
134	<i>Passiflora speciosa</i> Gardner X ?	CPAC MJ-H-?
136	<i>Passiflora edulis</i> Sims 1818 (seleção Cerrado)	CPAC MJ-M-07
138	<i>Passiflora edulis</i> Sims, 1818	CPAC MJ-M-14
139	BRS Estrela do Cerrado	BRS Estrela do Cerrado
142	BRS Roseflora	BRS Roseflora
143	BRS Céu do Cerrado	BRS CC
145	<i>Passiflora triloba</i> Ruiz e Pav. ex. DC., 1828	CPAC MJ-78-01
146	<i>Passiflora foetida</i> L., 1753	CPAC MJ-28-04
147	<i>Passiflora nitida</i> Kunth, 1817	CPAC MJ-01-14
148	<i>Passiflora vespertilio</i> L., 1753	CPAC MJ-79-01
149	<i>Passiflora edulis</i> Sims, 1818 (amarelo nativo)	CPAC MJ-21-07
152	<i>P. loefgrenii</i> X <i>P. junqueirae</i>	CPAC MJ-H-70
155	<i>Passiflora edulis</i> Sims, 1818	CPAC MJ-M-08
157	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-03
159	<i>Passiflora trintae</i> Sacco, 1968	CPAC MJ-40-03
162	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-09
163	<i>Passiflora edulis</i> Sims, 1818	CPAC MJ-M-17
164	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-06
165	<i>P. eichleriana</i> X <i>P. gibertii</i>	CPAC MJ-H-71
166	<i>Passiflora phoenicea</i> Lindl., 1833	CPAC MJ-53-01
170	<i>Passiflora hatschbachii</i> Cervi, 1994	CPAC MJ-50-01
172	<i>Passiflora mucronata</i> Lam., 1789	CPAC MJ-10-07
174	<i>Passiflora loefgrenii</i> Vitta, 1997	CPAC MJ-81-01
175	<i>Passiflora phoenicea</i> X <i>Passiflora alata</i>	CPAC MJ-H-72
178	<i>Passiflora edulis</i> Sims, 1818	CPAC MJ-M-18
179	<i>Passiflora pohlii</i> Mast.	CPAC MJ-38-01
181	<i>Passiflora edulis</i> Sims, 1818	CPAC MJ-M-19
182	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-16
183	<i>Passiflora edulis</i> Sims, 1818	CPAC MJ-M-20
186	<i>Passiflora cincinnata</i> Mast., 1868	CPAC MJ-26-03
189	<i>Passiflora mucronata</i> Lam., 1789	CPAC MJ-10-01
192	<i>Passiflora edulis</i> Sims, 1818 (roxo jaboticaba)	CPAC MJ-M-21
194	<i>Passiflora racemosa</i> Brot., 1818	CPAC MJ-76-02
195	<i>Passiflora maliformis</i> Vell., 1831	CPAC MJ-58-01
197	<i>Passiflora quadriglandulosa</i> Rodschied., 2003	CPAC MJ-62-02

202	<i>Passiflora vitifolia</i> Kunth, 1817	CPAC MJ-46-01
204	<i>Passiflora bahiensis</i> Klotzsch, 1840	CPAC MJ-59-01
210	<i>Passiflora foetida</i> L., 1753	CPAC MJ-28-05
216	<i>Passiflora glandulosa</i> Cav., 1790	CPAC MJ-05-01
217	<i>Passiflora speciosa</i> Gardner x ?	CPAC MJ-H-?
219	<i>Passiflora quadriglandulosa</i> Roodschied., 2003	CPAC MJ-62-02
220	<i>Passiflora hatschbachii</i> Cervi, 1994	CPAC MJ-50-02
222	<i>Passiflora edulis</i> Sims, 1818	CPAC MJ-M-23
223	<i>Passiflora foetida</i> L., 1753	CPAC MJ-28-06
224	<i>Passiflora racemosa</i> Brot., 1818	CPAC MJ-76-03
228	<i>Passiflora suberosa</i> L., 1753	CPAC MJ-35-02
231	<i>Passiflora racemosa</i> Brot., 1818	CPAC MJ-76-04
232	<i>Passiflora triloba</i> Ruiz & Pav. ex DC., 1828	CPAC MJ-78-02
233	<i>Passiflora edulis</i> Sims, 1818	CPAC MJ-M-24

Foram avaliados em cada acesso, 48 descritores qualitativos (categóricos), sendo 23 para características de folhas e 25 para flores, os quais estão descritos nas Tabelas 2 e 3, respectivamente. Os 48 descritores foram avaliados com base nas estruturas encontradas no terço médio de cada planta. A definição da classe fenotípica de cada descritor foi baseada na avaliação de pelo menos 12 folhas e flores de três plantas de cada acesso.

Todos os descritores morfoagronômicos utilizados neste estudo, assim como os 125 acessos de *Passiflora* spp. caracterizados, foram inseridos na Plataforma Alelo (<http://alelo.cenargen.embrapa.br/>), e estão disponíveis para que qualquer usuário possa acessar. Todos os descritores estão ilustrados dentro da Plataforma Alelo, para que os usuários interessados em caracterização possam utilizar tais descritores, ou mesmo, os usuários que queiram comparar os seus acessos ou seus resultados de caracterização.

Com base na distribuição de frequência dos acessos nas diferentes classes fenotípicas de cada descritor, foi estimada a entropia para cada descritor por meio do coeficiente de entropia de Shannon, utilizando a fórmula:

$$H = - \sum_{i=1}^s p_i \ln p_i, \text{ onde:}$$

H= entropia de n acessos em s classes fenotípicas do descritor considerado;

$p_i = f_i/n$ sendo: $p_1 = f_1/n$ e $(p_1 + p_2 + \dots + p_s = 1)$ desde que $(n = f_1 + f_2 + \dots + f_s)$, onde f_1, f_2, \dots, f_n , correspondem ao número de acessos em cada uma das classes fenotípicas (s) do descritor considerado.

O cálculo da estimativa da entropia foi realizado com o auxílio do programa

Multiv v.2.3 (PILLAR, 1997). A entropia de um determinado descritor será tão maior quanto maior for o número de classes fenotípicas desse e quanto mais equilibrada for a distribuição de frequência dos acessos nas diferentes classes fenotípicas. Ou seja, para um descritor morfológico com duas classes fenotípicas, a maior entropia ocorrerá quando ambas as classes apresentarem 50 % dos acessos avaliados.

As distâncias genéticas entre os 125 acessos de *Passiflora* spp. foram calculadas com base em todos os 48 descritores morfoagronômicos. As estimativas foram baseadas no complemento do índice de coincidência simples calculado com auxílio do programa computacional Genes (CRUZ, 2013). Com base nas matrizes de distâncias genéticas foram realizadas análises de agrupamento dos acessos via dendrograma, utilizando como critério o método da ligação média entre grupos não ponderados, UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages*), com auxílio do programa computacional Statistica (STATSOFT INC., 2005).

Após a obtenção dos descritores morfoagronômicos, foi feita a fotodocumentação dos acessos mantidos no Banco Ativo de Germoplasma 'Flor da Paixão'. A fotodocumentação foi realizada com intuito de manter um arquivo fotográfico digital dos acessos, para utilização em caso de dúvidas sobre a morfologia, coloração e formato das flores e folhas, entre outras características das espécies conservadas na Embrapa Cerrados. Essa etapa foi realizada dando ênfase, sempre que possível, ao botão floral, à flor, à folha e ao ramo. Assim, como os acessos, os descritores utilizados e a caracterização realizada, o trabalho de fotodocumentação foi inserido na Plataforma Alelo (<http://alelo.cenargen.embrapa.br/>), e todas as fotos dos acessos estão disponíveis para os usuários.

Além da fotodocumentação, foi realizada a herborização dos acessos de *Passiflora* spp. As amostras destinadas à confecção das exsiccatas foram retiradas da planta de origem com auxílio de uma tesoura de poda e herborizadas conforme as técnicas descritas por Rotta et al. (2008).

Além da documentação botânica através de amostras retiradas para confecção das exsiccatas, foram assinaladas informações a respeito de algumas das características de cada acesso, como: nome da família, nome científico, nome comum, hábito de crescimento e coloração de flor.

O material coletado foi identificado e devidamente etiquetado em campo, prensado e foi seco em estufa à temperatura média de 60 °C. Em seguida, o material foi devidamente herborizado, etiquetado, fotodocumentado e depositado no Herbário da

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CEN). Os acessos de *Passiflora* spp. armazenados no herbário CEN, podem ser consultados no site (<http://www.splink.org.br/>), esse é de livre acesso, o qual pode ser acessado de qualquer lugar, desde que se possua um dispositivo ligado à internet. Nesse site pode-se ter acesso as exsicatas fotodocumentadas e as informações de cada material como: família, nome científico, determinador da espécie, nome popular, como coletor, local e data de coleta, hábito de crescimento e outras observações, além dos dados do herbário onde o material encontra se depositado.

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os descritores avaliados em folhas e flores de *Passiflora* spp., alguns apresentaram elevados níveis de entropia, sendo muito úteis para a caracterização de recursos genéticos. Para os descritores de folha, o formato da folha (FOF) foi o descritor que mais se destacou dos demais, alcançando um valor de entropia de 1,88 (Tabela 2). O valor de entropia apresentado pelo descritor profundidade do sinus (PRS) de 1,17 foi bem maior do que o valor apresentado pela mesma característica em estudo realizado por Jesus et al. (2014a), que obteve valor de 0,66 de entropia.

Tabela 2. Descritores das folhas e respectivas classes fenotípicas ou categorias, frequência de distribuição (%) e níveis de entropia de Shannon (NE) dos 125 acessos de *Passiflora* spp. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016.

Descritores de Folha	Categorias	Frequência (%)	NE
CRA: Coloração do Ramo	1-Verde-clara	35,20	1,07
	2- Verde-escura;	4,80	
	3- Verde-arroxeadada	51,20	
	4-Roxa	8,80	
PAR: Presença de antocianina nos ramos	1-Ausente	29,60	1,20
	2-Pouca	36,80	
	3-Média	30,40	
	4-Alta	3,20	
CLF: Comprimento do Limbo Foliar	1-Curto (< 8 cm)	22,40	0,83
	5-Médio (8-15 cm)	67,20	
	7-Longo (> 15 cm)	10,40	
LMF: Largura Máxima da Folha	3-Estreita (< 8 cm)	39,20	0,99
	5-Média (8-15 cm)	47,20	
	7-Larga (> 15 cm)	13,60	
PRS: Profundidade dos Sinus	1-Ausente	50,40	1,17
	3-Rasa	16,80	
	5-Média	26,40	
	7-Profunda	6,40	
FOF: Formato da Folha	1-Lanceolada	8,80	1,88
	2-Ovada	13,60	
	3-Cordada	8,80	

	4-Oblonga	4,80	
	5-Elíptica	12,80	
	6-Fendida	32,00	
	7-Partida	16,80	
	8-Seccionada	0,00	
MFO: Mancha na folha	1-Ausente	96,00	0,17
	2-Presente	4,00	
BLF: Bordas do limbo foliar	1-Não-serrilhadas	42,40	1,08
	2-Pouco-serrilhadas	27,20	
	3-Serrilhada	30,40	
PPF: Presença de pilosidade na folha	1-Ausente	73,60	0,58
	2-Presente	26,40	
DLF: Divisão do limbo foliar	1-Simples	51,20	0,91
	2-Bilobada	4,00	
	3-Trilobada	40,80	
	4-Pentalobada	0,80	
	5-Heptalobada	0,80	
FBF: Forma bulada do limbo foliar	1-Ausente	84,80	0,43
	2-Presente	15,20	
PHE: Presença de heterofilia	1-Ausente	77,60	0,53
	2-Presente	22,40	
COF: Coloração da folha	1-Verde-clara	12,00	0,95
	2-Verde	68,80	
	3-Verde-escura	12,80	
	4-Outra	6,40	
FBF: Forma da base foliar	1-Arredondada	17,60	1,61
	2-Truncada	0,80	
	3-Atenuada	14,40	
	4-Subcordada	28,00	
	5-Cordada	16,00	
	6-Sagitada	0,00	
	7-Hastada	23,20	
	8-Águda	0,00	
FAF: Forma do ápice foliar	1-Arredondado	14,40	1,38
	2-Atenuado	49,60	
	3-Cuspidado	15,20	
	4-Acuminado	10,40	
	5-Agudo	10,40	
FMF: Formato da margem foliar	1-Inteira	33,60	0,87
	2-Repanda	5,60	
	3-Dentada	0,80	
	4-Serreada	60,00	
	5-Sinuada	0,00	
PES: Presença de estípulas	1-Ausente	76,80	0,54
	2-Presente	23,20	
PNE: Presença de Nectários	1-Ausente	55,20	0,69
	2-Presente	44,80	
NNE: Número de Nectários	0-Nenhum	54,40	1,00
	1-Pouco (1-2)	0,00	
	2-Mediano (>2-4)	20,00	
	3-Elevado (>4)	25,60	
PON: Posição dos Nectários	0-Ausente	54,40	0,82
	1-Basilaminar	0,00	
	2-Laminar	4,00	
	3-Marginal	41,60	
	4-Nerviaxilar	0,00	
	5-Apical	0,00	
COP: Comprimento do Pecíolo	3-Curto (< 2 cm)	25,60	0,92

	5-Médio (2-4 cm)	60,80	
	7-Longo (> 4 cm)	13,60	
NNP: Número de Nectários no Pecíolo	0-Nenhum	4,00	1,06
	1-Pouco (1-2)	58,40	
	2-Mediano (>2-4)	22,40	
	3-Elevado (>4)	15,20	
PNP: Posição dos nectários no pecíolo	0-Ausente	4,00	1,47
	1-Adjacente ao limbo foliar	19,20	
	2-Próximo ao meio do pecíolo	20,80	
	3-Adjacente à inserção da folha no ramo	21,60	
	4-Distribuídos ao longo do pecíolo	34,40	

O descritor posição dos nectários no pecíolo (PNP) apresentou valor de entropia de 1,47, indicando que essa característica é muito importante para diferenciação de *Passiflora* spp., pois os 125 acessos avaliados ficaram bem distribuídos nas cinco categorias desse descritor. Segundo Cervi (1997), Milward e Valente (2004) geralmente as plantas do gênero *Passiflora* apresentam nectários no pecíolo.

Na tabela 3, para os descritores das flores, o maior valor de entropia foi observado para a variável coloração predominante do perianto (CPP) 1,51; esse foi maior do que o valor observado por Jesus et al. (2014a), de 1,25. O menor valor de entropia observado nos descritores das flores foi apresentado pela característica presença de antocianina no dorso da antera (PAA), sendo de 0,09.

Tabela 3. Descritores das flores e respectivas classes fenotípicas ou categorias, frequência de distribuição (%) e níveis de entropia de Shannon (NE) dos 125 acessos de *Passiflora* spp. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016.

Descritores da flor	Categorias	Frequência (%)	NE
PAB: Presença de antocianina nas brácteas do botão floral	1-Ausente	52,80	1,23
	2-Pouca	20,00	
	3-Média	3,20	
	4-Alta	19,20	
PAS: Presença de antocianina nas sépalas dos botões florais	1-Ausente	59,20	1,14
	2-Pouca	12,00	
	3-Média	9,60	
	4-Alta	18,40	
FHP: Formato do hipanto	1-Aplanada	21,60	1,00
	2-Campanulada	55,20	
	3-Cilíndrica	23,20	
NFN: Número de flor por nó	1-Reduzido (1 flor)	89,60	0,40
	2-Médio (2-4 flores)	6,40	
	3-Grande (>4 flores)	4,00	
CBR: Comprimento da bráctea	0-Ausente	0,00	1,22
	3-Curto (< 2 cm)	4,00	
	5-Médio (2-4 cm)	36,00	
	7-Longo (> 4 cm)	16,80	
PNB: Presença de nectários na bráctea	1-Ausente	25,60	0,80

	2-Presente	67,20	
NNB: Número de nectários na bráctea	0-Nenhum	25,60	
	1-Pouco (1)	0,80	1,31
	2-Mediano (2-4)	33,60	
	3-Elevado (>4)	32,80	
CSE: Comprimento da sépala			
	3-Curto (< 3 cm)	32,00	
	5-Médio (3-6 cm)	60,80	0,86
	7-Longo (>6 cm)	7,20	
LSE: Largura da sépala			
	3-Estreita (< 1 cm)	35,20	
	5-Média (1-2 cm)	52,00	0,97
	7-Larga (> 2 cm)	12,80	
PNS: Presença de nectários na sépala			
	1-Ausente	97,60	
	2-Presente	2,40	0,11
NNS: Número de nectários na sépala			
	0-Nenhum	97,60	
	1-Pouco (1)	0,00	0,13
	2-Mediano (2-4)	0,80	
	3-Elevado (>4)	1,60	
DEC: Diâmetro da extremidade da coroa			
	3-Pequeno (< 5 cm)	82,40	
	5-Médio (5-10 cm)	17,60	0,46
	7-Grande (>10 cm)	0,00	
BFC: Bandeamento (anéis de cores diferente entre si) nos filamentos mais longos da coroa			
	1-Ausente	50,40	
	2-Presente	49,60	0,69
CAC: Coloração predominante dos filamentos dos anéis da coroa (exceto a cor branca)			
	0-Branca	0,00	
	1-Rosa	16,00	
	2-Roxa	28,80	1,41
	3-Verde	3,20	
	4-Outra	14,40	
LAC: Comprimento dos anéis do filamento da coroa			
	0-Ausente	30,40	
	3-Estreita (< 1,0 cm)	32,80	1,35
	5-Média (1,0-1,5 cm)	20,00	
	7-Larga (> 1,5 cm)	16,80	
CPE: Comprimento da pétala			
	0-Ausente	3,20	
	3-Curto (< 3 cm)	29,60	0,87
	5-Médio (3-6 cm)	64,00	
	7-Longo (>6 cm)	3,20	
CFO: Coloração do filamento do opérculo			
	1-Ausente	68,00	
	2-Branco	16,00	
	3-Branco + rosa	0,00	0,93
	4-Branco + roxo	12,80	
	5-Roxa	3,20	
FLFLC: Filamentos mais longos da coroa			
	1-Lisos	62,40	0,66
	2-Ondulados	37,60	
PPA: Período predominante da antese			
	1-Matutino	84,80	
	2-Vespertino	12,00	0,50
	3-Noturno	3,20	
CPP: Coloração predominante no perianto (pétalas e sépalas) região interna			
	1-Branca	43,20	
	2-Rosada	7,20	
	3-Vermelha	30,40	
	4-Vermelho-arroxeadada	2,40	1,51
	5-Roxa	2,40	
	6-Lilás	3,20	
	7-Azul arroxeadada	8,00	
	8-Outro	3,20	
NAC: Número de anéis coloridos (excluindo brancos) nos filamentos da coroa			
	0-Nenhum	28,20	
	1-Um	31,20	1,09
	2-Mais de um	40,00	
PAF: Presença de antocianina no filete			
	1-Ausente	26,40	1,20

	2-Poucos pontos	47,20	
	3-Muitos pontos	20,00	
	4-Outros	6,40	
PAE: Presença de antocianina no estilete	1-Ausente	24,00	
	2-Poucos pontos	50,40	1,19
	3-Muitos pontos	18,40	
	4-Outros	7,20	
PAA: Presença de antocianina no dorso da antera	1-Ausente	98,40	
	2-Poucos pontos	0,80	0,09
	3-Muitos pontos	0,80	
	4-Outros	0,00	
PAG: Presença de antocianina: androginóforo	1-Ausente	39,20	
	2-Poucos pontos	38,40	1,21
	3-Muitos pontos	15,20	
	4-Outros	7,20	

Pela matriz de similaridade (dados não mostrados) os acessos de BRS Estrela do Cerrado e do híbrido entre as espécies *P. kermesina* x *P. loefgrenii* apresentaram a maior distância genética observada, 0,78.

Pela análise de agrupamento dos 125 acessos de *Passiflora* spp. utilizando os 48 descritores analisados, considerando como ponto de corte a distância genética de 0,50 (média das distâncias genéticas), verificou-se a formação de sete grandes grupos de similaridade, e considerando a metade dessa distância (0,25) temos a formação de 39 subgrupos de similaridade (Figura 1).

No primeiro grande grupo estão contidos 11 subgrupos, o primeiro subgrupo foi formado pelos acessos da espécie *P. galbana*, o segundo da espécie *P. mucronata*, o terceiro subgrupo é formado pelos acessos da espécie *P. alata* juntamente com os acessos de *P. laurifolia*, *P. decaisneana* e *P. phoenicea*, essas espécies são espécies muito próximas fenotipicamente, apresentam o mesmo tipo de folha e também o tamanho e a forma das flores são muito semelhantes. O quarto subgrupo foi formado pelos acessos de *P. quadrangularis*; no quinto ficaram os acessos oriundos do cruzamento entre *P. quadrangularis* x *P. alata*. Os acessos de *P. nitida* formaram o sexto subgrupo. O acesso de *P. maliformis* sozinho formou o sétimo subgrupo. O oitavo subgrupo foi formado pelos acessos oriundos do cruzamento das espécies *P. mucronata* x *P. edulis*. O nono e o décimo subgrupo foram formados pelos acessos das espécies *P. malacophylla* e *P. bahiensis*, respectivamente. E o último subgrupo, décimo primeiro, foi formado pelos acessos de *P. triloba*.

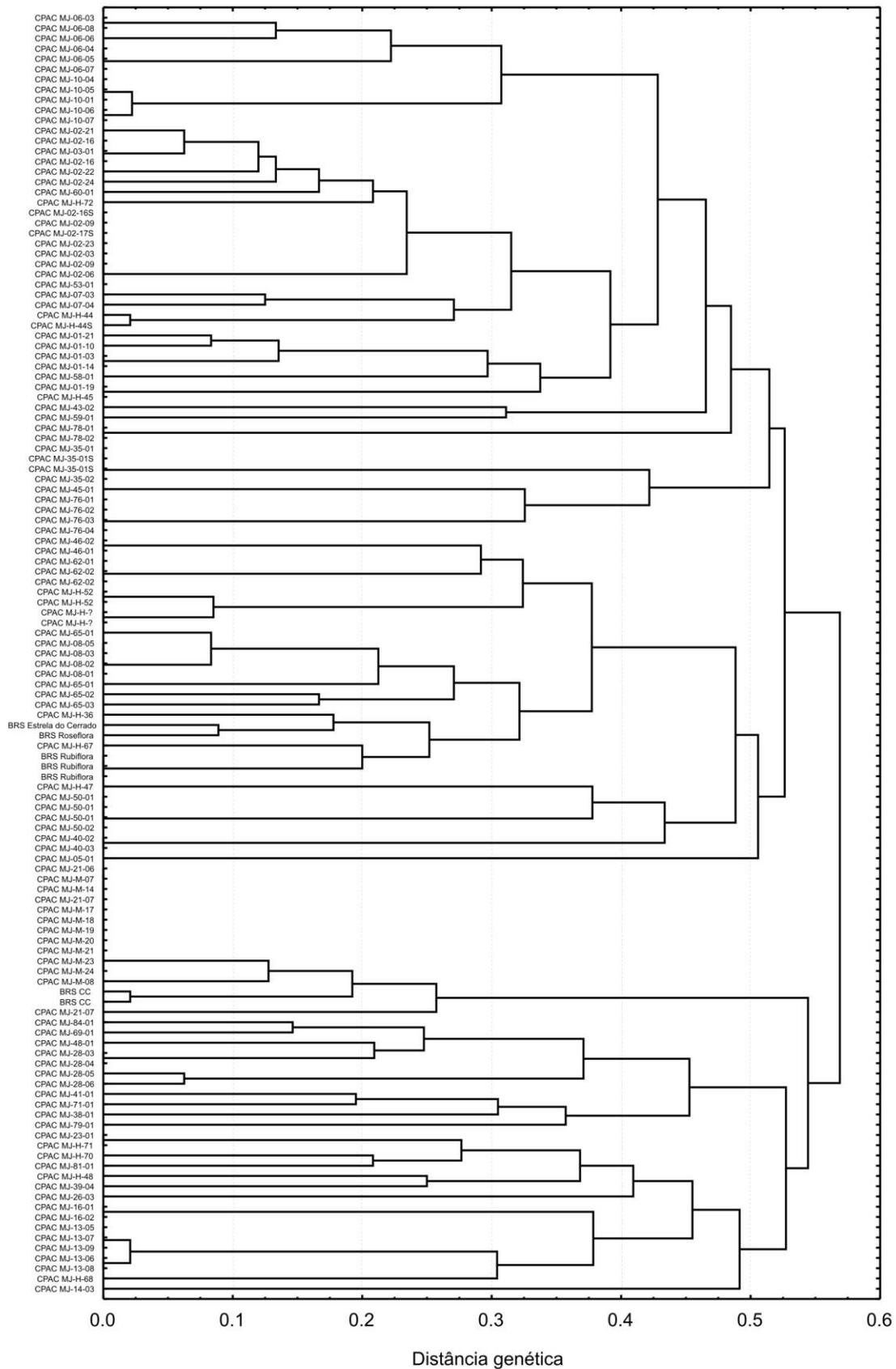


Figura 1. Análise de agrupamento de 125 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 48 descritores morfoagronômicos. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016.

Todos os acessos contidos no primeiro grande grupo, são espécies que apresentam folhas simples, e algumas espécies apresentam grande similaridade no tamanho e forma das flores, como *P. alata*, *P. decaisneana*, *P. phoenicea*, *P. quadrangularis*, *P. nitida*, *P. maliformis* e *P. triloba*. E algumas apresentam flores de cor branca, como *P. galbana*, *P. mucronata* e *P. nitida*, sendo que as duas primeiras apresentam grande similaridade no tamanho e forma das flores, além de apresentarem período de antese noturno.

O segundo grande grupo foi formado por três subgrupos, sendo o primeiro formado pelos acessos da espécie *P. suberosa*, o segundo foi formado pelo acesso da espécie *P. cerradensis*; os acessos de *P. racemosa* formaram o terceiro subgrupo. Esse grande grupo apresenta como similaridade o período matutino de antese, mais de uma flor por nó, sendo as espécies *P. racemosa* e *P. cerradensis* apresentam as flores sustentadas em um racemo terminal. As espécies *P. suberosa* e *P. racemosa* apresentam grande similaridades na forma das folhas, na coloração dos filamentos da corona, esses se apresentam de cor verde claro e não apresentam pigmentos de antocianina no filete, dorso da antera ou no androginóforo.

Os descritores morfoagronômicos utilizados foram capazes de diferenciar os subgêneros *Decaloba* e *Passiflora*, bem como separar de forma clara as espécies mais próximas. Resultado semelhante foi obtido por Tangarife et al. (2009), ao realizarem a caracterização morfológica de 21 espécies do gênero *Passiflora*, incluindo três subgêneros. Este estudo permitiu distinguir os subgêneros de forma semelhante à da classificação taxonômica, sendo as variáveis relacionadas com a flor as que mais contribuíram para a separação das espécies.

Todos os acessos que formaram o terceiro grande grupo tem similaridades no tamanho das folhas, comprimento do pecíolo, no tamanho e forma das flores, com diferenças na tonalidade das mesmas, todas de cores vermelhas ou rosadas, exceto os acessos de *P. hatschbachii*, que apresentam flores de cor branca com o dorso das sépalas com muitos pontos de antocianina; porém todos os acessos do grupo apresentam antese matutina e os filamentos da corona são bem similares.

A presença de uma corona de filamentos é outra característica marcante da família Passifloraceae. De acordo com Ulmer e Macdougall (2004), a corona possui cor e forma variáveis, e se encontra entre o androginóforo e o perianto. Esta é constituída de

uma fina membrana que forma algumas séries de simples filamentos, habitualmente bandeados horizontalmente com diversas cores.

O quarto grande grupo foi formado pelo acesso da espécie *P. glandulosa*. Essa espécie apresenta folha inteira do tipo lanceolada, um número elevado de nectários na lamina das folhas, apresenta um par de nectários próximo a inserção da folha no ramo. As flores apresentam coloração rosada e apresentam nectários nas brácteas dos botões florais.

O quinto grande grupo foi formado por dois subgrupos, o primeiro foi formado pelos acessos de *P. edulis* e a cultivar BRS Céu do Cerrado. O segundo subgrupo foi formado pelo acesso de *P. edulis* nativo da região do Rio de Janeiro. Os acessos que formaram o quinto grande grupo são todos *P. edulis*, inclusive a cultivar BRS Céu do Cerrado, é oriundo dessa espécie. Os acessos apresentam grandes similaridades no tamanho e formas das folhas e flores, com pequenas diferenças observadas para o acesso oriundo da região do Rio de Janeiro, como um menor tamanho das flores.

O sexto grande grupo foi formado por cinco subgrupos, o primeiro foi formado pelos acessos de *P. rubra*, *P. morifolia*, *P. foetida*. O segundo subgrupo foi composto por três acessos de *P. foetida*; o terceiro subgrupo foi formado por *P. micropetala* e *P. biflora*. O quarto subgrupo foi formado por um acesso de *P. pohlii*; o quinto subgrupo foi formado por um acesso de *P. vespertilio*.

Todos os acessos que formaram o sexto grande grupo possuem flores pequenas e com a coloração predominante do perianto, branca e período de antese matutino.

O sétimo grande grupo foi formado por oito subgrupos, sendo o primeiro formado por dois acessos oriundos do cruzamento das espécies *P. eichleriana* x *P. gibertii*. O segundo subgrupo foi formado por um acesso oriundo do cruzamento entre *P. loefgrenii* x *P. junqueirae* e um acesso de *P. loefgrenii*. O terceiro foi formado pelo acesso *P. edulis* x *P. gardneri* e *P. gardneri*. O quarto subgrupo foi formado pelo acesso da espécie *P. cincinnata*. O quinto subgrupo foi formado por dois acessos de *P. sidifolia*. Cinco acessos de *P. amethystina* formaram o sexto subgrupo. O sétimo subgrupo foi formado por um acesso do híbrido entre *P. kermesina* X *P. loefgrenii*. O oitavo subgrupo foi formado por um acesso de *P. caerulea*.

Todas as espécies que formaram o sétimo grande grupo apresentam formato de folha semelhante, com exceção da *P. sidifolia* que apresentam uma menor profundidade do sinus. Apresentam também formato e coloração das flores semelhantes, com exceção de *P. sidifolia*, *P. caerulea* e *P. gibertii* que apresentam a coloração predominante do

perianto, branca, porém os filamentos da coroa são de coloração azul-arroxeadada, assim como as demais espécies.

Corroborando os resultados observados no presente estudo, Viana et al. (2010) utilizaram onze descritores para avaliar seis espécies do gênero *Passiflora* e verificaram ampla variação morfológica inter e intraespecífica, obtendo clara separação das espécies.

Por meio da utilização dos descritores morfoagronômicos, os acessos de *Passiflora* spp. apresentaram grande diversidade genética, observada na quantidade de grupos e subgrupos formados. Descritores morfoagronômicos tiveram seu uso relatado por Jesus et al. (2013). De acordo com Costa et al. (2009), a caracterização de acessos por meio dos descritores morfoagronômicos são imprescindíveis, desde que as características apresentem alta herdabilidade, sofram pouca influência de fatores abióticos e não apresente dificuldades na identificação e avaliação dos caracteres, como foi o caso das características analisadas no presente estudo.

A exploração da diversidade apresentada pelos acessos caracterizados, pode ser dada através da exploração de vigor híbrido, cruzando acessos de *P. edulis* e *P. alata*, já utilizados comercialmente, e que apresentam características superiores para os principais caracteres de interesse agrônomo, com espécies silvestres, que apresentam grande diversidade genética. Além deste tipo de cruzamento, o programa pode desenvolver híbridos interespecíficos com as espécies silvestres, como *P. cincinnata* (JESUS et al., 2014b), *P. setacea* (JUNQUEIRA et al., 2005; FALEIRO et al., 2007; SANTOS et al., 2015) e *P. foetida* (SANTOS et al., 2011).

A caracterização e avaliação dos acessos mantidos nos bancos de germoplasma, é uma etapa importante para o conhecimento da diversidade genética, a partir das quais, poderá acontecer a seleção de indivíduos para serem introduzidos nos programas de melhoramento. Essas etapas, de caracterização e avaliação, permitem identificar acessos com características desejadas e que apresentem divergência suficiente para gerar variabilidade genética nas gerações seguintes, com economia de tempo e mão de obra.

1.4 CONCLUSÃO

A caracterização baseada em descritores multicategóricos contribuiu para a diferenciação fenotípica dos 125 acessos *Passiflora* spp., servindo como importante instrumento para quantificar a diversidade existente e clara separação entre as espécies,

sendo importante para estudos mais completos de caracterização e diversidade de recursos genéticos do gênero *Passiflora*.

1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL JÚNIOR, A. T.; VIANA, A. P.; GONÇALVES, L. S. A.; BARBOSA, C. D. Procedimentos Multivariados em Recursos genéticos vegetais. In: PEREIRA, T. N. S. **Germoplasma: Conservação, Manejo e Uso no Melhoramento de Plantas**. Ed. Viçosa: Arca. 2010, p.205- 254.

BERNACCI, L. C.; CERVI, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; NUNES, T. S., IMIG, D. C.; MEZZONATO, A. C. Passifloraceae. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>.

CERVI, A. C. **Passifloraceae do Brasil**. Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. Fontqueria, Madrid, v. 45, 1997, p. 1-92.

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**, Santa Maria, v. 39, n. 3, p. 696-704, 2009.

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

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: demandas para a pesquisa**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2006, 54p.

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 à resistência do maracujazeiro a doenças. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, **Anais...** 4. 2007, São Lourenço.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V; BRAGA, M. F; PEIXOTO, J. R. Pré-melhoramento do maracujá. In: LOPES, M. A; FAVERO, A. P; FERREIRA, M. A. J.; FALEIRO, F. G; FOLLE, S. M. (Ed.). **Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2011. p. 550-569.

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**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 4, p. 1-18, 2013.

JESUS, F. N.; MACHADO, C. F., MATOS, V. O., SILVA, J. S., LEDO, C. A. S.; FALEIRO, F. G. **Caracterização morfoagronômica de acessos da coleção de maracujá da Embrapa Mandioca e Fruticultura**. Boletim de Pesquisa e

Desenvolvimento, ISSN 1809-5003, Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, 2014a.

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, 2014b. 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. (Ed.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados. cap. 4, p. 81-107, 2005.

MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, Número Especial, p. 83-091, 2011.

MILWARD, A. M. A.; VALENTE, M. C. Passifloraceae da mata de encosta do jardim botânico do Rio de Janeiro e arredores, Rio de Janeiro. **Arquivo do Museu Nacional**, Rio de Janeiro, v. 62, n. 4, p. 367-74, 2004.

PILLAR, V. P. Multivariate exploratory analysis and randomization testing using Multiv. **Coenoses**, v.12, n.1, p.145-148, 1997.

ROTTA, E.; CARVALHO, L. C.; ZONTA, B. M. **Manual de Prática de Coleta e Herborização de Material Botânico**. Documentos 173, Colombo: Embrapa Florestas, 2008.

SANTOS, E. A.; SOUZA, M. M.; VIANA, A. P.; ALMEIDA, A. A. F.; FREITAS, J. C. O.; LAWINSCKY, P. R. Multivariate analysis of morphological characteristics of two species of passion flower with ornamental potential and of hybrids between them. **Genetics and molecular research**, Ribeirão Preto, v. 10, n. 4, p. 2457-2471, 2011.

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**, Netherlands, v. 143, n. 1, p. 123-134, 2015.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: statistic: version 9.1.3. Cary: SAS Institute, 2008. 846 p.

STATSOFT, Inc. **Statistica for Windows (data analysis software system), version 7.1**. Statsoft, Tulsa, Oklahoma (USA), 2005.

TANGARIFE, M. M. M.; CAETANO, C. M.; TIQUE, C. A. P. Caracterización morfológica de especies del género *Passiflora* de Colombia. **Acta Agronómica**, Palmira, v. 58, n. 3, p. 117-125, 2009.

ULMER, T.; MACDOUGAL, J. M. **Passiflora: Passionflowers of the World**. Portland-Cambridge: Timber Press. 2004, 430 p.

VIANA, A. J. C.; SOUZA, M. M.; ARAÚJO, I. S.; CORRÊA, R. X. Genetic diversity in *Passiflora* species determined by morphological and molecular characteristics. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 54, n. 3, p.535-538, 2010.

**CAPÍTULO 2. DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Passiflora* spp. POR MEIO DA
CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA BASEADA EM DESCRITORES
MULTICATEGÓRICOS DE FOLHAS, FLORES E FRUTOS**

DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Passiflora* spp. POR MEIO DA CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA BASEADA EM DESCRITORES MULTICATEGÓRICOS DE FOLHAS, FLORES E FRUTOS

Resumo: Neste trabalho, objetivou-se estudar a diversidade genética de acessos de *Passiflora* spp. por meio da caracterização morfoagronômica baseada em descritores multicategóricos de folhas, flores e frutos e avaliar a relação e a importância desses diferentes descritores para programas de caracterização e uso de recursos genéticos. O estudo foi realizado na Unidade de Apoio da Fruticultura e no Laboratório de Análises de Alimentos da Embrapa Cerrados. Foram caracterizados 15 acessos de *Passiflora* spp. utilizando 58 descritores morfoagronômicos qualitativos multicategóricos (23 de folha, 25 de flor e 10 de fruto). Foram estimadas distâncias genéticas entre os acessos, por meio do complemento do índice de coincidência simples. A partir da matriz de distâncias genéticas, foi realizada a análise de agrupamento via dendrograma, utilizando como critério o método *Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages*, a dispersão gráfica foi baseada em escalas multidimensionais usando o método das coordenadas principais. Há uma clara diferenciação dos acessos a nível inter e intra-específico com base na análise multivariada dos descritores de folhas, flores e frutos. Há uma tendência de agrupamento dos acessos de *P. alata*. A caracterização morfoagronômica contribuiu para a diferenciação fenotípica dos 15 acessos *Passiflora* spp., servindo como importante instrumento para quantificar a variabilidade existente dentro do gênero *Passiflora*.

Palavras-chave: descritores morfoagronômicos, distância genética, acessos silvestres, análise multivariada, recursos genéticos.

GENETIC DIVERSITY OF *Passiflora* spp. BY MORPHOAGRONOMIC CHARACTERIZATION USING QUALITATIVE DESCRIPTORS OF LEAVES, FLOWERS AND FRUITS.

Abstract: The objective of this study was to study the genetic diversity of *Passiflora* spp. by means of the morphoagronomic characterization based on multicategories descriptors of leaves, flowers and fruits and to evaluate the relation and importance of these different descriptors for programs of characterization and use of genetic resources. The study was conducted at the Support Unit of Fruit Farming and Food Analysis Laboratory, at Embrapa Cerrado. Fifteen *Passiflora* spp. accessions were characterized using 58 multicategorical qualitative morphological descriptors (23 from leaves, 25 from flowers and 10 from fruit). Genetic distances among all accessions pairs were estimated based on the simple coincidence index complement. These genetic distances was used to perform the cluster analysis with Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic method Averages as grouping criterion. The graphic dispersion was based on multidimensional scaling using the principal coordinates method. There is a clear differentiation of all accessions to interspecific and intraspecific level, based on multivariate analysis of qualitative descriptors from leaves, flowers and fruits. There is a tendency of grouping of *P. alata* accessions. The morphoagronomic characterization contributes to differentiation of 15 *Passiflora* spp. accessions. These informations is useful as an important tool to quantify the *Passiflora* variability.

Key words: morphoagronomic descriptor, genetic distance, wild accessions, multivariate analysis, genetic resources.

2.1 INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* pertence à família Passifloraceae, classificada na ordem Malpighiales. A família possui 18 gêneros e cerca de 630 espécies (MILWARD-DE-AZEVEDO e BAUMGRATZ, 2004). As espécies do gênero *Passiflora* possuem uma enorme variação fenotípica, em especial nos descritores qualitativos das folhas, flores e frutos, os quais são úteis na caracterização de recursos genéticos. Por exemplo, as folhas podem ser alternadas, simples ou compostas, inteiras ou lobadas e de forma variável, de margem inteira ou serrilhada. É possível observar glândulas nectaríferas, no pecíolo, na margem da bráctea ou na parte dorsal da folha (FEUILLET e MACDOUGAL, 2007; NUNES e QUEIROZ, 2007; CERVI et al., 2010).

Há algum tempo existe uma preocupação em conservar os recursos genéticos, porém, para conhecimento e utilização dos materiais conservados é imprescindível que estes sejam devidamente caracterizados e avaliados. Em um levantamento das demandas de pesquisa na cultura do maracujazeiro, Faleiro et al. (2006) indicaram a caracterização desses recursos genéticos, incluindo espécies silvestres e cultivadas, como um dos pontos prioritários. Uma importante etapa do processo de caracterização e avaliação é a elaboração dos descritores que deverá levar em consideração características morfológicas, agronômicas, entre outras (FALEIRO et al., 2006).

A caracterização morfológica é uma forma simples e acessível para se quantificar a diversidade genética dos recursos genéticos disponíveis, sendo de fundamental importância em programas de melhoramento de plantas. Este conhecimento possibilita ao melhorista explorar a diversidade genética, podendo realizar a introgressão de alelos favoráveis encontrados em espécies silvestres e cultivadas, por intermédio de cruzamentos inter e intra-específicos (PAIVA et al., 2014).

A caracterização agronômica também é muito importante e deve ser realizada para complementar as informações da caracterização morfológica. Muitos descritores, na maioria quantitativos, podem ser utilizados na caracterização agronômica, exigindo maior esforço e tempo para coleta dos dados. Essa caracterização tem sido efetuada em coleções de germoplasma para gerar informações sobre a descrição e a classificação do material conservado. Características agronômicas podem ser exploradas a partir de recursos genéticos, sobretudo visando a obter variabilidade genética que possa ser utilizada em programas de melhoramento genético na geração de variedades mais

produtivas, com maior resistência a pragas e doenças, e com outras características de interesse (Faleiro et al., 2011).

Por meio de avaliação agronômica de parentais e híbridos de maracujazeiro-amarelo, Neves et al. (2013) identificaram pelo menos quatro híbridos de maracujazeiro-amarelo que apresentam médias de produtividades de frutos acima de 40 t.ha⁻¹, além de possuírem bom equilíbrio para as principais características, como produtividade de frutos, número de frutos, massa de frutos, rendimento de suco, produtividade de suco e teor de sólidos solúveis totais. Faleiro e Junqueira (2009) fazem um relato da variabilidade genética disponível em espécies silvestres de maracujá e seu uso prático em programas de melhoramento genético visando ao desenvolvimento de novas cultivares com características agronômicas de interesse.

O conhecimento e compreensão da base genética das características morfoagronômicas é de grande importância para os programas de conservação, caracterização e uso de recursos genéticos (Faleiro et al., 2012). Além disso, tais características são a base dos descritores multicategóricos utilizados em processos de caracterização e proteção de cultivares (MAPA, 2015). Neste trabalho, objetivou-se estudar a diversidade genética de acessos de *Passiflora* spp. por meio da caracterização morfoagronômica baseada em descritores multicategóricos de folhas, flores e frutos e avaliar a relação e a importância desses diferentes descritores para programas de caracterização e uso de recursos genéticos.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Unidade de Apoio da Fruticultura e no Laboratório de Análises de Alimentos da Embrapa Cerrados, em Planaltina-DF. Foram caracterizados 15 acessos de *Passiflora* spp. do Banco Ativo de Germoplasma 'Flor da Paixão' (BAG) (Tabela 1). Todos os acessos conservados e avaliados à campo, são estudados quanto a características agronômicas de interesse para serem utilizados no programa de melhoramento genético do maracujazeiro.

As plantas de cada acesso conservadas em campo foram clonadas via estaquia para produção das mudas. Oito mudas de cada acesso foram cultivadas no campo no sistema de espaldeira vertical, seguindo as recomendações técnicas da cultura quanto à adubação, irrigação e controle fitossanitário.

Tabela 1. Descrição dos 15 acessos de *Passiflora* spp. caracterizados no estudo, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

Acesso	Espécie	Código BAG
1	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-17
2	<i>Passiflora nitida</i> Kunth, 1817	CPAC MJ-01-03
3	<i>Passiflora suberosa</i> L., 1753	CPAC MJ-35-02
4	<i>Passiflora caerulea</i> Lour. ex DC., 1828	CPAC MJ-14-01
5	<i>Passiflora hatschbachii</i> Cervi, 1994	CPAC MJ-50-01
6	<i>Passiflora maliformis</i> Vell., 1831	CPAC MJ-58-01
7	<i>Passiflora quadrangularis</i> x <i>P. alata</i>	CPAC MJ-H-44
8	<i>Passiflora sidifolia</i> M. Roem., 1846	CPAC MJ-16-02
9	<i>Passiflora malacophylla</i> Mast., 1872	CPAC MJ-43-01
10	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-09
11	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-19
12	<i>Passiflora quadrangularis</i> Triana & Planch, 1873	CPAC MJ-07-03
13	<i>Passiflora cincinnata</i> Mast., 1868	CPAC MJ-26-03
14	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789 (BRS Mel do Cerrado)	BRS Mel do Cerrado
15	<i>Passiflora tenuifila</i> Killip, 1927 (BRS Vita)	BRS Vita

Foram avaliados em cada acesso, 58 descritores morfoagronômicos qualitativos (categóricos), sendo 23 para características de folhas, 25 para flores e 10 para frutos, os quais estão descritos nas Tabelas 2, 3 e 4, respectivamente. Os 58 descritores foram avaliados com base nas estruturas encontradas no terço médio de cada planta. A definição da classe fenotípica de cada descritor foi baseada na avaliação de pelo menos 12 folhas, flores ou frutos de pelo menos quatro plantas de cada acesso.

Com base na distribuição de frequência dos acessos nas diferentes classes fenotípicas de cada descritor, foi estimada a entropia para cada descritor por meio do coeficiente de entropia de Shannon, utilizando a fórmula:

$$H = - \sum_{i=1}^s p_i \ln p_i, \text{ onde:}$$

H= entropia de n acessos em s classes fenotípicas do descritor considerado;

$p_i = f_i/n$ sendo: $p_1 = f_1/n$ e $(p_1 + p_2 + \dots + p_s = 1)$ desde que $(n = f_1 + f_2 + \dots + f_s)$, onde f_1, f_2, \dots, f_n , correspondem ao número de acessos em cada uma das classes fenotípicas (s) do descritor considerado.

O cálculo da estimativa da entropia foi realizado com o auxílio do programa Multiv v.2.3 (PILLAR, 1997). A entropia de um determinado descritor será tão maior quanto maior for o número de classes fenotípicas desse e quanto mais equilibrada for a distribuição de frequência dos acessos nas diferentes classes fenotípicas. Ou seja, para um descritor morfológico com duas classes fenotípicas, a maior entropia ocorrerá quando ambas as classes apresentarem 50% dos acessos avaliados.

As distâncias genéticas entre os 15 acessos de *Passiflora* spp. foram calculadas com base em todos os 58 descritores morfoagronômicos e também com base nos 23 descritores de folhas, 25 de flores e 10 de frutos, separadamente. As estimativas foram baseadas no complemento do índice de coincidência simples com auxílio do programa computacional Genes (CRUZ, 2013).

Com base nas matrizes de distâncias genéticas foram realizadas análises de agrupamento dos acessos via dendrograma, utilizando como critério o método da ligação média entre grupos não ponderados, UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages*). Foi realizada também a dispersão gráfica baseada em escalas multidimensionais usando o método das coordenadas principais, com auxílio dos Programas SAS (SAS INSTITUTE INC., 2008) e Statistica (STATSOFT INC., 2005).

Correlações de Pearson entre as estimativas de distâncias genéticas obtidas com base em todos os 58 descritores morfoagronômicos e obtidas com base nos descritores de cada estrutura da planta (folhas, flores e frutos) foram também calculadas.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os descritores avaliados em folhas, flores e frutos de *Passiflora* spp., alguns apresentaram elevados níveis de entropia, sendo muito úteis em programas de caracterização de recursos genéticos. Para a folha, o formato da folha (FOF) foi o descritor que mais se destacou dos demais, alcançando um valor de entropia de 1,81 (Tabela 2).

Tabela 2. Descritores morfoagronômicos da folha e respectivas classes fenotípicas ou categorias, frequência de distribuição (%) e níveis de entropia de Shannon (NE) dos 15 acessos de *Passiflora* spp. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

Descritores de Folha	Categorias	Frequência (%)	NE
CRA: Coloração do Ramo	1-Verde-clara	33,33	0,85
	2- Verde-escura;	0,00	
	3- Verde-arroxeadada	60,00	
	4-Roxa	6,67	
PAR: Presença de antocianina nos ramos	1-Ausente	33,33	1,26
	2-Pouca	33,33	
	3-Média	26,67	
	4-Alta	6,67	
CLF: Comprimento do Limbo Foliar	1-Curto (< 8 cm)	20,00	0,86
	5-Médio (8-15 cm)	66,67	
	7-Longo (> 15 cm)	13,33	
LMF: Largura Máxima da Folha	3-Estreta (< 8 cm)	20,00	0,73

	5-Média (8-15 cm)	73,33	
	7-Larga (> 15 cm)	6,67	
PRS: Profundidade dos Sinus	1-Ausente	60,00	1,08
	3-Rasa	6,66	
	5-Média	13,33	
	7-Profunda	20,00	
FOF: Formato da Folha	1-Lanceolada	0,00	1,81
	2-Ovada	13,33	
	3-Cordada	6,67	
	4-Oblonga	20,00	
	5-Elíptica	20,00	
	6-Fendida	26,67	
	7-Partida	6,67	
	8-Seccionada	6,67	
MFO: Mancha na folha	1-Ausente	80,00	0,50
	2-Presente	20,00	
BLF: Bordas do limbo foliar	1-Não-serrilhadas	73,33	0,80
	2-Pouco-serrilhadas	20,00	
	3-Serrilhada	6,67	
PPF: Presença de pilosidade na folha	1-Ausente	73,33	0,73
	2-Presente	26,67	
DLF: Divisão do limbo foliar	1-Simples	73,33	0,86
	2-Bilobada	0,00	
	3-Trilobada	13,33	
	4-Pentalobada	6,67	
	5-Heptalobada	6,67	
FBF Forma bulada do limbo foliar	1-Ausente	53,33	0,69
	2-Presente	46,67	
PHE: Presença de heterofilia	1-Ausente	93,33	0,24
	2-Presente	6,67	
COF: Coloração da folha	1-Verde-clara	13,33	0,63
	2-Verde	80,00	
	3-Verde-escura	6,67	
	4-Outra	0,00	
FBF: Forma da base foliar	1-Arredondada	33,33	1,41
	2-Truncada	0,00	
	3-Atenuada	6,67	
	4-Subcordada	20,00	
	5-Cordada	6,67	
	7-Hastada	33,33	
	8-Águda	0,00	
	FAF: Forma do ápice foliar	1-Arredondado	
2-Atenuado		40,00	
3-Cuspidado		33,33	
4-Acuminado		6,67	
5-Agudo		6,67	
FMF: Formato da margem foliar	1-Inteira	20,00	1,04
	2-Repanda	46,67	
	3-Dentada	0,00	
	4-Serreada	33,33	
	5-Sinuada	0,00	
PES: Presença de estípulas	1-Ausente	66,67	0,64
	2-Presente	33,33	
PNE: Presença de Nectários	1-Ausente	80,00	0,50
	2-Presente	20,00	
NNE: Número de Nectários	0-Nenhum	73,33	0,73
	1-Pouco (1-2)	0,00	
	2-Mediano (>2-4)	6,67	

	3-Elevado (>4)	20,00	
PON: Posição dos Nectários	0-Ausente	73,33	0,58
	1-Basilaminar	0,00	
	2-Laminar	0,00	
	3-Marginal	26,67	
	4-Nerviaxilar	0,00	
	5-Apical	0,00	
COP: Comprimento do Pecíolo	3-Curto (< 2 cm)	6,67	0,80
	5-Médio (2-4 cm)	66,67	
	7-Longo (> 4 cm)	26,67	
NNP: Número de Nectários no Pecíolo	0-Nenhum	0,00	0,89
	1-Pouco (1-2)	46,67	
	2-Mediano (>2-4)	46,67	
	3-Elevado (>4)	6,67	
PNP: Posição dos nectários no pecíolo	0-Ausente	0,00	1,14
	1-Adjacente ao limbo foliar	26,67	
	2-Próximo ao meio do pecíolo	6,67	
	3-Adjacente à inserção da folha no ramo	13,33	
	4-Distribuídos ao longo do pecíolo	53,33	

O valor de entropia encontrado nesse estudo para a profundidade do sinus (PRS) de 1,08 foi bem mais elevado do que o apresentado por Jesus et al. (2014) de 0,66, quando estudaram a caracterização morfoagronômica de acessos da coleção de maracujá da Embrapa Mandioca e Fruticultura em Cruz das Almas, BA. A coloração da folha (COF) apresentou nível de entropia de 0,63; sendo menor do que o encontrado pelos mesmos autores, de 0,97.

Os descritores que tem relação com os nectários apresentaram valores de entropia de 0,50 para presença (PNE), 0,73 para número (NNE) e 0,58 para posição dos nectários (PON). Essa característica é bem marcante em *P. alata*, nas quais, os nectários consistem macroscopicamente em uma estrutura notável, de coloração esverdeada, bastante adornada com forma semelhante a uma taça de fundo crateriforme circundado por bordas salientes (NASCIMENTO e BARBOSA, 2014). Nessa espécie, a disposição dos nectários é bastante característica, com dois pares de cada lado do pecíolo.

Para o grupo de descritores de flor (Tabela 3), o maior valor de entropia (1,32) foi apresentado pela variável coloração do filamento do opérculo (CFO). Comprovando a utilidade dos descritores de flor para diferenciação dos acessos, Braglia et al. (2014) demonstraram que *Passiflora* spp. apresentam várias características únicas, incluindo múltipla série de filamentos na corona altamente coloridos, diversa morfologia do opérculo, um proeminente androginóforo e elaboradas estruturas nectaríferas. Além disso, as flores são cercadas por sépalas coloridas e brácteas variegadas.

Tabela 3. Descritores morfoagronômicos das flores e respectivas classes fenotípicas ou categorias, frequência de distribuição (%) e níveis de entropia de Shannon (NE) dos 15 acessos de *Passiflora* spp. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

Descritores da flor	Categorias	Frequência (%)	NE
PAB: Presença de antocianina nas brácteas do botão floral	1-Ausente	73,33	0,58
	2-Pouca	26,67	
	3-Média	0,00	
	4-Alta	0,00	
PAS: Presença de antocianina nas sépalas dos botões florais	1-Ausente	73,33	0,73
	2-Pouca	20,00	
	3-Média	6,67	
	4-Alta	0,00	
FHP: Formato do hipanto	1-Aplanada	20,00	0,73
	2-Campanulada	73,33	
	3-Cilíndrica	6,67	
NFN: Número de flor por nó	1-Reduzido (1 flor)	93,33	0,24
	2-Médio (2-4 flores)	6,67	
	3-Grande (>4 flores)	0,00	
CBR: Comprimento da bráctea	0-Ausente	6,67	1,16
	3-Curto (< 2 cm)	20,00	
	5-Médio (2-4 cm)	53,33	
	7-Longo (> 4 cm)	20,00	
PNB: Presença de nectários na bráctea	1-Ausente	66,67	0,85
	2-Presente	33,33	
NNB: Número de nectários na bráctea	0-Nenhum	66,67	1,17
	1-Pouco (1)	6,67	
	2-Mediano (2-4)	20,00	
	3-Elevado (>4)	6,67	
CSE: Comprimento da sépala	3-Curto (< 3 cm)	20,00	0,50
	5-Médio (3-6 cm)	80,00	
	7-Longo (>6 cm)	0,00	
LSE: Largura da sépala	3-Estreta (< 1 cm)	13,33	0,99
	5-Média (1-2 cm)	46,67	
	7-Larga (> 2 cm)	40,00	
PNS: Presença de nectários na sépala	1-Ausente	100,00	0,00
	2-Presente	0,00	
NNS: Número de nectários na sépala	0-Nenhum	100,00	0,00
	1-Pouco (1)	0,00	
	2-Mediano (2-4)	0,00	
	3-Elevado (>4)	0,00	
DEC: Diâmetro da extremidade da corona	3-Pequeno (< 5 cm)	46,67	0,69
	5-Médio (5-10 cm)	53,33	
	7-Grande (>10 cm)	0,00	
BFC: Bandeamento (anéis de cores diferente entre si, inclusive brancos) nos filamentos mais longos da corona	1-Ausente	26,67	0,58
	2-Presente	73,33	
CAC: Coloração predominante dos filamentos dos anéis da corona (exceto a cor branca)	0-Branca	13,33	0,63
	1-Rosa	0,00	
	2-Roxa	80,00	
	3-Verde	6,67	
LAC: Comprimento dos anéis do filamento da corona	0-Ausente	20,00	1,21
	3-Estreta (< 1,0 cm)	6,67	
	5-Média (1,0-1,5 cm)	26,67	
	7-Larga (> 1,5 cm)	46,67	
CPE: Comprimento da pétala	0-Ausente	6,67	0,63
	3-Curto (< 3 cm)	13,33	

	5-Médio (3-6 cm)	80,00	
	7-Longo (>6 cm)	0,00	
CFO: Coloração do filamento do opérculo	1-Ausente	33,33	
	2-Branco	33,33	
	3-Branco + rosa	0,00	1,32
	4-Branco + roxo	13,33	
	5-Roxa	20,00	
FLFLC: Filamentos mais longos da coroa	1-Lisos	33,33	
	2-Ondulados	66,67	0,64
PPA: Período predominante da antese	1-Matutino	80,00	
	2-Vespertino	6,67	0,63
	3-Noturno	13,33	
CPP: Coloração predominante no perianto (pétalas e sépalas) região interna	1-Branca	46,67	
	2-Rosada	0,00	
	3-Vermelha	33,33	
	4-Vermelho-arroxeadada	6,67	1,26
	5-Roxa	6,67	
	6-Lilás	0,00	
	7-Azul arroxeadada	0,00	
	8-Outro	6,67	
NAC: Número de anéis coloridos (excluindo brancos) nos filamentos da coroa	0-Nenhum	20,00	
	1-Um	6,67	0,86
	2-Mais de um	73,33	
PAF: Presença de antocianina no filete	1-Ausente	33,33	
	2-Poucos pontos	46,67	1,04
	3-Muitos pontos	20,00	
	4-Outros	0,00	
PAE: Presença de antocianina no estilete	1-Ausente	46,67	
	2-Poucos pontos	40,00	0,99
	3-Muitos pontos	13,33	
	4-Outros	0,00	
PAA: Presença de antocianina no dorso da antera	1-Ausente	86,67	
	2-Poucos pontos	6,67	0,48
	3-Muitos pontos	6,67	
	4-Outros	0,00	
PAG: Presença de antocianina: androginóforo	1-Ausente	40,00	
	2-Poucos pontos	13,33	0,99
	3-Muitos pontos	13,33	
	4-Outros	0,00	

Os descritores relacionados às brácteas apresentaram valores elevados de entropia, evidenciando a importância dessas variáveis em diferenciar os acessos de *Passiflora* spp. Em relação a esses descritores, foi observado a ausência de brácteas no acesso CPAC MJ-35-02 que é do subgênero *Decaloba*, dados corroborados por Braglia et al. (2014), que observaram em acessos pertencentes ao subgênero *Decaloba*, ausência de brácteas florais, diâmetro da coroa e filamentos coronal de diâmetro pequeno a médio e androginóforo de comprimento pequeno a médio.

Para o grupo de descritores de fruto (Tabela 4), o maior valor de entropia (1,59) foi apresentado pela variável coloração da polpa. Esse valor foi maior do que o encontrado por Jesus et al. (2014) que foi de 1,08. Para coloração da casca do fruto

(CCF), o valor encontrado de 1,34 foi bem próximo ao encontrado pelos mesmos autores (1,32).

Tabela 4. Descritores morfoagronômicos dos frutos e respectivas classes fenotípicas ou categorias, frequência de distribuição (%) e níveis de entropia de Shannon (NE) dos 15 acessos de *Passiflora* spp. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

Descritores do fruto	Categorias	Frequência (%)	NE
CCF: Coloração da casca (epicarpo) do fruto	1-Verde	26,67	1,34
	2-Amarelo esverdeado	13,33	
	3-Amarelo Ouro	46,67	
	4-Alaranjado	6,67	
	5-Roxo claro	0,00	
	6-Roxo escuro	6,67	
	7-Vermelho rosado	0,00	
	8-Outro	0,00	
FFR: Formato do fruto	1-Oval	20,00	1,49
	2-Oblongo	13,33	
	3-Arredondado	26,67	
	4-Oblato	0,00	
	5-Elipsóide	6,67	
	6-Fusifforme	0,00	
	7-Oboval	33,33	
	8-Piriforme	0,00	
DIT: Diâmetro transversal	1-Pequeno (< 5,0 cm)	40,00	0,88
	2-Médio (5,0-10cm)	53,33	
	3-Longo (> 10 cm)	6,67	
DIL: Diâmetro longitudinal do fruto	1-Pequeno (< 5,0 cm)	26,67	0,80
	2-Médio (5,0-10cm)	66,67	
	3-Longo (> 10 cm)	6,67	
ECA: Espessura da casca	1-Muito fina (< 3,0 mm)	13,33	1,56
	2-Fina (3,0-6,0 mm)	26,67	
	3-Média (6,0-10 mm)	20,00	
	4-Espessa (10-15 mm)	26,67	
	5-Muito espessa (> 15 mm)	13,33	
RCL: Relação diâmetro longitudinal e diâmetro transversal dos frutos	1-Muito pequeno (<0,9 cm)	0,00	1,14
	3-Pequeno (0,9-1,2 cm)	53,33	
	5-Médio (1,2-1,5 cm)	26,67	
	7-Grande (1,5-1,8 cm)	13,33	
	9-Muito grande (> 1,8 cm)	6,67	
MFR: Massa dos frutos	1-Baixo (< 150 g)	66,67	0,80
	2-Médio (150 a 250 g)	26,67	
	3-Alto (> 250 g)	6,67	
NSF: Número de sementes por fruto	1-Muito pequeno (<50)	13,33	1,52
	2-Pequeno (50-100)	13,33	
	3-Médio (>100-200)	33,33	
	4-Grande (> 200-400)	26,67	
	5-Muito grande (> 400)	13,33	
CPO: Coloração da polpa	1-Esbranquiçada	13,33	1,59
	2-Amarelo-esverdeada	20,00	
	3-Amarela	13,33	
	4-Amarelo-alaranjada	40,00	
	6-Vermelho alaranjado	6,67	
	7-Roxa	6,67	

	8-Outros	0,00	
SS: Sólido Solúveis (°Brix)	1-Muito baixo (< 7° Brix)	26,67	
	2-Baixo (7-10°)	20,00	
	3-Médio (>10-13°)	6,67	1,21
	4-Alto (>13-17°)	46,67	
	5-Muito alto (>17°)	0,00	

Bellon et al. (2007) notaram que apesar de não haver clara distinção entre os grupos de acessos com frutos amarelos e roxos com base em marcadores moleculares do DNA, observou-se que cerca de 26% dos alelos são específicos em acessos de maracujá-amarelo. Resultados semelhantes foram observados em caracterização realizada por Cerqueira-Silva et al. (2010), visando diferenciar acessos de maracujá amarelo e roxo. Embora outras variáveis apresentem maiores valores de entropia, esses resultados reforçam a necessidade de distinguir acessos de *Passiflora* spp. pela cor de seus frutos. Esta variável pode ser entendida como sendo um marcador fenotípico de variabilidade genética muito importante.

Os menores valores de entropia foram observados nas variáveis diâmetro longitudinal do fruto (DIL) e massa dos frutos (MFR) (0,80) e no diâmetro transversal (DIT) (0,88). Todas as demais variáveis apresentaram valores de entropia acima de um (Tabela 4). Esses resultados indicam e ressaltam a importância da caracterização dos frutos na diferenciação dos materiais de *Passiflora* spp., mostrando que os descritores desse grupo desempenham importante papel para a caracterização morfoagronômica.

Pela análise de agrupamento dos 15 acessos de *Passiflora* spp. utilizando 58 descritores morfoagronômicos, verificou-se a formação de 11 grupos de similaridade, adotando como ponto de corte a distância genética média de 0,3. No grupo um ficaram agrupados todos os acessos de *P. alata* ou híbridos que possuem essa espécie com genitor, como é o caso do acesso CPAC MJ-H-44 e o acesso CPAC MJ-02-19 que provavelmente é um material oriundo de cruzamento com um acesso de *P. alata* (Figura 1).

Os demais acessos ficaram em grupos isolados entre si, sendo que os acessos CPAC MJ-07-03, CPAC MJ-26-03, CPAC MJ-14-01, CPAC MJ-16-02, *P. tenuifila* BRS Vita e CPAC MJ-35-02 foram o que apresentaram maior dissimilaridade em relação aos demais acessos, o que pode ser verificado na dispersão gráfica. Os acessos CPAC MJ-07-03 e CPAC MJ-35-02 apresentam maior dissimilaridade genética entre si (0,73). Os acessos *P. alata* BRS Mel do Cerrado e CPAC MJ-02-09 foram os que apresentaram a menor distância genética entre si (0,19), o que era esperado,

considerando que o acesso CPAC MJ-02-09 é o genitor feminino do acesso *P. alata* BRS Mel do Cerrado.

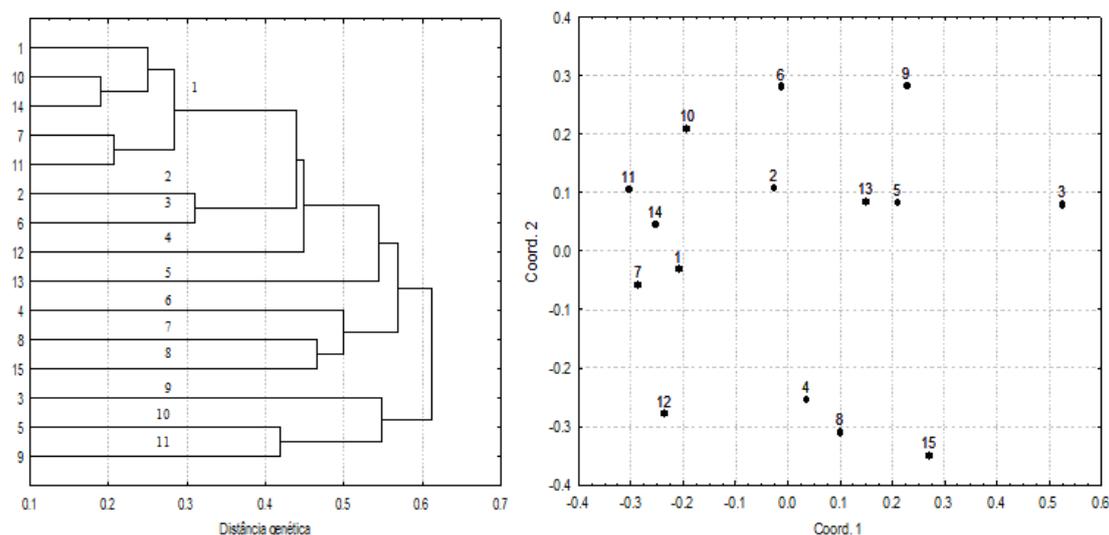


Figura 1. Análise de agrupamento e dispersão gráfica de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 58 descritores morfoagronômicos. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,85. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015. **Legenda:** 1. *P. alata* (CPAC MJ-02-17), 2. *P. nitida* (CPAC MJ-01-03), 3. *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), 4. *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), 5. *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), 6. *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), 7. *P. quadrangularis* X *P. alata* (CPAC MJ-H-44), 8. *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02), 9. *P. malacophylla* (CPAC MJ-43-01), 10. *P. alata* (CPAC MJ-02-09), 11. *P. alata* (CPAC MJ-02-19), 12. *P. quadrangularis* (CPAC MJ-07-03), 13. *P. cincinnata* (CPAC MJ-26-03), 14. *P. alata* BRS Mel do Cerrado, 15. *P. tenuifolia* BRS Vita.

Pela análise de agrupamento dos 15 acessos de *Passiflora* spp. utilizando 23 descritores morfoagronômicos de folha, verificou-se a formação de 9 grupos de similaridade, adotando-se como ponto de corte 0,35. As distâncias entre os acessos e a distribuição dos mesmos nos grupos de similaridade podem ser também observadas no gráfico de dispersão (Figura 2).

O grupo 1 foi formado pelos acessos CPAC MJ-02-17 e CPAC MJ-07-03 e o grupo 2 pelos acessos CPAC MJ-01-03, CPAC MJ-58-01, CPAC MJ-H-44, CPAC MJ-02-09, CPAC MJ-02-19 e *P. alata* BRS Mel do Cerrado. Neste grupo, os acessos são em sua maioria da espécie *P. alata*, com exceção do *P. nitida* (CPAC MJ-01-03).

Junqueira et al. (2007) relataram uma alta similaridade genética molecular e botânica entre acessos de *P. nitida* e de *P. alata*. No gráfico de dispersão os acessos dos grupos 1 e 2 ocuparam uma mesma área, mostrando uma certa similaridade entre esses acessos com relação aos descritores de folhas.

Os acessos CPAC MJ-58-01 e CPAC MJ-01-03 foram os que apresentaram a menor dissimilaridade genética entre si (0,17) com base nos descritores de folhas. Essas duas espécies compartilham várias características fenotípicas das folhas, fazendo com

que os acessos dessas espécies tenham a mesma classe fenotípica para vários descritores de folhas, justificando esta alta similaridade entre eles.

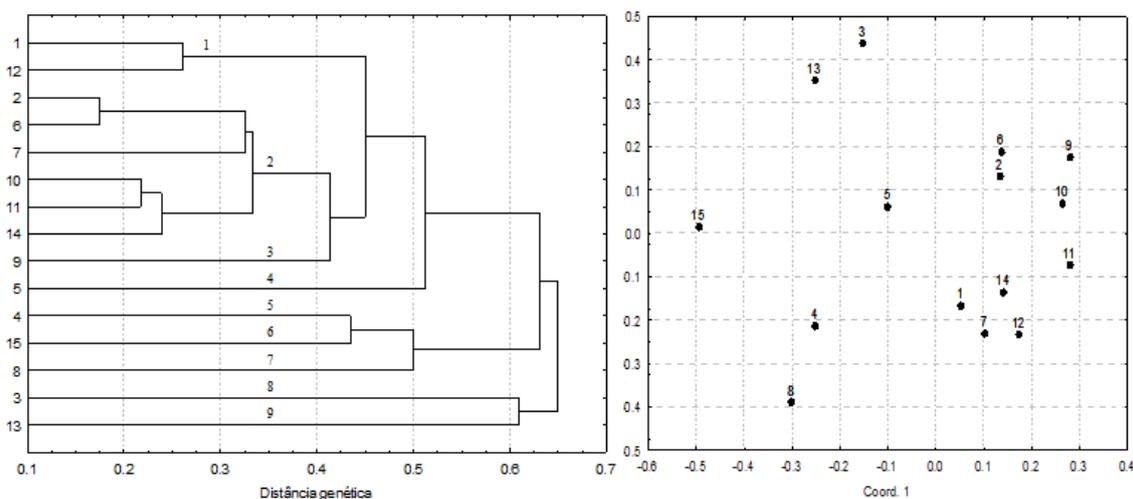


Figura 2. Análise de agrupamento e dispersão gráfica de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 23 descritores morfoagronômicos de folha. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,88. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015. **Legenda:** 1. *P. alata* (CPAC MJ-02-17), 2. *P. nitida* (CPAC MJ-01-03), 3. *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), 4. *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), 5. *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), 6. *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), 7. *P. quadrangularis* X *P. alata* (CPAC MJ-H-44), 8. *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02), 9. *P. malacophylla* (CPAC MJ-43-01), 10. *P. alata* (CPAC MJ-02-09), 11. *P. alata* (CPAC MJ-02-19), 12. *P. quadrangularis* (CPAC MJ-07-03), 13. *P. cincinnata* (CPAC MJ-26-03), 14. *P. alata* BRS Mel do Cerrado, 15. *P. tenuifila* BRS Vita.

Utilizando 25 descritores morfoagronômicos de flor, os 15 acessos de *Passiflora* spp. ficaram distribuídos em 10 grupos de similaridade, adotando como ponto de corte a distância genética média de 0,30 (Figura 3).

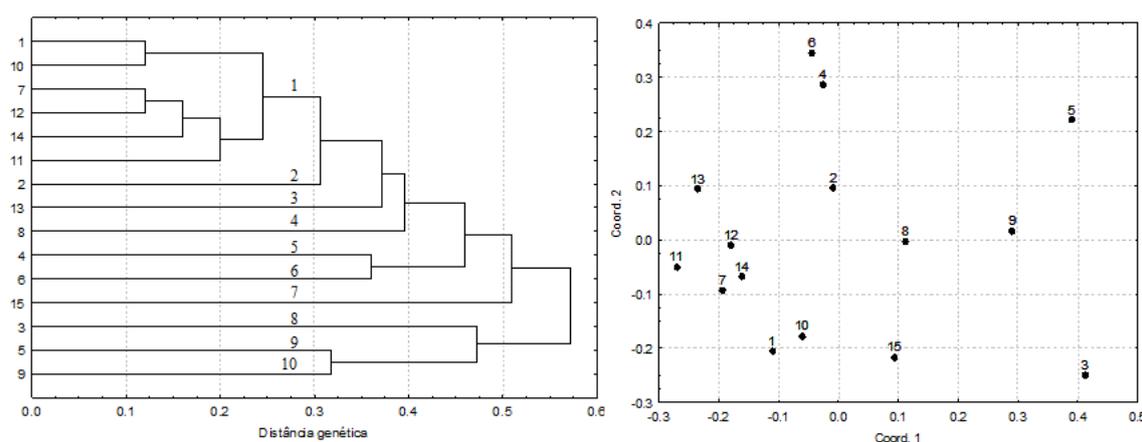


Figura 3. Análise de agrupamento e dispersão entre 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 25 descritores morfoagronômicos de flor. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,88. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015. **Legenda:** 1. *P. alata* (CPAC MJ-02-17), 2. *P. nitida* (CPAC MJ-01-03), 3. *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), 4. *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), 5. *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), 6. *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), 7. *P. quadrangularis* X *P. alata* (CPAC MJ-H-44), 8. *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02), 9. *P. malacophylla* (CPAC MJ-43-01), 10. *P. alata* (CPAC MJ-02-09), 11. *P. alata* (CPAC MJ-02-19), 12. *P. quadrangularis* (CPAC MJ-07-03), 13. *P. cincinnata* (CPAC MJ-26-03), 14. *P. alata* BRS Mel do Cerrado, 15. *P. tenuifila* BRS Vita.

O grupo um foi formado pelos acessos CPAC MJ-02-17, CPAC MJ-02-09, CPAC MJ-H-44, CPAC MJ-07-03, *P. alata* BRS Mel do Cerrado e CPAC MJ-02-19. Assim como neste estudo, Costa et al. (2009), por meio dos descritores de flor, observaram antese no período matutino para os acessos de *P. alata* e o *P. quadrangularis*, assim como para o híbrido entre essas duas espécies. Essa compatibilidade genética entre *P. alata* e *P. quadrangularis* pode ter alguma relação com as semelhanças fenotípicas dos descritores das flores avaliados no trabalho. É possível que acessos de diferentes espécies possuam menores distâncias genéticas entre si dependendo da similaridade das classes fenotípicas das características fenotípicas avaliadas (BELLON et al. 2009).

Os demais acessos apresentaram maiores dissimilaridades genéticas entre si e não formaram grupos, sendo que os acessos CPAC MJ-35-02 e CPAC MJ-26-03 foram os mais distantes dos demais com base nos descritores de flores. A coloração predominante dos filamentos dos anéis da corona (CAC) pode ter sido o descritor que mais contribuiu para essa distância, sendo exclusivamente verde para *P. suberosa* e roxa para *P. cincinnata*. Embora o gênero *Passiflora* possua um padrão característico da morfologia floral, é possível encontrar uma enorme plasticidade fenotípica, como no formato da flor, tamanho, forma e coloração das flores (PAIVA et al., 2014).

Baseado nos 10 descritores morfoagronômicos de fruto para os 15 acessos de *Passiflora* spp., observou-se a formação de 10 grupos de similaridade, adotando como ponto de corte a distância genética média de 0,40 (Figura 4).

O maior grupo (1) foi formado pelos acessos de *P. alata* ou que tem esse material como genitor. Devido a similaridade do acesso CPAC MJ-02-19 com o acesso CPAC MJ-02-17 e *P. alata* BRS Mel do Cerrado, ambos *P. alata*, acredita-se que esse acesso também seja um material oriundo de um genitor muito próximo. Todos esses acessos apresentaram a coloração da casca (CCF) semelhante, assim como outras características de fruto, como a (MFR) e (CPO).

Os acessos CPAC MJ-16-02 e CPAC MJ-43-01), se agruparam formando o grupo 8, esses acessos apresentaram as mesmas classes fenotípicas para formato do fruto (FFR), massa do fruto (MFR) e coloração da polpa CPO. Os demais acessos apresentam grande distância genética entre si.

Resultado semelhante foi observado por Viana et al. (2010), que ao estudarem a diversidade genética entre seis espécies do gênero *Passiflora* utilizando onze

descritores, verificaram uma ampla variação morfológica inter e intraespecífica, obtendo clara separação das espécies.

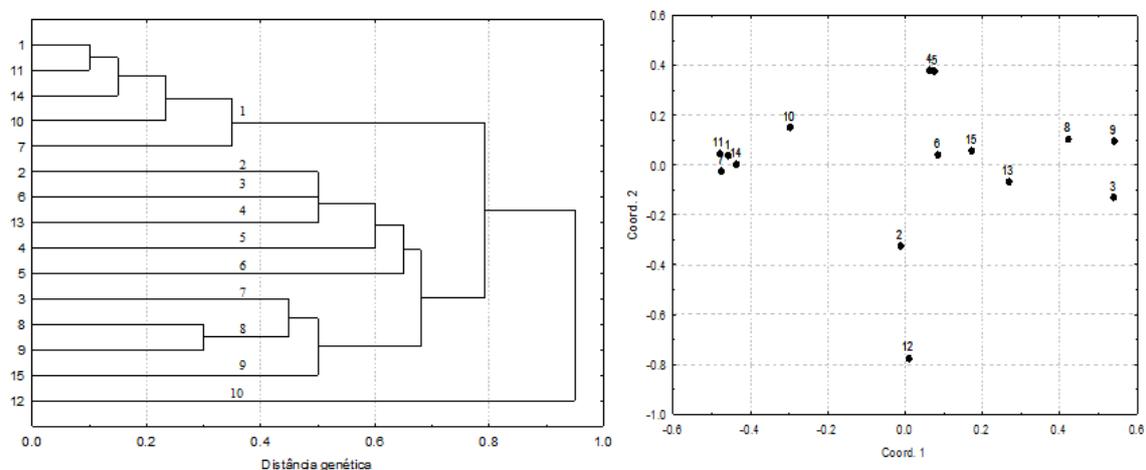


Figura 4. Análise de agrupamento e dispersão de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 10 descritores morfoagronômicos de fruto. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,87. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015. **Legenda:** 1. *P. alata* (CPAC MJ-02-17), 2. *P. nitida* (CPAC MJ-01-03), 3. *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), 4. *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), 5. *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), 6. *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), 7. *P. quadrangularis* X *P. alata* (CPAC MJ-H-44), 8. *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02), 9. *P. malacophylla* (CPAC MJ-43-01), 10. *P. alata* (CPAC MJ-02-09), 11. *P. alata* (CPAC MJ-02-19), 12. *P. quadrangularis* (CPAC MJ-07-03), 13. *P. cincinnata* (CPAC MJ-26-03), 14. *P. alata* BRS Mel do Cerrado, 15. *P. tenuifila* BRS Vita.

A coloração da casca do fruto (CCF) foi uma variável importante na caracterização dos acessos, pois, todos os acessos que formaram o grupo 1 apresentaram casca amarelo ouro e os dos acessos do grupo 8 apresentaram casca amarelo esverdeado. Corroborando os resultados apresentados, estudos de diversidade em *P. edulis*, realizado por Bellon et al. (2007), apresentaram maior distância genética entre os acessos de cascas amarelas e roxas.

As correlações entre as estimativas de distâncias genéticas obtidas com base em todos os 58 descritores morfoagronômicos e obtidas com base nos descritores de cada estrutura da planta (folhas, flores e frutos) foram todas positivas e significativas (Tabela 5), com exceção das distâncias obtidas com base em descritores de folhas e frutos (0,19).

Essa menor correlação obtida entre os descritores de folha e fruto indica uma complementaridade entre as características de folhas e frutos para os estudos de diversidade. Estimativas de diversidade com base exclusivamente em características de folhas ou de frutos estão incompletas.

Tabela 5. Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre as distâncias genéticas calculadas com base nos diferentes grupos de descritores morfoagronômicos categóricos, em *Passiflora* spp. Todas as variáveis (58), Folha (23), Flor (25) e Fruto (10). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

Variáveis	Folha	Flor	Fruto
Todos (58)	0,79**	0,85**	0,58**
Folha		0,47**	0,19 ^{ns}
Flor			0,35**

** Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste t. ^{ns} Não significativo, pelo teste t.

Os descritores de flores permitiram as estimativas de distâncias genéticas mais correlacionadas com as distâncias genéticas obtidas com base em todos os descritores, havendo também correlação positiva e significativa com as distâncias genéticas calculadas com base nos descritores de folhas e frutos. Estas análises de correlação evidenciam uma coerência entre as distâncias genéticas estimadas com base nos descritores de cada estrutura da planta (folha, flor e fruto), mas também a importância do uso das diferentes estruturas da planta para estudos mais completos de caracterização e diversidade genética de recursos genéticos do gênero *Passiflora*.

2.4 CONCLUSÃO

A caracterização morfoagronômica baseada em descritores multicategóricos contribuiu para a diferenciação fenotípica entre os 15 acessos *Passiflora* spp., servindo como importante instrumento para quantificar a variabilidade existente.

A caracterização das diferentes estruturas da planta (folha, flor e fruto) são importantes para estudos mais completos de caracterização e diversidade genética de recursos genéticos do gênero *Passiflora*.

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELLON, G.; FALEIRO, G. F.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, K. P.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FONSCECA, K. G.; BRAGA, M. F. Variabilidade genética de acessos obtidos de populações cultivadas e silvestres de maracujazeiro-doce com base em marcadores rapid. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 197-202, 2009.

BELLON, G.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, K. P.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SANTOS, C. E.; BRAGA, M. F.; GUIMARÃES, C. T. Variabilidade genética de selvagem e comercial maracujá (*Passiflora edulis* Sims) acessos utilizando marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 124-127, 2007.

BRAGLIA, L.; GAVAZZI, F.; GIOVANNINI, A.; NICOLETTI, F.; BENEDETTI, L.; BREVIARIO, D. TBP-assisted species and hybrid identification in the genus *Passiflora*. **Mol Breeding**, Netherlands, v. 33, n. 1, p. 209-219, 2014.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S.; CARDOSO-SILVA, C. B.; PEREIRA, A. S.; SANTOS, E. S. L.; OLIVEIRA, A. C.; CORREA, R. X. Diversidade genética de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims) com base em marcadores RAPD. **Journal of Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 10, n. 2, p. 154-159, 2010.

CERVI, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; BERNACCI, C. Passifloraceae. **Lista de espécies da flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. Disponível em <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>.

COSTA, R. S.; MORO, F. V.; OLIVEIRA, J. C. Influência do momento de coleta sobre a viabilidade de grão de pólen em maracujá - doce (*Passiflora alata* Curtis). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 956-961, 2009.

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

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: demandas para a pesquisa**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2006, 54 p.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. Pré-melhoramento do maracujá. *In*: LOPES, M. A.; FAVERO, A. P.; FERREIRA, M. A. J. F.; FALEIRO, F. G.; FOLLE, S. M.; GUIMARÃES, E. P. (Eds.) **Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 2011. p. 550-570.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Passion fruit (*Passiflora* spp.) improvement using wild species. *In*: MARIANTE, A. S.; SAMPAIO, M. J. A.; INGLIS, M. C. V. **The state of Brazil's plant genetic resources. Second National Report. Conservation and Sustainable Utilization for food and agriculture**. Brasília: Embrapa Technological Information. 2009. P. 101-106.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; COSTA, A. M. **Conservação e caracterização de espécies silvestres de maracujazeiro (*Passiflora* spp.) e utilização potencial no melhoramento genético, como porta-enxertos, alimentos funcionais, plantas ornamentais e medicinais - resultados de pesquisa**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2012. (Documentos, N° 312). 34 p.

FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J. M. Passifloraceae. *In*: KUBITZI, K. **The Families and Genera of Vascular Plants**. Berlin: Springer, v. IX, p. 270-281, 2007.

JESUS, F. N.; MACHADO, C. F.; SOUZA, V. O.; MATOS, M. S. S.; SILVA, J. S.; LEDO, C. A. S.; FALEIRO, F. G. **Caracterização morfoagronômica de acessos da coleção de maracujá da Embrapa Mandioca e Fruticultura**. Boletim de Pesquisa e

Desenvolvimento, ISSN 1809-5003. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura. (Boletim de pesquisa, 61). 2014.

JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F. G.; RAMOS, J. D.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. Variabilidade genética de acessos de maracujá-suspiro com base em marcadores moleculares. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 571-575, 2007.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Proteção de cultivares**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Consultado em 24 de março de 2015.

MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A., BAUMGRATZ, J. F. A. *Passiflora* L. subgênero *Decaloba* (DC.) Rchb. (Passifloraceae) na Região Sudeste do Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 55, n. 85, p. 17-54, 2004.

NASCIMENTO, K. C.; BARBOSA, J. F. Caracterização morfoanatómica de nectários extraflorais de *Passiflora alata*, Passifloraceae. **Revista UNINGÁ**, Maringá, v. 20, n. 1, p. 45-50, 2014.

NEVES, C. G.; JESUS, O. N.; LEDO, C. A. S.; OLIVEIRA, E. J. Avaliação agronômica de parentais e híbridos de maracujazeiro-amarelo, **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 1, p. 191-198, 2013.

NUNES, T. S., QUEIROZ, L. P. Uma nova espécie de *Passiflora* L. (Passifloraceae) para o Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 21, n. 2, p. 499-502, 2007.

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-MLM1. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. 2, p. 381 - 390, 2014.

PILLAR, V. P. **Multivariate exploratory analysis and randomization testing using Multiv**. Coenoses. 12. ed. Porto Alegre: UFRGS. 1997. 145-148 p.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: statistic: version 9.1.3. Cary: SAS Institute, 2008. 846 p.

STATSOFT, Inc. Statistica for Windows (data analysis software system), version 7.1. Statsoft, Tulsa, Oklahoma (USA), 2005.

VIANA, A. J. C.; SOUZA, M. M.; ARAÚJO, I. S.; CORRÊA, R. X. Genetic diversity in *Passiflora* species determined by morphological and molecular characteristics. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 54, n. 3, p. 535-538, 2010.

**CAPÍTULO 3. DIVERSIDADE GENÉTICA E MORFOAGRONÔMICA DE
Passiflora spp. BASEADA EM VARIÁVEIS QUANTITATIVAS DAS FLORES E
FRUTOS**

DIVERSIDADE GENÉTICA E MORFOAGRONÔMICA DE *Passiflora* spp. BASEADA EM VARIÁVEIS QUANTITATIVAS DAS FLORES E FRUTOS

Resumo: Objetivou-se estudar a diversidade genética de acessos de *Passiflora* spp. baseada em descritores morfoagronômicos quantitativos de flores e frutos. O estudo foi realizado na Embrapa Cerrados, Planaltina, DF. Foram caracterizados 15 acessos de *Passiflora* spp., utilizando 14 descritores morfoagronômicos quantitativos. Para obtenção de todos os descritores, as mensurações foram realizadas utilizando 12 estruturas, do terço médio da planta, das quais foram registradas sempre o valor médio. Distâncias genéticas entre os acessos foram estimadas com base na Distância de Mahalanobis. Análise de agrupamento via dendrograma e dispersão gráfica via coordenadas principais foram analisadas. Foi calculada também a contribuição relativa dos caracteres para divergência genética dos acessos analisados. A caracterização morfoagronômica baseada em descritores quantitativos de flores e frutos contribuiu para a diferenciação fenotípica entre os acessos de *Passiflora* spp., servindo como importante instrumento para quantificar a variabilidade. Essa caracterização é importante para estudos mais completos de caracterização e diversidade genética do gênero *Passiflora*.

Palavras-chave: análise multivariada, recursos genéticos, Passifloraceae

GENETIC AND MORPHOAGRONOMIC DIVERSITY OF *Passiflora* spp. BASED ON QUANTITATIVE CHARACTERISTICS OF FLOWERS AND FRUITS

Abstract: The objective of this study was to study the genetic diversity the *Passiflora* spp. accessions and their based on quantitative morphological descriptors from flowers and fruits. The study was conducted at Embrapa Cerrados, Planaltina, DF. Fifteen *Passiflora* spp. accessions were characterized using 14 quantitative morphological descriptors. To obtain all the descriptors, the measurements were made using 12 structures, of the middle third of the plant, of which the average value was always recorded. Genetic distances among all accesses pairs were estimated based on Mahalanobis' generalized distance. Cluster analysis via dendrogram and grafic dispersion was analyzed. It was also calculated the relative contribution of characters to accessions divergence. The morphoagronomic characterization based on quantitative descriptors from flowers and fruits contributed to the *Passiflora* spp. accessions differentiation. Serving as an important tool to quantify the variability. These informations is useful to perform *Passiflora* spp. characterization and genetic diversity studies.

Keywords: multivariate analysis, genetic resources, Passifloraceae

3.1 INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado centro origem e de diversidade das passifloras, possui ampla variabilidade genética, sendo esta fundamental para o sucesso de qualquer programa de melhoramento genético. O grande potencial do uso de espécies silvestres de maracujazeiro em programas de melhoramento genético do maracujazeiro tem sido relatado nos últimos anos (FALEIRO e JUNQUEIRA, 2009; FALEIRO et al., 2011a; 2011b).

Espécies vegetais, de uma forma geral, apresentam grande importância, pois estão relacionadas com necessidades básicas do ser humano. Plantas cultivadas, espécies silvestres relacionadas às comerciais, variedades antigas e variedades melhoradas representam materiais genéticos que devem ser conservados e caracterizados, pois poderão ser utilizados em programas de melhoramento (FALEIRO et al., 2012).

A utilização de recursos genéticos tem viabilidade fundamentada na coleta, introdução, conservação e intercâmbio de acessos de germoplasma, bem como em sua caracterização e avaliação, o que permite conhecer as qualidades e potencialidades do material (FALEIRO et al., 2012). Em um levantamento das demandas para as pesquisas do maracujazeiro, Faleiro et al. (2006) indicaram a caracterização, domesticação e desenvolvimento de novas espécies como prioridade. Uma importante etapa dos processos de caracterização e avaliação é a elaboração dos descritores utilizados, os quais podem ser morfológicos, agronômicos e moleculares.

Para o desenvolvimento de um programa de melhoramento, dentre outras coisas, é importante ter bancos de germoplasma caracterizados, de modo a conseguir informações básicas sobre os genótipos, para sua utilização na base dos cruzamentos (FALEIRO et al., 2008). A constatação e quantificação da variabilidade intra e interespecífica é de essencial importância, pois permite o uso mais eficiente dos recursos genéticos pelo melhorista.

Segundo Vieira et al. (2007), os melhoristas têm utilizado descritores morfoagronômicos para caracterizar os acessos selecionados ao longo do programa de melhoramento. Esses descritores têm um papel fundamental na caracterização e seleção de plantas, sendo decisivos na escolha dos genótipos ao longo dos ciclos de recombinação e também na escolha de genótipos para uso como novos genitores. A caracterização morfoagronômica para estudos de variabilidade genética tem sido feita

com base em caracteres que sejam de fácil detecção e mensuração, e sofram pouca influência ambiental.

Negreiros et al. (2008) caracterizaram frutos de progênies de meios-irmãos de maracujazeiro-amarelo, e observaram que alguns frutos apresentaram características desejáveis tanto para o mercado *in natura* como para a indústria, assim como superioridade de alguns acessos para futuros trabalhos de melhoramento.

Castro et al. (2012), para caracterizarem genótipos de *P. edulis*, selecionaram descritores morfológicos mínimos para distinguir variedades de maracujá, no qual, foram indicados 22 dos 28 descritores analisados, com alta contribuição na variação total observada. Esses resultados indicam que os descritores agrônômicos são úteis para diferenciar recursos genéticos do gênero *Passiflora*. Neste trabalho, objetivou-se estudar a diversidade genética de acessos de *Passiflora* spp. baseado em descritores morfoagronômicos quantitativos de flores e frutos.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Unidade de Apoio da Fruticultura e no Laboratório de Análises de Alimentos da Embrapa Cerrados, em Planaltina-DF. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 15 tratamentos (acessos) (Tabela 1) e quatro repetições, totalizando 60 parcelas experimentais. Cada parcela foi representada pela média de 3 estruturas (flor ou fruto).

Tabela 1. Descrição dos 15 acessos de *Passiflora* spp. caracterizados no estudo, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

Acesso	Espécie	Código BAG
1	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-17
2	<i>Passiflora nitida</i> Kunth, 1817	CPAC MJ-01-03
3	<i>Passiflora suberosa</i> L., 1753	CPAC MJ-35-02
4	<i>Passiflora caerulea</i> Lour. ex DC., 1828	CPAC MJ-14-01
5	<i>Passiflora hatschbachii</i> Cervi, 1994	CPAC MJ-50-01
6	<i>Passiflora maliformis</i> Vell., 1831	CPAC MJ-58-01
7	<i>Passiflora quadrangularis</i> x <i>P. alata</i>	CPAC MJ-H-44
8	<i>Passiflora sidifolia</i> M. Roem., 1846	CPAC MJ-16-02
9	<i>Passiflora malacophylla</i> Mast., 1872	CPAC MJ-43-01
10	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-09
11	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-19
12	<i>Passiflora quadrangularis</i> Triana & Planch, 1873	CPAC MJ-07-03
13	<i>Passiflora cincinnata</i> Mast., 1868	CPAC MJ-26-03
14	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789 (BRS Mel do Cerrado)	BRS Mel do Cerrado
15	<i>Passiflora tenuifila</i> Killip, 1927 (BRS Vita)	BRS Vita

Foram caracterizados 15 acessos de *Passiflora* spp. do Banco Ativo de Germoplasma 'Flor da Paixão' (BAG). As plantas de cada acesso conservadas em campo, foram clonadas via estaquia para produção das mudas. Oito mudas de cada acesso foram cultivadas no campo no sistema de espaldeira vertical, seguindo as recomendações técnicas da cultura quanto à adubação, irrigação e controle fitossanitário.

Foram avaliados em cada acesso, 14 descritores morfoagronômicos quantitativos, sendo oito para características de flores e seis para frutos. Os descritores avaliados nas flores foram comprimento do androginóforo (CAN), diâmetro externo da cavidade da coroa (DEEC), diâmetro interno da cavidade da coroa (DIC), comprimento do pedicelo (CPD), comprimento da antera (CA), largura da antera (LAN), comprimento do ovário (COV), diâmetro do ovário (DOV). Os descritores avaliados nos frutos foram massa da casca (MCA), massa das sementes (MSE), massa da polpa (MPO), rendimento de suco (RES), acidez total titulável (AT) e razão entre sólidos solúveis e acidez total titulável (RATIO).

Os dados de comprimento, diâmetro e largura, foram obtidos em centímetros (cm); os dados de massa foram obtidos em gramas (g). Todas as variáveis foram mensuradas nas flores e frutos coletados no terço médio dos ramos de cada planta.

As distâncias genéticas entre os 15 acessos de *Passiflora* spp. foram calculadas com base em todos os 14 descritores morfoagronômicos e também com base nos 8 descritores de flores e 6 de frutos, separadamente. As estimativas foram baseadas na distância de Mahalanobis com auxílio do programa computacional Genes (CRUZ, 2013).

Com base nas matrizes de distâncias genéticas foram realizadas análises de agrupamento dos acessos via dendrograma, utilizando como critério o método da ligação média entre grupos não ponderados, UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages*). Foi realizada também a dispersão gráfica baseada em escalas multidimensionais usando o método das coordenadas principais, com auxílio dos Programas SAS (SAS INSTITUTE INC., 2008) e Statistica (STATSOFT INC., 2005).

Correlações de Pearson entre as estimativas de distâncias genéticas obtidas com base em todos os 14 descritores morfoagronômicos e obtidas com base nos descritores de cada estrutura da planta (flores e frutos) foram também calculadas. Assim como, a

contribuição relativa dos caracteres para divergência – SINGH (1981) de cada variável, com auxílio do programa computacional Genes (CRUZ, 2013).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise de agrupamento dos 15 acessos de *Passiflora* spp. utilizando 14 descritores morfoagronômicos quantitativos, verificou-se a formação de 4 grupos de similaridade (Figura 1). Considerando todas as características avaliadas, o grupo um foi formado pelos acessos de *P. alata* e o híbrido CPAC MJ-H-44. O grupo dois foi o maior grupo, contendo os acessos CPAC MJ-01-03, CPAC MJ-14-01, CPAC MJ-58-01, CPAC MJ-35-02, CPAC MJ-43-01, CPAC MJ-16-02 e *P. tenuifila* BRS Vita. O grupo três foi formado pelos acessos CPAC MJ-50-01 e CPAC MJ-26-03. O acesso CPAC MJ-07-03 não formou grupo com outro material, provavelmente pelo seu tamanho diferenciado, considerando o maior peso de fruto e conseqüentemente uma maior massa da casca, entre outras. Observando a dispersão gráfica, nota-se que os acessos do grupo um e dois estão bem próximos, formando um grupo com todos os acessos. Os acessos que estão juntos no dendrograma formando o grupo três, na dispersão encontram-se mais distantes entre si (Figura 1).

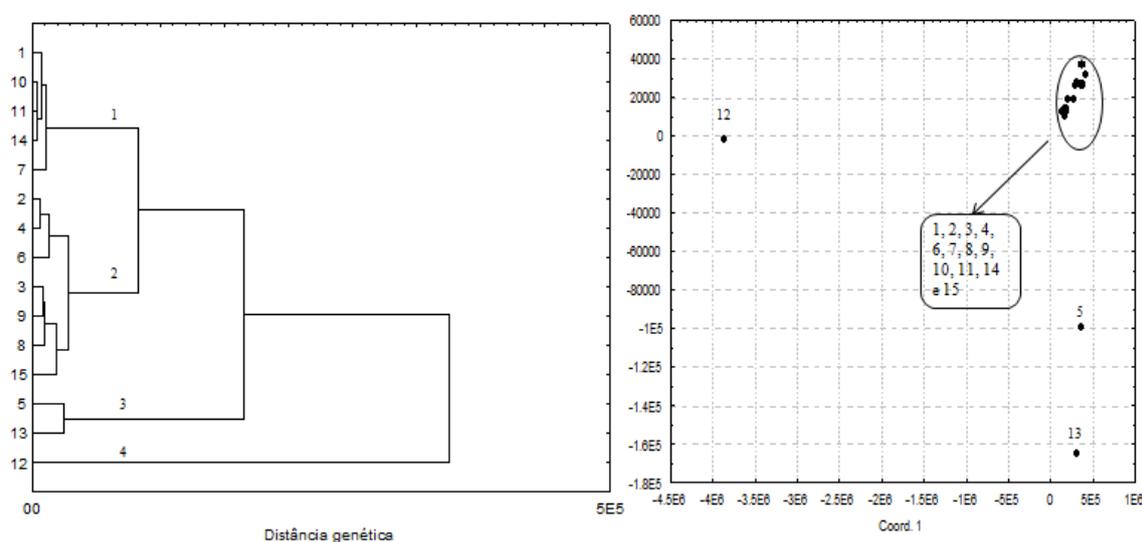


Figura 1. Análise de agrupamento e dispersão de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 14 descritores morfoagronômicos quantitativos. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,89. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015. **Legenda:** 1. *P. alata* (CPAC MJ-02-17), 2. *P. nitida* (CPAC MJ-01-03), 3. *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), 4. *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), 5. *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), 6. *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), 7. *P. quadrangularis* X *P. alata* (CPAC MJ-H-44), 8. *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02), 9. *P. malacophylla* (CPAC MJ-43-01), 10. *P. alata* (CPAC MJ-02-09), 11. *P. alata* (CPAC MJ-02-19), 12. *P. quadrangularis* (CPAC MJ-07-03), 13. *P. cincinnata* (CPAC MJ-26-03), 14. *P. alata* BRS Mel do Cerrado, 15. *P. tenuifila* BRS Vita.

Utilizando os oito descritores quantitativos de flor, observou-se a formação de sete grupos de similaridade. O grupo um foi similar ao formado utilizando-se todos os descritores, ou seja, com todos os acessos de *P. alata* agrupados juntamente com o híbrido CPAC MJ-H-44 (Figura 2). Corroborando os resultados observados, Ortiz et al. (2012) relataram uma alta homogeneidade genética quando são analisados acessos da mesma espécie.

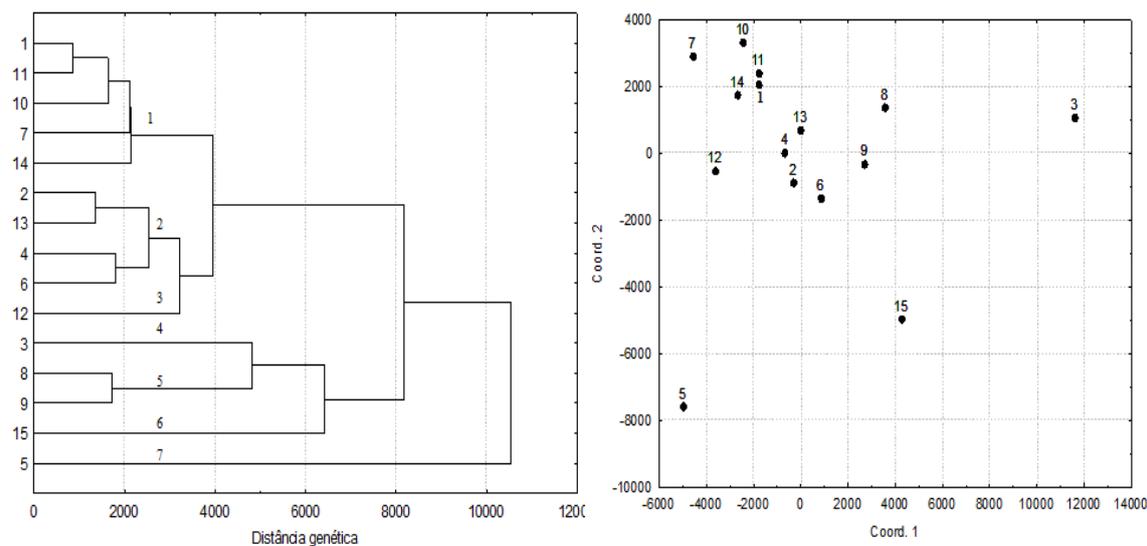


Figura 2. Análise de agrupamento e dispersão de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 8 descritores morfoagronômicos quantitativos de flor. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,83. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015. **Legenda:** 1. *P. alata* (CPAC MJ-02-17), 2. *P. nitida* (CPAC MJ-01-03), 3. *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), 4. *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), 5. *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), 6. *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), 7. *P. quadrangularis* X *P. alata* (CPAC MJ-H-44), 8. *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02), 9. *P. malacophylla* (CPAC MJ-43-01), 10. *P. alata* (CPAC MJ-02-09), 11. *P. alata* (CPAC MJ-02-19), 12. *P. quadrangularis* (CPAC MJ-07-03), 13. *P. cincinnata* (CPAC MJ-26-03), 14. *P. alata* BRS Mel do Cerrado, 15. *P. tenuifila* BRS Vita.

O grupo dois foi formado pelos acessos CPAC MJ-01-03, CPAC MJ-26-03, CPAC MJ-14-01 e CPAC MJ-58-01, os quais apresentam um tamanho de flor bem similar, o que levou à obtenção de características quantitativas parecidas e menores distâncias genéticas entre eles.

O grupo cinco foi formado pelos acessos CPAC MJ-16-02 e CPAC MJ-43-01. Os demais acessos, CPAC MJ-07-03, CPAC MJ-50-01 e *P. tenuifila* BRS Vita não se agruparam entre si. Observando o gráfico de dispersão, nota-se que os acessos CPAC MJ-07-03, CPAC MJ-50-01 e *P. tenuifila* BRS Vita mantiveram a mesma tendência de distanciamento dos demais, e também o acesso CPAC MJ-35-02 que pertence ao subgênero *Decaloba*. Muschner et al. (2012) também encontraram relativa distância entre o subgênero *Decaloba* e o subgênero *Passiflora*. Esta alta dissimilaridade genética

entre acessos desses dois subgêneros possibilita a utilização dos mesmos como grupos divergentes no estudo de espécies do gênero *Passiflora*.

Os demais acessos de *Passiflora* spp. estudados ficaram bem mais próximos no gráfico de dispersão, seguindo a mesma tendência do dendrograma.

Para os descritores quantitativos de fruto, observa-se, pelo dendrograma, a formação de três grupos de similaridade, sendo que o grupo um, pode ser dividido em dois subgrupos, sendo o primeiro formado pelos acessos de *P. alata* e o híbrido CPAC MJ-H-44 e o segundo subgrupo foi formado pelos acessos CPAC MJ-01-03, *P. tenuifila* BRS Vita, CPAC MJ-35-02, CPAC MJ-01-03 e CPAC MJ-43-01), (Figura 3). Viana et al. (2010) utilizaram 11 descritores para avaliar seis espécies do gênero *Passiflora* e verificaram uma ampla variação morfológica inter e intraespecífica, obtendo uma clara separação das espécies estudadas.

O grupo dois foi formado pelos acessos CPAC MJ-50-01 e CPAC MJ-26-03. O acesso CPAC MJ-07-03 não se agrupou com os demais acessos. Pelo gráfico da dispersão, os acessos CPAC MJ-50-01 e CPAC MJ-26-03 que aparecem juntos no dendrograma, ficaram mais separados, assim como o acesso CPAC MJ-07-03. Um grande grupo de similaridade foi formado, assim como foi observado nos acessos do grupo um do dendrograma.

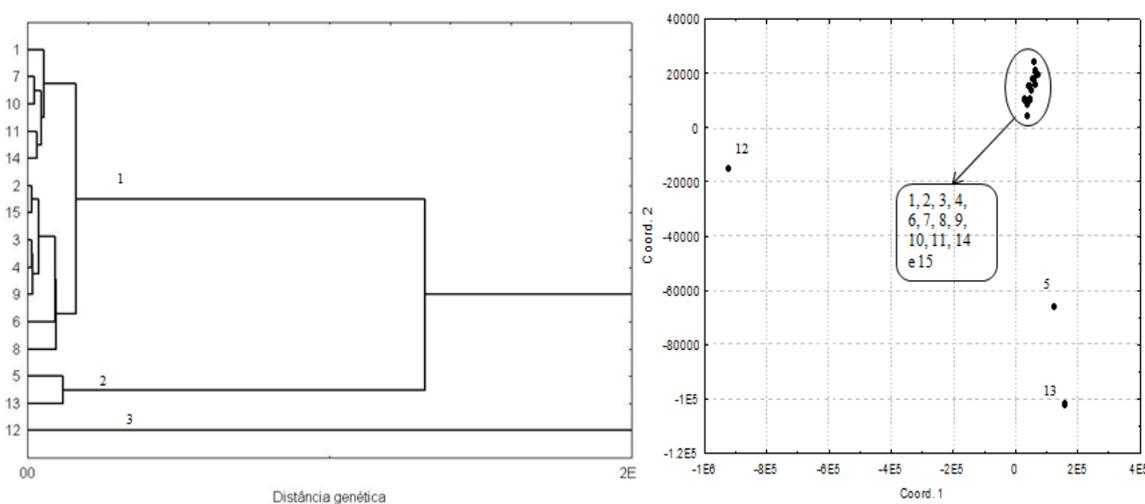


Figura 3. Análise de agrupamento e dispersão de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 6 descritores morfoagronômicos quantitativos de fruto. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,92. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015. **Legenda:** 1. *P. alata* (CPAC MJ-02-17), 2. *P. nitida* (CPAC MJ-01-03), 3. *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), 4. *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), 5. *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), 6. *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), 7. *P. quadrangularis* X *P. alata* (CPAC MJ-H-44), 8. *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02), 9. *P. malacophylla* (CPAC MJ-43-01), 10. *P. alata* (CPAC MJ-02-09), 11. *P. alata* (CPAC MJ-02-19), 12. *P. quadrangularis* (CPAC MJ-07-03), 13. *P. cincinnata* (CPAC MJ-26-03), 14. *P. alata* BRS Mel do Cerrado, 15. *P. tenuifila* BRS Vita.

As correlações entre as estimativas de distâncias genéticas obtidas com base nos 14 descritores morfoagronômicos quantitativos e obtidas com base nos descritores de cada estrutura da planta (flores e frutos) estão na tabela 2. Foi verificada uma correlação forte e altamente significativa entre as distâncias genéticas estimadas com base em todos os descritores e com base nos descritores do fruto, demonstrando que as características dos frutos foram determinantes para a diferenciação dos acessos das espécies avaliadas nesse estudo. Para as espécies avaliadas no presente trabalho, estimativas de diversidade com base exclusivamente em características quantitativas de fruto, seriam suficientes para diferenciar os acessos. Não houve correlação entre as distâncias genéticas estimadas com base nas características de frutos e aquelas estimadas com base nas características de flores, evidenciando a complementaridade destas características para estudos mais completos de diversidade genética inter e intra-específica.

Tabela 2. Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre as distâncias genéticas calculadas com base nos diferentes grupos de descritores morfoagronômicos quantitativos, em *Passiflora* spp. Todos (14), Flor (8) e Fruto (6). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

Variáveis	Flor	Fruto
Todos (14)	0,03 ^{ns}	0,99 ^{**}
Flor		0,01 ^{ns}

^{**} Significativo a 1 de probabilidade, pelo teste t. ^{ns} Não significativo, pelo teste t.

Com base no método de Singh (1981), foi possível classificar a importância relativa de todos os descritores quantitativos avaliados para a caracterização de diferentes acessos de *Passiflora* spp. Observou-se que o comprimento do ovário (COV) foi a variável que mais contribuiu com a variabilidade dos acessos com 25,14% (Tabela 3), isso para as características de flor. Lawinsky et al. (2014) fazendo a caracterização morfológica e diversidade genética em *P. alata* e *P. cincinnata*, observaram que o diâmetro da corona foi a variável que mais contribuiu com a determinação da diversidade genética existente entre as duas espécies estudadas.

Santos et al. (2011), ao quantificarem a diversidade genética entre *P. foetida*, *P. subanceolada* e o híbrido correspondente, com base em caracteres morfológicos, verificaram que as variáveis que tiveram maior contribuição, foram o diâmetro da flor e o comprimento do pedúnculo.

Verificou-se pelo método de Singh para fruto, que a variável massa da casca (MCA) foi a que mais contribuiu para a caracterização morfoagronômica, com 51,30%. De acordo com Santos et al. (2009) a espessura da casca do fruto é uma característica importante do ponto de vista comercial, visto que a está fortemente relacionada com o rendimento de suco, promovendo o aumento da porcentagem da polpa. De um lado, o mercado consumidor busca um material com casca fina e alto rendimento de suco. Do outro lado, acessos com maior espessura de casca podem ter maior resistência ao transporte e à doenças da pós-colheita. A partir da casca, tem sido possível a extração de pectina e a fabricação de farinha com propriedades funcionais-medicinais, de modo que para tal utilização, acessos com maior massa de casca podem ser importantes (CAZARIN, et al., 2014).

Tabela 3. Contribuição relativa dos caracteres para divergência – SINGH (1981), comprimento do androginóforo (CAN), diâmetro externo da cavidade da coroa (DEEC), diâmetro interno da cavidade da coroa (DIC), comprimento do pedicelo (CPD), comprimento da antera (CA), largura da antera (LAN), comprimento do ovário (COV), diâmetro do ovário (DOV), massa da casca (MCA), massa das sementes (MSE), massa da polpa (MPO), rendimento de suco (RES), acidez total titulável (AT) e razão entre sólidos solúveis e acidez total titulável (RATIO) de 15 acessos de *Passiflora* spp. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

Variáveis Flor	Singh (%)	Variáveis Fruto	Singh (%)
CAN (cm)	10,34	MCA (g)	51,30
DEEC (cm)	16,90	MSE (g)	0,26
DIC (cm)	2,40	MPO (g)	28,21
CPD (cm)	20,07	RES (%)	2,23
CA (cm)	5,28	AT	17,98
LAN (cm)	14,76	RATIO	0,02
COV (cm)	25,14		
DOV (cm)	5,01		

Depois da massa da casca, as características que mais contribuíram para a diferenciação dos acessos foram a Massa da Polpa (MPO) (28,21%) e a acidez total titulável (AT) (17,98%). A massa da polpa é diretamente relacionada ao valor comercial dos frutos de maracujá para mercado in natura e para processamento industrial que usam a polpa como principal matéria prima. A acidez total titulável é uma característica de grande importância para a indústria, pois, altos níveis de acidez elevam tempo de conservação da polpa e desfavorecem a manifestação de microrganismos (NEGREIROS et al., 2008), além de estar altamente relacionada com a qualidade da bebida produzida a

partir da polpa do fruto, o que pode ser avaliada pela razão entre sólidos solúveis e acidez total titulável (RATIO). Esta característica também é importante para o consumo *in natura* e segundo Silva et al. (2008) é um balanço entre os ácidos e os açúcares, que pode ser altamente influenciada pela época de colheita do fruto.

3.4 CONCLUSÃO

A caracterização morfoagronômica baseada em descritores quantitativos de flores e frutos contribuiu para a diferenciação fenotípica entre os 15 acessos *Passiflora* spp., servindo como importante instrumento para quantificar a variabilidade existente entre os acessos.

As características de frutos contribuíram de forma mais determinante para a diferenciação dos acessos das espécies avaliadas nesse estudo. A caracterização quantitativa das estruturas de flor e fruto de forma complementar é importante para estudos mais completos de caracterização e diversidade genética de recursos genéticos do gênero *Passiflora*.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAZARINI, C. B. B.; SILVA, J. K.; COLOMEU, T. C.; ZOLLNER, R. L.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R. Capacidade antioxidante e composição química da casca de maracujá (*Passiflora edulis*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 9, 2014.

CASTRO, J. A.; NEVES, C. G.; DE JESUS, O. N.; OLIVEIRA, E. J. Definition of morpho-agronomic descriptors for the characterization of yellow passion fruit. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 145, n. 1, p. 17-22, 2012.

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

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Passion fruit (*Passiflora* spp.) improvement using wild species. In: MARIANTE, A. S.; SAMPAIO, M. J. A.; INGLIS, M. C. V. **The state of Brazil's plant genetic resources. Second National Report. Conservation and Sustainable Utilization for food and agriculture**. Brasília: Embrapa Technological Information, 2009, p. 101-106.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Recursos genéticos: conservação, caracterização e uso. In: FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M.; REIS JÚNIOR, F. B. **Biotechnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2011 b, p. 513-551.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: demandas para a pesquisa**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2006, 54 p.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; COSTA, A. M. **Conservação e caracterização de espécies silvestres de maracujazeiro (*Passiflora* spp.) e utilização potencial no melhoramento genético, como porta-enxertos, alimentos funcionais, plantas ornamentais e medicinais - resultados de pesquisa.** Planaltina: Embrapa Cerrados, 2012. (Documentos, N° 312). 34 p.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. **Caracterização de germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro assistidos por marcadores moleculares: resultados de pesquisa 2005-2008.** Planaltina: Embrapa Cerrados, (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, N° 207), 2008, 59 p.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. Pré-melhoramento do maracujá. In: LOPES, M. A.; FAVERO, A. P.; FERREIRA, M. A. J. F.; FALEIRO, F. G.; FOLLE, S. M.; GUIMARÃES, E. P. (Eds.) **Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 2011 a, p. 550-570.

LAWINSCKY, P. R.; SOUZA, M. M.; BELO, G. O.; VIANA, A. J. C.; MELO, C. A. F.; OLIVEIRA, C. S. L. Morphological characterization and genetic diversity in *Passiflora alata* Curtis and *P. cincinnata* Mast. (Passifloraceae) **Brazilian Journal Botany**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 261-272, 2014.

MUSCHNER, V. C.; ZAMBERLAN, P. M.; BONATTO, S. L.; FREITAS, L. B. Phylogeny, biogeography and divergence times in *Passiflora* (Passifloraceae). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 35, n. 4, p. 1036-1043, 2012.

NEGREIROS, J. R. S.; ARAÚJO, S. E.; ÁLVARES, V. S.; LIMA, V. A.; OLIVEIRA, T. K. Caracterização de frutos de progênes de meios-irmãos de maracujazeiro-amarelo em Rio Branco – Acre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 431-437, 2008.

ORTIZ, D.; BOHÓRQUEZ, A.; DUQUE, M. C.; TOHME, J.; CUELLAR, D.; MOSQUERA, T. Evaluating purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *edulis*) genetic variability in individuals from commercial plantations in Colombia. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Netherlands, v. 59, n. 6, p. 1089-1099, 2012.

SANTOS, C. E. M.; BRUCKNER, C. H.; CRUZ, C. D.; SIQUEIRA, D. L.; PIMENTEL, L. D. Características físicas do maracujá-azedo em função do genótipo e massa do fruto. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 1102-1110, 2009.

SANTOS, E. A.; SOUZA, M. M.; VIANA, A. P.; ALMEIDA, A. A. F.; FREITAS, J. C. O.; LAWINSCKY, P. R. Multivariate analysis of morphological characteristics of two species of passion flower with ornamental potential and of hybrids between them. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v.10, n. 4, p. 2457-2471, 2011.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistic: version 9.1.3.** Cary: SAS Institute, 2008. 846 p.

SILVA, T. V.; RESENDE, E. D.; VIANA, A. P.; PEREIRA, S. M. F.; CARLOS, L. A.; VITORAZI, L. Qualidade do suco de maracujá-amarelo em diferentes épocas de colheita. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 545-550, 2008.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic diversity. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, New Delhi, v. 41, n. 2, p. 237-245, 1981.
STATSOFT, Inc. **Statistica for Windows** (data analysis software system), version 7.1. Statsoft, Tulsa, Oklahoma (USA), 2005.

VIANA, A. J. C.; SOUZA, M. M.; ARAÚJO, I. S.; CORRÊA, R. X. Genetic diversity in *Passiflora* species determined by morphological and molecular characteristics. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 54, n. 3, p. 535-538, 2010.

VIEIRA, E. A.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; MARTINS, L. F.; BENIN, G.; SILVA, J. A. G.; KOPP, M. M.; HARTWIG, I.; CARVALHO, M. F.; VALÉRIO, I. P. Associação da distância genética em trigo estimada a partir de caracteres morfológicos, caracteres fenológicos e dos componentes do rendimento de grãos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 2, p. 161-168, 2007.

**CAPÍTULO 4. ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS E
CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA DE ESPÉCIES DO GÊNERO
*Passiflora***

ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS E CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Passiflora*

Resumo: Neste trabalho, objetivou-se estimar parâmetros genéticos e caracterizar espécies do gênero *Passiflora* com base em características morfoagronômicas quantitativas. Foram avaliadas 14 características morfoagronômicas quantitativas, sendo oito de flor e seis de fruto, de 15 acessos de *Passiflora* sp. Todas as características foram mensuradas no terço médio das plantas. Foram consideradas para análise, 12 estruturas para cada mensuração, registrando-se sempre o valor médio para cada variável. A massa da casca foi a característica que apresentou a maior amplitude com o valor máximo de 1211,75 g e o valor mínimo de 0,27 g. Esta amplitude indica que esse descritor é de grande importância para diferenciação das espécies de *Passiflora* spp. Análises de variância revelaram diferenças altamente significativas entre os 15 acessos, evidenciando a existência de variabilidade genética quanto aos caracteres analisados. Todas as características apresentaram coeficiente de determinação acima de 99%, indicando que houve alta acurácia na avaliação e grande contribuição dos fatores genéticos na expressão das características.

Palavras-chave: distância genética, recursos genéticos, Passifloraceae

GENETIC PARAMETERS ESTIMATION AND AGRO-MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF SPECIES FROM *Passiflora* GENUS

Abstract: The purpose of this study was to estimate genetic parameters and to characterize *Passiflora* species based on quantitative agronomic characteristics. Fifteen accessions of *Passiflora* species was characterized based on 14 quantitative agronomic characteristics of flowers (8) and fruits (6). All characteristics were measured in the middle third of the plants. For analysis, 12 structures were considered for each measurement, always recording the mean value for each variable. The shell mass was the characteristic that presented the greatest amplitude with the maximum value of 1211.75 g and the minimum value of 0.27 g. This amplitude indicates that this descriptor is of great importance for the differentiation of the species of *Passiflora* spp. Variance analysis revealed highly significant differences among the 15 accessions, demonstrating the genetic variability. Determination coefficient above 99% was verified for all evaluated characteristics, indicating the high experimental accuracy and great contribution of genetic factors on the traits phenotic expression.

Key words: genetic distance, genetic resources, Passifloraceae

4.1 INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* é considerado como o mais representativo da família Passifloraceae, com cerca de 500 espécies, a maioria das quais tem como centro de origem a América Tropical, das quais 139 estão dispersas no território brasileiro, colocando o Brasil, especificamente a Região Centro Norte do País entre os principais centros de diversidade genética do gênero (BERNACCI et al., 2008; BERNACCI et al., 2013).

As espécies contidas no gênero *Passiflora* podem possuir uma grande variação fenotípica, a qual pode ser observada nas folhas, flores e frutos. As folhas podem ser alternadas, simples ou compostas, inteiras ou lobadas e de forma e tamanhos variáveis, de margem inteira ou serrilhada. É possível observar diferentes quantidades e posicionamentos de glândulas nectaríferas, no pecíolo, na margem da bráctea ou na parte dorsal da folha (FEUILLET e MACDOUGAL, 2007; NUNES e QUEIROZ, 2007; CERVI et al., 2010). As flores apresentam diferentes tamanhos e grande espectro de cores e os frutos apresentam também diferentes tamanhos, cores e formatos. A casca é de textura coriácea, quebradiça e lisa, a qual protege as sementes, que são envolvidas por um arilo mucilaginoso (BERNACCI et al., 2008; NUNES e QUEIROZ, 2007).

As passifloras possuem uma ampla variabilidade interespecífica e potencial para usos diversos, Faleiro et al. (2006) ressaltam que, espécies nativas e silvestres de maracujá possuem potenciais não apenas para o consumo *in natura*, mas também para o processamento industrial, produção de fármacos, planta ornamental e alimento funcional. Espécies silvestres são fontes de genes para o melhoramento genético, servem como porta enxerto e na obtenção de híbridos interespecíficos (FALEIRO et al., 2008).

Quantificar essa variabilidade genética é fundamental para avaliar o desempenho dessas espécies e assim identificar recursos genéticos de grande valor, tanto aqueles passíveis de serem introduzidos de forma direta em sistemas de produção, como aqueles com potencial para serem usados em programas de melhoramento (FALEIRO et al., 2012). Para essa quantificação, são necessários principalmente trabalhos de caracterização morfológica e agrônômica dos materiais de *Passiflora* spp., tendo em vista a sua utilização prática em cultivos comerciais e em programas de melhoramento, (FALEIRO et al., 2011a; 2011b), sem contar, que há uma valoração do germoplasma, além de fornecer dados necessários para as ações de pesquisa e desenvolvimento.

A aquisição de informações científicas por meio da caracterização de acessos de *Passiflora* spp. baseada em descritores morfoagronômicos, permite a valoração, a conservação e o uso de uma biodiversidade, com o intuito de acessar novas fontes potenciais de variabilidade genética, orientar e aumentar a eficiência do programa de melhoramento e contribuir para o desenvolvimento de novos materiais.

Alguns estudos têm sido desenvolvidos, objetivando estimar parâmetros genéticos e fenotípicos em populações e espécies de maracujazeiro, embora, ainda se tenham poucas informações disponíveis (GONÇALVES et al., 2009; SILVA et al., 2009). Nesse sentido, objetivou-se, nesse trabalho, estimar parâmetros genéticos e caracterizar espécies do gênero *Passiflora* com base em características morfoagronômicas quantitativas.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Unidade de Apoio da Fruticultura e no Laboratório de Análises de Alimentos da Embrapa Cerrados, em Planaltina-DF. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 15 tratamentos (acessos) (Tabela 1) e quatro repetições, totalizando 60 parcelas experimentais, sendo que cada parcela foi constituída por 12 estruturas (flores ou frutos).

Tabela 1. Descrição dos tratamentos (15 acessos de *Passiflora* spp.), caracterizados no estudo, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

Acesso	Espécie	Código BAG
1	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-17
2	<i>Passiflora nitida</i> Kunth, 1817	CPAC MJ-01-03
3	<i>Passiflora suberosa</i> L., 1753	CPAC MJ-35-02
4	<i>Passiflora caerulea</i> Lour. ex DC., 1828	CPAC MJ-14-01
5	<i>Passiflora hatschbachii</i> Cervi, 1994	CPAC MJ-50-01
6	<i>Passiflora maliformis</i> Vell., 1831	CPAC MJ-58-01
7	<i>Passiflora quadrangularis</i> x <i>P. alata</i>	CPAC MJ-H-44
8	<i>Passiflora sidifolia</i> M. Roem., 1846	CPAC MJ-16-02
9	<i>Passiflora malacophylla</i> Mast., 1872	CPAC MJ-43-01
10	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-09
11	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-19
12	<i>Passiflora quadrangularis</i> Triana & Planch, 1873	CPAC MJ-07-03
13	<i>Passiflora cincinnata</i> Mast., 1868	CPAC MJ-26-03
14	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789 (BRS Mel do Cerrado)	BRS Mel do Cerrado
15	<i>Passiflora tenuifila</i> Killip, 1927 (BRS Vita)	BRS Vita

Foram caracterizados 15 acessos de *Passiflora* spp. do Banco Ativo de Germoplasma 'Flor da Paixão' (BAG). As plantas de cada acesso conservadas *in vivo* foram clonadas via estaquia para produção das mudas. Oito mudas de cada acesso foram

cultivadas no campo no sistema de espaldeira vertical, seguindo as recomendações técnicas da cultura quanto à adubação, irrigação e controle fitossanitário.

As características morfoagronômicas avaliadas foram: comprimento do androginóforo (CAN), diâmetro externo da cavidade da coroa (DEEC), diâmetro interno da cavidade da coroa (DIC), comprimento do pedicelo (CPD), comprimento da antera (CA), largura da antera (LAN), comprimento do ovário (COV), diâmetro do ovário (DOV), massa da casca (MCA), massa das sementes (MSE), massa da polpa (MPO), rendimento de suco (RES), acidez total titulável (AT) e razão entre sólidos solúveis e acidez total titulável (RATIO).

Os dados de comprimento, diâmetro e largura, foram obtidos em centímetros (cm); os dados de massa foram obtidos em gramas (g). Todas as variáveis foram mensuradas considerando o terço médio de cada planta.

Foi realizada a análise descritiva dos dados de cada acesso (valores máximo e mínimo e a média), com o auxílio do programa Genes (CRUZ, 2013). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey a 1% de significância.

Foram também estimadas as variâncias Fenotípica (σ^2_f), Genética (σ^2_g) e Ambiental (σ^2_e), o Coeficiente de determinação (h^2 %), o Coeficiente de Variação Genético (CV_g) e a razão CV_g/CV e (CV_r), para cada uma das características, com auxílio do programa Genes (CRUZ, 2013), em que:

$$\text{Variância fenotípica entre as médias dos tratamentos} - \hat{\sigma}_f^2 = \frac{QMg}{r}$$

$$\text{Variância genotípica} - \hat{\sigma}_g^2 = \frac{QMg - QMe}{r}$$

$$\text{Variância ambiental} - \hat{\sigma}_e^2 = \frac{QMe}{r}$$

$$\text{Coeficiente de determinação ao nível de média} - h_a^2 (\%) = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\frac{QMg}{r}} 100$$

$$\text{Coeficiente de variação genético} - CVg (\%) = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_g^2}}{\bar{x}} 100$$

$$\text{Coeficiente de correlação relativa} - CVr = \sqrt{\frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}^2}}$$

Diante das estimativas variâncias e das covariâncias fenotípicas, genotípicas e de ambiente, entre os caracteres dois a dois, foram determinadas as correlações fenotípicas, genotípicas e de ambiente, respectivamente através das seguintes equações:

$$\text{Coeficiente de correlação genotípica (r}_g\text{)} - r_g = \frac{C\hat{v}_g(X, Y)}{\sqrt{\hat{\sigma}_g^2(X) \cdot \hat{\sigma}_g^2(Y)}}$$

$$\text{Coeficiente de correlação fenotípica (r}_f\text{)} - r_f = \frac{C\hat{v}_f(X, Y)}{\sqrt{\hat{\sigma}_f^2(X) \cdot \hat{\sigma}_f^2(Y)}}$$

$$\text{Coeficiente de correlação ambiental (r}_a\text{)} - r_a = \frac{C\hat{v}_a(X, Y)}{\sqrt{\hat{\sigma}_a^2(X) \cdot \hat{\sigma}_a^2(Y)}}$$

Em que:

$C\hat{v}_g(X, Y)$, $C\hat{v}_f(X, Y)$ e $C\hat{v}_a(X, Y)$ = Estimadores da covariância genotípica, fenotípica e ambiental, respectivamente, entre dois caracteres X e Y;

$\hat{\sigma}_g^2(X)$, $\hat{\sigma}_f^2(X)$ e $\hat{\sigma}_a^2(X)$ = Estimadores da variância genotípica, fenotípica e ambiental, respectivamente, do caráter X;

$\hat{\sigma}_g^2(Y)$, $\hat{\sigma}_f^2(Y)$ e $\hat{\sigma}_a^2(Y)$ = Estimadores da variância genotípica, fenotípica e ambiental, respectivamente, do caráter Y.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização dos 15 acessos de *Passiflora* spp., com base nos 14 descritores quantitativos de flor e fruto, mostrou a variabilidade genética dos materiais. Essa variabilidade é evidenciada pela amplitude dos valores máximo, mínimo e médio dos caracteres estudados (Tabela 2). A variável massa da casca (MCA) foi a característica que apresentou a maior amplitude com o valor máximo de 1211,75 g e o valor mínimo de 0,27 g. Esta amplitude indica que esse descritor é de grande importância para diferenciação das espécies de *Passiflora* spp. estudadas nesse trabalho.

A variável massa da polpa (MPO) também apresentou alto valor máximo de 230,25 g e valor mínimo de 0,13 g, apresentando alta amplitude entre os valores observados, sendo também um descritor de importância na discriminação das espécies de *Passiflora* spp. Os dois descritores que apresentaram maior amplitude dos valores observados são características dos frutos, indicando que o fruto é uma parte indispensável na caracterização e diferenciação das espécies. Além disso, os frutos são

as principais estruturas normalmente utilizadas na exploração comercial das diferentes espécies do gênero *Passiflora*.

Tabela 2. Análise de variância, parâmetros genéticos e comparação das médias das características das flores comprimento do androginóforo (CAN) em cm, diâmetro externo da cavidade da coroa (DEEC) em cm, diâmetro interno da cavidade da coroa (DIC) em cm, comprimento do pedicelo (CPD) em cm, comprimento da antera (CA) em cm, largura da antera (LAN) em cm, comprimento do ovário (COV) em cm e diâmetro do ovário (DOV) em cm de 15 acessos de *Passiflora* spp.

Acessos / Parâmetros genéticos	CAN	DEEC	DIC	CPD	CA	LAN	COV	DOV
1	1,88 c	1,79 d	0,60 e	2,70 j	1,25 b	0,70 b	0,90 e	0,64 c
2	1,24 e	1,56 f	0,58 e	5,51 c	1,07 d	0,50 e	0,69 g	0,55 d
3	0,40 j	0,59 k	0,20 i	0,93 m	0,20 h	0,11 h	0,20 j	0,20 i
4	1,11 fg	1,26 h	0,42 g	4,18 f	1,10 cd	0,50 e	0,80 f	0,42 f
5	3,65 a	1,29 h	0,49 f	7,88 a	1,39 a	0,29 g	0,59 h	0,39 f
6	1,06 gh	1,05 i	0,20 i	4,52 e	1,10 cd	0,41 f	0,90 e	0,66 c
7	2,02 b	2,48 a	0,66 d	3,11 i	1,04 d	0,63 c	1,07 c	0,65 c
8	1,47 d	1,44 g	0,34 h	1,89 l	0,74 e	0,12 h	0,59 h	0,36 g
9	1,20 ef	1,29 h	0,44 fg	3,52 h	0,63 f	0,30 g	0,66 g	0,55 d
10	1,25 e	1,90 c	0,80 c	2,20 k	1,19 bc	0,70 b	1,01 d	0,56 d
11	0,98 hi	1,88 c	0,91 b	3,47 h	1,40 a	0,80 a	0,90 e	0,70 b
12	1,50 d	1,60 f	0,60 e	4,90 d	1,12 cd	0,40 f	1,30 a	0,70 b
13	0,89 i	1,69 e	0,60 e	3,63 h	1,07 d	0,40 f	0,79 f	0,50 e
14	0,89 i	2,12 b	1,05 a	3,89 g	1,07 d	0,59 d	1,20 b	0,79 a
15	0,90 i	0,80 j	0,29 h	6,98 b	0,4 g	0,30 g	0,30 i	0,29 h
Mínimo	0,40	0,59	0,20	0,93	0,20	0,11	0,20	0,20
Média	1,36	1,51	0,54	3,95	0,98	0,45	0,79	0,53
Máximo	3,65	2,48	1,05	7,88	1,4	0,80	1,30	0,79
QM	2,25**	0,98**	0,24**	13,59**	0,48**	0,18**	0,36**	0,11**
Valor F	1289,89	2802,46	810	2621,43	419,54	1977,38	1553,05	1041,05
σ^2_f	0,56	0,24	0,61	3,40	0,12	0,04	0,09	0,03
σ^2_g	0,56	0,24	0,61	3,40	0,12	0,04	0,09	0,03
σ^2_e	~0,00	~0,00	~0,00	~0,00	~0,00	~0,00	~0,00	~0,00
$h^2(\%)$	99,92	99,96	99,88	99,96	99,76	99,95	99,93	99,90
r_{AA}	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99
CVe (%)	3,07	1,24	3,18	1,82	3,42	2,10	1,93	1,96
CV _g (%)	55,08	32,72	45,21	46,60	34,98	46,67	38,09	31,66
CV _r	17,95	26,46	14,22	25,60	10,23	22,23	19,70	16,12

Acessos: 1. *P. alata* (CPAC MJ-02-17), 2. *P. nitida* (CPAC MJ-01-03), 3. *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), 4. *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), 5. *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), 6. *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), 7. *P. quadrangularis* x *P. Alata* (CPAC MJ-H-44), 8. *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02), 9. *P. malacophylla* (CPAC MJ-43-01), 10. *P. alata* (CPAC MJ-02-09), 11. *P. alata* (CPAC MJ-02-19), 12. *P. quadrangularis* (CPAC MJ-07-03), 13. *P. cincinnata* (CPAC MJ-26-03), 14. *P. alata* BRS Mel do Cerrado, 15. *P. tenuifila* BRS Vita. **Legenda:** Quadrado Médio (QM) Variâncias Fenotípica (σ^2_f), Genéticas (σ^2_g) e Ambiental (σ^2_e), Coeficiente de Determinação (h^2 %), Acurácia (r_{AA}), Coeficiente de variação experimental (CVe), Coeficiente de Variação Genético (CV_g) e razão CV_g/CVe (CV_r). **Diferença altamente significativa pelo teste F da análise de variância. As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade de erro.

Faleiro et al. (2008) avaliaram a massa da casca, da polpa, da semente, da espessura da casca e acidez em espécies silvestres e comerciais, observaram diversidade genética para todas as características. A espessura da casca é utilizada como critério de

qualidade visando ao aumento do espaço na câmara interna do fruto de maracujá (cavidade ovariana). Normalmente, os trabalhos de melhoramento genético são direcionados para o aumento do tamanho do fruto de maneira inversamente proporcional à espessura da casca (Medeiros et al., 2009), embora, em algumas situações, uma maior espessura da casca pode indicar maior tolerância a doenças, principalmente aquelas importantes na pós-colheita do maracujá.

Outra variável muito importante é o comprimento do androginóforo (CAN), principalmente do ponto de vista do melhoramento. Esta característica apresentou um valor médio de 1,36 cm. Segundo Junqueira et al., (2006), deve-se buscar a redução desta variável, pois, quanto menor a distância do estigma em relação à corona, maior será a possibilidade de polinização por insetos menores, facilitando assim a etapa de polinização do maracujá. As abelhas africanas são consideradas pragas da cultura do maracujazeiro-azedo porque elas pegam o pólen e não realizam a polinização cruzada em flores com maior tamanho do androginóforo. A redução do comprimento do androginóforo poderia transformar uma praga em um potencial agente polinizador.

Análises de variância revelaram diferenças altamente significativas entre os 15 acessos, evidenciando a existência de variabilidade genética dos acessos analisados quanto às características de flores e frutos (Tabela 2 e 3). Considerando os descritores de flor, o acesso CPAC MJ-50-01 apresentou as maiores médias do comprimento do androginóforo (CAN) (3,65 cm), do comprimento do pedicelo (CPD) (7,88 cm) e do comprimento da antera (CA) (1,39 cm) diferindo estatisticamente dos demais acessos. Enquanto o acesso CPAC MJ-35-02 apresentou o menor valor do comprimento do androginóforo (CAN), podendo ser uma espécie muito interessante para o melhoramento, quando busca-se a redução dessa estrutura, que segundo Junqueira et al. (2006) é muito importante no que tange a polinização por insetos menores.

O acesso CPAC MJ-H-44 apresentou a maior média da variável diâmetro externo da cavidade da corona (DEEC), sendo de 2,48 cm. Esse acesso apresentou uma heterose em relação aos genitores, quanto ao tamanho da cavidade da corona, se mostrando superior aos parentais. A maior média de diâmetro interno da cavidade da corona (DIC) foi apresentada pelo acesso *P. alata* BRS Mel do Cerrado de 1,05 cm.

Quanto à largura da antera (LAN), o acesso CPAC MJ-02-19 apresentou o maior valor médio de 0,80 cm. Essa pode ser uma característica importante, porque está relacionada com a superfície na qual o pólen fica aderido; assim como o comprimento da antera (CA). Em conjunto, a LAN e o CA compõem a área da antera. Enquanto, as

variáveis comprimento do ovário (COV) e diâmetro do ovário (DOV) tiveram as maiores médias expressas pelos acessos CPAC MJ-07-03 (1,30 cm) e o acesso *P. alata* BRS Mel do Cerrado (0,79 cm), respectivamente.

Quanto aos descritores do fruto, o acesso CPAC MJ-07-03, apresentou os maiores valores médios para as variáveis massa da casca (MCA) (1211,75 g), massa das sementes (MSE) (21,54 g) e massa da polpa (MPO) (230,25 g) (Tabela 3).

Tabela 3. Análises de variância, parâmetros genéticos e comparação das médias das características dos frutos massa da casca (MCA) em gramas, massa das sementes (MSE) em gramas, massa da polpa (MPO) em gramas, rendimento de suco (RES) em porcentagem, acidez total titulável (AT) e razão entre sólidos solúveis e acidez total titulável (RAT) de 15 acessos de *Passiflora* spp.

Acessos /Parâmetros genéticos	MCA	MSE	MPO	RES	AT	RAT
1	183,94 b	5,02 f	20,68 d	0,14 k	7,15 e	2,04 de
2	39,96 g	1,61 h	4,00 i	7,80 h	4,01 g	1,75 de
3	0,27 j	0,15 j	0,13 j	26,31 c	3,05 h	3,76 c
4	15,58 i	0,85 i	3,00 i	16,66 e	1,65 j	3,94 bc
5	23,92 h	3,43 g	16,59 e	39,81 b	38,89 b	0,36 gh
6	24,20 h	5,64 e	31,05 b	25,05 d	3,66 g	0,97 fg
7	115,02 e	7,12 c	12,01 g	7,42 h	1,81 j	8,84 a
8	3,76 j	1,39 h	9,20 h	42,12 a	2,67 i	4,48 b
9	4,43 j	0,27 j	0,91 j	16,68 e	6,46 f	0,42 gh
10	96,29 f	5,61 e	15,00 f	6,06 i	7,19 e	1,99 de
11	133,00 d	9,00 b	24,33 c	13,07 g	6,28 f	2,31 d
12	1.211,75 a	21,54 a	230,25 a	15,47 f	12,04 c	0,83 fgh
13	0,49 j	6,55 d	24,13 c	25,45 cd	48,15 a	0,20 h
14	149,60 c	5,63 e	21,07 d	13,70 g	11,10 d	1,40 ef
15	12,40 i	1,44 h	0,26 j	1,40 j	1,52 j	4,49 b
Mínimo	0,27	0,15	0,13	0,14	1,52	0,20
Média	134,31	5,02	27,51	17,14	10,37	2,52
Máximo	1211,75	21,54	230,25	42,12	48,15	8,84
QM	370670,98**	114,42**	12979,65**	636,13**	777,90**	20,96**
Valor F	136760,12	15011,90	74928,70	6678,27	50462,05	367,73
σ^2_f	92667,74	28,61	3244,91	159,03	194,48	5,24
σ^2_g	92667,07	28,60	3244,87	159,01	194,47	5,22
σ^2_e	0,68	~0,00	0,04	0,02	~0,00	0,01
h^2 (%)	99,99	99,99	99,99	99,98	99,99	99,73
r ² _{AA}	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99
CV _e (%)	1,22	1,74	1,51	1,80	1,20	9,48
CV _g (%)	226,65	106,58	207,07	73,55	134,42	90,75
CV _r	184,90	61,26	136,86	40,86	112,32	9,58

Acessos: 1. *P. alata* (CPAC MJ-02-17), 2. *P. nitida* (CPAC MJ-01-03), 3. *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), 4. *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), 5. *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), 6. *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), 7. *P. quadrangularis* x *P. Alata* (CPAC MJ-H-44), 8. *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02), 9. *P. malacophylla* (CPAC MJ-43-01), 10. *P. alata* (CPAC MJ-02-09), 11. *P. alata* (CPAC MJ-02-19), 12. *P. quadrangularis* (CPAC MJ-07-03), 13. *P. cincinnata* (CPAC MJ-26-03), 14. *P. alata* BRS Mel do Cerrado, 15. *P. tenuifila* BRS Vita. **Legenda:** Valores mínimos (Mínimo), médios (Média) e máximos (Máximo), Quadrado Médio (QM) Variâncias Fenotípica (σ^2_f), Genotípicas (σ^2_g) e Ambiental (σ^2_e), Coeficiente de Determinação (h^2 %), Acurácia (r²_{AA}), Coeficiente de variação experimental (CV_e), Coeficiente de Variação Genético (CV_g) e razão CV_g/CV_e (CV_r). ** Diferença altamente significativa pelo teste F da análise de variância. As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade de erro.

De acordo com Santos et al. (2009), a espessura da casca do fruto é uma característica importante do ponto de vista comercial, visto que essa característica está fortemente relacionada com o rendimento de suco, promovendo o aumento da porcentagem da polpa. De um lado, o mercado consumidor busca um material com casca fina e alto rendimento de suco. Do outro lado, acessos com maior espessura de casca podem ter maior resistência ao transporte e a doenças da pós-colheita. A partir da casca, tem sido possível a extração de pectina e a fabricação de farinha com propriedades funcionais-medicinais, de modo que para tal utilização, acessos com maior massa de casca podem ser importantes (CAZARIN, et al., 2014).

A maior média de rendimento de suco (RES), foi apresentada pelo acesso CPAC MJ-16-02 (42,12 %). Greco et al. (2014) avaliando genótipos de maracujazeiro-azedo, encontraram média de rendimento da polpa de 38,72%, sendo o valor inferior ao encontrado no presente estudo para alguns dos acessos de *Passiflora* spp.

Os maiores valores médios para as variáveis acidez total titulável (AT) e razão entre sólidos solúveis e acidez total titulável (RATIO), foram apresentados pelos acessos CPAC MJ-26-03 e CPAC MJ-H-44, sendo (48,15) e (8,84), respectivamente. Abreu et al. (2009) avaliando características físico-químicas de cinco genótipos de maracujazeiro-azedo cultivados no Distrito Federal, encontraram para cultivar BRS Gigante Amarelo, Ratio de 1,92. As amplitudes de valores de AT e RATIO verificadas no presente trabalho ilustra a amplitude de sabores das polpas das diferentes espécies.

Os valores da variância genética de todos os descritores de flor foram baixos, variando de 0,03 a 3,40, para diâmetro do ovário (DOV) e comprimento do pedicelo (CPD), respectivamente (Tabela 2). Entretanto, as variâncias residuais foram próximas de zero, indicando alta precisão experimental. Para os descritores de fruto (Tabela 3), as variâncias genéticas foram maiores, variando de 5,22 para razão entre sólidos solúveis e acidez total titulável (RATIO) a 92.667,07 para massa da casca (MCA).

Todas as características apresentaram coeficiente de determinação acima de 99 %, indicando alta acurácia experimental, o que se deve à baixa interferência ambiental e ao elevado efeito genético sobre tais características. A baixa variância residual se deve também à alta semelhança entre os indivíduos do mesmo acesso avaliados.

A análise do coeficiente de variação genético (CVg) possibilitou a comparação da variabilidade genética entre os diferentes descritores analisados. Verificou-se que os valores obtidos para o CVg variaram de 31,66 a 226,65; para o diâmetro do ovário (DOV) e a massa da casca (MCA), respectivamente; revelando uma alta variabilidade

genética entre os acessos para as características avaliadas. Greco et al. (2014), estimando parâmetros genéticos de 32 genótipos de maracujazeiro-azedo, encontraram valores de CVg que variaram de 0 a 11,39 mostrando uma baixa variabilidade genética entre os genótipos analisados para as características de fruto.

Todas as características de flor (Tabela 2) e fruto (Tabela 3) avaliadas apresentaram altos valores de CVr, variando de 9,58 para a razão entre sólidos solúveis e acidez total titulável (RATIO) a 136,86 para a massa da polpa (MPO). Estes valores elevados para o CVr demonstram um elevado efeito genético e baixo efeito do ambiente nessas características, o que é muito favorável aos processos de seleção.

Silva et al. (2012) estimaram parâmetros genéticos associados a onze características agrônômicas de uma população de maracujazeiro-azedo, a partir dos parâmetros, observaram a existência de variabilidade genética disponível na população.

Os descritores morfológicos utilizados foram capazes de diferenciar os subgêneros *Decaloba* e *Passiflora*, bem como separar de forma clara as espécies estudadas. Resultado semelhante foi obtido por Tangarife et al. (2009) ao realizarem a caracterização morfológica de 21 espécies do gênero *Passiflora*, incluindo três subgêneros. Este estudo permitiu distinguir os subgêneros de forma semelhante à classificação taxonômica, sendo as variáveis relacionadas à parte floral as que mais contribuíram para a separação das espécies.

Viana et al. (2010) utilizaram onze descritores para avaliar seis espécies do gênero *Passiflora* e verificaram ampla variação morfológica inter e intraespecífica, obtendo clara separação das espécies. A caracterização morfológica é uma fase fundamental em programas de melhoramento, visto que possibilita conhecer o germoplasma e permite estimar a variabilidade genética (MARIN et al., 2009). Estas informações possibilitam ao melhorista explorar a diversidade, podendo realizar cruzamentos visando à introgressão de genes favoráveis encontrados em espécies silvestres, como por exemplo, a redução do androginóforo (JUNQUEIRA et al., 2006) por intermédio de cruzamento interespecífico. Neste caso, deve-se ressaltar que, para que haja sucesso nos cruzamentos interespecíficos, o melhorista deve procurar acessos que estejam mais próximos geneticamente, sendo possivelmente compatíveis.

Com relação às estimativas dos coeficientes de correlação fenotípica, genotípica e ambiental, entre pares de variáveis (Tabela 4), verificou-se que as correlações fenotípicas e genotípicas foram bem similares, indicando alta herdabilidade das características avaliadas e baixa influência ambiental. Resultado similar foi observado

por Oliveira et al. (2011), estudando estimativas de correlações genotípicas e fenotípicas em germoplasma de maracujazeiro.

Tabela 4. Coeficientes (C) de correlação fenotípica (r_f), genotípica (r_g) e ambiental (r_a) das características comprimento do androginóforo (CAN), diâmetro externo da cavidade da coroa (DEEC), diâmetro interno da cavidade da coroa (DIC), comprimento do pedicelo (CPD), comprimento da antera (CA), largura da antera (LAN), comprimento do ovário (COV), diâmetro do ovário (DOV), massa da casca (MCA), massa das sementes (MSE), massa da polpa (MPO), rendimento de suco (RES), acidez total titulável (AT) e razão entre sólidos solúveis e acidez total titulável (RAT) de 15 acessos de *Passiflora* spp.

Características	C	Características												
		DEEC	DIC	CPD	CA	LAN	COV	DOV	MCA	MSE	MPO	RES	AT	RAT
CAN	r_f	0,22	0,05	0,48	0,51	0,03	0,11	0,03	0,07	0,10	0,08	0,28	0,40	-0,04
	r_g	0,22	0,05	0,49	0,51	0,03	0,11	0,03	0,07	0,10	0,08	0,28	0,40	-0,04
	r_a	-0,01	-0,22	-0,06	-0,09	-0,12	-0,06	-0,11	0,22	-0,08	-0,10	-0,20	0,02	-0,09
DEEC	r_f		0,83	-0,18	0,63	0,74	0,78	0,74	0,19	0,41	0,12	-0,32	0,09	0,19
	r_g		0,83	-0,18	0,63	0,74	0,78	0,74	0,19	0,41	0,12	-0,32	0,09	0,19
	r_a		0,08	-0,13	-0,16	0,10	0,36	0,27	-0,09	0,26	-0,02	0,02	0,10	0,10
DIC	r_f			-0,07	0,60	0,76	0,69	0,72	0,21	0,39	0,13	-0,37	0,15	-0,12
	r_g			-0,07	0,60	0,76	0,69	0,72	0,21	0,39	0,13	-0,37	0,15	-0,12
	r_a			0,17	0,08	0,45	0,07	0,02	-0,06	0,07	0,02	-0,02	0,10	0,40
CPD	r_f				0,25	-0,07	-0,06	-0,01	0,10	0,08	0,14	-0,00	0,33	-0,26
	r_g				0,25	-0,07	-0,06	-0,01	0,10	0,08	0,14	-0,00	0,33	-0,26
	r_a				0,01	0,06	-0,09	-0,06	0,12	0,06	0,02	0,15	-0,00	0,06
CA	r_f					0,70	0,69	0,66	0,22	0,45	0,23	-0,06	0,34	-0,30
	r_g					0,71	0,69	0,66	0,22	0,45	0,23	-0,06	0,34	-0,30
	r_a					0,19	-0,28	-0,10	-0,13	-0,03	-0,21	0,00	-0,05	0,08
LAN	r_f						0,66	0,74	0,10	0,32	0,02	-0,65	-0,11	0,04
	r_g						0,66	0,74	0,10	0,32	0,02	-0,65	-0,11	0,04
	r_a						-0,02	0,12	-0,14	-0,07	-0,02	-0,08	-0,11	0,46
COV	r_f							0,90	0,58	0,73	0,55	-0,28	0,04	-0,13
	r_g							0,90	0,58	0,73	0,55	-0,28	0,04	-0,13
	r_a							0,87	-0,05	-0,18	-0,01	0,10	-0,01	0,30
DOV	r_f								0,41	0,60	0,38	-0,38	-0,03	-0,22
	r_g								0,41	0,60	0,38	-0,38	-0,03	-0,22
	r_a								0,02	-0,05	0,01	0,04	-0,10	0,45
MCA	r_f									0,90	0,98	-0,15	-0,00	-0,18
	r_g									0,23	-0,14	-0,03	-0,14	0,31
	r_a									0,23	-0,14	-0,03	-0,14	0,31
MSE	r_f										0,92	-0,14	0,16	-0,18
	r_g										0,92	-0,14	0,16	-0,18
	r_a										0,10	0,03	-0,19	0,05
MPO	r_f											-0,02	0,10	-0,26
	r_g											-0,02	0,10	-0,26
	r_a											0,18	0,03	0,02
RES	r_f												0,42	-0,21
	r_g												0,42	-0,21
	r_a												-0,09	0,07
AT	r_f													-0,52
	r_g													-0,52
	r_a													-0,36

A variável comprimento do androginóforo (CAN) apresentou correlações baixas com as demais características avaliadas. O diâmetro externo da cavidade da coroa (DEEC) apresentou alta correlação fenotípica (0,83) e genotípica (0,83) com o diâmetro interno da cavidade da coroa (DIC), indicando que as características referentes à coroa podem estar ligadas e podem ser caracteres importantes na diferenciação dos acessos de *Passiflora* spp.

As características comprimento do ovário (COV) e diâmetro do ovário (DOV) apresentaram alta correlação fenotípica (0,83) e genotípica (0,90), indicando que as variáveis referentes às medidas do ovário estão ligadas, quanto maior o comprimento do ovário maior será o seu diâmetro. A alta e positiva correlação ambiental (0,87) entre estas duas características indica que eventuais mudanças no ambiente favorecem igualmente as duas características.

A massa da casca (MCA) e a massa das sementes (MSE) apresentaram alta correlação fenotípica (0,90) e genotípica (0,90), indicando que quanto maior a massa da casca, maior a massa de sementes por fruto. A MSE e a massa da polpa (MPO) apresentaram alta correlação fenotípica (0,92) e genotípica (0,92), indicando que quanto maior a massa das sementes por fruto, maior a quantidade de polpa produzida por aquele fruto. Essas três variáveis juntas compõem a massa fresca do fruto (MCA, MSE e MPO), por isso a alta magnitude de correlação entre elas.

Negreiros et al. (2007), em estudos sobre a relação entre características físicas e o rendimento de polpa de maracujá-azedo, observaram que a massa da polpa (suco + sementes) promoveu maior influência na massa fresca do fruto, do que outras variáveis. Segundo Santos et al. (2009), a massa da casca dos frutos pode ser influenciada pelos acessos, pelas classes de fruto e os acessos possuem desempenhos distintos quanto à massa da casca.

4.4 CONCLUSÃO

Houve diferença significativa entre os acessos de *Passiflora* spp. para todas as características de flores e frutos avaliadas.

Os parâmetros genéticos avaliados demonstraram alta precisão e acurácia experimental, além de elevado efeito genético e baixo efeito ambiental sobre as características de flores e frutos avaliadas.

4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, S. P. M.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SOUZA, M. A. F. Características físico-químicas de cinco genótipos de maracujazeiro-azedo cultivados no Distrito Federal. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, p. 487-491, 2009.

BERNACCI, L. C.; CERVI, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; NUNES, T. S., IMIG, D. C.; MEZZONATO, A. C. Passifloraceae. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acessado em: 01 de julho de 2014.

BERNACCI, L. C.; SOARES-SCOTT, M. D.; JUNQUEIRA, N. T. V.; PASSOS, I. R. S.; MELETTI, L. M. M. *Passiflora edulis* Sims: The correct taxonomic way to cite the yellow passion fruit (and of others colors). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 566-576, 2008.

CAZARINI, C. B. B.; SILVA, J. K.; COLOMEU, T. C.; ZOLLNER, R. L.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R. Capacidade antioxidante e composição química da casca de maracujá (*Passiflora edulis*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 9, 2014.

CERVI, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; BERNACCI, C. Passifloraceae. **Lista de espécies da flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. Disponível em <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>.

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

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Recursos genéticos: conservação, caracterização e uso. *In*: FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M.; REIS JÚNIOR, F. B. **Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2011 b, p.513-551.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: demandas para a pesquisa**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2006, 54 p.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; COSTA, A. M. **Conservação e caracterização de espécies silvestres de maracujazeiro (*Passiflora* spp.) e utilização potencial no melhoramento genético, como porta-enxertos, alimentos funcionais, plantas ornamentais e medicinais - resultados de pesquisa**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2012. (Documentos, N° 312). 34 p.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. Pré-melhoramento do maracujá. *In*: LOPES, M. A.; FAVERO, A. P.; FERREIRA, M. A. J. F.; FALEIRO, F. G.; FOLLE, S. M.; GUIMARÃES, E. P. (Eds.) **Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2011 a, 550-570 p.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. **Caracterização de germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro assistidos por marcadores moleculares: resultados de pesquisa 2005-2008**. Planaltina: Embrapa Cerrados, (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Nº 207), 2008, 59 p.

FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J. M. Passifloraceae. *In*: KUBITZI, K. **The Families and Genera of Vascular Plants**. Berlin: Springer, v. IX, p. 270-281, 2007.

GONÇALVES, G. M.; PIO VIANA, A.; PEREIRA, M. G.; BEZERRA NETO, F. V.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; PEREIRA, T. N. S.; GONÇALVES, T. J. M. Genetic parameter estimates in yellow passion fruit based on design I. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 52, n. 3, p. 523-530, 2009.

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**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 360-370, 2014.

JUNQUEIRA, N. T. V.; LAGE, D. A. C.; BRAGA, M. D.; PEIXOTO, J. R.; BORGES, T. A.; ANDRADE, S. R. M. Reação a doenças e produtividade de um clone de maracujazeiro-azedo propagado por estaquia e enxertia em estacas herbáceas de *Passiflora silvestre*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p.97-100, 2006.

MARIM, B. G.; JOSÉ, D.; CRESCÊNCIO, P.; CARNEIRO, S. Variabilidade genética e importância relativa de caracteres em acessos de germoplasma de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 1, p. 1283-1290, 2009.

MEDEIROS, S. A. F.; YAMANISHI, O. K.; PEIXOTO, J. R.; PIRES, M. C.; JUNQUEIRA, N. T. V.; RIBEIRO, J. G. B. L. Caracterização físico-química de progênies de maracujá-roxo e maracujá-azedo cultivados no Distrito Federal. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, p. 492-499, 2009.

NEGREIROS, J. R. S.; ÁLVARES, V. S.; BRUCKNER, C. H.; MORGADO, M. A. D.; CRUZ, C. D. Relação entre características físicas e o rendimento de polpa de maracujá-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 540-545, 2007.

NUNES, T. S., QUEIROZ, L. P. Uma nova espécie de *Passiflora* L. (Passifloraceae) para o Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 21, n. 2, p. 499-502, 2007.

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**, Campinas, v. 70, n. 2, p. 255-261, 2011.

SANTOS, C. E. M.; BRUCKNER, C. H.; CRUZ, C. D.; SIQUEIRA, D. L.; PIMENTEL, L. D. Características físicas do maracujá-azedo em função do genótipo e massa do fruto. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 1102-1110, 2009.

SILVA, M. G. M.; VIANA, A.; GONÇALVES, G. M.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; PEREIRA, M. G. Seleção recorrente intrapopulacional no maracujazeiro amarelo: Alternativa de capitalização de ganhos genéticos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 170-176, 2009.

SILVA, M. G. M.; VIANA, A. P.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; GONÇALVEZ, L. S. A.; REIS, R. V. Biometria aplicada ao melhoramento intrapopulacional do maracujazeiro amarelo. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 3, p. 493-499, 2012.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic diversity. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, New Delhi, v. 41, n. 2, p. 237-245, 1981.

TANGARIFE, M. M. M.; CAETANO, C. M.; TIQUE, C. A. P. Caracterización morfológica de especies del género *Passiflora* de Colombia. **Acta Agronómica**, Palmira, v. 58, n. 3, p. 117-125, 2009.

VIANA, A. J. C.; SOUZA, M. M.; ARAÚJO, I. S.; CORRÊA, R. X. Genetic diversity in *Passiflora* species determined by morphological and molecular characteristics. **Biologia Plantarum**, Dordrecht, v. 54, n. 3, p. 535-538, 2010.

**CAPÍTULO 5. VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Passiflora* spp. BASEADA EM
MARCADORES ISSR E RAPD**

VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Passiflora* spp. BASEADA EM MARCADORES ISSR E RAPD

Resumo: Neste trabalho, objetivou-se caracterizar e quantificar a variabilidade genética intra e interespecífica de 15 acessos de *Passiflora* spp., utilizando marcadores moleculares ISSR e RAPD. O estudo foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Cerrados. Para obtenção do DNA dos acessos de *Passiflora* spp., coletou-se folhas jovens para extração do mesmo. Foram obtidos 146 marcadores ISSR e 271 RAPD, a partir dos quais foram estimadas dissimilaridades genéticas entre os acessos. A matriz de dissimilaridade genética foi empregada para realizar análises de agrupamento por meio de dendrograma, utilizando o método da ligação média entre grupos usando médias não ponderadas (UPGMA) como critério de agrupamento, e a dispersão gráfica baseada em escalas multidimensionais, usando o método das coordenadas principais. Houve uma correlação significativa de 0,56 entre as distâncias genéticas estimadas com base nos marcadores ISSR e RAPD. A caracterização baseada em marcadores demonstrou elevada variabilidade genética e diferenciação dos acessos, com tendência de agrupamento dos acessos e híbridos da mesma espécie.

Palavras-chave: marcadores moleculares, genética molecular, maracujá

GENETIC VARIABILITY OF *Passiflora* spp. BASED on ISSR and RAPD MARKERS

Abstract: This study aimed to characterize and to quantify the intra and interspecific genetic variability of *Passiflora* spp. accessions, using ISSR and RAPD molecular markers. The study was carried out at the Embrapa Cerrados Molecular Biology Laboratory. To obtain the DNA of *Passiflora* spp. Accessions, young leaves were collected for extraction. They were obtained 146 ISSR and 271 RAPD markers. They were used to estimate genetic dissimilarities among the accessions. The genetic dissimilarity matrices was used to perform cluster analysis by dendrogram using the Unweighted Pair-Group Method as grouping criterion and by graphic dispersion based on multidimensional scaling, using the principal coordinates method. There was a significant correlation of 0.56 between the genetic distances estimated based on ISSR and RAPD markers. The molecular markers characterization showed high genetic variability and adequate accessions differentiation. There was a clustering tendency of accessions and hybrids of the same species.

Key words: molecular markers, molecular genetics, passion fruit

5.1 INTRODUÇÃO

Admite-se que vários grupos de plantas foram os ancestrais do gênero *Passiflora*, e tenham-se originado em regiões da África, a partir da qual foram dispersos para Europa e Ásia e tenham-se diversificado a partir da chegada à América Central (MUSCHNER et al., 2012).

O gênero *Passiflora* é considerado como o mais representativo da família Passifloraceae, com cerca de 500 espécies, a maioria das quais tem como centro de origem a América Tropical, das quais 139 estão dispersas no território brasileiro, colocando o Brasil, especificamente a Região Centro Norte do País entre os principais centros de diversidade genética do gênero (BERNACCI et al., 2008; BERNACCI et al., 2013).

Com o avanço da biotecnologia moderna, ferramentas estão sendo cada vez mais usadas e aprimoradas para auxiliar as atividades de pesquisa agropecuária, a exemplo dos marcadores de DNA. Tais avanços vêm potencializando a incorporação desses marcadores na rotina dos programas de melhoramento genético com diferentes aplicações nas diferentes etapas e fases dos programas. Nas etapas de caracterização de germoplasma, os marcadores moleculares apresentam diferentes aplicações práticas complementando as informações das características morfológicas e agronômicas (FALEIRO et al., 2008). Uma grande vantagem dos marcadores moleculares é a investigação direta das características genotípicas, o que permite a detecção de variação ao nível de DNA, excluindo, portanto, influências ambientais.

Em comparação com outras culturas agrícolas, relativamente pouco se sabe sobre a diversidade genética dentro e entre espécies de passiflora com potencial comercial. A caracterização desse valioso germoplasma é um passo importante para o uso prático dos recursos genéticos em programas de melhoramento e para diversificar os sistemas de produção. A caracterização do germoplasma de maracujá utilizando marcadores moleculares para complementar as avaliações agronômicas é essencial e uma das demandas para as atividades de pesquisa (FALEIRO et al., 2006).

O ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) revela o polimorfismo multiloco com a utilização de apenas um primer, ancorado ou sem âncora, baseado em regiões SSRs (*Simple Sequence Repeats*). O polimorfismo observado pode ser utilizado na inferência da diversidade genética e no estudo evolutivo e taxonômico (REDDY et al., 2002; ISSHIKI et al., 2008).

O *Random Amplification of Polymorphic DNA* (RAPD) tem se mostrado eficiente na identificação e na quantificação da variabilidade genética em diversos grupos de plantas, motivo pelo qual vem sendo usado como ferramenta auxiliar em programas de caracterização e uso de recursos genéticos e programas de melhoramento (FALEIRO, 2007).

Para que haja exploração de todo o potencial das espécies silvestres de maracujazeiro é necessário o envolvimento da pesquisa básica nas áreas de caracterização dos recursos genéticos e pesquisa aplicada voltada para o melhoramento. Para maximizar o sucesso do pré-melhoramento é essencial haver integração das etapas com as atividades e demandas dos programas de melhoramento e pós-melhoramento. Sendo assim, é indispensável o conhecimento abrangente da variabilidade genética intraespecífica disponível para o melhoramento (FALEIRO et al., 2011a). Nesse sentido, objetivou-se, nesse estudo, caracterizar e quantificar a variabilidade genética de importantes acessos de *Passiflora* spp., utilizando marcadores moleculares ISSR e RAPD.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Embrapa Cerrados. Foram utilizados 15 acessos de *Passiflora* spp. do Banco Ativo de Germoplasma 'Flor da Paixão' (BAG), que estão sendo avaliados a campo quanto às características de interesse para o melhoramento genético do maracujazeiro (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição dos 15 acessos de *Passiflora* spp. caracterizados no estudo, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

Acesso	Espécie	Código BAG
1	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-17
2	<i>Passiflora nitida</i> Kunth, 1817	CPAC MJ-01-03
3	<i>Passiflora suberosa</i> L., 1753	CPAC MJ-35-02
4	<i>Passiflora caerulea</i> Lour. ex DC., 1828	CPAC MJ-14-01
5	<i>Passiflora hatschbachii</i> Cervi, 1994	CPAC MJ-50-01
6	<i>Passiflora maliformis</i> Vell., 1831	CPAC MJ-58-01
7	<i>Passiflora quadrangularis</i> x <i>P. alata</i>	CPAC MJ-H-44
8	<i>Passiflora sidifolia</i> M. Roem., 1846	CPAC MJ-16-02
9	<i>Passiflora malacophylla</i> Mast., 1872	CPAC MJ-43-01
10	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-09
11	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-19
12	<i>Passiflora quadrangularis</i> Triana & Planch, 1873	CPAC MJ-07-03
13	<i>Passiflora cincinnata</i> Mast., 1868	CPAC MJ-26-03
14	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789 (BRS Mel do Cerrado)	BRS Mel do Cerrado
15	<i>Passiflora tenuifila</i> Killip, 1927 (BRS Vita)	BRS Vita

A metodologia de extração de DNA foi a do CTAB, com algumas modificações (FALEIRO et al., 2003). O tecido vegetal fresco foi macerado com auxílio de um bastão de vidro e, em seguida, foram adicionados em cada amostra, 450 μ L de tampão contendo Tris-HCl 100 μ M (pH 8,3), CTAB 7%, EDTA 20 mM, NaCl 1,4 M. As amostras seguiram para banho-maria a 65 °C, por 30 minutos.

A desproteinização foi realizada adicionando-se 400 μ L de solução clorofórmio: álcool isoamílico (24:1); em seguida, as amostras foram agitadas para a formação de uma emulsão e, na sequência, centrifugadas a 5.000 rpm por cinco minutos, retirando-se, aproximadamente, 200 μ L do sobrenadante que foi colocando em microtubos do tipo *epENDORF* de 2 mL.

Foram adicionados ao sobrenadante 200 μ L de isopropanol gelado (5 °C), invertendo-se os microtubos para promover a precipitação do DNA. Em sucessão, os tubos foram colocados na geladeira, permanecendo por 30 minutos e, em continuidade, os tubos foram centrifugados a 7.000 rpm, por dez minutos, descartando-se o sobrenadante. O *pellet* formado foi lavado, por duas vezes, com 200 μ L de etanol a 70% e secado na temperatura do ar ambiente. Após completamente seco, o *pellet* foi ressuscitado em 100 μ L de água Milli Q, contendo RNase na concentração de 40 μ L/mL.

A quantidade de DNA foi estimada por espectrofotometria a 260 nm (A_{260}), e a relação A_{260}/A_{280} foi utilizada para avaliar a pureza e a qualidade das amostras (SAMBROOCK et al., 1989). As amostras de DNA de cada acesso foram diluídas para 5 ng/ μ L. Inicialmente, foram testados 18 *primers* ISSR e 14 *primers* decâmeros RAPD (Tabela 2).

As reações de amplificação para o ISSR foram efetuadas em um volume total de 13 μ L, sendo: 4,9 μ L de água Milli Q, 1,3 μ L de tampão, 0,39 μ L de MgCl₂ 50 mM; 0,26 μ L dos desoxiribonucleotídios (dATP, dTTP, dGTP e dCTP) 10 μ M; 1,95 μ L de um iniciador (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA) 2 μ M; 0,2 μ L da enzima Taq DNA polimerase (1 unidade) e 3 μ L de DNA (15 ng).

As reações de amplificação para a obtenção de fragmentos RAPD foram efetuadas em um volume total de 13 μ L, sendo: 6,29 μ L de água Milli Q, 1,3 μ L de tampão 1x (Invitrogen), 0,78 μ L de MgCl₂ 50 mM; 0,13 μ L dos desoxiribonucleotídios (dATP, dTTP, dGTP e dCTP) 10 μ M; 1,3 μ L de um iniciador (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA) 2 μ M; 0,2 μ L da enzima Taq DNA polimerase (1 unidade) e 3 μ L de DNA (15 ng).

Tabela 2. *Primers* testados e utilizados para obtenção dos marcadores ISSR e RAPD, para 15 acessos de *Passiflora* spp., sequência 5'→3' e o número de bandas polimórficas (BP). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

<i>Primer</i> ISSR	Sequência 5'→3'	BP	<i>Primer</i> RAPD	Sequência 5'→3'	BP
1-TriAAG3'RC	AAGAAGAAGAAGAAG	-	*1-OPD-07	TTGGCACGGG	27
2-TriACA3'RC	ACAACAACAACAACA	-	*2-OPD-10	GGTCTACACC	42
3-RriCAA3'RC	CAACAACAACAACAA	-	3-OPD-16	AGGGCGTAAG	-
4-TriAAC3'RC	AACAACAACAACAAC	-	*4-OPE-16	GGTGACTGTG	33
*5-TriAGC3'RC	AGCAGCAGCAGCAGC	26	5-OPE-18	GGACTGCAGA	-
6-TriAGG3'RC	AGGAGGAGGAGGAGG	-	*6-OPE-20	AACGGTGACC	45
*7-TriCAG3'RC	CAGCAGCAGCAGCAG	41	*7-OPF-01	ACGGATCCTG	32
*8-DiGA5'C	CGAGAGAGAGAGAGA	27	8-OPF-17	AACCCGGGAA	-
9-DiCA3'YG	CACACACACACACAC	-	9-OPG-01	CTACGGAGGA	-
10-DiCA5'CR	CACACACACACACAC	-	*10-OPG-05	CTGAGACGGA	33
11-DiGT3'YG	GTGTGTGTGTGTGTG	-	*11-OPG-08	TCACGTCCAC	22
12-DiCA3'G	CACACACACACACAC	-	12-OPH-04	GGAAGTCGCC	-
*13-DiGA3'C	GAGAGAGAGAGAGAG	24	13-OPH-16	TCTCAGCTGG	-
14-DiGA5'CY	AGAGAGAGAGAGAGA	-	*14-OPH-17	CACTCTCCTC	37
*15-DiGT5'CY	GTGTGTGTGTGTGTGT	28			
16-DiGA3'YC	GAGAGAGAGAGAGAG	-			
17-DiGA3'T	GAGAGAGAGAGAGAG	-			
18-DiCA3'RG	CACACACACACACAC	-			
Total		146	Total		271

* *Primers* selecionados e utilizados para gerar os marcadores ISSR e RAPD, nos 15 acessos de *Passiflora* spp.

A partir desses testes, foram selecionados e utilizados cinco *primers* para obtenção de marcadores ISSR e oito para obtenção de marcadores RAPD, que geraram maior quantidade de bandas polimórficas e apresentaram melhor qualidade das ampliações (Tabela 2).

Para ISSR as ampliações foram realizadas em termociclador, no qual as amostras foram inicialmente, desnaturadas a 94 °C por 2 min, seguidos de 37 ciclos, iniciando-se com 15 segundos a 94 °C; em seguida 30 segundos a 47 °C e posteriormente 72 °C por 1 minuto; ao final de todos os ciclos o processo foi finalizado por 7 minutos a 72 °C e resfriado a 4 °C.

As ampliações para obtenção de marcadores RAPD foram efetuadas em termociclador programado para 40 ciclos, cada um composto pela seguinte sequência: 15 s a 94 °C, 30 s a 35 °C e 90 s a 72 °C. Concluídos os 40 ciclos, foi feita uma etapa de extensão final de seis minutos a 72 °C, e finalmente, a temperatura foi reduzida para 4 °C.

Após a amplificação, foram adicionados, a cada amostra, 3 µl de uma mistura de azul de bromofenol (0,25%) e glicerol (60%) em água. Essas amostras foram aplicadas em gel de agarose (1,2%), corado com brometo de etídio, submerso em tampão TBE (Tris-Borato 90 mM, EDTA 1 mM). A separação eletroforética foi de,

aproximadamente, quatro horas, a 90 volts. Ao término da corrida, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta.

Os marcadores ISSR e RAPD gerados foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas a dissimilaridade genética entre os diferentes genótipos, com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei e Li (NEI e LI, 1979), utilizando o Programa Genes (CRUZ, 2013).

A similaridade genética (SG) foi dada por: $S_{gij} = 2N_{ij}/(N_i + N_j)$, onde: N_{ij} é o número de bandas presentes em ambos os genótipos i e j ; N_i e N_j é o número de bandas presentes no genótipo i e j , respectivamente; e, subtraído o valor de SG da unidade ($1 - SG$), foi obtida a dissimilaridade genética.

A matriz de dissimilaridade genética foi empregada para realizar análises de agrupamento por meio de dendrograma, utilizando o método do UPGMA (*Unweighted pairgroup method arithmetic average*) (SNEATH e SOKAL, 1973) como critério de agrupamento, e a dispersão gráfica baseada em escalas multidimensionais, usando o método das coordenadas principais, com auxílio do Programa SAS (SAS Institute Inc., 2008) e Statistica (STATSOFT Inc., 2005).

Foi realizada a análise descritiva das estimativas de distâncias genéticas obtidas com base nos marcadores RAPD e ISSR (valores mínimo e máximo, média e o coeficiente de variação), com o auxílio do programa Genes (CRUZ, 2013). Correlações de Pearson entre as estimativas de distâncias genéticas obtidas com base nos marcadores ISSR e RAPD foram também calculadas.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos 15 acessos de *Passiflora* spp., por meio do uso dos cinco *primers*, gerou um total de 146 marcadores ISSR, perfazendo uma média de 29,2 marcadores por *primer*. A elevada percentagem de marcadores polimórficos e a alta média de marcadores obtida por iniciador demonstrou a alta variabilidade genética existente entre os acessos de *Passiflora* spp. avaliados.

Esse resultado pode ser explicado pela quantidade de acessos utilizados e devido a estes serem de espécies diferentes, e pela eficiência da técnica de ISSR na quantificação da variabilidade para *Passiflora* spp. Um dos perfis de distribuição dos marcadores ISSR pode ser observado na Figura 1A.

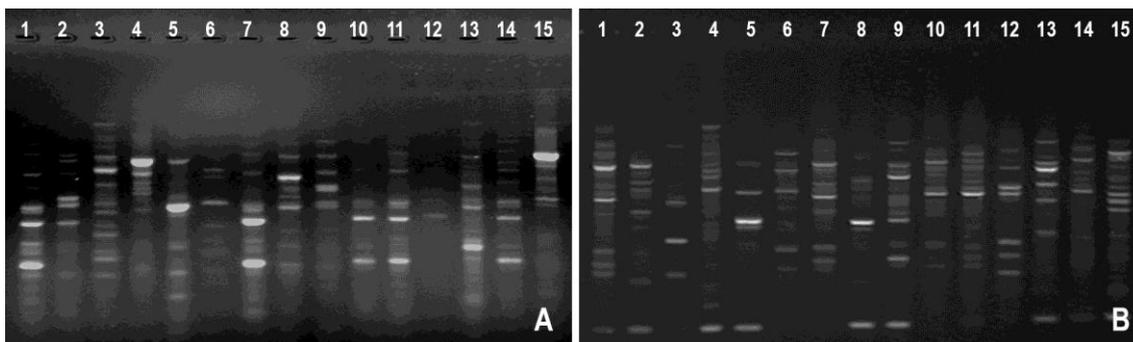


Figura 1. Gel ilustrando o perfil de distribuição dos marcadores ISSR (A) e RAPD (B) para os 15 acessos de *Passiflora* spp. usando o *primer* TriCAG3'RC e OPE-16, respectivamente. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

As distâncias variaram de 0,14 a 1,00 (Tabela 3). A distância máxima (1,00) estimada com base nos marcadores ISSR foi entre os acessos CPAC MJ-02-09 e CPAC MJ-43-01, CPAC MJ-07-03 e CPAC MJ-35-02, CPAC MJ-26-03 e CPAC MJ-02-09, e CPAC MJ-26-03 e CPAC MJ-02-19. A amplitude de valores de distância genética evidencia a análise de acessos com diferentes graus de dissimilaridade, como também foi verificado em outras coleções avaliadas com base em marcadores ISSR, em *P. setacea* (PEREIRA et al., 2015) e em *P. edulis* (SANTOS et al., 2011).

Tabela 3. Matriz de dissimilaridade genética entre 15 acessos de *Passiflora* spp., calculadas com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei & Li, utilizando 146 marcadores ISSR. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

Acessos	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	0,81	0,86	0,87	0,88	0,93	0,75	1,00	0,96	0,41	0,39	0,73	0,96	0,54	0,89
2		0,91	0,80	0,78	0,92	0,80	0,71	0,91	0,80	0,80	0,84	0,86	0,82	0,75
3			0,75	0,78	0,77	0,93	0,91	0,88	0,94	0,91	1,00	0,86	0,94	0,87
4				0,70	0,77	0,92	0,67	0,90	0,90	0,89	0,80	0,84	0,85	0,76
5					0,59	0,68	0,70	0,74	0,85	0,84	0,72	0,73	0,89	0,85
6						0,80	0,70	0,74	0,93	0,92	0,84	0,74	0,92	0,83
7							0,86	0,83	0,65	0,70	0,81	0,86	0,74	0,91
8								0,95	0,90	0,93	0,85	0,84	0,93	0,84
9									1,00	0,92	0,90	0,53	0,72	0,93
10										0,14	0,67	1,00	0,45	0,92
11											0,56	1,00	0,49	0,96
12												1,00	0,75	0,94
13													0,88	0,87
14														0,88

Legenda: 1. *P. alata* (CPAC MJ-02-17), 2. *P. nitida* (CPAC MJ-01-03), 3. *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), 4. *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), 5. *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), 6. *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), 7. *P. quadrangularis* X *P. Alata* (CPAC MJ-H-44), 8. *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02), 9. *P. malacophylla* (CPAC MJ-43-01), 10. *P. alata* (CPAC MJ-02-09), 11. *P. alata* (CPAC MJ-02-19), 12. *P. quadrangularis* (CPAC MJ-07-03), 13. *P. cincinnata* (CPAC MJ-26-03), 14. *P. alata* BRS Mel do Cerrado, 15. *P. tenuifila* BRS Vita.

Análises de agrupamento e dispersão gráfica evidenciaram a divergência entre os acessos (Figura 2). Além da divergência entre os acessos, as análises de agrupamento mostraram a formação de cinco grupos de similaridade, considerando como o ponto de corte a distância genética média de 0,75, sendo eles, um com os acessos CPAC MJ-02-17, CPAC MJ-02-09, CPAC MJ-02-19, *P. alata* BRS Mel do Cerrado, CPAC MJ-07-03 e CPAC MJ-H-44, dois com CPAC MJ-01-03 e *P. tenuifila* BRS Vita, três com o acesso CPAC MJ-35-02, quatro com os acessos CPAC MJ-14-01, CPAC MJ-16-02, CPAC MJ-50-01 e CPAC MJ-58-01, cinco CPAC MJ-43-01 e CPAC MJ-26-03.

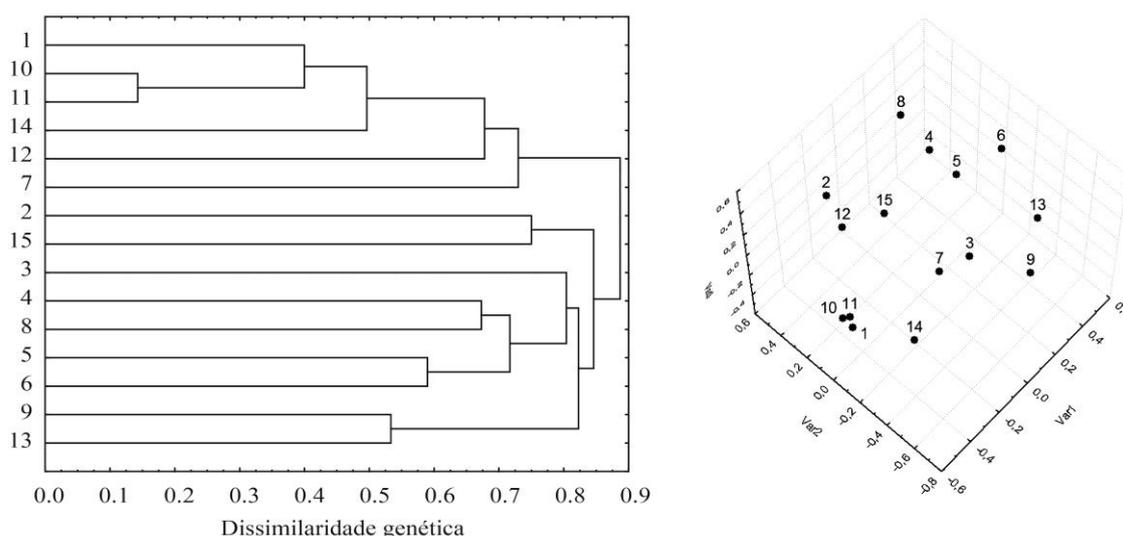


Figura 2. Análise de agrupamento e dispersão gráfica de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando-se 146 marcadores ISSR. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento. O método das coordenadas principais foi utilizado na análise de dispersão gráfica. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) foi de 0,83. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015. **Legenda:** 1. *P. alata* (CPAC MJ-02-17), 2. *P. nitida* (CPAC MJ-01-03), 3. *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), 4. *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), 5. *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), 6. *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), 7. *P. quadrangularis* X *P. alata* (CPAC MJ-H-44), 8. *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02), 9. *P. malacophylla* (CPAC MJ-43-01), 10. *P. alata* (CPAC MJ-02-09), 11. *P. alata* (CPAC MJ-02-19), 12. *P. quadrangularis* (CPAC MJ-07-03), 13. *P. cincinnata* (CPAC MJ-26-03), 14. *P. alata* BRS Mel do Cerrado, 15. *P. tenuifila* BRS Vita.

Dentro do grupo um, os acessos CPAC MJ-02-09 e CPAC MJ-02-19, formaram um subgrupo, e o acesso CPAC MJ-02-17 também ficou muito próximo desse subgrupo, enquanto que dentro deste subgrupo que engloba os acessos de *P. alata*, o acesso *P. alata* BRS Mel do Cerrado é o mais distante, provavelmente essa pequena divergência em relação aos demais acessos de *P. alata*, foi resultado do processo de melhoramento sofrido por esse acesso.

O acesso CPAC MJ-H-44 é um híbrido entre um *P. alata* e um *P. quadrangularis* e pela análise dos marcadores ISSR, esse acesso ficou dentro do grupo um, o qual envolve todos os acessos de *P. alata* e o acesso CPAC MJ-07-03, o que era

esperado, devido aos acessos que formam o grupo um, serem das mesmas espécies dos seus genitores.

Com exceção dos acessos CPAC MJ-02-17, CPAC MJ-02-09 e CPAC MJ-02-19 os demais acessos estão amplamente distribuídos no gráfico de dispersão (Figura 2). O coeficiente de correlação cofenética do dendrograma foi de boa magnitude ($r = 0,83$), evidenciando a consistência no ajuste entre a representação gráfica da similaridade genética e a sua matriz original, o que assegura que sejam realizadas inferências por meio da avaliação visual do dendrograma (Figura 2).

Com base na análise da técnica molecular RAPD foram obtidos 271 marcadores com os oito *primers* decâmeros, perfazendo uma média de 33,89 marcadores por *primer*. Na Figura 1B, observa-se um dos perfis de distribuição dos marcadores, obtidos com o *primer* OPE-16.

As distâncias genéticas geradas pelos marcadores RAPD variaram de 0,21 a 0,85 (Tabela 4). Em comparação com a técnica ISSR, a RAPD gerou estimativas menores de distâncias genéticas. Os acessos CPAC MJ-02-19 e CPAC MJ-35-02, os que apresentaram a maior dissimilaridade entre si (0,85).

Tabela 4. Matriz de dissimilaridade genética entre 15 acessos de *Passiflora* spp., calculadas com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei & Li, utilizando 271 marcadores RAPD. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

Acessos	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	0,59	0,74	0,59	0,71	0,73	0,56	0,75	0,70	0,61	0,55	0,73	0,65	0,56	0,64
2		0,74	0,68	0,68	0,67	0,66	0,79	0,78	0,73	0,71	0,70	0,70	0,66	0,71
3			0,66	0,76	0,78	0,72	0,74	0,81	0,83	0,85	0,70	0,75	0,79	0,74
4				0,63	0,68	0,60	0,63	0,73	0,63	0,68	0,74	0,70	0,66	0,65
5					0,65	0,66	0,73	0,60	0,67	0,72	0,74	0,68	0,63	0,75
6						0,63	0,60	0,69	0,66	0,63	0,68	0,75	0,63	0,67
7							0,60	0,61	0,51	0,54	0,63	0,66	0,50	0,67
8								0,71	0,72	0,64	0,74	0,77	0,65	0,65
9									0,66	0,71	0,65	0,73	0,65	0,65
10										0,21	0,68	0,67	0,45	0,67
11											0,66	0,68	0,48	0,61
12												0,71	0,61	0,71
13													0,61	0,65
14														0,66

Legenda: 1. *P. alata* (CPAC MJ-02-17), 2. *P. nitida* (CPAC MJ-01-03), 3. *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), 4. *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), 5. *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), 6. *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), 7. *P. quadrangularis* X *P. Alata* (CPAC MJ-H-44), 8. *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02), 9. *P. malacophylla* (CPAC MJ-43-01), 10. *P. alata* (CPAC MJ-02-09), 11. *P. alata* (CPAC MJ-02-19), 12. *P. quadrangularis* (CPAC MJ-07-03), 13. *P. cincinnata* (CPAC MJ-26-03), 14. *P. alata* BRS Mel do Cerrado, 15. *P. tenuifila* BRS Vita.

Esses resultados são similares aos obtidos por Pio Viana et al. (2003) que investigando a diversidade genética interespecífica no gênero *Passiflora*, observaram uma grande variabilidade, a qual deve ser explorada nos programas de melhoramento, principalmente em hibridações visando resistência às doenças da cultura. Bellon et al. (2007) estudando a variabilidade genética de acessos silvestres e comerciais de *P. edulis* com base em marcadores RAPD, relataram também a alta variabilidade genética interespecífica no gênero *Passiflora*.

A amplitude e as estimativas de distâncias genéticas entre acessos de diferentes espécies são normalmente maiores que as obtidas entre acessos da mesma espécie. Cerqueira-Silva et al. (2010a) observaram variações entre 0,07 e 0,42 *P. trintae* e Cerqueira-Silva et al. (2010b) observaram variações entre 0,12 e 0,19 para *P. edulis* Sims. Entretanto, dependendo dos acessos analisados, pode existir grande variabilidade intra-específica como a observada por Cerqueira-Silva et al. (2010c), que trabalhando com *P. cincinnata*, observaram uma distância genética entre os genótipos variando de 0,20 a 0,85. Estudos de variabilidade inter e intra-específica contribuem para a identificação e conservação da biodiversidade do gênero e também para a identificação de pares de indivíduos divergentes dentro da mesma espécie para exploração máxima da variabilidade existente.

As distâncias observadas no presente trabalho demonstram maior variabilidade do que o apresentado por Cerqueira-Silva et al. (2010b) estudando acessos da espécie *P. edulis*, na qual observaram reduzida variabilidade entre os acessos. Acessos de *P. edulis* ou maracujazeiro-azedo já foram mais trabalhados do ponto de vista do melhoramento genético, ou seja, ocorreram mais ciclos de seleção e recombinação, o que pode ter relação com o estreitamento da base genética dos materiais estudados.

Os acessos CPAC MJ-35-02 e CPAC MJ-02-19 foram os mais divergentes entre si (Figura 3), o que pode ser observado no dendrograma e no gráfico de dispersão. Além da divergência entre esses dois acessos, as análises de agrupamento mostraram a formação de um grande grupo de similaridade, formado pelos acessos de *P. alata*, sendo eles CPAC MJ-02-17, CPAC MJ-H-44, CPAC MJ-02-09, CPAC MJ-02-19 e *P. alata* BRS Mel do Cerrado. Castro et al. (2011), estudando a variabilidade genética de *Passiflora* spp. em plantios comerciais do Distrito Federal, observaram que um par de acessos de *P. alata* ficaram agrupados lado a lado no dendrograma obtido com base em marcadores RAPD.

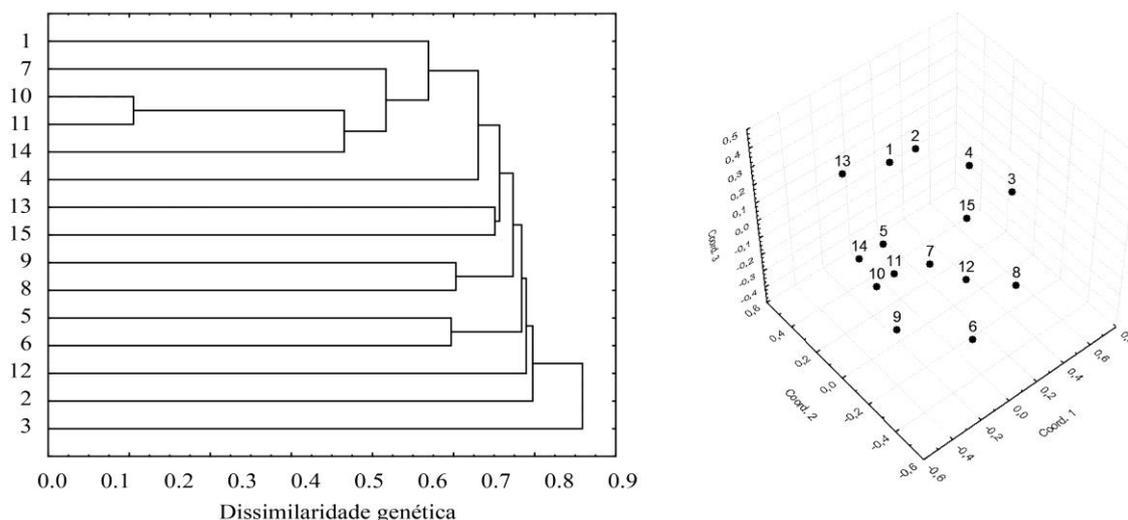


Figura 3. Análise de agrupamento e dispersão gráfica de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando-se 271 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,79. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015. **Legenda:** 1. *P. alata* (CPAC MJ-02-17), 2. *P. nitida* (CPAC MJ-01-03), 3. *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), 4. *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), 5. *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), 6. *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), 7. *P. quadrangularis* X *P. alata* (CPAC MJ-H-44), 8. *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02), 9. *P. malacophylla* (CPAC MJ-43-01), 10. *P. alata* (CPAC MJ-02-09), 11. *P. alata* (CPAC MJ-02-19), 12. *P. quadrangularis* (CPAC MJ-07-03), 13. *P. cincinnata* (CPAC MJ-26-03), 14. *P. alata* BRS Mel do Cerrado, 15. *P. tenuifolia* BRS Vita.

Dentro deste grande grupo, pode-se observar que os acessos CPAC MJ-02-09 e CPAC MJ-02-19 são os mais próximos. O acesso CPAC MJ-H-44 que é oriundo de um cruzamento entre um *P. alata* e *P. quadrangularis*, mesmo estando dentro do grande grupo, se mostrou mais próximo do subgrupo formado pelos acessos CPAC MJ-02-09 e CPAC MJ-02-19 do que do acesso CPAC MJ-02-17. Os demais acessos não formaram grupos de similaridade entre si, considerando como o ponto de corte a distância genética média de 0,58. Assim, como para o observado para ISSR, o coeficiente de correlação cofenética do dendrograma foi de boa magnitude ($r = 0,79$) (Figura 3).

Os resultados obtidos com o uso das duas técnicas moleculares mostraram claramente a existência de ampla variabilidade genética do grupo de acessos estudados, o que é resultado direto da análise de materiais genéticos de diversas espécies do gênero *Passiflora*. Foi possível observar também uma tendência de agrupamento dos acessos da mesma espécie ou da mesma genealogia. Este resultado também foi observado por Bellon et al. (2014) que utilizaram marcadores RAPD, para estudar a recuperação do genoma recorrente em programas de retrocruzamentos envolvendo a espécie comercial *P. edulis* e espécies silvestres de maracujá.

A análise do coeficiente de correlação de Pearson entre as medidas de dissimilaridade calculadas com base nos marcadores ISSR e RAPD demonstrou uma

correlação positiva (0,56) e altamente significativa pelo teste t. Pires et al. (2015) estudando a variabilidade genética de *Dipteryx alata* Vog. e *Annona crassiflora* Mart. verificaram correlação positiva e significativa entre marcadores RAPD e microssatélites. Estes resultados evidenciam a relação e a complementaridade existente entre estes diferentes marcadores moleculares nos estudos de variabilidade genética

Ambos os marcadores ISSR e RAPD mostraram ampla variabilidade genética dos acessos de *Passiflora* spp., demonstrando que os marcadores ISSR e RAPD têm boa capacidade para diferenciar os acessos. Essa alta variabilidade genética verificada e as informações obtidas com os marcadores moleculares ISSR e RAPD são importantes para os programas de caracterização e uso de germoplasma e melhoramento genético do maracujá, uma vez que permite complementar estudos de caracterização morfo-agronômica que vão subsidiar a seleção de genitores divergentes para compor os blocos de cruzamento e hibridações para reduzir perda ou estreitamento da base genética, maximizando as chances de obtenção de combinações gênicas desejáveis.

5.4 CONCLUSÃO

As caracterizações baseadas nos marcadores moleculares ISSR e RAPD demonstraram elevada variabilidade genética e diferenciação dos acessos de *Passiflora* spp. avaliados neste trabalho.

Existe estruturação genética entre os acessos avaliados, com tendência de agrupamento entre os acessos de *P. alata* e os materiais que são oriundos do cruzamento envolvendo acessos desta espécie.

5.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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**, Uberlândia, v. 30, n. 6, p. 1692-1697, 2014.

BELLON, G.; FALEIRO, 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**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 124-127, 2007.

BERNACCI, L. C.; CERVI, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; NUNES, T. S., IMIG, D. C.; MEZZONATO, A. C. Passifloraceae. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>

BERNACCI, L. C.; SOARES-SCOTT, M. D.; JUNQUEIRA, N. T. V.; PASSOS, I. R. S.; MELETTI, L. M. M. *Passiflora edulis* SIMS: The correct taxonomic way to cite the yellow passion fruit (and of others colors). **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 566-576, 2008.

CASTRO, A. P. G.; FALEIRO, F. G.; CARVALHO, D. D. C.; FONSECA, K. G.; VILELA, M. F.; JUNQUEIRA, N. T. V.; CARES, J. E. Genetic variability of *Passiflora* spp. from commercial fields in the Federal District, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 6, p. 996-1002, 2011.

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* Sacco) revealed with molecular markers. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 4, p. 2123-2130, 2010a.

CERQUEIRA-SILVA, C.B.M.; CONCEIÇÃO, L.D.H.C.S.; CARDOSO-SILVA, C.B.; PEREIRA, A.S.; SANTOS, E. S. L.; OLIVEIRA, A. C.; CORRÊA, R. X. Genetic diversity in yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) based on RAPD. **Crop Breeding Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 10, n. 1, p. 154-159, 2010b.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S.; SANTOS, E. S. L.; CARDOSO-SILVA, C. B.; PEREIRA, A. S.; OLIVEIRA, A. C.; CORRÊA, R. X. Genetic variability in wild genotypes of *Passiflora cincinnata* based on RAPD markers. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 4, p. 2421-2428, 2010.

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

FALEIRO, F. G.; FALEIRO, A. S. G.; CORDEIRO, M. C. R.; KARIA, C. T. **Metodologia para operacionalizar a extração de DNA de espécies nativas do cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003. (Comunicado Técnico, No.92).

FALEIRO, F. G.; FARIAS NETO, A. L.; RIBEIRO JÚNIOR, W. Q. **Pré-melhoramento, melhoramento e pós-melhoramento: estratégias e desafios**. Embrapa Cerrados, Planaltina-DF, p. 184, 2008, il.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: demandas para a pesquisa**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2006, 54 p.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. Pré-melhoramento do maracujá. In: LOPES, M. A.; FAVERO, A. P.; FERREIRA, M. A. J. F.; FALEIRO, F. G.; FOLLE, S. M.; GUIMARÃES, E. P. (Eds.) **Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 2011a, p. 550-570.

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

ISSHIKI, S.; IWATA, N.; KHAN, M.R. ISSR variations in eggplant (*Solanum melongena* L.) and related *Solanum* species. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.117, n. 3, p.186-190, 2008.

MUSCHNER, V. C., ZAMBERLAN, P. M., BONATTO, S. L., FREITAS, L. B. Phylogeny, biogeography and divergence times in *Passiflora* (Passifloraceae). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 35, n. 4, p. 1036-1043, 2012.

NEI, M.; LI, W. H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 76, n. 10, p. 5269-5273, 1979.

PEREIRA, D. A.; CORRÊA, R. X.; OLIVEIRA, A. C. Molecular genetic diversity and differentiation of populations of 'somnus' passion fruit trees (*Passiflora setacea* DC): Implications for conservation and pre-breeding. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 59, n. 1, p.12-21, 2015.

PIRES, M. V. V.; FALEIRO, F. G.; SILVA, J. C. S.; OSÉ TEODORO DE MELO, J. T.; PEIXOTO, J. R. Características morfológicas e variabilidade genética de araticum utilizando marcadores RAPD e microssatélites. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 37, n. 1, p. 149-158, 2015.

REDDY, P. M.; SARLA, N.; ANDSIDDIQ, E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, Netherlands, v. 128, N. 1, p. 9-17, 2002.

SAMBROOCK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2nd. ed. New York: Cold Spring Harbor, 1989. 653 p.

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

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: statistic: version 9.1.3. Cary: SAS Institute, 2008. 846 p.

SNEATH, P. H. A.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy**: the principles and practice of numerical classification. San Francisco: W. H. Freeman, 1973. 573 p.

STATSOFT, Inc. **Statistica for Windows** (data analysis software system), version 7.1. Statsoft, Tulsa, Oklahoma (USA), 2005.

**CAPÍTULO 6. DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Passiflora* spp. BASEADA EM
DESCRITORES QUALITATIVOS, QUANTITATIVOS E EM MARCADORES
ISSR E RAPD**

DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Passiflora* spp. BASEADA EM DESCRITORES QUALITATIVOS, QUANTITATIVOS E EM MARCADORES ISSR E RAPD

Resumo: Neste trabalho, objetivou-se quantificar a diversidade genética de acessos de *Passiflora* spp. por meio de descritores qualitativos multicategóricos, quantitativos e marcadores moleculares. O estudo foi realizado na Unidade de Apoio da Fruticultura, no Laboratório de Análises de Alimentos e no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Embrapa Cerrados, em Planaltina-DF. Foram caracterizados 15 acessos de *Passiflora* spp.. Matrizes de distâncias genéticas, com base nos descritores qualitativos multicategóricos, quantitativos, marcadores moleculares ISSR e RAPD foram calculadas e análises de agrupamento foram realizadas, utilizando o método do UPGMA como critério de agrupamento. Foi realizada a análise descritiva (mínimo, média, máximo, variância e desvio padrão) das estimativas de distâncias genéticas obtidas com base nos diferentes grupos de características, bem como estimadas as correlações entre tais estimativas. Houve correlação positiva e significativa entre as distâncias genéticas estimadas com base nos descritores qualitativos multicategóricos e marcadores moleculares. Não houve correlação significativa entre as distâncias genéticas estimadas com base em descritores quantitativos e demais descritores, evidenciando a complementaridade dos diferentes grupos de características no estudo da diversidade genética das Passifloras.

Palavras-chave: maracujá, análise multivariada, recursos genéticos

GENETIC DIVERSITY OF *Passiflora* spp. BASED ON DESCRIPTORS QUALITATIVE, QUANTITATIVE AND ISSR AND RAPD MARKERS

Abstract: This study aimed to quantify the genetic diversity of *Passiflora* spp. accessions through qualitative and quantitative descriptors and molecular markers. The study was conducted at the Fruit Growing Support Unit, Food Analysis and Genetics and Molecular Biology Laboratories in Embrapa Cerrados, Planaltina, Federal District. Fifteen *Passiflora* spp. accessions were characterized. Genetic distances matrices, based on qualitative and quantitative descriptors, ISSR and RAPD molecular markers, were calculated and cluster analysis were performed using the UPGMA method as grouping criteria. Descriptive analysis (minimum, average, maximum, variance and standard deviation) of the genetic distances estimate based on different descriptors groups was performed. Correlations between such estimative were performed. There was a positive and significant correlation between genetic distances estimated based on qualitative descriptors and molecular markers. There was no significant correlation between genetic distances estimated based on quantitative descriptors and based on other descriptors, showing the complementarity of different groups of characteristics in the genetic diversity studies of *Passiflora*.

Key words: passion fruit, multivariate analysis, genetic resources

6.1 INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* é o maior da família Passifloraceae, com cerca de 500 espécies (BERNACCI et al., 2008; BERNACCI et al., 2013), apresentando ampla variabilidade genética inter e intraespecífica (BELLON et al., 2009) sendo também o gênero com maior importância econômica, considerando os vários usos de diferentes espécies (PÉREZ et al., 2007). Admite-se que vários grupos de plantas foram os ancestrais do gênero *Passiflora*, originado em regiões da África, a partir da qual foram dispersos para Europa e Ásia e tenham-se diversificado a partir da chegada à América Central (MUSCHNER et al., 2012).

A América do Sul é considerada como o principal centro de diversidade genética das passifloras, incluindo desde a região Amazônica até o Paraguai e o Nordeste da Argentina; sendo o Brasil um dos mais importantes centros de diversidade do maracujazeiro, pois mais de 120 espécies silvestres são endêmicas do país (BERNACCI et al., 2013). Porém, para que a diversidade disponível seja explorada, é necessário a caracterização dos acessos para uso direto ou em programas de melhoramento genético (BORÉM e MIRANDA, 2009).

Visando a conservar a diversidade genética de espécies, tanto para atender aos programas de melhoramento quanto à exploração de maneira sustentável, têm-se as coleções ou os Bancos Ativos de Germoplasma. Porém, para maior e melhor aproveitamento desses materiais genéticos deve-se ter o conhecimento e a organização da variabilidade genética existente nos mesmos. Quantificar essa variabilidade genética é fundamental para avaliar o desempenho dessas espécies e assim identificar recursos genéticos de grande valor, tanto aqueles passíveis de serem introduzidos de forma direta em sistemas de produção, como aqueles com potencial para serem usados em programas de melhoramento genético (FALEIRO et al., 2011a).

Apesar da importância dos recursos genéticos do gênero *Passiflora* para o Brasil, observa-se uma carência de pesquisa, notadamente nas áreas básicas, principalmente com relação ao germoplasma. Além disso, são necessários trabalhos minuciosos de caracterização morfológica, agrônômica, citogenética e molecular de todos os acessos, tendo em vista a sua utilização prática (FALEIRO et al., 2011a; 2011b).

Segundo Paiva et al. (2014), a utilização de descritores morfológicos qualitativos e quantitativos é uma das maneiras de mensurar a diversidade genética, pois, caracteres

qualitativos e quantitativos de fácil detecção, com alta herdabilidade e que sofram pouca variação ambiental, são utilizados a fim de diferenciar os acessos.

Marcadores moleculares do DNA têm sido empregados como ferramenta auxiliar nas diferentes etapas do melhoramento genético, principalmente na caracterização de recursos genéticos. Os marcadores moleculares quando comparados com outros tipos de marcadores, apresentam maior número de locos polimórficos, o que permite a distinção entre acessos, mesmo com morfologia similar. Algumas complicações, como o efeito ambiental, tempo necessário para avaliações, herança poligênica, entre outras, podem ser evitadas pelo uso da análise direta do genótipo por meio de marcadores moleculares de DNA.

Os diferentes grupos de características são importantes para estudos de diversidade genética e também para os trabalhos de caracterização de recursos genéticos visando a sua utilização. Neste trabalho, objetivou-se analisar os descritores qualitativos multicategóricos, quantitativos e marcadores moleculares para quantificar a diversidade genética de acessos de *Passiflora* spp.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Unidade de Apoio da Fruticultura, no Laboratório de Análises de Alimentos e no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Embrapa Cerrados, em Planaltina-DF. Foram caracterizados 15 acessos de *Passiflora* spp. do Banco Ativo de Germoplasma 'Flor da Paixão' (BAG) (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição dos 15 acessos de *Passiflora* spp. caracterizados no estudo, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

Acesso	Espécie	Código BAG
1	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-17
2	<i>Passiflora nitida</i> Kunth, 1817	CPAC MJ-01-03
3	<i>Passiflora suberosa</i> L., 1753	CPAC MJ-35-02
4	<i>Passiflora caerulea</i> Lour. ex DC., 1828	CPAC MJ-14-01
5	<i>Passiflora hatschbachii</i> Cervi, 1994	CPAC MJ-50-01
6	<i>Passiflora maliformis</i> Vell., 1831	CPAC MJ-58-01
7	<i>Passiflora quadrangularis</i> x <i>P. alata</i>	CPAC MJ-H-44
8	<i>Passiflora sidifolia</i> M. Roem., 1846	CPAC MJ-16-02
9	<i>Passiflora malacophylla</i> Mast., 1872	CPAC MJ-43-01
10	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-09
11	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-19
12	<i>Passiflora quadrangularis</i> Triana & Planch, 1873	CPAC MJ-07-03
13	<i>Passiflora cincinnata</i> Mast., 1868	CPAC MJ-26-03
14	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789 (BRS Mel do Cerrado)	BRS Mel do Cerrado
15	<i>Passiflora tenuifila</i> Killip, 1927 (BRS Vita)	BRS Vita

As plantas de cada acesso conservadas *in vivo* foram clonadas via estaquia para produção das mudas. Oito mudas de cada acesso foram cultivadas no campo no sistema de espaldeira vertical, seguindo as recomendações técnicas da cultura quanto à adubação, irrigação e controle fitossanitário.

Foram avaliados em cada acesso, 58 descritores morfoagronômicos multicategóricos, sendo 23 para características de folhas [(CRA) Coloração do Ramo, (PAR) Presença de antocianina nos ramos, (CLF) Comprimento do Limbo Foliar, (LMF) Largura Máxima da Folha, (PRS) Profundidade dos Sinus, (FOF) Formato da Folha, (MFO) Mancha na folha, (BLF) Bordas do limbo foliar, (PPF) Presença de pilosidade na folha, (DLF) Divisão do limbo foliar, (FBF) Forma bulada do limbo foliar, (PHE) Presença de heterofilia, (COF) Coloração da folha, (FBF) Forma da base foliar, (FBF) Forma da base foliar, (FMF) Formato da margem foliar, (PES) Presença de estípulas, (PNE) Presença de Nectários, (NNE) Número de Nectários, (PON) Posição dos Nectários, (COP) Comprimento do Pecíolo, (NNP) Número de Nectários no Pecíolo e (PNP) Posição dos nectários no pecíolo], 25 para características de flores [(PAB) Presença de antocianina nas brácteas do botão floral, (PAS) Presença de antocianina nas sépalas dos botões florais, (FHP) Formato do hipanto, (NFN) Número de flor por nó, (CBR) Comprimento da bráctea, (PNB) Presença de nectários na bráctea, (NNB) Número de nectários na bráctea, (CSE) Comprimento da sépala, (LSE) Largura da sépala, (PNS) Presença de nectários na sépala, (NNS) Número de nectários na sépala, (DEC) Diâmetro da extremidade da coroa, (BFC) Bandeamento (anéis de cores diferente entre si, inclusive brancos) nos filamentos mais longos da coroa, (CAC) Coloração predominante dos filamentos dos anéis da coroa (exceto a cor branca), (LAC) Comprimento dos anéis do filamento da coroa, (CPE) Comprimento da pétala, (CFO) Coloração do filamento do opérculo, (FLFLC) Filamentos mais longos da coroa, (PPA) Período predominante da antese, (CPP) Coloração predominante no perianto (pétalas e sépalas) região interna, (NAC) Número de anéis coloridos (excluindo brancos) nos filamentos da coroa, (NAC) Número de anéis coloridos (excluindo brancos) nos filamentos da coroa, (PAE) Presença de antocianina no estilete, (PAA) Presença de antocianina no dorso da antera e (PAG) Presença de antocianina: androginóforo] e 10 para frutos [(CCF) Coloração da casca (epicarpo) do fruto, (FFR) Formato do fruto, (DIT) Diâmetro transversal, (DIL) Diâmetro longitudinal do fruto, (ECA) Espessura da casca, (RCL) Relação diâmetro longitudinal e diâmetro transversal

dos frutos, (MFR) Massa dos frutos, (NSF) Número de sementes por fruto, (CPO) Coloração da polpa e (SS) Sólido Solúveis (°Brix)].

Os 58 descritores multicatégoricos foram avaliados com base nas estruturas encontradas no terço médio de cada planta. A definição da classe fenotípica de cada descritor foi baseada na avaliação de pelo menos 12 folhas, flores ou frutos de pelo menos quatro plantas de cada acesso.

Para obtenção dos descritores quantitativos foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado com 15 tratamentos (acessos) (Tabela 1) e quatro repetições, totalizando 60 parcelas experimentais. Cada parcela foi representada pela média de 3 estruturas (flor ou fruto).

Foram avaliados em cada acesso, 14 descritores morfoagronômicos quantitativos, sendo oito para características de flores e seis para frutos. Os descritores avaliados nas flores foram comprimento do androginóforo (CAN), diâmetro externo da cavidade da coroa (DEEC), diâmetro interno da cavidade da coroa (DIC), comprimento do pedicelo (CPD), comprimento da antera (CA), largura da antera (LAN), comprimento do ovário (COV), diâmetro do ovário (DOV). Os descritores avaliados nos frutos foram massa da casca (MCA), massa das sementes (MSE), massa da polpa (MPO), rendimento de suco (RES), acidez total titulável (AT) e razão entre sólidos solúveis e acidez total titulável (RATIO).

Os dados de comprimento, diâmetro e largura, foram obtidos em centímetros (cm); os dados de massa foram obtidos em gramas (g). Todas as variáveis foram mensuradas nas flores e frutos coletados no terço médio dos ramos de cada planta.

Para obtenção dos marcadores ISSR e RAPD, a metodologia de extração de DNA foi a do CTAB, com algumas modificações (FALEIRO et al., 2003).

As reações de amplificação para o ISSR foram efetuadas em um volume total de 13 µL, sendo: 4,9 µL de água Milli Q, 1,3 µL de tampão, 0,39 µL de MgCl₂ 50 mM; 0,26 µL dos desoxiribonucleotídios (dATP, dTTP, dGTP e dCTP) 10 µM; 1,95 µL do *primer* 2 µM; 0,2 µL da enzima Taq DNA polimerase (1 unidade) e 3 µL de DNA (15 ng). As amplificações foram realizadas em termociclador, no qual as amostras foram inicialmente, desnaturadas a 94 °C por 2 min, seguidos de 37 ciclos, iniciando-se com 15 segundos a 94 °C; em seguida 30 segundos a 47 °C e posteriormente 72 °C por 1 minuto; ao final de todos os ciclos o processo foi finalizado por 7 minutos a 72 °C e resfriado a 4 °C.

As reações de amplificação para o RAPD foram efetuadas em um volume total de 13 µL, sendo: 6,29 µL de água Milli Q, 1,3 µL de tampão 10x (Invitrogen), 0,78 µL de MgCl₂ 50 mM; 0,13 µL dos desoxiribonucleotídios (dATP, dTTP, dGTP e dCTP) 10 µM; 1,3 µL do *primer* (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA) 2 µM; 0,2 µL da enzima Taq DNA polimerase (1 unidade) e 3 µL de DNA (15 ng). As amplificações foram efetuadas em termociclador programado para 40 ciclos, cada um composto formado pela seguinte sequência: 15 s a 94 °C, 30 s a 35 °C e 90 s a 72 °C. Concluídos os 40 ciclos, foi feita uma etapa de extensão final de seis minutos a 72 °C, e finalmente, a temperatura foi reduzida para 4 °C.

Os *primers* utilizados para a amplificação das amostras de DNA e obtenção dos marcadores ISSR e RAPD estão relacionados na tabela 2. Após a amplificação, foram adicionados, a cada amostra de ISSR e RAPD, 3 µl de uma mistura de azul de bromofenol (0,25%) e glicerol (60%) em água. Essas amostras foram aplicadas em gel de agarose (1,2%), corado com brometo de etídio, submerso em tampão TBE (Tris-Borato 90 mM, EDTA 1 mM). A separação eletroforética foi de, aproximadamente, quatro horas, a 90 volts. Ao término da corrida, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta. Os marcadores ISSR e RAPD gerados foram convertidos em uma matriz de dados binários.

Tabela 2. *Primers* utilizados para obtenção dos marcadores ISSR e RAPD, para 15 acessos de *Passiflora* spp., sequência 5'→3' e o número de bandas polimórficas (BP). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

<i>Primer</i> ISSR	Sequência 5'→3'	BP	<i>Primer</i> RAPD	Sequência 5'→3'	BP
1-TriAGC3'RC	AGCAGCAGCAGCAGC	26	1-OPD-07	TTGGCACGGG	27
2-TriCAG3'RC	CAGCAGCAGCAGCAG	41	2-OPD-10	GGTCTACACC	42
3-DiGA5'C	CGAGAGAGAGAGAGA	27	3-OPE-16	GGTGACTGTG	33
4-DiGA3'C	GAGAGAGAGAGAGAG	24	4-OPE-20	AACGGTGACC	45
5-DiGT5'CY	GTGTGTGTGTGTGTGT	28	5-OPF-01	ACGGATCCTG	32
			6-OPG-05	CTGAGACGGA	33
			7-OPG-08	TCACGTCCAC	22
			8-OPH-17	CACTCTCCTC	37
Total		146	Total		271

Para os 58 descritores qualitativos multicategóricos, as distâncias genéticas entre os 15 acessos de *Passiflora* spp. foram calculadas com base no complemento do índice de coincidência simples. Para os 14 descritores quantitativos, as distâncias genéticas entre os 15 acessos de *Passiflora* spp. foram calculadas com base na distância de Mahalanobis. Para os dados dos marcadores moleculares, as distâncias genéticas foram

estimadas entre os diferentes acessos, com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei e Li.

As matrizes de distâncias genéticas estimadas com base em cada grupo de características (qualitativas multicategóricas, quantitativas, ISSR e RAPD) foram utilizadas para realizar análises de agrupamento dos acessos por meio de dendrograma, utilizando o método do UPGMA (*Unweighted pairgroup method arithmetic average*) (SNEATH e SOKAL, 1973) como critério de agrupamento, e análises de dispersão gráfica baseada em escalas multidimensionais, usando o método das coordenadas principais, com auxílio do Programa SAS (SAS Institute Inc., 2008) e Statistica (STATSOFT Inc., 2005).

Os valores de distâncias genéticas obtidas com base nos diferentes grupos de características foram ponderados, de modo que o maior valor fosse de 100. Após isso, foi realizada a análise descritiva das estimativas de distâncias genéticas obtidas com base nos diferentes grupos de características (valores mínimo e máximo, média e o coeficiente de variação), e estimadas correlações de Pearson entre tais estimativas, com o auxílio do programa Genes (CRUZ, 2013).

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A diversidade genética existente entre os acessos de *Passiflora* spp. é evidenciada pela estatística descritiva das estimativas de distâncias genéticas obtidas com base em cada grupo de características (qualitativa multicategórica, quantitativa, ISSR e RAPD (Tabela 3).

Tabela 3. Estatística descritiva para os descritores multicategóricos e quantitativos, marcadores ISSR e RAPD em *Passiflora* spp. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

Variáveis	Mínimo	Média	Máximo	Variância	DP
Multicategórico	25,98	72,02	100	289,74	17,02
Quantitativo	0,08	12,82	100	809,95	28,46
Marcador ISSR	14,29	81,32	100	206,47	14,37
Marcador RAPD	24,15	78,73	100	97,88	9,89

Houve uma grande amplitude e variância de valores de distâncias genéticas estimadas com base em todos os grupos de características. Houve também uma grande variação nos valores mínimos e médios de distâncias genéticas, sendo que as distâncias obtidas com base nos descritores quantitativos apresentaram o menor valor mínimo

(0,08) e menor média (12,82). As demais distâncias genéticas estimadas com base nos demais grupos de características apresentaram valores mínimos e médios mais próximos entre si.

Mediante a análise do desvio padrão (DP), verificou-se a existência de diferença entre os acessos para todos os grupos de características avaliadas, evidenciando a alta variabilidade genética entre os 15 acessos de *Passiflora* spp. avaliados (Tabela 3). Paiva et al. (2014) estudaram a diversidade genética de espécies do gênero *Passiflora* com base nas características qualitativas e quantitativas, verificaram ampla diversidade genética entre as espécies.

As distâncias genéticas variaram de 0,19 a 0,83 para os 58 descritores qualitativos multicategóricos, e pela análise de agrupamento dos 15 acessos de *Passiflora* spp. utilizando 58 descritores morfoagronômicos, verificou-se a formação de 11 grupos de similaridade, adotando como ponto de corte a distância genética média de 0,3 (Figura 1) demonstrando grande variabilidade entre os acessos.

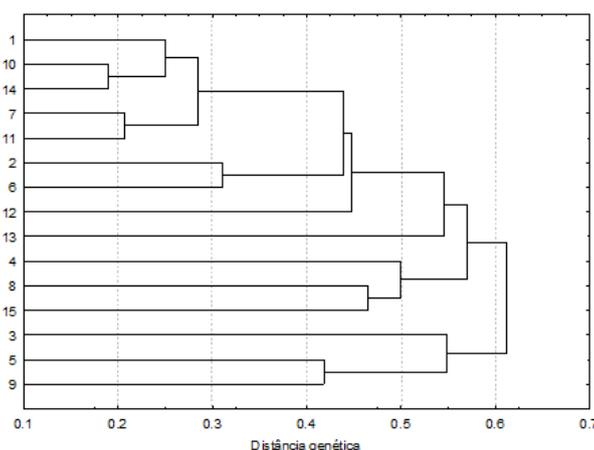


Figura 1. Análise de agrupamento de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 58 descritores morfoagronômicos. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,85. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015. **Legenda:** 1. *P. alata* (CPAC MJ-02-17), 2. *P. nitida* (CPAC MJ-01-03), 3. *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), 4. *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), 5. *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), 6. *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), 7. *P. quadrangularis* X *P. alata* (CPAC MJ-H-44), 8. *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02), 9. *P. malacophylla* (CPAC MJ-43-01), 10. *P. alata* (CPAC MJ-02-09), 11. *P. alata* (CPAC MJ-02-19), 12. *P. quadrangularis* (CPAC MJ-07-03), 13. *P. cincinnata* (CPAC MJ-26-03), 14. *P. alata* BRS Mel do Cerrado, 15. *P. tenuifolia* BRS Vita.

Pela análise de agrupamento dos 15 acessos de *Passiflora* spp. utilizando 14 descritores morfoagronômicos quantitativos, verificou-se a formação de 4 grupos de similaridade (Figura 2), sendo este o grupo de descritores que possibilitou a menor diferenciação entre os acessos do mesmo grupo.

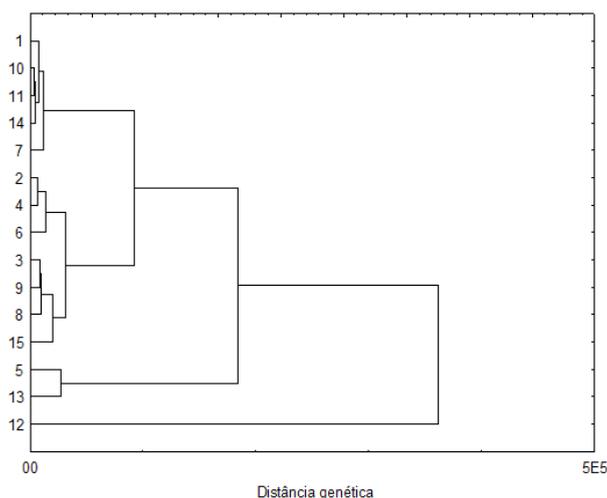


Figura 2. Análise de agrupamento de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 14 descritores morfoagronômicos quantitativos. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,89. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015. **Legenda:** 1. *P. alata* (CPAC MJ-02-17), 2. *P. nitida* (CPAC MJ-01-03), 3. *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), 4. *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), 5. *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), 6. *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), 7. *P. quadrangularis* X *P. alata* (CPAC MJ-H-44), 8. *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02), 9. *P. malacophylla* (CPAC MJ-43-01), 10. *P. alata* (CPAC MJ-02-09), 11. *P. alata* (CPAC MJ-02-19), 12. *P. quadrangularis* (CPAC MJ-07-03), 13. *P. cincinnata* (CPAC MJ-26-03), 14. *P. alata* BRS Mel do Cerrado, 15. *P. tenuifila* BRS Vita.

Com base nos marcadores ISSR, obteve-se distâncias genéticas variando de 0,14 a 1,00. A distância máxima igual a 1,00 estimada com base nos marcadores ISSR foi entre os acessos CPAC MJ-02-09 e CPAC MJ-43-01, CPAC MJ-07-03 e CPAC MJ-35-02, CPAC MJ-26-03 e CPAC MJ-02-09, CPAC MJ-26-03 e CPAC MJ-02-19. Isto significa dizer que não foram encontrados marcadores ISSR coincidentes entre estes pares de acessos. A grande quantidade de marcadores ISSR diferentes entre os acessos reflete na formação de apenas um grupo de similaridade, contendo os quatro acessos da espécie *P. alata* (Figura 3).

As distâncias genéticas geradas pelos marcadores RAPD variaram de 0,21 a 0,85, sendo que os acessos CPAC MJ-35-02 e CPAC MJ-02-19 foram os mais divergentes entre si. Assim como aconteceu com a análise de agrupamento baseada nos marcadores ISSR, houve a formação de apenas um grupo de similaridade, envolvendo os acessos de *P. alata* e um híbrido entre *P. alata* e *P. quadrangularis* (Figura 4). Considerando o estudo utilizando todas as características, os marcadores moleculares foram os mais eficazes na diferenciação dos acessos, uma vez, que com estes é possível obter grande número de polimorfismos sem interferência do ambiente.

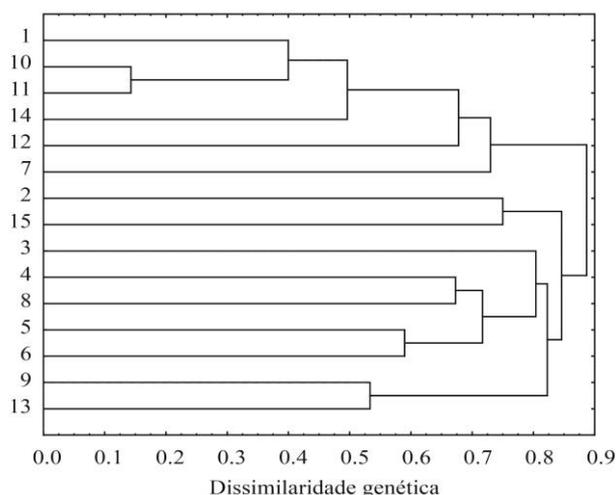


Figura 3. Análise de agrupamento de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando-se 146 marcadores ISSR. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento. O método das coordenadas principais foi utilizado na análise de dispersão gráfica. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) foi de 0,83. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015. **Legenda:** 1. *P. alata* (CPAC MJ-02-17), 2. *P. nitida* (CPAC MJ-01-03), 3. *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), 4. *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), 5. *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), 6. *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), 7. *P. quadrangularis* X *P. alata* (CPAC MJ-H-44), 8. *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02), 9. *P. malacophylla* (CPAC MJ-43-01), 10. *P. alata* (CPAC MJ-02-09), 11. *P. alata* (CPAC MJ-02-19), 12. *P. quadrangularis* (CPAC MJ-07-03), 13. *P. cincinnata* (CPAC MJ-26-03), 14. *P. alata* BRS Mel do Cerrado, 15. *P. tenuifila* BRS Vita.

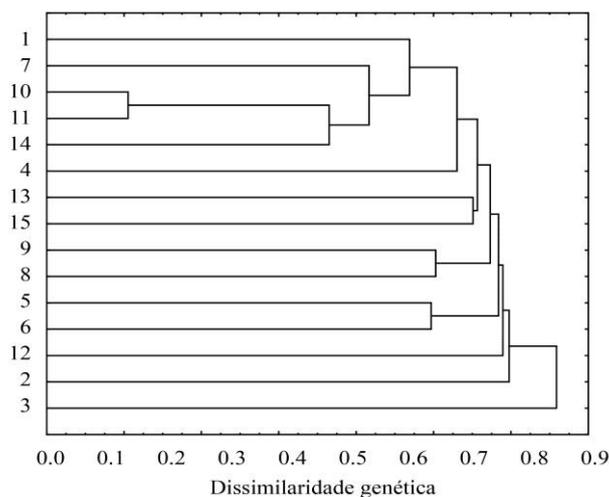


Figura 4. Análise de agrupamento de 15 acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando-se 271 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,79. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015. **Legenda:** 1. *P. alata* (CPAC MJ-02-17), 2. *P. nitida* (CPAC MJ-01-03), 3. *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), 4. *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), 5. *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), 6. *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), 7. *P. quadrangularis* X *P. alata* (CPAC MJ-H-44), 8. *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02), 9. *P. malacophylla* (CPAC MJ-43-01), 10. *P. alata* (CPAC MJ-02-09), 11. *P. alata* (CPAC MJ-02-19), 12. *P. quadrangularis* (CPAC MJ-07-03), 13. *P. cincinnata* (CPAC MJ-26-03), 14. *P. alata* BRS Mel do Cerrado, 15. *P. tenuifila* BRS Vita.

Uma análise da distribuição de frequência das estimativas de distâncias genéticas mostra que com base nos descritores qualitativos multicategóricos, a maioria dos valores de distância genética ficaram entre 60 e 80, havendo também muitos valores acima de 80 (Figura 5A).

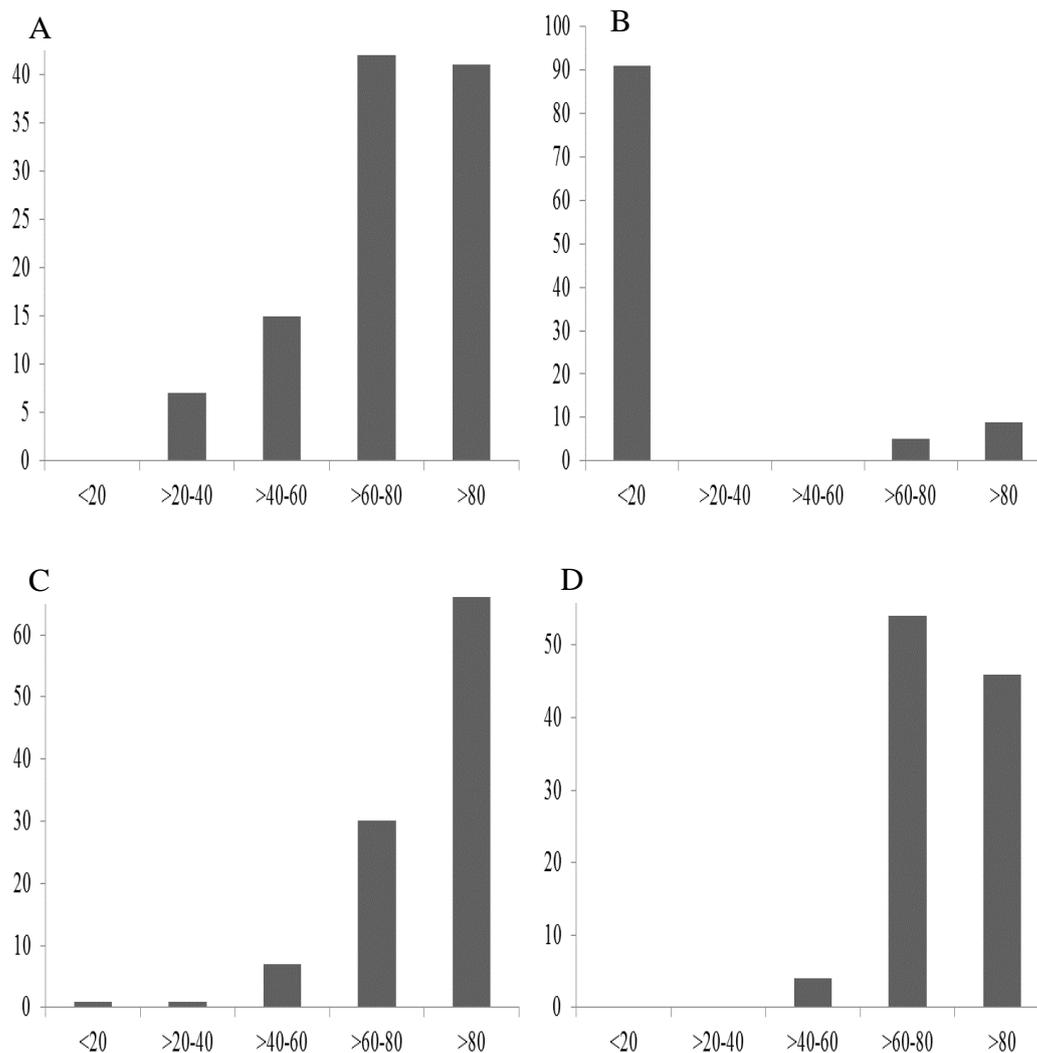


Figura 5. Distribuição de frequências de distâncias genéticas entre 15 acessos do gênero *Passiflora* obtidas com base em: descritores multicategóricos (A), descritores quantitativos (B), marcadores ISSR (C) e RAPD (D). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

Embora o gênero *Passiflora* possua um padrão característico da morfologia floral, é possível encontrar uma enorme plasticidade fenotípica, como no formato, tamanho, e coloração das flores (PAIVA et al., 2014). Neste estudo, todas essas características foram avaliadas como descritores qualitativos multicategóricos e demonstraram grande variabilidade.

Para os descritores quantitativos, a maioria das distâncias genéticas entre os acessos de *Passiflora* spp. apresentaram valores <20 (Figura 5B). Este fato aconteceu porque a espécie *P. quadrangularis* é muito diferente das demais, principalmente considerando o tamanho e massa do fruto que pode ser superior a 2 Kg.

Os descritores quantitativos e qualitativos utilizados foram capazes de diferenciar os subgêneros *Decaloba* e *Passiflora*, bem como separar de forma clara as

espécies estudadas. Resultado semelhante foi obtido por Tangarife et al. (2009) ao realizarem a caracterização morfológica de 21 espécies do gênero *Passiflora*, incluindo três subgêneros. Este estudo permitiu distinguir os subgêneros de forma semelhante à classificação taxonômica, sendo as variáveis relacionadas à parte floral as que mais contribuíram para a separação das espécies.

Provavelmente os descritores qualitativos multicategóricos tenham contribuído muito para isso, pois, a herança genética desse tipo de característica geralmente é controlada por poucos genes e são menos afetados pelo ambiente, o que conserva essas características similares dentro de cada espécie. Viana et al. (2010) utilizaram onze descritores para avaliar seis espécies do gênero *Passiflora* e verificaram ampla variação morfológica inter e intraespecífica, obtendo clara separação das espécies.

Os marcadores ISSR permitiram a obtenção de valores de distâncias genéticas distribuídas em todos os intervalos observados (Figura 5C), sendo que a maioria das distâncias apresentam valores acima de 80. De modo geral essa ferramenta foi a que permitiu observar a maior divergência genética entre os 15 acessos de *Passiflora* spp.

Com base nos marcadores RAPD, a maioria das distâncias genéticas entre os acessos de *Passiflora* spp. ficaram distribuídas entre os valores >60 a 80 (Figura 5D), indicando alta variabilidade genética entre os acessos estudados. Estes altos valores de distâncias genéticas é devido ao fato do presente estudo envolver acessos de diferentes espécies, ou seja, valores de distâncias inter-específicas. Pio Viana et al. (2003) e Bellon et al. (2014) utilizando marcadores RAPD, para verificarem a variabilidade genética de genótipos de maracujazeiro, relatam a alta variabilidade genética interespecífica no gênero *Passiflora*. Quando foi estimada a variabilidade genética com base em marcadores RAPD dentro da mesma espécie, foram observados menores valores e variações das estimativas de distâncias genéticas entre 0,07 e 0,42 para acessos de *P. trintae* (CERQUEIRA-SILVA et al., 2010a) e entre 0,12 e 0,19 para acessos de *P. edulis* Sims (CERQUEIRA-SILVA et al., 2010b).

Quanto às estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre as distâncias genéticas estimadas com base nos diferentes grupos de características avaliadas, observa-se, que as distâncias obtidas com base nos descritores quantitativos não apresentaram correlação significativa com as distâncias obtidas com base nos demais grupos de características (Tabela 4).

Tabela 4. Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre as distâncias genéticas calculadas com base nos diferentes grupos de descritores morfoagronômicos multicategóricos e quantitativos, marcadores ISSR e RAPD em *Passiflora* spp. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2015.

Variáveis	Quantitativo	Marcador ISSR	Marcador RAPD
Multicategórico	0,06	0,54**	0,59**
Quantitativo		0,05	0,13
Marcador ISSR			0,57**

As distâncias genéticas obtidas com base nos descritores qualitativos multicategóricos apresentaram correlação positiva e altamente significativa com as obtidas com base nos dois tipos de marcadores moleculares utilizados (ISSR e RAPD). As distâncias genéticas obtidas com base nos dois tipos de marcadores moleculares também apresentaram correlação positiva e altamente significativa. Esse resultado da estimativa de correlação indica a complementaridade e coerência entre os grupos de características estudados.

O resultado observado no estudo da correlação de Pearson, também ressalta a importância do uso das diferentes grupos de características para estudos mais completos de diversidade genética de recursos genéticos do gênero *Passiflora*. E quanto mais características ou grupos forem estudadas, há uma possibilidade maior de exploração da diversidade apresentada pelos recursos genéticos.

Estes resultados também indicam que não se deve realizar uma análise conjunta utilizando grupos de características tão distintos em uma mesma análise de diversidade genética, pois, podem-se levar a conclusões inadequadas a respeito dos recursos genéticos estudados, mesmo que se tenha utilizado os grupos de características adequados para cada material e realizado a coleta dos dados de forma correta.

6.4 CONCLUSÃO

Descritores qualitativos multicategóricos, quantitativos e marcadores moleculares ISSR e RAPD são ferramentas de grande utilidade para a caracterização e estudos de diversidade genética de acessos de *Passiflora* spp.

As dissimilaridades genéticas estimadas com base nos descritores qualitativos multicategóricos e marcadores moleculares não apresentaram correlação com os descritores quantitativos, evidenciando a complementaridade dos diferentes grupos de características no estudo da diversidade genética.

6.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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**, Uberlândia, v. 30, n. 6, p. 1692-1697, 2014.

BELLON, G.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, K. P.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FONSCCECA, K. G.; BRAGA, M. F. Variabilidade genética de acessos obtidos de populações cultivadas e silvestres de maracujazeiro-doce com base em marcadores rapd. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 197-202, março 2009.

BERNACCI, L. C.; CERVI, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; NUNES, T. S.; IMIG, D.C.; MEZZONATO, A. C. **Lista de espécies da flora do Brasil: Passifloraceae**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico, 2013. Disponível em: <www.floradobrasil.jbrj.gov.br>. Acesso em: 23 nov. 2015.

BERNACCI, L. C.; SOARES-SCOTT, M. D.; JUNQUEIRA, N. T. V.; PASSOS, I. R. S.; MELETTI, L. M. M. *Passiflora edulis* SIMS: The correct taxonomic way to cite the yellow passion fruit (and of others colors). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 566-576, 2008.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 5 ed. Viçosa, MG: UFV, 2009. 525p.

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* Sacco) revealed with molecular markers. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 4, p. 2123-2130, 2010a.

CERQUEIRA-SILVA, C.B.M.; CONCEIÇÃO, L.D.H.C.S.; CARDOSO-SILVA, C.B.; PEREIRA, A.S.; SANTOS, E. S. L.; OLIVEIRA, A. C.; CORRÊA, R. X. Genetic diversity in yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) based on RAPD. **Crop Breeding Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 10, n. 1, p. 154-159, 2010b.

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

FALEIRO, F. G.; FALEIRO, A. S. G.; CORDEIRO, M. C. R.; KARIA, C. T. **Metodologia para operacionalizar a extração de DNA de espécies nativas do cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003. (Comunicado Técnico, No.92).

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Recursos genéticos: conservação, caracterização e uso. In: FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M.; REIS JÚNIOR, F. B. **Biociologia: estado da arte e aplicações na agropecuária**. Planaltina: Embrapa Cerrados. 2011b, p. 513-551.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. Pré-melhoramento do maracujá. In: LOPES, M. A.; FAVERO, A. P.; FERREIRA, M. A. J.

F.; FALEIRO, F. G.; FOLLE, S. M.; GUIMARÃES, E. P. (Eds.) **Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 2011a, p. 550-570.

FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J. M. Passifloraceae. In: KUBITZI, K. The Families and Genera of Vascular Plants. **Springer**, v. IX, Berlin, p. 270-281, 2007.

LAWINSCKY, P. R.; SOUZA, M. M.; BELO, G. O.; VIANA, A. J. C.; MELO, C. A. F.; OLIVEIRA, C. S. L. Morphological characterization and genetic diversity in *Passiflora alata* Curtis and *P. cincinnata* Mast. (Passifloraceae). **Brazilian Journal Botany**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 261-272, 2014.

MUSCHNER, V. C., ZAMBERLAN, P. M., BONATTO, S. L., FREITAS, L. B. Phylogeny, biogeography and divergence times in *Passiflora* (Passifloraceae). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 35, n. 4, p. 1036-1043, 2012.

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 Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. 2, p. 381-390, 2014.

PÉREZ, J. O.; d'EECKENBRUGGE, G. C.; RETREPO, M.; JARVIS, A.; SALAZAR, M.; CAETANO, C. Diversity of Colombian Passifloraceae: biogeography and an updated list for conservation. **Biota Colombiana**, Bogotá, v. 8, n.1, p. 1-45, 2007.

PIO VIANA, A.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SOUZA, M. M.; MALDONADO, F.; AMARAL JÚNIOR, A. T. Diversidade entre genótipos de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de passifloras determinada por marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 489-493, 2003.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistic: version 9.1.3**. Cary: SAS Institute, 2008. 846 p.

SNEATH, P. H.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification**. San Francisco: W.H. Freeman, 1973. 573p.

STATSOFT, Inc. **Statistica for Windows (data analysis software system), version 7.1**. Statsoft, Tulsa, Oklahoma (USA), 2005.

TANGARIFE, M. M. M.; CAETANO, C. M.; TIQUE, C. A. P. Caracterización morfológica de especies Del género *Passiflora* de Colombia. **Acta Agronómica**, Palmira, v. 58, n. 3, p. 117-125, 2009.

VIANA, A. J. C.; SOUZA, M. M.; ARAÚJO, I. S.; CORRÊA, R. X. Genetic diversity in *Passiflora* species determined by morphological and molecular characteristics. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 54, n. 3, p. 535-538, 2010.

**CAPÍTULO 7. GERMINAÇÃO DE SEMENTES RECÉM-COLETADAS E
ARMAZENADAS DE DIFERENTES ESPÉCIES DO GÊNERO *Passiflora***

GERMINAÇÃO DE SEMENTES RECÉM-COLETADAS E ARMAZENADAS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Passiflora*

Resumo: No presente estudo, objetivou-se avaliar a germinação de sementes de espécies de *Passiflora* spp. recém-coletadas e armazenadas. Para a avaliação das sementes de *P. alata*, foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado em arranjo fatorial 4 x 5 x 2, sendo quatro genótipos, cinco tempos de armazenamento das sementes e dois tratamentos com e sem o uso do regulador vegetal Promalin[®], com 3 repetições de 20 sementes cada. Para avaliação das sementes de outras seis espécies de passiflora, foi utilizado, para cada espécie, o delineamento experimental inteiramente casualizado em arranjo fatorial 5 x 2, sendo cinco tempos de armazenamento das sementes e dois tratamentos com e sem o uso do regulador vegetal Promalin[®] com 3 repetições de 20 sementes cada. Análises de variância foram realizadas e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. As principais conclusões são que sementes de *P. alata* e *P. maliformis* devem ser colocadas para germinar logo após a colheita sem necessidade do regulador vegetal. Sementes de *P. suberosa* podem ser armazenadas até seis meses e deve-se utilizar regulador. Sementes de *P. caerulea* e *P. hatschbachii* devem ser armazenadas até três meses e usar regulador. As sementes de *P. sidifolia* devem ser colocadas a germinar logo após a colheita, com uso do regulador.

Palavras-chave: Recursos genéticos, conservação de espécies, armazenamento de sementes, emergência de plântulas, qualidade de sementes.

GERMINATION OF SEEDS NEWLY HARVESTED AND STORED FROM *Passiflora* SPECIES

Abstract: This study aimed to evaluate the germination of seeds newly collected and stored from different *Passiflora* spp. species. For *P. alata* evaluation, we used a completely randomized design in a factorial arrangement 4 x 5 x 2, with four genotypes, five seeds storage times and two treatments with and without Promalin® plant growth regulator, with 3 replicates of 20 seeds each. Seeds from other six *Passiflora* species were analysed using for each species, the completely randomized design in a factorial arrangement 5 x 2, with five seeds storage times and two treatments with and without Promalin® regulator vegetable with 3 replicates of 20 seeds each. Variance analyses were performed and the treatments means were compared by Tukey test at 5% of significance. The main conclusions are that *P. alata* and *P. maliformis* seeds should be germinated immediately after harvest without the plant growth regulator. *P. suberosa* seeds can be stored up to six months and regulator should be used. *P. caerulea* and *P. hatschbachii* seeds can be stored up to three months and use regulator. The *P. sidifolia* seeds must be germinated immediately after harvest, with regulator use.

Key words: Genetic resources, species conservation, storage of seeds, seedling emergence, seed quality.

7.1 INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* é considerado o mais representativo da família Passifloraceae, contendo cerca de 500 espécies, das quais 139 estão dispersas no território brasileiro, colocando o Brasil entre os principais centros de diversidade genética do gênero (BERNACCI et al., 2008; BERNACCI et al., 2013). O gênero *Passiflora* apresenta ampla variabilidade genética a ser caracterizada e utilizada de forma prática no desenvolvimento da cadeia produtiva do maracujazeiro-azedo, doce e silvestre visando à diversificação dos sistemas produtivos, o que pode ser alcançado por meio de ações de pesquisa e desenvolvimento de uma biodiversidade essencialmente brasileira (FALEIRO et al., 2015).

Um fator indispensável para o sucesso no estabelecimento e produção de diferentes espécies de maracujazeiro com potencial comercial é seu meio de propagação, realizado principalmente via semente, razão pela qual se torna importante conhecer a sua germinação, qualidade fisiológica e possibilidade de armazenamento. Na implantação de pomares comerciais, as sementes devem possuir alta qualidade genética, física, fisiológica e sanitária que conferem altos índices de germinação e vigor, sanidade e pureza física. O teste padrão de germinação fornece o potencial máximo para a formação de plântulas normais por ser conduzido nas condições ideais.

Para a disponibilidade de sementes durante todo o ano, se faz necessário o armazenamento das mesmas. Ao longo do período de armazenamento das sementes, a qualidade fisiológica sofre redução, podendo ser maior ou menor dependendo da espécie, do genótipo e das condições do armazenamento. Temperaturas baixas favorecem a manutenção desta qualidade por períodos prolongados de tempo. O armazenamento correto das sementes até o momento de sua utilização é uma etapa importante do processo de produção de sementes de alta qualidade, uma vez que o armazenamento não melhora a qualidade, somente a mantém por um período maior de tempo.

As sementes de algumas espécies do gênero *Passiflora* são recalcitrantes e em condições naturais perdem a viabilidade muito rápido. A germinação geralmente diminui quando o período de armazenamento é aumentado. Quando as sementes são beneficiadas e armazenadas apresentam uma baixa taxa de germinação, além de apresentar uma menor velocidade de germinação e vigor (GURUNG et al., 2014).

A análise da germinação de sementes de diferentes espécies de maracujazeiro é importante demanda para a pesquisa considerando o uso prático de tais espécies, uma

vez que a produção de mudas uniformes e mais vigorosas é a base para tal utilização (MAROSTEGA et al., 2015). Pesquisas relacionadas aos fatores que têm interferência na viabilidade e vigor são úteis para a avaliação do potencial fisiológico das sementes, e na definição das estratégias de armazenamento, principalmente para espécies não cultivadas, em que a heterogeneidade genética e fisiológica das amostras é pronunciada. Em vista do exposto acima, objetivou-se avaliar a porcentagem de emergência de plântulas a partir de sementes de diferentes espécies de *Passiflora* spp. recém-coletadas e armazenadas em câmara fria (5 °C).

7.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Unidade de Apoio da Fruticultura e no Setor de Viveiros e Casas de Vegetação da Embrapa Cerrados, em Planaltina-DF. Foram analisadas a germinação de sementes de 10 acessos de *Passiflora* spp. do Banco Ativo de Germoplasma 'Flor da Paixão' (BAG) (Tabela 1). As plantas das quais foram coletados os frutos para retirada das sementes, foram conservadas em campo e clonadas via estaquia para produção das mudas. Oito mudas de cada acesso foram cultivadas no campo no sistema de espaldeira vertical, seguindo as recomendações técnicas da cultura quanto à adubação, irrigação e controle fitossanitário.

Tabela 1. Descrição dos 10 acessos de *Passiflora* spp. caracterizados no estudo, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016.

Acessos	Espécie	Código BAG
1, 2, 3 e 4	<i>Passiflora alata</i> Curtis, 1789	CPAC MJ-02-17, CPAC MJ-02-21, CPAC MJ-02-09 e CPAC MJ-02-19
5	<i>Passiflora suberosa</i> L., 1753	CPAC MJ-35-02
6	<i>Passiflora caerulea</i> Lour. ex DC., 1828	CPAC MJ-14-01
7	<i>Passiflora hatschbachii</i> Cervi, 1994	CPAC MJ-50-01
8	<i>Passiflora maliformis</i> Vell., 1831	CPAC MJ-58-01
9	<i>Passiflora sidifolia</i> M. Roem., 1846	CPAC MJ-16-02
10	<i>Passiflora cincinnata</i> Mast., 1868	CPAC MJ-26-03

Para a análise das sementes dos quatro acessos de *P. alata*, foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) disposto em arranjo fatorial 4 x 5 x 2, sendo quatro genótipos (1- CPAC MJ-02-17, 2- CPAC MJ-02-21, 3- CPAC MJ-02-09 e 4- CPAC MJ-02-19), cinco tempos de armazenamento das sementes [1-

tempo zero (inicial), 2- três meses de armazenamento, 3- seis meses de armazenamento, 4- nove meses de armazenamento, 5- doze meses de armazenamento] e dois tratamentos com e sem o uso do regulador vegetal Promalin® (Ácido giberélico N° 4 e 7 + N-(fenilmetil)-1H-Purina-6-amina(6-benziladelina) [1- sem uso do regulador (água destilada) e 2- com uso do regulador (15 ml L⁻¹)], Costa et al. (2015), com 3 repetições, totalizando 120 parcelas experimentais. Cada parcela experimental foi constituída de 20 sementes.

Para a análise das sementes dos outros seis acessos de *Passiflora* spp. foi utilizado, para cada espécie, o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) disposto em arranjo fatorial 5 x 2, sendo cinco tempos de armazenamento das sementes [1- tempo zero (inicial), 2- três meses de armazenamento, 3- seis meses de armazenamento, 4- nove meses de armazenamento, 5- doze meses de armazenamento] e dois tratamentos com e sem o uso do regulador vegetal Promalin® [1- sem uso do regulador (água destilada) e 2- com uso do regulador (15 ml L⁻¹)], com 3 repetições, totalizando 30 parcelas experimentais. Cada parcela experimento foi constituída de 20 sementes.

As sementes foram retiradas de frutos completamente maduros, sendo que, buscou-se coletar sempre os frutos com coloração da casca uniforme e característica para cada espécie. Os frutos foram coletados de um único lote de colheita, a partir de plantas aparentemente sadias em condições de campo. Após a colheita, os frutos foram seccionados transversalmente e a mucilagem com as sementes foram retiradas em água corrente e com auxílio de uma peneira de metal.

Após a lavagem, todas as sementes foram imediatamente colocadas para secar a sombra, por um período de quatro dias, sobre folha de papel toalha. Após a secagem, os arilos das sementes foram removidos por fricção manual, e em seguida, armazenadas em sacos de papel e colocadas dentro da câmara fria à 5 °C e umidade relativa de 50 % e mantidas nessas condições durante todo período de experimentação, 12 meses.

As sementes que receberam o tratamento com regulador vegetal Promalin®, ficaram imersas na solução por 30 minutos e as que não receberam o regulador vegetal, ficaram imersas em água destilada por 30 minutos.

A semeadura foi realizada em bandejas de 60 células de polietileno. As bandejas foram preenchidas com substrato comercial (Bioplant®) e as sementes foram colocadas a uma profundidade de $\pm 0,5$ cm. As bandejas foram irrigadas diariamente, o experimento foi mantido em casa de vegetação.

A porcentagem de plântulas emergidas, utilizando-se a fórmula de Maguire (1962), foi avaliada diariamente após a semeadura, a partir do início da emergência até a sua estabilização. Para atender as pressuposições para análises de variância e teste de médias, os dados foram transformados em arcseno $\sqrt{\text{porcentagem de emergência}/100}$.

Ao final de 12 meses de armazenamento foi realizado o teste de tetrazólio nas sementes armazenadas (BRASIL, 2009). Para cada acesso, utilizou-se quatro repetições de 25 sementes, totalizando 100 sementes por acesso. As sementes armazenadas de cada acesso foram pré-condicionadas em água destilada por 12 horas, e levada à BOD com temperatura de 25 °C. Posteriormente, as sementes foram transferidas para recipientes com 20 mL da solução de 2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio, na concentração de 0,075 %, as quais foram acondicionadas por duas horas em BOD regulada na temperatura de 30 °C. Os recipientes contendo as sementes foram protegidos com papel alumínio para evitar o contato da solução com a luz para que não ocorresse a fotodegradação da solução. Após este período as sementes foram lavadas e mantidas imersas em água destilada para assim realizar a excisão manual dos embriões, com o auxílio de uma lâmina de bisturi. Em sequência os embriões foram avaliados com auxílio de uma lupa de bancada com zoom 10x.

Nesse processo, foram consideradas como sementes viváveis, as que apresentaram coloração do embrião vermelho brilhante; as que apresentaram coloração branca nos tecidos foram consideradas sementes mortas. O resultado foi calculado em porcentagem de sementes viáveis e mortas.

Os dados obtidos foram transformados em arcseno $\sqrt{\text{porcentagem de emergência}/100}$. Para os quatro genótipos de *P. alata* foi realizada a análise de variância, sendo conclusiva para as médias dos tratamentos com uso de regulador vegetal e as médias dos genótipos foram comparadas pelo teste Tukey ($p < 0.005$). As sementes dos genótipos de *P. alata* foram armazenadas por 12 meses, porém, devido a morte das sementes, foram analisados apenas os dados obtidos até os seis meses de armazenamento.

Para os dados das demais espécies foram submetidos a análise de variância, sendo essa conclusiva para as médias dos tratamentos com uso de regulador vegetal e foram ajustadas equações de regressão para as médias do tempo de armazenamento das sementes, quando as mesmas foram significativas pelo teste F da análise de variância. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa estatístico Genes (CRUZ, 2013).

7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de variância da porcentagem de emergência de plântulas dos acessos de *P. alata*, observa-se um efeito significativo do genótipo, do tempo de armazenamento e também da interação entre genótipos e tempos de armazenamento (Tabela 2). Este resultado evidencia que não podemos fazer conclusões generalizadas para a espécie, mas sim para cada acesso ou genótipo analisado.

Tabela 2. Resumo da análise de variância da porcentagem de emergência de plântulas a partir de sementes de quatro genótipos de *Passiflora alata*, com e sem uso do regulador vegetal Promalin® e em três tempos de armazenamento das sementes. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016.

FV	GL	SQ	QM	F
Genótipos de <i>P. alata</i>	3	0,12	0,04**	4,29
Regulador Vegetal (Promalin®)	1	0,04	0,04 ^{ns}	2,17
Tempo de Armazenamento das sementes	2	0,95	0,47**	24,59
G x RV	3	0,04	0,01 ^{ns}	1,50
G x TA	6	1,22	0,20**	20,85
RV x TA	2	0,07	0,04 ^{ns}	1,96
G x RV x TA	6	0,04	0,01 ^{ns}	0,68
Resíduo	36	0,35	0,01	
Média				10,49
CV (%)				37,34

FV = fonte de variação; GL = grau de liberdade; SQ = soma de quadrado; QM = quadrado médio, F = teste de Fischer; G = genótipos; RV = regulador vegetal; TA = tempo de armazenamento. ** significativo a 1 %; ^{ns} não significativo.

A maior porcentagem de emergência de plântulas foi observada nas sementes do genótipo CPAC MJ-02-17 no tempo zero (inicial) (32,50%), ou seja, esse genótipo apresentou o seu potencial máximo de emergência nas sementes recém-coletadas (Tabela 3). Os quatro genótipos avaliados (CPAC MJ-02-17, CPAC MJ-02-21, CPAC MJ-02-19 e CPAC MJ-02-19) apresentaram maior porcentagem de emergência no tempo zero (inicial) e a emergência das plântulas foi decrescendo (de 32,50% a 2,50%) ao longo do período de armazenamento das sementes.

Souto et al. (2017) objetivando avaliar a emergência e o vigor de plântulas de cultivares de maracujazeiro-azedo sob exposição de diferentes temperaturas. Observaram que as cultivares BRS Sol do Cerrado e BRS Gigante Amarelo apresentaram emergência de plântulas acima de 95% nas faixas de temperaturas de 20-30 °C e 25-35 °C. Os resultados apresentados pelos referidos autores, são bem superiores aos resultados obtidos no presente estudo, mas isso deve-se principalmente ao nível de melhoramento das cultivares utilizadas pelos referidos autores, que são materiais que apresentam uma alta porcentagem de emergência de plântulas.

Tabela 3. Interação entre as médias da porcentagem de emergência de plântulas a partir de sementes de quatro genótipos de *Passiflora alata* recém-coletadas e armazenadas por seis meses. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016.

Genótipos	Tempo de armazenamento		
	Zero (inicial) (%)	3 meses (%)	6 meses (%)
CPAC MJ-02-17	32,50 Aa	5,00 Bab	2,50 Ba
CPAC MJ-02-21	18,33 Ab	9,17 Ba	3,33 Ba
CPAC MJ-02-09	23,33 Ab	6,67 Bab	2,50 Ba
CPAC MJ-02-19	19,17 Ab	1,67 Bb	1,67 Ba

As médias seguidas pela mesma letra maiúscula na Horizontal não diferem entre si pelo teste Tukey e pela mesma letra minúscula na Vertical não diferem entre si, pelo teste F da análise de variância a 5% de probabilidade.

O tempo de armazenamento das sementes atua diretamente sobre a viabilidade das sementes armazenadas, afetando o percentual de emergência das plântulas. Osipi e Nakagawa (2005), observaram que a germinação de *P. alata* não difere entre os ambientes de conservação (câmara fria, câmara seca e ambiente não-controlado) durante os seis meses iniciais de armazenamento.

Na tabela 4, observa-se o resumo da análise de variância da porcentagem de emergência de plântulas a partir de sementes recém-coletadas e armazenadas dos demais acessos.

Tabela 4. Resumo da análise de variância da porcentagem de emergência de plântulas a partir de sementes de *Passiflora suberosa* (CPAC MJ-35-02), *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02) e *P. cincinnata* (PC) recém-coletadas e armazenadas durante cinco períodos de armazenamento com uso e sem uso do regulador vegetal Promalin®. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016.

FV	QM					
	MJ-35-02	MJ-14-01	MJ-50-01	MJ-58-01	MJ-16-02	PC
Armazenamento	0,16**	0,24**	0,05*	0,18**	0,21**	0,00 ^{ns}
Promalin®	0,27**	0,45**	0,04**	0,57**	0,05**	0,27**
TA x P®	0,22 ^{ns}	0,25*	0,01 ^{ns}	0,05**	0,01 ^{ns}	0,01 ^{ns}
Resíduo	0,11	0,01		0,00	0,00	0,01
Média	23,00	18,50	20,67	43,83	15,00	6,00
CV (%)	17,30	17,09	18,21	5,14	14,89	63,21

FV = fonte de variação; QM = quadrado médio; CV = coeficiente de variação; TA = tempo de armazenamento, P® = Promalin® ** significativo a 1 %, * significativo a 5 % e ^{ns} não significativo pelo teste F.

Para o acesso de CPAC MJ-35-02 foi observado um efeito altamente significativo do tempo de armazenamento das sementes e do regulador vegetal Promalin® na porcentagem de emergência de plântulas ($p < 0,001$). Não houve efeito

significativo da interação entre estas duas fontes de variação, indicando que esses fatores atuam de forma independente (Tabela 4).

O uso do Promalin® em CPAC MJ-35-02 promoveu um aumento significativo na porcentagem de emergência, de 17,00% para 29,09% (Tabela 5).

Tabela 5. Médias da porcentagem de emergência de plântulas (%) a partir de sementes de *Passiflora suberosa* (CPAC MJ-35-02), *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02) e *P. cincinnata*, sem uso (SP®) e com uso do regulador vegetal Promalin® (CP®). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016.

Acessos	CPAC MJ-35-02		CPAC MJ-50-01		CPAC MJ-16-02		<i>P. cincinnata</i>	
Promalin®	SP®	CP®	SP®	CP®	SP®	CP®	SP®	CP®
Emergência	17,00 b	29,02 a	2,68 b	38,64 a	13,02 b	17,02 a	2,34 b	9,66 a

Foi possível ajustar uma equação de regressão linear altamente significativa ($p < 0,001$) para a variável porcentagem de emergência nos cinco tempos de armazenamento das sementes do acesso CPAC MJ-35-02 (Figura 1). E com um coeficiente de determinação indicando que o modelo explica grande parte da variação total observada nos dados, sendo 86,78% (R^2).

Marostega et al. (2015) avaliando *P. suberosa*, notaram que a imersão das sementes em água destilada a 50°C por 5 minutos apresentou maior germinação (35,83%). Porém, o percentual de emergência observado no presente estudo foi superior ao melhor percentual apontado por esses autores, indicando que o uso de regulador vegetal é mais eficiente na superação da dormência observada nas sementes de *P. suberosa*, apontando também que essa dormência, provavelmente, é uma dormência fisiológica ou química e está relacionada ao balanço hormonal das sementes.

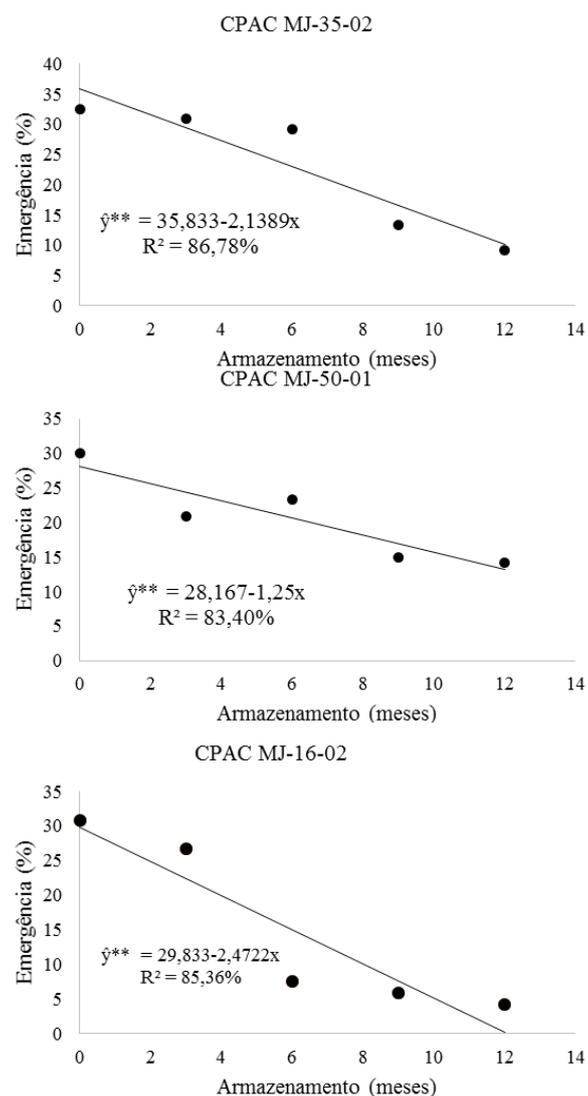


Figura 1. Porcentagem de emergência de plântulas a partir de sementes de *Passiflora suberosa* (CPAC MJ-35-02), *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01) e *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02) em cinco tempos de armazenamento das sementes. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016.

Para o acesso CPAC MJ-14-01 foi significativa ($p < 0,005$) a interação entre o tempo de armazenamento das sementes e o uso do regulador vegetal Promalin® (Tabela 4). Para a porcentagem de emergência desse acesso (CPAC MJ-14-01), ajustaram-se equações de regressão linear altamente significativa ($p < 0,001$), e com coeficientes de determinação indicando que o modelo explica a variação total dos dados 99,44 e 95,79% (R^2), com e sem utilização de regulador vegetal, respectivamente (Figura 2).

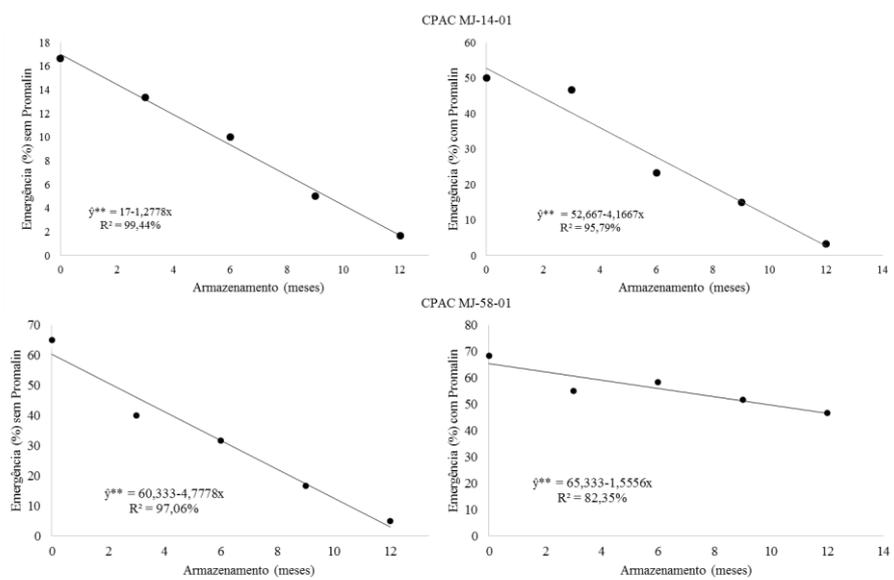


Figura 2. Desdobramento da interação entre as fontes de variação, tempo de armazenamento das sementes e utilização do regulador vegetal Promalin® para a variável porcentagem de emergência de plântulas a partir de sementes de *Passiflora caerulea* (CPAC MJ-14-01) e *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2016.

A porcentagem de emergência de plântulas do acesso CPAC MJ-14-01 foi decrescendo ao longo do tempo de armazenamento das sementes, tanto para o tratamento testemunha (sem uso de regulador vegetal) quanto para o tratamento com utilização do regulador vegetal Promalin®.

Ferraz et al. (2014) trabalhando com *P. edulis* Sims, também observaram que ao final do período de avaliação (50 dias), as doses de bioestimulante de 24 e 30 mL.kg⁻¹, foram as que permitiram maior porcentagem de emergência de plântulas. Miranda et al. (2009) relatam que as sementes de *Passiflora* spp. apresentam uma dormência do tipo tegumentar e que provavelmente combinam dormências mecânica e química. O que torna ainda mais complexo o processo de superação da dormência das sementes das espécies do gênero *Passiflora*. É provável que os melhores métodos para superação das dormências das sementes de *Passiflora* spp., sejam alcançados com uma combinação de técnicas.

Para CPAC MJ-50-01 o tempo de armazenamento das sementes e o uso do regular vegetal Promalin® produziu efeitos significativos sobre a emergência, porém, não foi observado efeito significativo para a interação entre essas duas fontes de variação, indicando que esses fatores agem de forma independente (Tabela 4). Com a utilização do regulador vegetal, a porcentagem de emergência de plântulas variou de 2,68 para 38,64%, com e sem a utilização do regulador vegetal Promalin® (Tabela 5).

Para a fonte de variação tempo de armazenamento foi possível ajustar uma equação de regressão linear altamente significativa ($p < 0,001$), e com coeficiente de determinação (R^2) de 83,40% (Figura 1). Para o acesso CPAC MJ-50-01, a porcentagem de emergência de plântulas, também foi decrescendo ao longo do período de armazenamento das sementes.

Não há trabalhos de emergência de plântulas com a espécie *P. hatschbachii*, mas nas condições em que foi realizado o presente estudo, as sementes do acesso CPAC MJ-50-01, apresentaram uma redução no percentual de emergência de plântulas ao longo do armazenamento de suas sementes. Fazem-se necessários mais estudos, com essa espécie, especialmente em relação ao tipo de embalagem, em que serão acondicionadas as sementes, visto que, essa pode auxiliar na melhor conservação das sementes, e no estudo, utilizou-se para todos os acessos embalagem de papel, e essa permite troca de umidade com o ambiente, e essa troca pode acelerar a deterioração das sementes.

Para CPAC MJ-58-01 a interação entre tempo de armazenamento das sementes e uso do regulador vegetal Promalin[®] foi significativa, indicando que para a porcentagem de emergência de plântulas nessa espécie os fatores agem em conjunto (Tabela 4). Para esse acesso (CPAC MJ-58-01) foi possível ajustar equações de regressão linear altamente significativa ($p < 0,001$) para a fonte de variação tempo de armazenamento das sementes. E com coeficientes de determinação (R^2) explicando 97,06% (sem regulador vegetal) e 82,35% (com uso de regulador vegetal Promalin[®]) da variação total dos dados de porcentagem de emergência de plântulas (Figura 2).

A maior porcentagem de emergência de plântulas para o acesso CPAC MJ-58-01 foi apresentada pelas sementes recém-coletadas, tanto para o tratamento sem a utilização do regulador vegetal, quanto para o tratamento com uso do Promalin[®]. A porcentagem de emergência de plântulas para esse acesso foi decrescendo ao longo do período de armazenamento das sementes. Com a utilização do regulador vegetal Promalin[®] foi observado as maiores porcentagens de emergência de plântulas até os 12 meses de armazenamento das sementes em comparação com as sementes que não foram tratadas com o regulador vegetal.

Esses resultados indicam que para o acesso CPAC MJ-58-01, caso as sementes sejam colocadas para germinar assim que ocorrer a coleta das mesmas, não há necessidade do uso do regulador, o que pode resultar em redução dos custos para propagação dessa espécie. Porém, se não for possível, e o armazenamento das sementes

seja necessário, o uso do Promalin® é importante para uma promoção no percentual de emergência das sementes armazenadas.

Assim como no presente estudo, Santos et al. (2016) observaram que sementes recém-colhidas de *P. alata*, *P. cincinnata*, *P. edulis*, *P. gibertii* e *P. setacea* apresentam emergência mais elevada e mais rápida, com uso de regulador vegetal.

Para CPAC MJ-16-02, o tempo de armazenamento e o uso do Promalin® foram significativos. E não houve efeito significativo para a interação entre essas duas fontes de variação, indicando que os mesmos agem separadamente (Tabela 4). Com a utilização do regulador vegetal, a maior média de porcentagem de emergência foi observada com a utilização do Promalin® (17,02%), enquanto com o tratamento sem a utilização do regulador vegetal, observou-se uma porcentagem de emergência de plântulas de 13,02%, inferior ao tratamento com Promalin® (Tabela 5).

Com a fonte de variação tempo de armazenamento das sementes foi possível ajustar equação de regressão linear altamente significativa ($p < 0,001$) para a variável porcentagem de emergência de plântulas do acesso CPAC MJ-16-02 (Figura 1). E com um coeficiente de determinação (R^2) explicando 85,36% da variação total dos dados. A porcentagem de emergência de plântulas foi decrescendo ao longo do período de armazenamento. Assim como foi observado para os acessos já citados, as sementes devem ser coletadas e colocadas para germinar o mais rápido possível, pois elas vão perdendo a viabilidade ao longo do período de armazenamento, como foi observado no presente estudo com embalagem de papel.

Para *P. cincinnata* observa-se na tabela 4, que a fonte de variação, uso do regulador vegetal Promalin® foi altamente significativa pelo teste F da análise de variância ($p < 0,001$). Não houve efeito significativo para o tempo de armazenamento e para a interação entre as duas fontes de variação, indicando que os mesmos agem de forma independente. Com a utilização do regulador vegetal Promalin® o percentual de emergência de plântulas foi de 9,66% diferindo pelo teste F da análise de variância do tratamento sem a utilização do regulador vegetal (2,34%) (Tabela 5). Para *P. cincinnata* não foi possível ajustar equação de regressão, pois, a fonte de variação tempo de armazenamento das sementes não apresentou efeito significativo. Isso ocorreu certamente pelo elevado valor de coeficiente de variação (CV%) que foi observado para a variável porcentagem de emergência dessa espécie. Esse alto CV (63,21%) é decorrente provavelmente da grande variabilidade existente nessa espécie, que neste caso, foi expressado pela porcentagem de emergência de plântulas.

Os valores de porcentagem de emergência das plântulas observados no presente estudo foram superiores aos relatados por Zucareli et al. (2009) de 14,4%. Corroborando os resultados para baixa porcentagem de emergência do *P. cincinnata*, Santos et al. (2016) relataram valores inferiores ao presente estudo (3,67%).

O teste de tetrazólio realizado comprovaram os resultados observados na emergência das sementes armazenadas. As sementes dos acessos de *P. alata*, não apresentaram viabilidade. Os acessos de *P. suberosa* (CPAC MJ-35-02), *P. caerulea* (CPAC MJ-14-01), *P. hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), *P. maliformis* (CPAC MJ-58-01), *P. sidifolia* (CPAC MJ-16-02) e *P. cincinnata* apresentaram 20, 5, 24, 29, 9 e 8 % de sementes viáveis, respectivamente. Todos esses valores muito próximos aos valores apresentados por esses acessos no teste emergência ao final de 12 meses de armazenamento.

7.4 CONCLUSÃO

As sementes dos acessos *P. alata* e *P. maliformis* devem ser colocadas para germinar logo após a colheita sem necessidade do regulador vegetal. As sementes do acesso de *P. suberosa* podem ser armazenadas até seis meses e deve-se utilizar regulador vegetal. As sementes dos acessos de *P. caerulea* podem ser armazenadas por até quatro meses e *P. hatschbachii* deve ser armazenada até seis meses e usar regulador. As sementes de do acesso de *P. sidifolia* devem ser colocadas a germinar logo após a colheita, com uso do regulador. As sementes do acesso de *P. cincinnata* mostraram uma baixa porcentagem de germinação e uma baixa uniformidade no processo germinativo, típico de muitas passifloras. De modo geral o uso do Promalin[®] promove um maior percentual de emergência de plântulas.

7.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNACCI, L. C.; CERVI, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; NUNES, T. S., IMIG, D. C.; MEZZONATO, A. C. Passifloraceae. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>.

BERNACCI, L. C.; SOARES-SCOTT, M. D.; JUNQUEIRA, N. T. V.; PASSOS, I. R. S.; MELETTI, L. M. M. *Passiflora edulis* SIMS: The correct taxonomic way to cite the yellow passion fruit (and of others colors). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.2, p. 566 – 576, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 2009, 395p.

CARLESSO, V. O.; BERBERT, P. A.; SILVA, R. F.; DETMANN, E. Secagem e armazenamento de sementes de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 2, p.065-074, 2008.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CATUNDA, P. H. A.; VIEIRA, H. D.; SILVA, R. F.; POSSE, S. C. P. Influência do teor de água, da embalagem e das condições de armazenamento na qualidade de sementes de maracujá amarelo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 65-71, 2003.

COSTA, A. M.; LIMA, H. C.; CARDOSO, E. R.; SILVA, J. R.; PADUA, J. G.; FALEIRO, F. G.; PEREIRA, R. C. A.; CAMPOS, G. A. **Produção de mudas de maracujazeiro silvestre (*Passiflora setacea*)**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2015. (Comunicado Técnico, Nº176). 6p.

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

FALEIRO, F. G.; FAVERO, A. P.; FERREIRA, M. E.; JUNQUEIRA, N. T. V. Potencial de uso das plantas agrícolas nativas e de seus parentes silvestres. *In*: VEIGA, R.F.A.; QUEIRÓZ, M.A.. (Org.). Recursos fitogenéticos: a base da agricultura sustentável no Brasil. 1ed.Viçosa: Ed. UFV, 2015, v. 1, p. 291-298.

FERRAZ, R. A.; SOUZA, J. M. A.; SANTOS, A. M. F.; GONÇALVES, B. H. L.; REIS, L. L.; LEONEL, S. Efeitos de bioestimulante na emergência de plântulas de maracujazeiro ‘Roxinho do Kênia. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 6, p. 1787-1792, 2014.

GURUNG, N.; SWAMY, G. S. K.; SARKAR, S. K.; BHUTIAAND, S. O.; BHUTIA, K. C. Studies on seed viability of passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.). **Journal of Crop and Weed**, Nadia, v. 10, n. 2, p.484-487, 2014.

LIMA, C.; BETEMPS, D.; TOMAZ, Z. Germinação de sementes e crescimento de maracujá em diferentes concentrações do ácido giberélico, tempos de imersão e condições experimentais. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 15, n. 1-4, p. 43-48, 2009.

LIMA, P. O.; LIRA, L. M.; LOPES, K. P.; BARBOSA, R. C. A. Armazenamento de sementes de maracujá-amarelo. **Revista Verde**, Mossoró, v. 5, n. 5, p. 102- 109, 2010.

MAGUIRE, J. D. Seep of germination-aid seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MAROSTEGA, T. N.; CUIABANO, M. N.; RANZANI, R. E.; LUZ, P. B.; Severino Paiva SOBRINHO. EFEITO DE TRATAMENTO TÉRMICO NA SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA DE SEMENTES DE *Passiflora suberosa* L. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 31, n. 2, p. 445-450, 2015.

MARTINS, L.; SILVA, W. R.; MELETTI, L. M. M. Conservação de sementes de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 183-189, 2005.

MELETTI, L. M. M.; FURLANI, P. R.; ALVAREZ, V.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; AZEVEDOFILHO, J. A. Novas tecnologias melhoram a produção de mudas de maracujá. **O Agrônomo**, Campinas, v. 54, n. 1, p. 30-33, 2002.

MIRANDA, D.; PEREA, M.; MAGNITSKIY, S. Propagacion de especies *Pasifloraceas*. In: MIRANDA, D.; FISCHER, G.; CARRANZA, C.; MAGNITSKIY, S.; CASIERRA, F.; PIEDRAHITA, W.; FLOREZ, L. E. **Cultivo, poscosecha y comercializacion de las pasifloraceas en Colombia: maracuya, granadilla, gulupa y curuba**. Eds. Bogota: Sociedad Colombiana de Ciencias Horticolas. 2009, p. 69-96.

OSIPI, E. A. F.; NAKAGAWA, J. Avaliação da potencialidade fisiológica de sementes de maracujá- doce (*Passiflora alata* Dryander) submetidas ao armazenamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 52-54, 2005.

PÁDUA, J. G.; SCHWINGEL, L. C.; MUNDIM, R. C.; SALOMÃO, A. N.; ROVERIJOSÉ, S. C. B. Germinação de sementes de *Passiflora setacea* e dormência induzida pelo armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 080-085, 2011.

SANTOS, C. A. C.; VIEIRA, E. L.; PEIXOTO, C. P.; LEDO, C. A. S. Germinação de sementes e vigor de plântulas de maracujazeiro amarelo submetidos à ação do ácido giberélico. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 2, p. 400-407, 2013.

SANTOS, C. E. M.; MORGADO, M. A. D.; MATIAS, R. G. P.; WAGNER JÚNIOR, A.; BRUCKNER, C. H. Germination and emergence of passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds obtained by self- and open-pollination. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 37, n. 4, p. 489-493, 2015.

SANTOS, C. H. B.; CRUZ NETO, A; J.; JUNGHANS, T. G.; JESUS, O. N.; GIRARDI, E. A. Estádio de maturação de frutos e influência de ácido giberélico na emergência e crescimento de *Passiflora* spp. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 47, n. 3, p. 481-490, 2016.

SOUTO, A. G. L.; COSTA, J. C. F.; CAMPOS, N. L. F.; AZEVEDO, J. L. F.; SANTOS, C. E. M. Effect of temperature on passion fruit emergence and seedling vigor. **Journal of Seed Science**, v. 39, n. 1, p.050-057, 2017.

ZUCARELI, V.; FERREIRA, G.; AMARO, A. C. E.; ARAÚJO, F. P. Fotoperíodo, Temperatura e Reguladores Vegetais na Germinação de Sementes de *Passiflora cincinnata* Mast. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 3, p. 106-114, 2009.

**CAPÍTULO 8. AVALIAÇÃO DOS DESCRITORES UTILIZADOS EM
ENSAIOS DE DHE NA CARACTERIZAÇÃO DE SELEÇÕES DE ESPÉCIES
DE *Passiflora* spp. COM POTENCIAL COMERCIAL**

AVALIAÇÃO DOS DESCRITORES UTILIZADOS EM ENSAIOS DE DHE NA CARACTERIZAÇÃO DE SELEÇÕES DE ESPÉCIES DE *Passiflora* spp. COM POTENCIAL COMERCIAL

Resumo: Neste estudo, objetivou-se avaliar os descritores utilizados em ensaios de DHE recomendados pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares na caracterização de seleções de espécies de *Passiflora* spp. com potencial comercial. O estudo foi realizado na Unidade de Apoio da Fruticultura e no Laboratório de Análises de Alimentos da Embrapa Cerrados, no qual foram caracterizados nove seleções de espécies silvestres de *Passiflora* spp. e três seleções de *Passiflora edulis*. A caracterização das seleções de *Passiflora* spp. e de *Passiflora edulis* foi realizada utilizando 35 e 28 descritores, respectivamente, utilizando os descritores específicos para cada grupo preconizados pelo Serviço Nacional de Proteção de cultivares do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Os descritores utilizados foram capazes de diferenciar as diferentes seleções, bem como, separar de forma clara os subgêneros *Decaloba* e *Passiflora*. Esses descritores são utilizados nos processos de proteção de cultivares, mas podem e devem ser utilizados nas diferentes etapas dos programas de melhoramento, especialmente, quando o programa já apresentar seleções avançadas geneticamente melhoradas. Os descritores morfoagronômicos podem ser úteis na diferenciação das seleções ao longo das etapas dos programas de melhoramento genético de cada espécie do gênero *Passiflora*. Os descritores são eficazes na diferenciação das seleções tanto de espécies silvestres de *Passiflora* spp. quanto da espécie *P. edulis*.

Palavras-chave: proteção de cultivares, variabilidade genética, melhoramento genético

EVALUATION OF THE DESCRIPTORS USED IN DUS TESTS IN THE CHARACTERIZATION OF SELECTIONS OF SPECIES OF *Passiflora* spp. WITH COMMERCIAL POTENTIAL

Abstract: The objective of this study was to evaluate the descriptors used in DHS (Distinguishability, Homogeneity and Stability) tests recommended by the National Plant Variety Protection Service in the characterization of *Passiflora* spp. and *Passiflora edulis* selections with commercial potential. The study was carried out at the Fruit Support Unit and Food Analysis Laboratory at the Embrapa Cerrados. Nine selections of *Passiflora* spp wild species and three selections of *Passiflora edulis* were characterized. The characterization of the *Passiflora* spp. and *Passiflora edulis* selections was carried out using 35 and 28 descriptors, respectively. These descriptors are part of a list of minimum morphological descriptors recommended by National Plant Variety Protection Service for characterization of each group of *Passiflora* species and varieties. The descriptors used were able to differentiate the different selections, as well as to clearly separate the subgenus *Decaloba* and *Passiflora*. These descriptors are used in the in DHS tests, but they can be used in the different stages of breeding programs, especially when the program already presents advanced genetically improved selections. The morphological descriptors may be useful in the characterization of selections obtained along the stages of the breeding programs of each *Passiflora* species. The descriptors are effective in the differentiation of the selections of both wild species of *Passiflora* and *P. edulis*.

Key words: variety protection, genetic variability, genetic improvement.

8.1. INTRODUÇÃO

O maracujazeiro (*Passiflora* spp.) possui grande variabilidade genética e algumas espécies silvestres têm potencial para contribuir muito com o melhoramento genético de espécies comerciais por apresentarem resistência a doenças ou pragas, para uso como porta-enxerto, longevidade, maior adaptação a condições climáticas adversas, período de florescimento ampliado, maior concentração de componentes químicos interessantes para a indústria farmacêutica e outras potencialidades, quase todas, ainda inexploradas (Faleiro et al., 2015; 2013).

Além do uso como fonte de variabilidade genética no melhoramento, Faleiro et al. (2015; 2013; 2011) relatam o potencial agrônomo na produção de frutos das espécies *P. alata*, *P. setacea*, *P. nitida*, *P. tenuifila*, *P. cincinnata*, *P. quadrangularis* e *P. maliformis* para o mercado de frutas frescas, na produção de matéria-prima para doces e sorvetes e também substâncias bioativas com propriedades medicinais. Mais recentemente, a equipe envolvida no melhoramento genético das Passifloras da Embrapa Cerrados e parceiros tem observado o potencial comercial de outras espécies do gênero *Passiflora* como a *P. auriculata*, *P. biflora*, *P. capparidifolia*, *P. sidifolia* e *P. edulis* (nativo).

O maracujazeiro é uma cultura que tem grande importância tanto econômica quanto social para o Brasil, entretanto, apesar do cultivo comercial do maracujazeiro ser realizado há mais de 40 anos, as primeiras cultivares de maracujazeiro foram lançadas há aproximadamente 15 anos (MELETTI, 2011; FALEIRO et al., 2011a) e a primeira cultivar silvestre foi lançada em 2013, a BRS Pérola do Cerrado (EMBRAPA, 2017a) e segunda foi lançada em 2016, a BRS Sertão Forte (EMBRAPA, 2017b). Várias espécies apresentam potencial comercial, de modo que é necessário incrementar o número de cultivares no sistema de registro nacional de cultivares do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para serem efetivamente disponibilizadas para a sociedade.

A Lei de Proteção de Cultivares criou, no âmbito do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC). Dentre as diversas competências que lhe são atribuídas, destacam-se a análise de requerimentos e a outorga dos certificados de proteção aos obtentores. É função do SNPC manter a base de dados e conservar as amostras vivas para fins de fiscalização, além de monitorar as características originais de cultivares protegidas no território nacional (AVIANI, 2011).

Para o processo de proteção de cultivares, o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares estabeleceu e publicou um conjunto de instruções oficiais para realização de testes de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE) de cultivares de maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims) e silvestre (*Passiflora* spp.).

A utilização dos descritores morfológicos pode ser uma das maneiras mais rápidas e pouco dispendiosa para mensurar a diversidade genética de maracujazeiro. Caracteres qualitativos e quantitativos de fácil detecção, com alta herdabilidade e que sofram pouca variação ambiental, são utilizados a fim de diferenciar os acessos, seleções e cultivares. Neste trabalho, objetivou-se avaliar os descritores utilizados em ensaios de DHE recomendados pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares na caracterização de seleções de espécies de *Passiflora* spp. com potencial comercial.

8.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Unidade de Apoio da Fruticultura e no Laboratório de Análises de Alimentos da Embrapa Cerrados, em Planaltina-DF. Foram caracterizadas 12 seleções de *Passiflora* spp. obtidas pelo programa de melhoramento genético do maracujazeiro realizado na Embrapa Cerrados em parceria com diferentes instituições (Tabela 1). As plantas de cada seleção conservadas *in vivo* foram clonadas via estaquia para produção das mudas. As mudas de cada seleção foram cultivadas no campo no sistema de espaldeira vertical, seguindo as recomendações técnicas da cultura quanto à adubação, irrigação e controle fitossanitário.

Tabela 1. Descrição das 12 seleções de *Passiflora* spp. caracterizados no estudo, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2017.

Seleção	Espécie	Código PMGM
*1	<i>Passiflora setacea</i> DC., 1828 (BRS Pérola do Cerrado)	BRS PC
*2	<i>Passiflora auriculata</i> Kunth, 1817	SPA
*3	<i>Passiflora maliformis</i> Vell., 1831	SPM
*4	<i>Passiflora quadrangularis</i> Triana & Planch, 1873	SPQ
*5	<i>Passiflora nitida</i> Kunth, 1817 (Cerrado)	SPNC
*6	<i>Passiflora sidifolia</i> M. Roem., 1846	SPS
*7	<i>Passiflora biflora</i> Domb. ex Triana & Planch., 1873	SPB
*8	<i>Passiflora phoenicea</i> Lindl., 1833	SPP
*9	<i>Passiflora nitida</i> Kunth, 1817 (Amazônia)	SPNA
**10	<i>Passiflora edulis</i> Sims, 1818 (BRS Gigante Amarelo)	BRS GA1
**11	<i>Passiflora edulis</i> Sims, 1818 (Roxo Nativo)	SPERN
**12	<i>Passiflora edulis</i> Sims, 1818 (Amarelo Nativo)	SPEAN

*Utilizou-se para caracterização os descritores ilustrados no Manual prático contendo 35 descritores de ramos-folhas, flores e frutos utilizados em ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE) de cultivares de maracujazeiro-doce, ornamental, medicinal, incluindo espécies silvestres e híbridos interespecíficos (JESUS et al., 2016a). ** Utilizou-se para caracterização os descritores ilustrados no Manual prático contendo 28 descritores de ramos-folhas, flores e frutos utilizados em ensaios de DHE de cultivares de maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims) (JESUS et al., 2016b).

Para as seleções de *Passiflora* spp. utilizou-se como cultivar exemplo, a cultivar de maracujazeiro silvestre, BRS Pérola do Cerrado (BRS PC), enquanto, para as seleções de *P. edulis*, a cultivar exemplo foi a BRS Gigante Amarelo (BRS GA1).

As seleções de *Passiflora* spp. foram caracterizados utilizando os 35 descritores (Tabela 2) preconizados pelo SNPC com o auxílio do manual prático de aplicação de descritores de *Passiflora* spp. publicados por Jesus et al. (2016a). As seleções de *P. edulis* foram caracterizados utilizando os 28 descritores preconizados pelo SNPC com o auxílio do manual prático de aplicação de descritores de *Passiflora edulis* publicados por Jesus et al. (2016b). (Tabela 3). Para a aplicação dos descritores nos dois casos, foram coletados dados com base nas estruturas encontradas no terço médio de cada planta. A definição da classe fenotípica de cada descritor foi baseada na avaliação de pelo menos 12 folhas, flores ou frutos de pelo menos doze plantas de cada acesso, como estabelecido nas instruções normativas publicadas pelo SNPC.

As distâncias genéticas entre os nove acessos de *Passiflora* spp. foram estimadas com base em todos os 35 descritores morfoagronômicos e para os três acessos de *P. edulis* foram estimadas com base nos 28 descritores morfoagronômicos da espécie. As distâncias foram estimadas para cada grupo separadamente e foram baseadas no complemento do índice de coincidência simples com auxílio do programa computacional Genes (CRUZ, 2013).

Com base nas matrizes de distâncias genéticas foram realizadas análises de agrupamento dos acessos via dendrograma, utilizando como critério de agrupamento o método da ligação média entre grupos não ponderados, UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages*). Foi realizada também a dispersão gráfica baseada em escalas multidimensionais usando o método das coordenadas principais, com auxílio dos Programas SAS (SAS INSTITUTE INC., 2008) e Statistica (STATSOFT INC., 2005).

8.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As caracterizações de todas as seleções de *Passiflora* spp. com base em 35 descritores e das três seleções de *Passiflora edulis* Sims com base em 28 descritores são apresentadas nas Tabelas 2 e 3, respectivamente. Com a utilização dos 35 descritores de *Passiflora* spp. preconizados pelo SNPC, observa-se na matriz de dissimilaridade genética entre as seleções de *Passiflora* spp. que as distâncias genéticas variaram de 0,23 a 0,80 (Tabela 4). A menor distância (0,23) foi observada entre as seleções de *P.*

nitida do Cerrado e *P. nitida* da Amazônia. Essas duas seleções são da mesma espécie, porém obtidas de populações coletadas em regiões diferentes, que, morfológicamente, diferem muito no tamanho do fruto e da flor. A seleção do Cerrado apresenta maior tamanho de flor e fruto. As folhas da seleção de *P. nitida* do Cerrado também apresenta planta com folhas maiores.

Tabela 2. Descritores morfoagronômicos (35) preconizados pelo SNPCC, para realização de ensaios de DHE de espécies silvestres de *Passiflora* spp., com suas respectivas classes fenotípicas ou categorias, e caracterização da cultivar exemplo (BRS Pérola do Cerrado – BRS PC), SPA – Seleção *P. auriculata*, SPM – Seleção *P. maliformis*, SPQ – Seleção *P. quadrangularis*, SPNC – Seleção *P. nitida* (Cerrado), SPS – Seleção *P. sidifolia*, SPB – Seleção *P. biflora*, SPP – Seleção *P. phoenicea* e SPNA – Seleção *P. nitida* (Amazônia). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2017.

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição	BRS PC	SPA	SPM	SPQ	SPNC	SPS	SPB	SPP	SPNA
1. Ramo: coloração predominante PQ VG (a)	verde-clara	1	1	2	3	1	2	1	3	3	2
	verde-escura	2									
	verde-arroxead	3									
	roxa	4									
2. Limbo foliar: comprimento QN MI (b) (+)	muito curto	1	3	3	3	5	4	1	2	2	3
	curto	2									
	médio	3									
	longo	4									
	muito longo	5									
3. Limbo foliar: largura máxima QN MI (b) (+)	muito estreita	1	3	3	3	4	4	1	4	2	2
	estreita	2									
	média	3									
	larga	4									
	muito larga	5									
4. Limbo foliar: forma predominante PQ VG (b) (+)	lanceolada	1	6	3	4	5	5	7	7	3	5
	ovada	2									
	cordada	3									
	oblonga	4									
	elíptica	5									
	fendida	6									
	partida	7									
	seccionada	8									
5. Limbo foliar: divisão predominante PQ VG (b) (+)	inteira	1	3	1	1	1	1	1	2	1	1
	bilobada	2									
	trilobada	3									
	pentalobada	4									
	hexalobada	5									
	heptalobada	6									

6. Limbo foliar: sinus QL VG (b) (+)	ausente presente	1 2	2	1	1	1	1	2	1	1	1
7. <u>Somente cultivares com presença de sinus</u> : Limbo foliar: profundidade do sinus QN VG (b) (+)	Rasa média profunda	1 2 3	3					1			
8. Limbo foliar: pilosidade QL VG (b)	ausente presente	1 2	2	2	1	1	1	1	1	1	1
9. Limbo foliar: bulado QL VG (b)	ausente presente	1 2	1	1	1	2	2	1	1	2	2
10. Pecíolo: comprimento QN MI (b) (+)	curto médio longo	1 2 3	3	2	2	3	2	2	1	2	1
11. Pecíolo: posição predominante dos nectários QL VG (b) (+)	adjacente ao limbo foliar próximo ao meio do pecíolo adjacente ao ramo distribuídos ao longo do pecíolo	1 2 3 4	4	3	3	4	1	4	1	1	1
12. Flor: período predominante da antese PQ VG (c)	matutino vespertino noturno	1 2 3	3	2	1	1	1	1	1	1	1
13. Flor: comprimento da bráctea QN MI (c) (+)	curto médio longo	1 2 3	2	1	3	2	3	2	1	2	2
14. Flor: comprimento da sépala QN MI (c) (+)	curto médio longo	1 2 3	2	1	2	2	2	1	1	2	2
15. Flor: largura da sépala QN MI (c) (+)	estreita média larga	1 2 3	1	1	2	3	2	2	1	2	2
16. Flor: comprimento da pétala QN MI (c) (+)	curto médio longo	1 2 3	2	1	2	2	2	1	1	2	2

17. Flor: coloração predominante das sépalas e pétalas PQ VG (c) (#)	branca	1									
	rosada	2									
	rosa-	3									
	avermelhada	4									
	vermelho-	5	1	1	6	6	1	1	1	6	1
	claro	6									
	vermelha	7									
	vermelho-	8									
	arroxeada	9									
	roxa										
	azul-										
	arroxeada										
	azul										
18. Flor: diâmetro QN MI (c) (+)	Muito-	1									
	pequeno	2									
	pequeno	3	3	1	4	4	3	2	2	3	2
	médio	4									
	grande	5									
	muito grande										
19. Flor: diâmetro da corona (fímbrias) QN MI (c) (+)	Muito-	1									
	pequeno	2									
	pequeno	3	2	1	3	3	3	2	1	3	2
	médio	4									
	grande	5									
	muito grande										
20. Flor: coloração predominante da corona (fímbrias) PQ VG (c)	branca	1									
	rosada	2									
	vermelha	3									
	vermelho-	4									
	arroxeada	5	1	1	4	4	6	6	1	4	6
	roxa	6									
	azul-	7									
arroxeada											
	azul										
21. Flor: filamentos mais longos da corona (fímbrias) QL VG (c) (+)	lisos	1									
	ondulados	2									
			1	2	1	2	2	2	2	2	2
22. Flor: anel(éis) colorido(s) nos filamentos mais longos da corona QL VG (c) (#) (+)	ausente	1									
	um	2									
	mais de um	3									
			1	2	3	3	3	3	1	3	3
23. Flor: comprimento do androgínóforo QN MI (c) (+)	muito curto	1									
	curto	2									
	médio	3	3	2	3	3	3	3	2	2	3
	longo	4									
	muito longo	5									

24. Flor: antocianina no androgínóforo QL VG (c)	ausente ou fraca média forte	1 2 3	1	1	1	1	1	1	1	3	1	1
25. Flor: antocianina no filete QL VG (c)	ausente ou fraca média forte	1 2 3	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1
26. Flor: antocianina no estilete QL VG (c)	ausente ou fraca média forte	1 2 3	1	1	1	2	1	1	1	3	2	1
27. Flor: forma do hipanto PQ VG (c) (+)	aplanada campanulada cilíndrica	1 2 3	3	1	2	2	2	2	2	1	2	2
28. Fruto: comprimento QN MI (d) (+)	muito curto curto médio longo muito longo	1 2 3 4 5	3	1	3	5	3	2	2	2	3	3
29. Fruto: largura QN MI (d) (+)	muito estreita estreita média larga muito larga	1 2 3 4 5	2	1	3	5	3	2	2	2	2	3
30. Fruto: forma PQ VG (d) (+)	oval oblonga arredondada oblata elipsóide fusiforme oboval piriforme	1 2 3 4 5 6 7 8	1	3	1	2	1	3	4	4	6	1
31. Fruto: coloração predominante da casca (epiderme) PQ VG (d)	verde amarelo- esverdeada amarela laranja rosada vermelho- alaranjada vermelha roxa	1 2 3 4 5 6 7 8	2	8	1	2	4	2	1	4	4	3
32. Fruto: espessura da casca QN MI (d) (+)	muito fina fina média espessa muito espessa	1 2 3 4 5	2	1	2	5	4	2	1	3	3	3

33. Fruto: coloração da polpa PQ VG (d) (+)	esbranquiçada	1									
	amarelo-esverdeada	2									
	amarela	3									
	amarelo-alaranjada	4	2	1	3	1	1	2	1	4	1
	alaranjado-escuro	5									
	vermelha	6									
	roxa	7									
34. Fruto: teor de sólidos solúveis totais QN MG (d) (+)	muito baixo	1									
	baixo	2									
	médio	3	4	3	4	3	5	4	4	4	5
	alto	4									
	muito alto	5									
35. Fruto: tamanho da semente QN MI (d) (+)	pequeno	1									
	médio	2	2	1	2	3	2	1	1	2	2
	grande	3									

Tabela 3. Descritores morfoagronômicos (28) preconizados pelo SNPCC, para realização de ensaios de DHE de *Passiflora edulis* Sims, com suas respectivas classes fenotípicas ou categorias, e caracterização da cultivar exemplo (BRS GA1) e dos acessos SPERN – Seleção *P. edulis* ‘roxo nativo’ e SPEAN – *P. edulis* ‘amarelo nativo’. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2017.

Característica	Identificação da característica	Código de cada descrição	Cultivar exemplo	SPERN	SPEAN
1. Ramo: coloração predominante PQ VG (a)	verde-clara	1	3	3	3
	verde-escuro	2			
	verde-arroxeadado	3			
	roxo	4			
2. Limbo foliar: comprimento QN MI (b) (+)	muito curto	1	2	3	3
	curto	2			
	médio	3			
	longo	4			
	muito longo	5			
3. Limbo foliar: largura máxima QN MI (b) (+)	muito estreita	1	3	4	4
	estreita	2			
	média	3			
	larga	4			
	muito larga	5			
4. Limbo foliar: forma predominante dos sinus QN VG (b) (+)	rasa	1	2	2	2
	média	2			
	profunda	3			

5. Limbo foliar: bulado QL VG (b)	ausente presente	1 2	2	2	2
6. Pecíolo: comprimento QN MI (b) (+)	muito curto curto médio longo	1 2 3 4	3	2	2
7. Pecíolo: posição predominante dos nectários QL VG (b) (+)	adjacentes ao limbo foliar distantes do limbo foliar	1 2	1	1	1
8. Flor: comprimento da bráctea QN MI (c) (+)	curto médio longo	1 2 3	3	1	1
9. Flor: comprimento da sépala QN MI (c) (+)	curto médio longo	1 2 3	3	1	1
10. Flor: largura da sépala QN MI (c) (+)	estreita média larga	1 2 3	3	1	1
11. Flor: diâmetro QN MI (c) (+)	muito pequeno pequeno médio grande muito grande	1 2 3 4 5	4	1	2
12. Flor: diâmetro da corona (fímbrias) QN MI (c) (+)	muito pequeno pequeno médio grande muito grande	1 2 3 4 5	4	2	2
13. Flor: filamentos mais longos da corona (fímbrias) QL VG (c) (+)	lisos ondulados	1 2	2	2	2
14. Flor: anéis coloridos nos filamentos da corona QL VG (c)	ausente presente	1 2	2	2	2
15. <u>Somente cultivares com presença de anéis coloridos</u> : Flor: largura dos anéis coloridos nos filamentos da corona QN MI (c) (+)	estreita média larga	1 2 3	3	1	1
16. <u>Somente cultivares com presença de anéis coloridos</u> : Flor: intensidade da coloração predominante do(s) anel(éis) coloridos nos filamentos da corona QN VG (c) (#)	roxo claro roxo médio roxo escuro	1 2 3	3	3	2

17. Flor: comprimento do androginóforo QN MI (c) (+)	muito curto curto médio longo muito longo	1 2 3 4 5	3	2	3
18. Flor: antocianina no androginóforo QL VG (c) (+)	ausente ou fraca média forte	1 2 3	1	1	1
19. Flor: antocianina no filete QL VG (c)	ausente ou fraca média forte	1 2 3	2	2	1
20. Flor: antocianina no estilete QL VG (c)	ausente ou fraca média forte	1 2 3	1	1	1
21. Fruto: comprimento QN MI (d) (+)	muito curto curto médio longo muito longo	1 2 3 4 5	4	1	1
22. Fruto: largura QN MI (d) (+)	muito estreita estreita média larga muito larga	1 2 3 4 5	4	1	1
23. Fruto: relação comprimento/largura QN MI (d)	muito baixa baixa média alta muito alta	1 2 3 4 5	3	2	2
24. Fruto: forma predominante PQ VG (d) (+)	oval oblonga arredondada oblata elipsóide oboval	1 2 3 4 5 6	5	3	3
25. Fruto: coloração predominante da casca (epiderme) PQ VG (d)	amarela vermelho-alaranjada vermelha roxa	1 2 3 4	1	4	1
26. Fruto: espessura da casca QN MI (d) (+)	fina média espessa	1 2 3	1	1	1

27. Fruto: coloração da polpa PQ VG (d) (+)	esbranquiçada	1	3	4	4
	amarelo- esverdeada	2			
	amarela	3			
	alaranjado claro	4			
	alaranjado- escura	5			
28. Fruto: teor de sólidos solúveis totais QN MG (d) (+)	muito baixo	1	3	4	4
	baixo	2			
	médio	3			
	alto	4			
	muito alto	5			

*A caracterização da cultivar exemplo (BRS GA1) corresponde a posição da mesma em cada categoria em cada descritor utilizado.

A maior distância genética (0,80) foi observada entre a seleção de *P. biflora* e a cultivar exemplo (BRS PC) e a seleção de *P. quadrangularis*. *P. biflora* é uma espécie do gênero *Passiflora* e do subgênero *Decaloba*, esse último, tem como principais características apresentar plantas de porte pequeno, flores pequenas e folhas bilobadas (MILWARD-DE-AZEVEDO et al. 2010). Os frutos da espécie *P. biflora* também são pequenos e apresentam um número elevado de sementes, com baixo rendimento de polpa.

Tabela 4. Matriz de dissimilaridade genética entre nove acessos de *Passiflora* spp., calculadas com base no complemento do coeficiente de coincidência simples, utilizando 35 descritores morfoagronômicos preconizados pelo SNPC. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2017.

Acessos	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0,71	0,57	0,71	0,69	0,54	0,80	0,74	0,63
2		0,69	0,77	0,69	0,66	0,54	0,77	0,69
3			0,54	0,40	0,60	0,77	0,46	0,46
4				0,49	0,63	0,80	0,51	0,51
5					0,60	0,74	0,43	0,23
6						0,63	0,66	0,54
7							0,66	0,71
8								0,46

Legenda: 1 - BRS PC – BRS Pérola do Cerrado (cultivar exemplo), 2 – Seleção *P. auriculata*, 3 – Seleção *P. maliformis*, 4 – Seleção *P. quadrangularis*, 5 – Seleção *P. nitida* (Cerrado), 6 – Seleção *P. sidifolia*, 7 – Seleção *P. biflora*, 8- Seleção *P. phoenicea* e 9 - Seleção *P. nitida* (Amazônia).

A cultivar exemplo (BRS PC) possui folha trilobada, com frutos de tamanho médio e com espessura de casca fina. Apresenta flores de tamanho médio com coloração branca e de antese noturna. Enquanto, *P. quadrangularis* apresenta plantas

maiores, com folhas inteiras, de tamanho grande (> 16 cm), possui também flores de tamanho grande. Os frutos de *P. quadrangularis* podem pesar de 1 a 3 kg, possuem um bom rendimento de polpa, com a casca muito espessa ($> 1,5$ cm).

Muschner et al. (2012) estudando a filogenia, divergência do gênero *Passiflora* e a diversificação de seus quatro subgêneros, avaliaram um total de 106 espécies amplamente distribuídas, com amostras representativas dos quatro subgêneros. Assim como no presente estudo, também encontraram relativa distância entre o subgênero *Decaloba* e o subgênero *Passiflora*. Esses resultados reforçam a clara separação entre os subgêneros.

No resultado da análise de agrupamento ilustrado pelo dendrograma (Figura 1), quando se adota como ponto de corte a distância genética de 0,4 observa-se a separação de todos os acessos e da cultivar exemplo (BRS PC), com exceção dos acessos das seleções de *P. nitida* do Cerrado e da Amazônia.

Esse resultado reforça a coerência e adequação dos descritores do SNPC para a diferenciação de cultivares de *Passiflora* spp. Quando se adota uma menor distância genética como ponto de corte do dendrograma, por exemplo, 0,2; observa-se a separação de todos os acessos estudados, inclusive as seleções de *P. nitida*, que são os acessos mais próximos por serem da mesma espécie. Entre essas duas seleções de *P. nitida* (Cerrado e Amazônia) há diferenças mais marcantes quanto ao tamanho de fruto e flor.

No gráfico de dispersão (Figura 1), observa-se que todos os acessos caracterizados utilizando os descritores do SNPC ficaram distribuídos, distantes entre si, inclusive bem dispersos em relação à cultivar exemplo (BRS PC).

Os descritores morfoagronômicos preconizados pelo SNPC utilizados na caracterização dos acessos das seleções de *Passiflora* spp. foram capazes de diferenciar todas as seleções, bem como, separar de forma clara os subgêneros *Decaloba* e *Passiflora*. Esta alta dissimilaridade genética entre acessos desses dois subgêneros possibilita a utilização dos mesmos como grupos divergentes no estudo de espécies do gênero *Passiflora*.

Assim como no presente estudo, porém, com um menor número de descritores (11) e menor número de espécies (6), Viana et al. (2010) verificaram uma ampla variação morfológica inter e intraespecífica, obtendo uma clara separação das espécies estudadas.

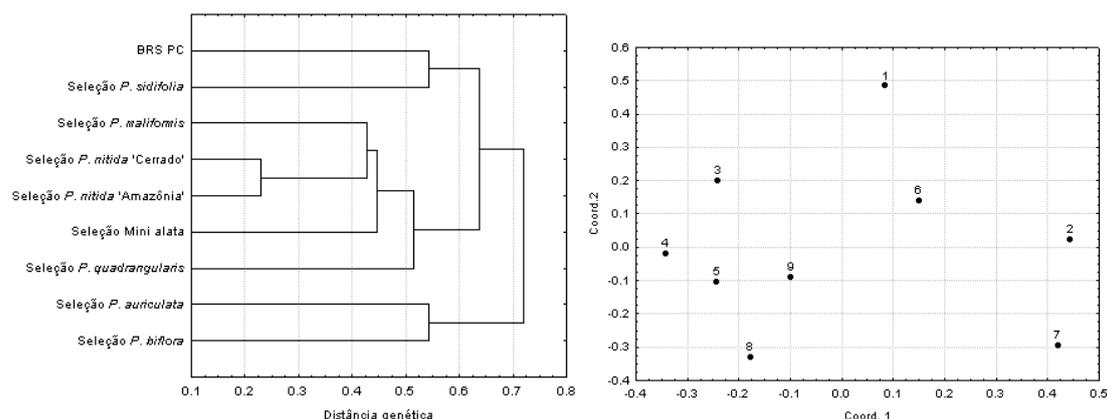


Figura 1. Análise de agrupamento e dispersão gráfica de nove acessos de *Passiflora* spp., com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 35 descritores morfoagronômicos. O método de UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,88. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2017. **Legenda:** 1 - BRS PC – BRS Pérola do Cerrado (cultivar exemplo), 2 – Seleção *P. auriculata*, 3 – Seleção *P. maliformis*, 4 – Seleção *P. quadrangularis*, 5 – Seleção *P. nitida* (Cerrado), 6 – Seleção *P. sidifolia*, 7 – Seleção *P. biflora*, 8- Seleção *P. phoenicea* e 9 - Seleção *P. nitida* (Amazônia).

Quanto à utilização dos descritores do SNPC para a caracterização das seleções de *P. edulis*, observou-se uma menor distância (0,14) entre as seleções de *P. edulis* (roxo nativo) e *P. edulis* (amarelo nativo) (Tabela 5). A cultivar exemplo (BRS GA1) apresentou a mesma distância genética (0,61) em relação às duas seleções de *P. edulis*. As seleções de *P. edulis* nativos apresentam um menor comprimento do pecíolo da folha, um menor tamanho de flor, com menor comprimento de bráctea e menor diâmetro da flor, assim como, anel colorido nos filamentos da corona mais estreitos, quando comparados à cultivar exemplo (BRS GA1).

Tabela 5. Matriz de dissimilaridade genética entre três acessos de *Passiflora edulis* Sims, calculadas com base no complemento do coeficiente de coincidência simples, utilizando 28 descritores morfoagronômicos preconizados pelo SNPC para *P. edulis* Sims. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2017.

Acessos	11	12
10	0,61	0,61
11		0,14

Quanto às características de fruto, os acessos das seleções de *P. edulis* nativos apresentam frutos de tamanho pequeno, com formato arredondado, de coloração da polpa alaranjado claro, com alto teor de sólidos solúveis (>13 a 17° Brix). A cultivar exemplo (BRS GA1) apresenta frutos grandes e de formato elipsoide, de coloração de polpa amarela, com teor de sólidos solúveis médio (10 a 13° Brix). Para a cultivar

exemplo (BRS GA1), os valores de sólidos solúveis encontrados foram bem próximos aos valores relatados por Flores et al. (2011), em estudo de caracterização físico-química de frutos de maracujazeiro *P. edulis*, que observaram que os sólidos solúveis variando de 13,1 a 15,5 °Brix.

Pela análise de agrupamento ilustrada pelo dendrograma de dissimilaridade (Figura 2), observa-se que quando se adota como ponto de corte do gráfico a distância genética de 0,1; tem-se a separação de todas as seleções estudadas. Ao adotar um valor mais flexível de distância, como por exemplo, 0,4; observa-se o agrupamento das seleções de *P. edulis* roxo nativo e amarelo nativo.

Uma característica importante e que serviu para diferenciar a seleção *P. edulis* (roxo nativo) das demais seleções de *P. edulis* Sims foi o menor comprimento do androginóforo. A redução dessa estrutura é uma característica de interesse e objetivada em programas de melhoramento genético do maracujazeiro-azedo (JUNQUEIRA et al., 2006). Um menor comprimento do androginóforo em seleções de maracujazeiro-azedo permite que as abelhas melíferas (*Apis mellifera* L.) façam a polinização das flores. Em pomares comerciais de maracujá onde são utilizadas cultivares com tamanho de androginóforo longo, estas abelhas são consideradas pragas para a cultura, porque coletam o pólen, mas não realizam efetivamente a polinização.

O resultado observado pela análise de agrupamento evidencia a eficiência dos descritores do SNPC para a diferenciação de todas as seleções. Esses descritores são utilizados nos processos de proteção de cultivares, mas podem e devem ser utilizados nas diferentes etapas dos programas de melhoramento, especialmente, quando o programa já apresenta seleções avançadas de melhoramento genético. Os descritores morfoagronômicos podem ser úteis para a diferenciação das seleções ao longo das etapas dos programas de melhoramento genético do maracujazeiro (JESUS et al., 2016a; 2016b) e outras culturas (VIEIRA et al., 2007).

Os descritores morfoagronômicos têm um papel fundamental na caracterização e seleção de plantas, sendo importantes na seleção dos genótipos ao longo dos ciclos de recombinação e também na seleção de genótipos para uso como novos genitores. A caracterização morfoagronômica para estudos de variabilidade genética tem sido feita principalmente com base em caracteres que sejam de fácil detecção e mensuração, e sofram pouca influência ambiental (VIEIRA et al., 2007), embora características agronômicas quantitativas também tenham utilidade nesses estudos, principalmente

quando são analisadas em delineamentos experimentais em diferentes ambientes (MACHADO et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2017).

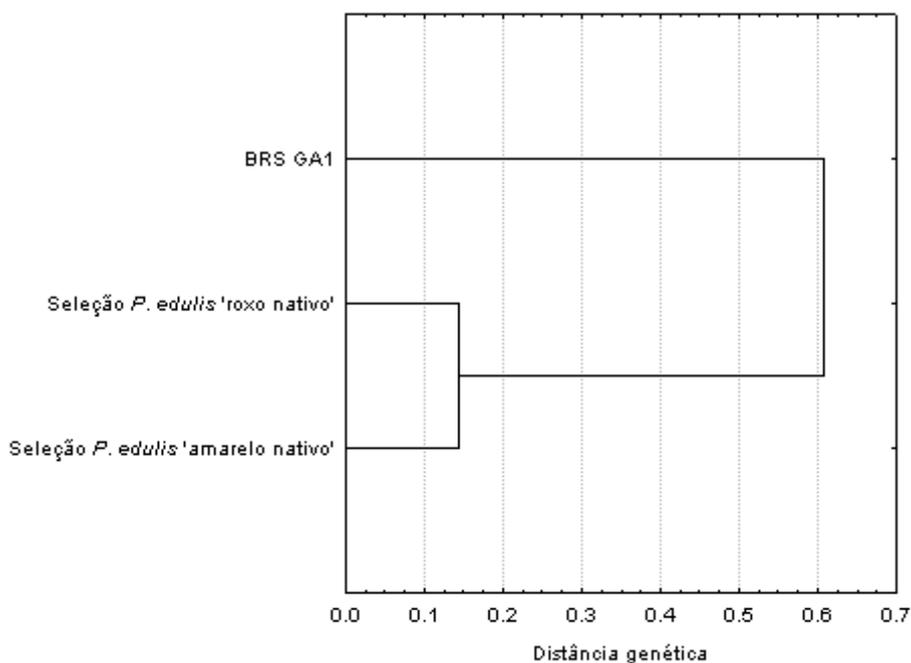


Figura 2. Análise de agrupamento de três seleções de *Passiflora edulis* Sims, com base na matriz de dissimilaridade genética calculada utilizando 28 descritores morfoagronômicos. O método do UPGMA foi usado como critério de agrupamento. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,88. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2017. **Legenda:** 1 - BRS GA1 – BRS Gigante Amarelo (cultivar exemplo), 2 – Seleção *P. edulis* (roxo nativo), 3 – Seleção *P. edulis* (amarelo nativo).

Os resultados observados utilizando os descritores do SNPC, tanto dos descritores para *Passiflora* spp. quanto para *P. edulis*, evidenciam a existência de grande diversidade dentro do gênero *Passiflora* (Figura 3 e 4), inclusive grande variabilidade dentro da mesma espécie, como é o caso das seleções de *P. nitida* e as seleções de *P. edulis* e da cultivar exemplo (BRS GA1) que também é *P. edulis*.

Assim como no presente estudo, Machado et al. (2015) utilizando descritores morfoagronômicos, concluíram que os mesmos, conseguiram evidenciar a existência de variabilidade genética entre acessos da coleção de maracujá da Embrapa Mandioca e Fruticultura em Cruz das Almas, sobretudo em relação aos componentes físicos, químicos, produção e em relação às doenças de raízes e da parte aérea.

Essa ampla variabilidade genética intra e interespecífica encontrada nas passifloras é fundamental para o sucesso de qualquer programa de melhoramento genético visando ao desenvolvimento de cultivares de diferentes espécies com potencial comercial (FALEIRO e JUNQUEIRA, 2009; FALEIRO et al., 2011a; 2011b).



Figura 3. Flores das cultivares exemplo e das seleções de *Passiflora* spp. A – BRS Pérola do Cerrado, B – *Passiflora auriculata*, C – *P. maliformis*, D – *P. quadrangularis*, E – *P. nitida* (Cerrado), F – *P. sidifolia*, G – *P. biflora*, H – *P. phoenicea*, I – *P. nitida* (Amazônia), J – BRS Gigante Amarelo (BRS GA1), K – *P. edulis* (roxo nativo) e L – *P. edulis* (amarelo nativo). Barra de ± 1 cm.



Figura 4. Frutos das cultivares exemplo e das seleções de *Passiflora* spp. A – BRS Pérola do Cerrado, B – *Passiflora auriculata*, C – *P. maliformis*, D – *P. quadrangularis*, E – *P. nitida* (Cerrado), F – *P. sidifolia*, G – *P. biflora*, H – *P. phoenicea*, I – *P. nitida* (Amazônia), J – BRS Gigante Amarelo (BRS GA1), K – *P. edulis* (roxo nativo) e L – *P. edulis* (amarelo nativo). Legenda: Barra de ± 1 cm.

8.4 CONCLUSÃO

Os descritores morfoagronômicos preconizados pelo SNPC são eficazes na diferenciação de seleções tanto de *Passiflora* spp. quanto de *P. edulis*. Os descritores utilizados foram capazes de diferenciar os subgêneros *Decaloba* e *Passiflora* e de seleções de diferentes espécies de maracujá com potencial comercial.

8.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AVIANI, D. M. **Proteção de cultivares no Brasil**. In: Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Proteção de Cultivares no Brasil / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. – Brasília: Mapa/ACS, 2011. p.27-33.

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

EMBRAPA. **Lançamento da cultivar de maracujazeiro silvestre BRS Pérola do Cerrado**. Disponível em: <<<http://www.cpac.embrapa.br/lancamentoperola/>>. Acesso em: 27 nov. 2017a.

EMBRAPA. **Lançamento da cultivar de maracujazeiro silvestre BRS Pérola do Cerrado**. Disponível em: <<http://www.cpac.embrapa.br/lancamentoperola/>>. Acesso em: 27 nov. 2017a.

EMBRAPA. **Lançamento Oficial da Cultivar de Maracujazeiro Silvestre BRS Sertão Forte**. Disponível em: <<http://www.cpac.embrapa.br/lancamentosertaoforte/>>. Acesso em: 20 jan. 2017b.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; JESUS, O. N.; COSTA, A. M. Avances y perspectivas del fitomejoramiento de las pasifloráceas en Brasil. Congreso Latinoamericano de Passifloras 2. **Anais...**Neiva: Corporación Cepass Colombia, 2013.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; COSTA, A. M. **Ações de Pesquisa e Desenvolvimento para o Uso Diversificado de Espécies Comerciais e Silvestres de Maracujá (*Passiflora* spp.)**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2015.

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Passion fruit (*Passiflora* spp.) improvement using wild species. In: MARIANTE, A. S.; SAMPAIO, M. J. A.; INGLIS, M. C. V. **The state of Brazil's plant genetic resources. Second National Report. Conservation and Sustainable Utilization for food and agriculture.** Brasília, DF: Embrapa Technological Information. 2009, p. 101-106.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Recursos genéticos: conservação, caracterização e uso. In: FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M.; REIS JÚNIOR, F. B. **Biotechnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2011b, p. 513-551.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. Pré-melhoramento do maracujá. In: LOPES, M. A.; FAVERO, A. P.; FERREIRA, M. A. J. F.; FALEIRO, F. G.; FOLLE, S. M.; GUIMARÃES, E. P. (Eds.) **Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso.** Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 2011a, 550-570p.

FLORES, P. S.; SILVA, D. F. P.; BRUCKNER, C. H.; OLIVEIRA, S. P.; SALOMÃO, L. C. C. Caracterização físico-química de frutos de maracujazeiro provenientes da irradiação com raios gama. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n.11, 2011.

JESUS, O. N.; MARTINS, C. A. D.; MACHADO, C. F.; OLIVEIRA, E. J.; SOARES, T. L.; FALEIRO, F. G. et al. **Aplicação de descritores morfoagronômicos utilizados em ensaios de DHE de cultivares de maracujazeiro-doce, ornamental, medicinal, incluindo espécies silvestres e híbridos interespecíficos (*Passiflora* spp.).** Manual prático. Ed. I, Brasília- DF: Embrapa, 45 p. 2016a.

JESUS, O. N.; MARTINS, C. A. D.; MACHADO, C. F.; OLIVEIRA, E. J.; SOARES, T. L.; FALEIRO, F. G. et al. **Aplicação de descritores morfoagronômicos utilizados em ensaios de DHE de cultivares de maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims).** Manual prático. Ed. I, Brasília- DF: Embrapa, 45 p. 2016b.

JUNQUEIRA, N. T. V.; FALEIRO, F. G.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. Uso de espécies silvestres de *Passiflora* no pré-melhoramento do maracujazeiro. In: LOPES, M.

A.; FÁVERO, A. P.; FERREIRA, M. A. J. F.; FALEIRO, F. G. (Eds.) Curso Internacional de pré-melhoramento de plantas. Brasília: Embrapa, 2006, p.133-137.

MACHADO, C. F.; JESUS, F. N.; LEDO, C. A. S. Divergência genética de acessos de maracujá utilizando descritores quantitativos e qualitativos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 37, n. 2, p. 442-449, 2015.

MELETTI, L.M.M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, Volume Especial, E. 083-091, 2011.

MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; SOUZA, F. C.; BAUMGRATZ, J. F. A.; GONÇALVES-ESTEVEES, V. Palinotaxonomia de *Passiflora* L. subg. *Decaloba* (DC.) Rchb. (Passifloraceae) no Brasil. **Acta botânica Brasílica**, v. 24, n. 1, p. 133-145, 2010.

MUSCHNER, V. C.; ZAMBERLAN, P. M.; BONATTO, S. L.; FREITAS, L. B. Phylogeny, biogeography and divergence times in *Passiflora* (Passifloraceae). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 35, n. 4, p. 1036–1043, 2012.

OLIVEIRA, J. S.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; VIANA, M. L. Diversidade genética e morfoagronômica de *Passiflora* spp. baseada em variáveis quantitativas das flores e frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39 n. 1, Jaboticabal, 2017.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistic: version 9.1.3**. Cary: SAS Institute, 2008. 846 p.

STATSOFT, Inc. **Statistica for Windows (data analysis software system), version 7.1**. Statsoft, Tulsa, Oklahoma (USA), 2005.

VIANA, A. J. C.; SOUZA, M. M.; ARAÚJO, I. S.; CORRÊA, R. X. Genetic diversity in *Passiflora* species determined by morphological and molecular characteristics. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 54, n. 3, p.535-538, 2010.

VIEIRA, E. A.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; MARTINS, L. F.; BENIN, G.; SILVA, J. A. G.; KOPP, M. M.; HARTWIG, I.; CARVALHO, M. F.; VALÉRIO, I. P. Associação da distância genética em trigo estimada a partir de caracteres morfológicos, caracteres fenológicos e dos componentes do rendimento de grãos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 2, p. 161-168, 2007.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A manutenção de acessos da biodiversidade em Bancos Ativos de Germoplasma é uma etapa indispensável para o bom funcionamento dos programas de melhoramento genético das espécies de forma geral, apesar de ser uma atividade onerosa e que requer manutenção constante. A etapa de caracterização dos BAGs pode ser uma etapa muito trabalhosa, mas fundamental para se conhecer os acessos conservados, e por meio desta caracterização, pode-se inserir efetivamente esses acessos nos programas de melhoramento genético para serem utilizados no desenvolvimento de novas cultivares.

A caracterização morfoagronômica baseada em descritores multicategóricos e quantitativos podem contribuir muito para a diferenciação fenotípica entre acessos de *Passiflora* spp., servindo como importante instrumento para quantificar a variabilidade existente nos bancos de germoplasma. Conseguindo demonstrar uma clara diferenciação entre as espécies, podendo ser muito importante para estudos mais completos de caracterização e diversidade de recursos genéticos do gênero *Passiflora*.

A caracterização das diferentes estruturas da planta (folha, flor e fruto) são importantes para estudos mais completos de caracterização e diversidade genética de recursos genéticos do gênero *Passiflora*. Além de possibilitar que os estudos de caracterização possam ser realizados de forma fragmentada, ou ainda, que seja feito de forma completa, mas que se acesse apenas as informações relativas a estrutura que se tem interesse, como por exemplo, pode-se requerer apenas as informações relativas aos descritores do fruto. A informação da caracterização pode ser utilizada de forma fragmentada, porém, para estudos mais completos de caracterização, as informações são complementares, devendo ser utilizadas em conjunto.

Os acessos de *Passiflora* spp. apresentam uma grande variação nas características de flores e frutos, o que reforça a grande diversidade existente nesse gênero. Essa variação cria mais possibilidade de utilização das passifloras nos programas de melhoramento, seja na utilização indireta, sendo usadas em cruzamentos com a espécie de maior destaque comercial, *P. edulis*, ou ainda como plantas ornamentais, medicinais ou para o consumo *in natura*, como pode ser o caso de espécies como *P. alata*, *P. maliformis*, *P. nitida*, *P. edulis* (nativo), *P. quadrangularis*, *P. tenuifila* entre outras.

Os marcadores moleculares podem contribuir muito nas caracterizações dos acessos mantidos em bancos de germoplasma. Principalmente se for utilizado técnicas mais acessíveis e mais rápidas, como é o caso dos marcadores ISSR e RAPD. Essas

técnicas demonstraram uma elevada variabilidade genética e uma grande diferenciação entre acessos de *Passiflora* spp. Demonstraram também que existe estruturação genética entre acessos de *Passiflora* spp., com tendência de agrupamento entre os acessos de *P. alata* e os materiais que são oriundos de cruzamentos envolvendo acessos desta espécie. Essa espécie possui características muito peculiares, e consegue imprimir essas nas progênes.

Existem muitos tipos de descritores que podem ser utilizados na obtenção de dados de caracterização das passifloras. Os descritores qualitativos multicategóricos, quantitativos e marcadores moleculares ISSR e RAPD demonstraram ser ferramentas de grande utilidade para a caracterização e estudos de diversidade genética de acessos de *Passiflora* spp. Porém, assim como as estruturas da planta (folha, flor e fruto) são complementares, os diferentes grupos de descritores, também demonstraram uma complementaridade no estudo da diversidade genética.

Assim como a grande diversidade acessada pelas diferentes categorias de descritores, as passifloras mostraram-se muito diferentes no armazenamento de sementes, nos processos de germinação de sementes e emergência de plântulas. Essa diversidade implica na necessidade de protocolos diferenciados para cada espécie, especialmente para germinação. Sendo que a necessidade de dias para germinação geralmente é diferente, além da necessidade do uso de regulador vegetal em algumas espécies para promover ou acelerar a germinação e emergência. Fazendo necessário muitos estudos para determinação de protocolos de germinação de sementes para o gênero *Passiflora*.

A etapa de caracterização dos acessos contidos em bancos de germoplasma de qualquer espécie é de fundamental importância, pois, a partir da caracterização pode-se fazer as devidas avaliações dos genótipos, e esses podem ser inseridos efetivamente nos programas de melhoramento genético. Outra atividade importante, e que possibilita e unifica o uso das informações dos bancos de germoplasma é a inserção dos dados dos mesmos em plataformas de consulta pública. Esse tipo de atividade deve ser incentivada e subsidiada pelas instituições detentoras de bancos ativos de germoplasma.

A utilização dos descritores desenvolvidos pelo SNPC (Mapa) é útil na caracterização e principalmente na diferenciação de cultivares de *Passiflora* spp. E a criação dos manuais ilustrados, facilitou muito a realização da caracterização exigida para o preenchimento do formulário exigido pelo SNPC (Mapa) nos processos de registro e proteção de cultivares.

APÊNDICE

CAPÍTULO VII

Tabela 1 (Complementar). Médias de *Passiflora suberosa* (CPAC MJ-35-02), *Passiflora caerulea* (CPAC MJ-14-01), *Passiflora hatschbachii* (CPAC MJ-50-01), *Passiflora maliformis* (CPAC MJ-58-01), *Passiflora sidifolia* (CPAC MJ-16-02), em cinco tempos de armazenamento das sementes e com uso e sem uso do regulador vegetal Promalin®.

TA	CPAC MJ-35-02		CPAC MJ-14-01		CPAC MJ-50-01		CPAC MJ-58-01		CPAC MJ-16-02		PCin	
	SP®	CP®	SP®	CP®	SP®	CP®	SP®	CP®	SP®	CP®	SP®	CP®
0	28,3Ba	36,7Aa	16,7Ba	50,0Aa	8,3Ba	58,3Aa	65,0Aa	68,3Aa	26,7Ba	35,0Aa	1,7Aa	8,3Aa
3	25,0Ba	36,7Aa	13,3Ba	46,7Aa	1,7Bb	40,0Aab	40,0Bb	58,3Ab	26,7Aa	26,7Ab	1,7Ba	16,7Aa
6	25,0Ba	33,3Aa	10,0Bab	23,3Ab	1,7Bb	38,3Ab	31,7Bb	55,0Abc	5,0Bb	10,0Ac	1,7Aa	8,3Aa
9	5,0Bb	21,7Ab	5,0Bbc	15,0Ac	1,7Bb	28,3Ab	16,7Bc	51,7Abc	5,0Ab	6,7Ac	3,3Aa	8,3Aa
12	1,7Bb	16,7Ab	1,7Ac	3,3Ad	0,0Bb	28,3Ab	5,0Bd	46,7Ac	1,7Bb	6,7Ac	3,3Aa	6,7Aa

TA = tempo de armazenamento (0, 3, 6, 9 e 12 meses de armazenamento das sementes); SP® = sem uso do regulador vegetal Promalin®; CP® com uso do regulador vegetal Promalin®.

Letras maiúsculas iguais não diferem entre si na Horizontal e letras minúsculas iguais não diferem entre si na Vertical pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.