

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS  
CURSO DE MESTRADO**

**CONSERVAÇÃO DOS RECURSOS GENÉTICOS DE *Passiflora* E SELEÇÃO  
DE DESCRITORES MÍNIMOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE  
MARACUJAZEIRO**

**JACQUELINE ARAÚJO CASTRO**

**CRUZ DAS ALMAS-BAHIA  
FEVEREIRO - 2012**

**CONSERVAÇÃO DOS RECURSOS GENÉTICOS DE *Passiflora* E SELEÇÃO  
DE DESCRITORES MÍNIMOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE  
MARACUJAZEIRO**

**JACQUELINE ARAÚJO CASTRO**

Bióloga

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), 2008

Dissertação submetida ao Colegiado de Curso do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais

**Orientador: Prof. Dr. EDER JORGE DE OLIVEIRA**

**Co-orientador: Prof. Dr. ONILDO NUNES DE JESUS**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA  
MESTRADO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS  
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA – 2012

**FICHA CATALOGRÁFICA**

C355 Castro, Jacqueline Araújo.  
Conservação dos recursos genéticos de Passiflora e seleção  
de descritores mínimos para caracterização de maracujazeiro /  
Jacqueline Araújo Castro. – Cruz das Almas, BA, 2012.  
73f.; il.

Orientador: Eder Jorge de Oliveira.  
Coorientador: Onildo Nunes de Jesus.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo  
da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1. Maracujá – Melhoramento genético.  
I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,  
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e  
Biológicas. II. Título.

CDD: 634.425

Ficha elaborada pela Biblioteca Central - UFRB.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS  
CURSO DE MESTRADO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE  
JACQUELINE ARAÚJO CASTRO**

---

Prof. Dr Eder Jorge de Oliveira  
Embrapa Mandioca e Fruticultura  
(Orientador)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Alves Silva  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

---

Dr. Abel Rebouças São José  
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB

Dissertação homologada pelo Colegiado do Curso de Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais em ..... Conferindo o grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais em .....

## **DEDICATÓRIA**

Dedico a minha mãe Marisa, pela formação moral, incentivo e amor.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiro a Jeová Deus, fonte de força, vida e sabedoria, por permitir que eu tenha forças para enfrentar as adversidades.

Aos meus pais, Jenas e Marisa, e a toda minha família, por entenderem a subtração do tempo de convivência social para destiná-lo ao trabalho de construção e desenvolvimento da presente pesquisa. Ao meu namorado James, pelo apoio, incentivo constante e carinho.

Aos meus irmãos, Jônatas e Jackson, pela parceria, auxílio, diversão e suporte oferecido. Aos meus avós, especialmente a vovó Júlia, pelos inúmeros gestos de carinho e incansáveis orações ao meu favor.

Ao orientador, pesquisador Dr. Eder Jorge de Oliveira, pelo acolhimento na Embrapa, pelo permanente acompanhamento das atividades, pela confiança em mim depositada, pelas valiosas correções e apoio de toda ordem.

Ao co-orientador, pesquisador Dr. Onildo Nunes de Jesus, pelas inúmeras correções feitas, paciência e grande ajuda, principalmente na fase de escrita e análise de dados.

A professora Conceição, que desde o ensino fundamental me incentiva na busca de conhecimento e avanço na vida acadêmica.

As amigas que foram construídas na Escola Agrotécnica Federal de Santa Inês e Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB).

A todos ex-companheiros de república, pela amizade e incentivo constante.

A todos os amigos da turma de Biologia/EAD/UESC do Pólo Amargosa, pela agradável convivência, apoio, incentivo e amizade sincera.

A minha amiga Rafaella, pelo companheirismo e por proporcionar uma convivência agradável na república.

A meu amigo Pedro, pela ajuda com os textos em inglês, pelas caronas e amizade sincera.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, pela oportunidade de realização do curso.

A todos os professores do curso de Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais, em especial ao professor Vanderlei Silva, não apenas pelo conhecimento, mas também pelo incentivo e serenidade transmitidos.

Ao pesquisador Dr. Antônio Sousa, pela orientação dada quando iniciei os trabalhos na Embrapa e pelo exemplo profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

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

A Fernanda, Epaminondas e Raimundo, pela ajuda no que foi necessário e pela disponibilidade de me ensinar e auxiliar.

A todos os amigos do laboratório de Biologia Molecular: Gilmara, Mayane, Juliana, Nágela, Paulinho, Botto, Franciele, Dayse e Rangeline.

Aos amigos José Luís e Antônio Marcos que contribuíram com o conhecimento de campo, me auxiliando sempre que necessitei.

A Cláudia por compartilhar as ansiedades da fase de escrita e interpretação de dados.

*"O correr da vida embrulha tudo,  
A vida é assim: Esquenta e esfria,  
Aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta.  
O que ela quer da gente é coragem".*

*Guimarães Rosa*



## SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO.....	1
Capítulo 1	
CONSERVAÇÃO DOS RECURSOS GENÉTICOS DE <i>Passiflora</i> : UMA AVALIAÇÃO MOLECULAR.....	22
Capítulo 2	
SELEÇÃO DE DESCRITORES MORFO-AGRONÔMICOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE MARACUJAZEIRO .....	50
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	71

# CONSERVAÇÃO DOS RECURSOS GENÉTICOS DE *Passiflora* E SELEÇÃO DE DESCRITORES MÍNIMOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE MARACUJAZEIRO

Autora: Jacqueline Araújo Castro

Orientador: Prof. Dr. Eder Jorge de Oliveira

Co-orientador: Prof. Dr. Onildo Nunes de Jesus

RESUMO: As ações antrópicas têm provocado severa erosão genética no gênero *Passiflora*. Diante disso, a Embrapa Mandioca e Fruticultura mantêm um Banco Ativo de Germoplasma de *Passiflora*, com aproximadamente 220 acessos conservados in vivo e sementes armazenadas em câmaras frias. Os objetivos deste trabalho foram monitorar possíveis perdas de alelos e variação na frequência destes no ciclo de regeneração do germoplasma, bem como estimar o tamanho efetivo populacional em função da estratégia de conservação adotada em quatro espécies de *Passiflora*. Em adição, objetivou-se selecionar e definir descritores mínimos para a caracterização de *P. edulis*. Foram empregados marcadores microssatélite no monitoramento de perdas alélicas em quatro acessos e na estimativa de tamanho efetivo populacional, ao passo que marcadores morfoagronômicos e análise multivariada foram empregadas na definição dos descritores mínimos. Foram identificadas alterações significativas no número e na frequência dos alelos com a seleção de plantas para representar os acessos, sendo mais frequente a perda e fixação de alelos para amostragens menores. Perdas de até 49% dos alelos foram observadas na espécie *P. cincinnata*, podendo assim comprometer futuros ganhos genéticos nos programas de melhoramento genético. O tamanho efetivo populacional, inversamente proporcional a endogamia observada, influencia a estratégia de conservação adotada para cada espécie. Quanto à seleção dos descritores mínimos, quatro descritores quantitativos e dois qualitativos foram descartados, sendo assim, a lista de descritores mínimos para a caracterização de *P. edulis* pode ser constituída por 16 descritores quantitativos e seis multicategóricos, sem que haja perda de informações.

Palavras chaves: Maracujá, germoplasma, microssatélites, caracterização.

## **CONSERVATION OF *Passiflora* GENETIC RESOURCES AND SELECTION OF MINIMUM DESCRIPTORS FOR CHARACTERIZATION OF PASSION FRUIT**

Author: Jacqueline Araújo Castro

Advisor: Prof. Dr. Jorge de Oliveira Eder

Co-advisor: Prof. Dr. Nunes Onildo de Jesus

**ABSTRACT:** The human activities have been caused severe genetic erosion in the genus *Passiflora*. Therefore, Embrapa Mandioca e Fruticultura has an Active Germplasm Bank of *Passiflora*, with about 220 accessions is maintained in vivo and seeds stored in cold chambers. The objectives of this study were to monitor possible allele losses and variation in their frequency in the germplasm regeneration cycle, so as to estimate the effective population size due to the conservation strategy adopted in four species of *Passiflora*. In addition, we aimed to select and define a set of minimum descriptors for the characterization of *P. edulis*. Microsatellite markers were used for monitoring the allelic losses on four accessions and in the estimate of effective population size, whereas morph-agronomic markers and multivariate analysis were used in the definition of minimum descriptors. We identified significant changes in the number and frequency of alleles with the selection of plants to represent the accessions being losses and fixation of alleles more frequent for smaller samples. Loses up to 49% of alleles were observed in *P. cincinnata* specie, which can compromise future genetic gains in breeding programs. The effective population size, inversely proportional to the observed inbreeding, influences the conservation strategy used for each species. Regarding the selection of minimum descriptors, four quantitative and two qualitative descriptors were discarded. Consequently, the list of minimum descriptors for *P. edulis* characterization may consist of 16 quantitative and six multicategoric descriptors, without information loss.

**Keywords:** Passion fruit, germplasm, microsatellite, characterization.

## INTRODUÇÃO GERAL

Os termos maracujá e maracujazeiro são utilizados para designar o fruto e a planta das espécies do gênero *Passiflora*, sendo assim uma forma generalizada de referir-se a uma das plantas mais atraentes, não só pela beleza de suas flores, mas também por diversas qualidades atribuídas aos frutos (PIRES, 2007).

A espécie *Passiflora edulis* Sims (maracujá amarelo ou roxo) é amplamente cultivada no Brasil e no mundo, e seus frutos são utilizados tanto para consumo *in natura* como para indústria de suco concentrado. Além deste principal uso, essa e outras espécies do gênero também têm sido utilizadas como planta ornamental, na fabricação de medicamentos e na indústria de cosméticos pela variabilidade de compostos encontrados.

O Brasil é apontado como centro de diversidade do gênero *Passiflora* (MANICA, 1981), possuindo ampla variabilidade genética intra e interespecífica. Esta variabilidade é de grande importância para os programas de melhoramento genético, já que se constitui um reservatório de genes de interesse agrônomo, como os relacionados à defesa da planta a patógenos ou condições adversas do ambiente (estresse hídrico, salino ou de frio). Além de serem fontes de genes de importância agrônoma, algumas espécies de *Passiflora* silvestres possuem ainda outras características interessantes, 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., 2005; JUNQUEIRA et al., 2005).

No entanto, as modificações causadas pelo ser humano nos locais onde são encontradas as Passifloráceas têm causado erosão genética deste gênero. Assim, grande parte do potencial encontrado dentro de *Passiflora* está sendo perdido (FERREIRA, 2005). Desta forma, é necessário o resgate, descrição e avaliação dessas espécies, visando à preservação e uso futuro em programas de melhoramento.

A conservação do germoplasma de maracujá é realizada, em sua maioria, por meio de coleções de plantas no campo (conservação *ex situ*). Também é feita a conservação intermediária em câmaras com cerca de 30% de umidade relativa e aproximadamente 10°C. Nessas condições, as sementes se conservam a curto

ou em médio prazo, uma vez que possuem características de sementes ortodoxas (BECWAR et al., 1983).

A Embrapa Mandioca e Fruticultura mantêm uma coleção representada por cerca de 220 acessos de maracujazeiro conservados *in vivo* (campo e telados) e, para garantir regeneração futura, sementes desses e de outros acessos são conservadas também em câmaras frias.

Para que os acessos conservados possam ser utilizados efetivamente em programas de melhoramento genético, faz-se necessário à caracterização destes. Esta atividade é primordial na geração de conhecimentos sobre o germoplasma conservado em bancos e ou coleções, por permitir um melhor manejo e fornecer subsídios ao melhoramento genético (OLIVEIRA, 2005).

Vários são os tipos de descritores que podem ser utilizados, dentre eles destacam os morfoagronômicos, citológicos, bioquímicos, fisiológicos ou moleculares. Independente do método utilizado, o importante é que possibilite distinção dos acessos, identificação de duplicatas e de acessos com características de interesse que possam ser usadas nos programas de melhoramento (COSTA et al., 2009).

Para o maracujazeiro, tradicionalmente são utilizados vários descritores morfoagronômicos (FREITAS et al., 2011; ARAÚJO et al., 2008; MELETTI et al., 2005; CROCHEMORE et al., 2003), dentre ele os recomendados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2008). Porém, dentre um grande número de descritores, alguns caracteres possuem pouca ou nenhuma contribuição para a real variabilidade dos acessos. Dessa forma, a seleção de descritores mínimos para a caracterização reduziria o trabalho com tomada de dados, sem ocasionar redução da precisão da caracterização (PEREIRA et al., 1992).

Por outro lado, mesmo caracterizada, a variabilidade genética pode estar ameaçada, caso não se adote práticas adequadas nos ciclos de conservação e regeneração dos acessos, uma vez que podem ocorrer alterações nas frequências alélicas, bem como a perda ou fixação destes, comprometendo a variabilidade futura dos acessos conservados. Desta forma, ao longo do processo de conservação do germoplasma, marcadores moleculares podem ser utilizados para monitorar a variabilidade genética dos acessos.

Dentre diversos tipos de marcadores moleculares, os microssatélites apresentam a vantagem de serem codominantes, multialélicos e de alta repetibilidade. Estas características tornam esse tipo de marcador ideal para monitorar e identificar alterações e perdas alélicas (OLIVEIRA et al., 2005). Pinto et al. (2003) e Reis et al. (2011) utilizaram esse marcador e identificaram perdas alélicas em genótipos sob seleção recorrente.

Os objetivos deste trabalho foram monitorar possíveis perdas de alelos e variação na frequência destes, bem como estimar o tamanho efetivo populacional em função da estratégia de conservação do germoplasma. Em adição, selecionar e definir descritores mínimos para a caracterização de *P. edulis*.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### Família Passifloraceae

Souza e Lorenzi (2008) descrevem a família Passifloraceae como sendo composta por plantas trepadeiras herbáceas ou lenhosas, com gavinhas originadas de modificações das inflorescências, menos frequentemente arbustos ou árvores; 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. Inflorescência cimosa ou racemosa, em geral reduzida a uma única flor; flores vistosas, geralmente bissexuadas, actinomorfas, com androginóforo bastante desenvolvido, diclamídeas ou raramente monoclamídeas, períginas; cálice (3-)5(-8)-mero, geralmente dialissépalo, prefloração imbricada, frequentemente petalóide; corola (3-)5(-8)-mera, geralmente dialipétala, prefloração imbricada; corona disposta no ápice do hipanto, formada por um ou mais ciclos de apêndices; estames (4-)5(-10), geralmente livres entre si, anteras rimosas; disco nectarífero as vezes presente ao redor do ovário ou do androginóforo; ovário súpero, (2-)3(-5)-carpelar, unilocular, placentação parietal, plurióvulado, estiletos em geral livres entre si. Possuindo fruto baga ou cápsula.

Esta família inclui cerca de 20 gêneros e 600 espécies. No Brasil, ocorrem cinco gêneros e cerca de 120 espécies, incluindo os maracujás (*Passiflora* ssp.). *Passiflora* é o gênero mais comum da família da flora brasileira, podendo ser

encontrado principalmente em bordas de floresta por todo o país (SOUZA e LORENZI, 2008). Segundo Jung (2003), a palavra *Passiflora* é uma expressão latina composta de *passio*, a paixão, e de *flos oris*, a flor.

Na Bahia, este gênero é representado por 31 espécies, com distribuição ampla, ocorrendo em praticamente todos os biomas do estado (NUNES e QUEIROZ, 2006). No mercado, este gênero possui grande potencial, podendo ser destinado para consumo *in natura*, suco concentrado, plantas ornamentais e plantas medicinais, mas a maioria das espécies é utilizada pelas suas propriedades alimentícias (VASCONCELLOS et al., 1994).

Algumas espécies são cultivadas em escala comercial, como ocorre com *Passiflora edulis* Sims e *Passiflora alata* Curtis. Por outro lado, espécies silvestres, como *Passiflora cincinnata* Mast. e *Passiflora setacea* D.C., destacam-se principalmente pela possibilidade de sua utilização como porta enxerto, bem como no desenvolvimento de híbridos interespecíficos com potencial agrônômico e ornamental, consumo *in natura* e uso medicinal. Considerando este grande potencial, Faleiro (2006), menciona a existência de grandes demandas para as pesquisas nas áreas de recursos genéticos do gênero *Passiflora*.

Do ponto de vista sócio-econômico, o maracujá apresenta características interessantes no que concerne à geração de emprego, por permitir a ocupação de mão-de-obra em número considerável e estabilização do fluxo de renda, uma vez que é colhido por diversas vezes e de forma continuada por safra (Leite et al., 1994). Sendo assim, a cultura apresenta forte apelo social.

### ***Passiflora edulis* Sims e *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg:**

No Brasil, os cultivos comerciais de maracujazeiro compreendem basicamente o maracujazeiro-amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa* Degener.) (CROCHEMORE et al., 2003). Conhecido pelos nomes populares: Maracujá, maracujá-de-comer, maracujá-peroba, maracujá-preto; maracujá-mirim, maracujá-redondo e maracujazinho (CERVI, 1997).

*P. edulis* f. *flavicarpa* caracteriza-se como trepadeira sub-lenhosa, glabra, com folhas trilobadas. As flores são axilares e solitárias, hermafroditas, brancas com franja roxa. Filamentos da corona são púrpuras na base e brancos no ápice, que se abrem a partir do meio dia e fecham à noite. A baga é globosa, com numerosas sementes ovais, reticuladas e pretas (LIMA e CUNHA, 2004).

Segundo Cervi (1997), por se constituir em uma espécie muito cultivada, observa-se um grande polimorfismo foliar, podendo ser encontradas espécies com folhas simples e inteiras, simples bilobadas e trilobadas. Em relação aos bordos das brácteas, observamos, em uma mesma planta, brácteas profundamente serradas em seus bordos até superficialmente serradas. Os frutos desta espécie são globosos ou ovóides com grandes variações no comprimento e largura. A cor da casca é muito variável, do amarelo, amarelo-esverdeado até a púrpura escura. A polpa apresenta coloração amarelo escuro. As sementes são ovais com 0,5 a 0,6 cm de comprimento, muito duras. A cor da flor é lilás com tonalidades roxo-escura.

No latim, *edulis* significa comestível (CERVI, 1997). Seus frutos são utilizados no preparo de sucos, doces, bolos, geléias e compotas. A farinha da casca de maracujá azedo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) é rica em pectina, uma fração de fibra solúvel que tem a capacidade de reter água formando géis viscosos que retardam o esvaziamento gástrico e o transito intestinal (GALISTEO et al., 2008). Além disso, alguns subprodutos da industrialização do maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis* Sims), como as sementes, apresentam potencial para utilização na alimentação humana e animal, isso porque apresentam elevados percentuais de óleos, proteínas e fibras (FERRARI et al., 2004).



Figura 1. *P.edulis*, flor (A) e fruto amarelo (B) e roxo (C).

#### ***Passiflora cincinnata* Mast:**

Conhecida popularmente como maracujá-mochila, maracujá-do-mato ou maracujá-tubarão, é uma espécie polimorfa, de frutos de tamanho variável e distribuição ampla no Brasil (OLIVEIRA e RUGGIERO, 2005). Essa espécie é uma trepadeira, em geral, inteiramente glabra, raramente aveludada-pilosa, caule cilíndrico e ligeiramente subangular. As folhas são simples, 3 a 5 palmatipartidas, verde-escura na face adaxial, pálidas na fase abaxial; com 8 cm de comprimento



e 8 a 10 cm de largura, pecíolos com 1,5 a 5,0 cm de comprimento, 2 a 3 glândulas, glândulas sésseis com cerca de 0,2 cm de diâmetro. Flores cor de rosa pálido à violeta e violeta azul, de 7,0 a 12 cm de diâmetro, pedúnculos de 2,0 a 8,5 cm de comprimento, com sépalas oblongo-lanceoladas, com 5,0 centímetros de comprimento. Os filamentos da coroa possuem de 2,0 a 4,0 cm de comprimento; na parte mais baixa, apresentam coloração púrpura carregada, banda média azul-rosado e azul-pálido. Os frutos são ovóides e oblongos, 5,0 cm de comprimento e 3,0 de largura. As sementes são ovais, com 0,5 a 6,0 cm de comprimento e 0,4 de largura (OLIVEIRA e RUGGIERO, 2005).

É descrita como uma espécie de ampla distribuição na América do Sul, sendo registrada do leste do Brasil até o oeste da Bolívia, ocorrendo em campo ruprestre, caatinga, floresta estacional e cerrado, além de ser freqüente em ambientes perturbados (KILLIP, 1938; NUNES e QUEIROZ, 2006).

Segundo Zucarelli (2007), *P. cincinnata* tem sido utilizada por populações tradicionais para fins nutricional, ornamental e medicinal. O produto processado, na forma de geléia já começa a ser exportado para a Alemanha e Itália, sendo também consumido na merenda escolar dos municípios de Uauá, Curaçá e Canudos, na Bahia (ARAÚJO et al., 2006; ARAÚJO, 2007).

*P. cincinnata* apresenta resistência a patógenos sistêmicos que afetam outras espécies de *Passiflora* (OLIVEIRA e RUGGIERO, 2005). Para Araújo et al. (2008), apesar de apresentar potencial agrônômico e ser de ocorrência espontânea na região semi-árida do Nordeste Brasileiro, a espécie não tem recebido atenção da pesquisa.



**Figura 2.** *P.cincinnata*, flor (A), frutos (B) e aspecto interno dos frutos (C).

***Passiflora alata* Curtis:**

É uma espécie de ocorrência bastante generalizada no Brasil, conhecida vulgarmente como maracujá-grande, maracujá-de-refresco, maracujá-alado e maracujá-de-comer (INGLEZ DE SOUZA e MELETTI, 1997).

As plantas de *Passiflora alata* se comportam como trepadeiras vigorosas, com caule quadrangulado e fortemente alado, possuindo folhas inteiras de 8 a 15 cm de comprimento com 2 a 4 glândulas no pecíolo (MEDINA, 1980). A base do caule é lenhoso e bastante lignificado, diminuindo o teor de lignina à medida que se aproxima do ápice da planta. As folhas são simples, ovaladas ou elípticas e de sua base emergem brácteas foliáceas e gavinhas, que vão se enrolando em um suporte para proporcionar à planta uma melhor sustentação e, normalmente, sofrem lignificação à medida que se desenvolvem (JUNG, 2003).

As flores, formadas nas axilas das folhas (1 a 3 gemas), são grandes, pesadas, com colorido atraente, vistosas, aromáticas e com abundância de néctar, o que proporciona forte atração aos insetos polinizadores (JUNG, 2003). Apresentam, segundo ROSSINI (1977), uma distância de 1 a 2 cm entre a antera e a corola.

O cultivo comercial desta espécie tem se expandido em função dos elevados preços do produto no mercado de frutas frescas (VASCONCELLOS E CEREDA, 1994). Na agroindústria, *P. alata* não é utilizada como matéria-prima fornecedora de frutos, devido à sua polpa excessivamente adocicada, que produz um suco de sabor enjoativo (OLIVEIRA et al., 1982).



**Figura 3.** *P. alata*, flor (A), frutos (B) e aspecto interno dos frutos (C).

***Passiflora setacea* D.C:**

A espécie foi descrita em 1828 por D.C. O epíteto específico *setacea* vem do latim porque as plantas desta espécie apresentam estípulas em forma de seta (CERVI, 1997). No Brasil, é conhecido popularmente como maracujá-do-sono,

maracujá-do-cerrado, maracujá-de-boi, maracujá-nativo, maracujá-da-caatinga, maracujá-de-cobra e maracujá-sururuca (CERVI, 1997; BRAGA et al., 2006).

A planta de caule roliço, suavemente revestido de tomento pardacento. Folhas trilobadas com 5,0 a 8,0 cm longitudinalmente por 6 a 8 cm transversalmente; pecíolo com 3 cm de comprimento, portanto, na base uma par de glândulas sésseis. As flores são brancas e solitárias, a antese ocorre depois das 18 horas. Frutos grandes podem ser obtidos por meio de polinização artificial. Os frutos são ovóides e globosos, com peso de 50 a 60 g e com 5,3 cm de comprimento por 3,8 cm de diâmetro, casca verde amarelada e rajadas, quando próximos a maturação, apresentando cinco listas longitudinais da base ao ápice do fruto, casca coriácea, suco doce-acidulado, saboroso, 16 °Brix, 127/233 sementes por fruto; quando maduros, os frutos caem da planta, semelhante ao maracujá-amarelo. As sementes são obovadas, levemente reticuladas (OLIVEIRA e RUGGIERO, 2005).

Segundo Oliveira (1987), esta espécie tem se mostrado resistente a morte precoce de plantas de outras passifloráceas. Adicionalmente, conforme Oliveira e Ruggiero (2005), *P. setacea* apresenta, de modo generalizado, tolerância a bacteriose, a antracnose e a verrugose, doenças do maracujá-amarelo.



**Figura 4.** *P. setacea*, flor (A) e frutos (B).

### **Recursos genéticos de maracujazeiro**

Segundo a Convenção sobre a Diversidade Biológica (CDB) realizada em 1992, recursos genéticos significa “material genético de valor real ou potencial”. Para Valois (1999) é a variabilidade de espécies de plantas, animais e

microorganismos integrantes da biodiversidade, de interesse sócio-econômico atual e potencial para utilização em programas de melhoramento genético, biotecnologia e outras ciências afins.

Os recursos genéticos vegetais constituem-se reservatório natural de genes com potencial de uso para a produção de gêneros essenciais à humanidade, tais como alimentos, fibras e medicamentos.

Espécies nativas e silvestres de maracujá possuem potenciais não apenas para o consumo *in natura*, mas também para a produção de fármacos, planta ornamental e alimento funcional. Espécies silvestres são fontes de genes para o melhoramento do maracujá amarelo, servem como porta enxerto e na obtenção de híbridos de maracujazeiro ornamental (FALEIRO et al., 2006; FALEIRO et al., 2008). Apesar desta importância, a biodiversidade está sendo destruída em velocidade alarmante, principalmente devido ao crescimento desorganizado e à exploração sem controle dos ecossistemas e de seus recursos naturais.

Diante desta destruição, surge a necessidade de conservação dos recursos genéticos, que pode ser feita de duas formas: *in situ* e *ex situ*. A primeira caracteriza-se como ação de conservar as plantas e animais em suas comunidades naturais, não interrompendo o processo evolutivo natural. Enquanto a segunda significa conservação de componentes da diversidade biológica fora de seus habitats naturais. Ambas apresentam o objetivo comum de conservar e promover a utilização sustentável da diversidade biológica para benefício das gerações presentes e futuras.

Tratando-se da conservação do germoplasma de *Passiflora*, o Brasil é apontado como principal centro de diversidade deste gênero, possuindo, portanto, responsabilidade aumentada na proteção destes recursos. A conservação do germoplasma de *Passiflora* no Brasil é realizada, em sua maioria, por meio de coleções de plantas no campo (conservação *ex situ*). Também é feita a conservação intermediária em câmaras com cerca de 30% de umidade relativa e aproximadamente 10°C. Nessas condições, as sementes se conservam a curto ou em médio prazo, pois são classificadas como ortodoxas (FERREIRAS, 1999).

Neste aspecto, a Embrapa Mandioca e Fruticultura possui um Banco Ativo de Germoplasma de *Passiflora* spp, localizado em Cruz das Almas-BA, que está situada a 12°04'19" de latitude Sul e 39°06'22" de longitude W.Gr. A altitude é de 220 m, precipitação pluviométrica anual média de 1.224mm, temperatura média

anual de 23,8°C e umidade relativa do ar de 80,0%, tendo os meses de abril a julho como o período mais chuvoso e agosto a março como o período mais seco. A área de implantação do BAG está localizada em latossolo amarelo distrófico A moderado, textura franco argilo-arenosa, declive de 0 a 3% (CUNHA e CARDOSO, 1998).

O Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de maracujá é uma coleção em plena atividade, que objetiva não apenas a conservação da variabilidade genética existente, mas também a caracterização morfo-agronômica e molecular dos acessos, a busca de genótipos que são fontes de resistência a fatores bióticos e abióticos, bem como a adequada utilização deste germoplasma no programa de melhoramento do maracujazeiro.

Cada acesso do BAG-Maracujá é representado nas condições de campo por 10 plantas. Para obtenção das sementes que comporão o próximo ciclo de regeneração dos acessos adotam-se as seguintes estratégias: (1) Primeiramente, protege-se com malha de tecido fino vários botões florais antes da antese, em todas as plantas do acesso, (2) no momento da antese, procede-se a coleta das anteras de todas as flores protegidas (emasculação) de forma a obter uma mistura dos polens, e (3) essa mistura é utilizada para polinizar as flores emasculadas. Essas flores, por sua vez, serão novamente protegidas até formação do fruto, que estará devidamente identificado (Figura 1A).

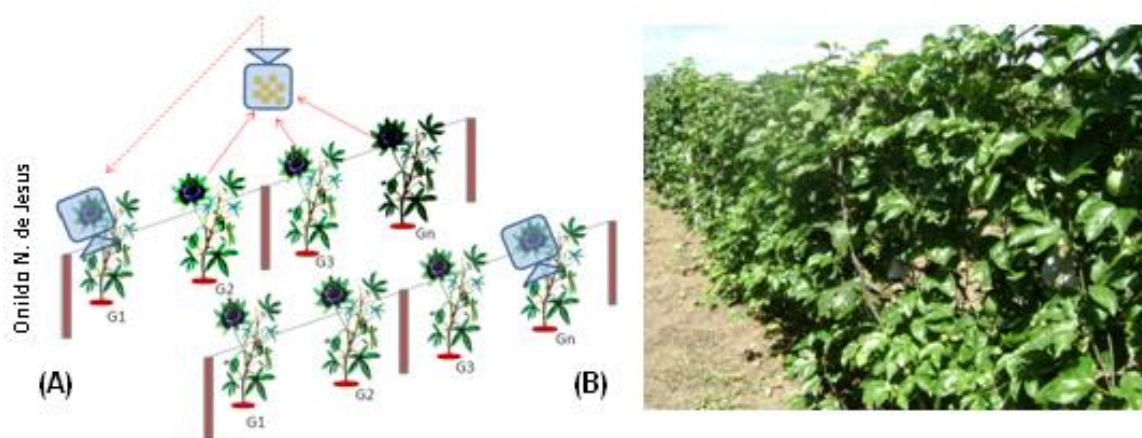


Figura 1. (A) Estratégia utilizada na conservação dos acessos no banco de germoplasma de maracujá (BAG-Maracujá). (B) Foto do BAG maracujá.

## Marcadores microssatélite (SSR)

Marcadores microssatélites são sequências simples repetidas em tandem, com um a seis nucleotídeos, conhecido como SSRs (*Simple Sequence Repeats*), estão presentes no genoma de eucariotos e procariotos (FIELD e WILLS, 1996) e por isto representam uma classe de marcadores moleculares mais polimórficos, além de características desejáveis como natureza codominante, multialélica e alto conteúdo informativo dos locos analisados.

O alto nível de diversidade alélica presente nestes marcadores permite a identificação de polimorfismos em populações multiparentais e populações derivadas de híbridos de genótipos relacionados, além de distinguir acessos de bancos de germoplasma diretamente relacionados (FERREIRA e GRATAPAGLIA, 1998). Além disso, são importantes na verificação das mudanças nos parâmetros genéticos das populações ao longo dos ciclos de seleção, já que identificam alterações e perdas alélicas em cada loco individualmente (OLIVEIRA et al., 2005).

Dentro do gênero *Passiflora*, Oliveira et al. (2005) desenvolveram e caracterizaram marcadores microssatélites para a espécie *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* através de uma biblioteca genômica enriquecida. Penha (2008), por sua vez, desenvolveu e caracterizou 111 pares de *primers* microssatélites para a espécie *Passiflora alata*. O desenvolvimento destes marcadores permitiu a análise da estrutura genética não apenas destas duas espécies, mas também de espécies silvestres do gênero *Passiflora*, por meio da transferibilidade de *primers*.

Esse tipo de marcador também tem sido utilizado em outras espécies, para caracterização da variabilidade genética, análise de estrutura populacional e seleção assistida por marcadores moleculares (AMORIM et al., 2008; KAGEGYAMA et al., 2003; AZALTE-MARIN et al., 2005). Desta forma, os marcadores de microssatélites são também ideais para monitorar a ocorrência de perdas alélicas ao longo da conservação do germoplasma de maracujazeiro.

Marcadores SSR também tem sido empregado com sucesso na caracterização da estrutura populacional em espécies alógamas, como milho (GUIMARÃES et al., 2007), açaizeiro (OLIVEIRA E SILVA, 2008) e araucária (PATREZE, 2008).

## Caracterização do germoplasma de maracujazeiro

A caracterização constitui-se importante atividade no manejo de coleções de germoplasma, pois consiste em descrever, identificar e diferenciar acessos dentro de espécies, classes ou categorias (QUEROL, 1988; VICENTE et al., 2005).

No gerenciamento de um banco de germoplasma, a caracterização permite identificar duplicatas, levantar acessos que possuem caracteres de interesse a fim de utilizá-los no programa de melhoramento, quantificar a diversidade existente e direcionar os cruzamentos, além de gerar informações sobre a descrição e classificação do material conservado.

A caracterização morfoagronômica tem sido feita com base em caracteres que sejam de fácil detecção e mensuração, e sofram pouca influência ambiental. No caso do maracujazeiro, uma lista de descritores morfológicos e agronômicos, proposta pelo Ministério da Agricultura, tem sido utilizada para a caracterização de acessos de germoplasma da espécie *P. edulis* e também de espécies silvestres (BRASIL, 2008). Além destes, alguns descritores foram adicionados na caracterização de acessos do BAG-Maracujá da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Segundo Daher et al. (1997), com o aumento do número de descritores, existe uma tendência de que alguns caracteres sejam redundantes, pois estarão quase sempre associados a outros caracteres. Diante disso, estudos visando a definição de descritores úteis para a caracterização tem sido feito em várias espécies como mamão (OLIVEIRA et al., 2011), cupuaçu (ARAÚJO et al., 2002; ALVES et al., 2003), quiabo (ARIYO, 1993; BISH et al., 1997), cacau (BEKELE et al., 1994) e mandioca (CURY, 1993). Dentre as ferramentas estatísticas utilizadas para seleção de descritores destacam-se técnicas de análises multivariadas, como componentes principais (CRUZ e REGAZZI, 1994), regressão (BEALE et al., 1967) e análise discriminante (MARDIA et al., 1979). Assim, a definição de descritores mínimos para *P. edulis*, espécie de maior relevância econômica no gênero *Passiflora*, possibilitará redução no tempo e recursos gastos na caracterização da coleção de germoplasma de maracujá da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, R.M.; GARCIA, A.A.F.; CRUZ, E.D.; FIGUEIRA, A. Seleção de descritores botânico-agronômicos para caracterização de germoplasma de cupuaçuzeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.807-818, 2003.

AMORIM, E.P; REIS, R.V, SANTOIA-SEREJO, J.Á; AMORIM, V.B.O; SILVA, S.O. Variabilidade genética estimada entre diploides de banana por meio de marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1045-1052, 2008.

ARAÚJO, D.G. de; CARVALHO, S.P.; ALVES, R.M. Divergência genética entre clones de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Willd ex Spreng Schum). **Ciência e Agrotecnologia**, v.26, p.13-21, 2002.

ARAÚJO, F.P.; KIILL, L.H.P. & SIQUEIRA, K.M.M. **Maracujá do mato: alternativa agroindustrial para o Semi-Árido**. Embrapa CPATSA, Petrolina, PE. Folder. 2006.

ARAÚJO, F.P. **Caracterização da variabilidade morfoagronômica de maracujazeiro (*Passiflora cincinnata* Mast.) no Semi-Árido brasileiro**. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho. Botucatu, SP, Brasil, 94p, 2007.

ARAÚJO, F.P DE.; SILVA, N. DA.; QUEIROZ, M. DE. Divergência genética entre acessos de *Passiflora cincinnata* Mast com base em descritores morfoagronômicos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.3, p.723 - 730, 2008.

ARIYO, O.J. Genetic diversity in West African okra (*Abelmoschus caillei*) (A. chev.) Stels - Multivariate analysis of morphological and agronomic characteristics. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 40, p. 25-32, 1993.



AZALTE-MARIN, A.L.; CERVIGNI, G.D.L.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, p.333-342, 2005.

BEALE, E.M.; KENDALL, M.G.; MANN, D.W. The discarding of variables in multivariate analysis. **Biometrika**, v.54, p.357-366, 1967.

BECWAR, M.R.; STANWOOD, P.C.; LEONHARDT, K.W. Dehydration effects on freezing characteristics and survival in liquid nitrogen of desiccation-tolerant and desiccation sensitive seeds. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.108, p.613-8, 1983.

BEKELE, F.L.; KENNEDY, A.J.; McDAVID, C.; LAUCKNER, F.B.; BEKELE, I. Numerical taxonomic studies on cacao (*Theobroma cacao* L.) in Trinidad. **Euphytica**, v.75, p. 231-240, 1994.

BISHT, I.S.; PATEL, D.P.; NAHAJAN, R.K. Classification of genetic diversity in *Abelmoschus tuberculatus* germplasm collection using morphometric data. **Annual Applied Biology**, v.130, p. 325-335, 1997.

BRAGA, M.F.; JUNQUEIRA, N.T.V.; FALEIRO, F.G.; AGOSTINI-COSTA, T.S.; BERNACCI, L.C. Maracujá-do-Cerrado. In: VIEIRA, R.F.; AGOSTINI COSTA, T.S.; SILVA, D.B.; FERREIRA, F.R.; SANO, S.M (Eds). **Frutas Nativas da Região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 216-235, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de maracujá (*Passiflora edulis* Sims). Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 18 dezembro de 2008. Seção 01, pag. 49-50

CERVI, A.C. **Passifloraceae do Brasil. Estudo do gênero Passiflora L., subgênero Passiflora.** Madrid: FONTQUERIA, XLV, 92p, 1997.

CONVENÇÃO SOBRE DIVERSIDADE BIOLÓGICA, v. 1760-I, n. 30619, 1993. Disponível em: <http://www.cdb.int>. Acesso em: 30 novembro 2011.

COSTA; F. R.; PEREIRA; T.N.S.; SUDRÉ; C.P.; RODRIGUES, R. Marcadores RAPD e caracteres morfoagronômicos na determinação da diversidade genética entre acessos de pimentas e pimentões. **Ciência Rural**, v.39, n.3, 2009.

CROCHEMORE, M. L.; MOLINARI, H. B.; STENZEL, N. M. C. Caracterização agromorfológica do maracujazeiro (*Passifloraspp.*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 1, p.5-10, 2003.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Viçosa: UFV, Imp. Univ., 1994.

CUNHA, A.P.; CARDOSO, E.L.C. **Variabilidade genética e melhoramento do maracujá. Recursos Genéticos e melhoramento de plantas no Nordeste brasileiro.** Petrolina: Embrapa Semi-Árido: 1998. Disponível em: <http://www.cpatsa.embrapa.br/catalogo/livroorg/maracuja.pdf>. Acesso em 30 de janeiro de 2012.

CURY, R. **Dinâmica evolutiva e caracterização de germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) na agricultura autóctone do Sul do Estado de São Paulo.** Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba. 103p, 1993.

DAHER, R.F.; MORAES, C.F.; CRUZ, C.D.; PEREIRA, A.V.; XAVIER, D.F. Seleção de caracteres morfológicos discriminantes em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, p.265-270, 1997.

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; FÁVERO, A.P.; LOPES, M.A. Pré-melhoramento de plantas: experiências de sucesso. In: FALEIRO, F.G.; FARIAS NETO, A. L.; RIBEIRO JÚNIOR, W.Q. (Eds). **Pré melhoramento, melhoramento e pós melhoramento: estratégias e desafios**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 43-62, 2008.

FALEIRO, F.G.; PEIXOTO, J.R.; PIO VIANA, A.; BRUCKER, C.; LARANJEIRA, F.F.; DAMASCENO, F.; MELETTI, L.M.M.; CONSOLI, L.; SOUSA, M.A.F.; SILVA, M.S.; PEREIRA, M.G.; STENZEL, N.; SHARMA, R.D. Demandas para as pesquisas relacionadas ao melhoramento genético. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds). **Maracujá: demandas para a pesquisa**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 25-34, 2006.

FERRARI, R.A.; COLUSSI, F.; AYUB, R. A. Caracterização de subprodutos da industrialização do maracujá - aproveitamento de sementes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.26, n.1, p.101-102, 2004.

FERREIRA, F.R. Recursos Genéticos de Fruteiras Tropicais e Subtropicais no Brasil. In: FERREIRA, F.R. (Org.). **Recursos Genéticos de Espécies Frutíferas no Brasil**. Anais do Workshop para Curadores de Bancos de Germoplasma de Espécies Fruteiras. Brasília: Embrapa recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 9-27, 1999.

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

FERREIRA, M. E.; GRATAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3.ed. Brasília: EMBRAPA, CERNARGEN, 220 p. 1998.

FIELD, D.; WILLS, C. **Long polymorphic microsatellites in simple organisms**. Proceeding of the Royal Society of London. Series B, v.263, p.209-215, 1996.

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

GALISTEO, M; DUARTE, J; ZARZUELO, A. Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome. **J Nutr Biochem**, v.19, p. 71-84, 2008.

GUIMARÃES, P.S.; PATERNIANE, M.E.A.G.Z.; LÜRDERS, A.P.S.; SUZA, A.P.; LABORDA, P.R.; OLIVEIRA, K.M. Correlação da heterose de híbridos de milho com divergência genética entre linhagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.6, p.811-816, 2007.

INGLEZ DE SOUZA, J.S.; MELETTI, L. M.M. **Maracujá: espécies, variedades, cultivo**. Piracicaba: FEALT, p. 150, 1997.

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.

JUNG, M.S. **Adaptação de metodologias relacionadas à reprodução e análise da base genética de características do fruto do maracujazeiro doce (Passiflora alata)**. Dissertação de Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais. Universidade Federal de Santa Catarina, p.2-8, 2003.

LEITE, R.S. da S.; BLISKA, F.M. da M.; GARCIA, A.E.B. Aspectos econômicos da produção e mercado. In: ITAL. Instituto de Tecnologia de Alimentos (Campinas, SP). **Maracujá: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos**. Campinas: ITAL, p.267, 1994.

LIMA, A. A.; CUNHA, M. A. P. da. **Maracujá: produção e qualidade na passicultura**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, cap. 1, p.13-36, 2004.

MANICA, I. Fruticultura tropical: maracujá. São Paulo: **Agronômica Ceres**, p.160, 1981.

MARDIA, R.F.; KENT, J.T.; BIBBY, J.M. Multivariate analysis. (S.I): **Academic Press**, p.521, 1979.

MEDINA, J.C. **Maracujá da cultura ao processamento e comercialização**. Campinas: ITAI, p. 207, 1980.

MELETTI, L.M.M., SOARES-SCOTT, M.D., BERNACCI, L.C. Caracterização fenotípica de três seleções de maracujazeiro-roxo (*Passiflora edulis* Sims). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, p.268-72, 2005.

NUNES, T.S; QUEIROZ, L.P. Flora da Bahia: Passifloraceae. **Sitientibus, Série Ciências Biológicas**, v.6, p.194-226, 2006.

OLIVEIRA, M. S. P.; SILVA, K. J. D. Diferenciação genética entre procedências de açaizeiro por marcadores moleculares RAPD e SSR. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 02, p. 438-443, 2008.

OLIVEIRA, J. C. Melhoramento genético. In: RUGGIERO, C. (Ed.). Cultura do maracujazeiro. Ribeirão Preto: **Legis Summa**, p. 218-246, 1987.

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

OLIVEIRA, J. C., RUGGIERO, C. Espécies de Maracujá com potencial agrônômico. In: FALEIRO, F. G. JUNQUEIRA, N. T. V. BRAGA, M. F. (eds).

**Maracujá: Germoplasma e melhoramento genético.** Embrapa Cerrados, p.141 – 158, 2005.

OLIVEIRA, M. do S. P. de. **Caracterização molecular e morfo-agronômica de germoplasma de açaizeiro.** Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 171 p., 2005.

OLIVEIRA, J. C.; SALOMÃO, T. A.; RUGGIERO, C.; ROSSINI, A. C. Variações observadas em frutos de *Passiflora alata* Ait. Proceedings of the tropical region – **American Society of Horticultural Science**, v. 25, p.343-345. 1982.

OLIVEIRA, E.J; DIAS, N. L. P; DANTAS, J.L.L. Selection of morpho-agronomic descriptors for characterization of papaya cultivars. **Euphytica**, 2011. Disponível em: <http://www.springerlink.com/content/c428ut432x37174u/>. Acesso em 01 fevereiro 2011.

PATREZE, C.M. **Análise molecular da diversidade genética em uma população natural de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze no Estado de São Paulo.** Tese (Doutorado em Ciências)- Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba – SP, p.20-30, 2008.

PENHA, H.A. **Desenvolvimento de marcadores microssatélites em *Passiflora alata* Curtis.** Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, p. 93, 2008.

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

PINTO, L.R.; VIEIRA, M.L.C.; SOUZA JUNIOR, C.L. de; SOUZA, A.P. Reciprocal recurrent selection effects on the genetic structure of tropical maize populations assessed at microsatellite loci. **Genetics and Molecular Biology**, v.26, p.355-364, 2003.

PIRES, M.C. **Propagação de maracujazeiro por estaquia e enxertia em estacas enraizadas**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Brasília, Universidade de Brasília- UnB, 2007.

QUEROL, D. **Recursos genéticos, nuestro tesoro olvidado: aproximación técnica y socioeconómica**. Lima, Perú, p. 218, 1988.

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

ROSSINI, A. C. **Características botânicas e agronômicas de plantas de *Passiflora alata*Ait (maracujá-mirim) cultivados em Jaboticabal**. Jaboticabal, FCAV, 1977. 46 p.(Trabalho de graduação).

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

VALOIS, A. C. C. A biodiversidade e os recursos genéticos. In: QUEIRÓZ, M. A.; GOERDERT, C.O.; RAMOS, S.R.R. (Eds). **Recursos Genéticos e melhoramento de plantas no Nordeste brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido/ Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. (on line). Disponível em: <http://www.cpatsa.embrapa.br>. Acesso em: 30 novembro 2011.

VASCONCELLOS, M.A.S.; CEREDA, C. Cultivo do maracujá doce. In: São José, A. R. (Ed.) **Maracujá produção e mercado**. Vitória da Conquista: UESB, 1994. P. 71-83.

VICENTE, M.C. de; GUZMÁN, F.A.; ENGELS, J.; RAMANATHA RAO, V. Genetic Characterization and its use in decision making for the conservation of crop

germplasm. In: **The Role of Biotechnology**, 2005, Turin. Proceedings, p.121-128, 2005.

ZUCARELLI, V. **Germinação de sementes de passiora cincinnata Mast: Fases, Luz, Temperatura e Reguladores Vegetais**. Universidade Estadual Paulista. p.111, 2007.

KAGEGYAMA, P.Y.; SEBBENN, A.M.;RIBAS, L.A.; GANDARA, F.B.; CASTELLEN, M.; PERECIN,M.B.; VENCOVSKY, R. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia Forestalis**, v. 64, p. 93-107, 2003

KILLIP, E.P. **The American species of Passifloraceae**. Publications of the Field Museum of Natural History, Botanical Series, v.19, p.1-613, 1938.



# **CAPÍTULO 1**

## **CONSERVAÇÃO DOS RECURSOS GENÉTICOS DE *Passiflora*: UMA AVALIAÇÃO MOLECULAR**

## CONSERVAÇÃO DOS RECURSOS GENÉTICOS DE *Passiflora*: UMA AVALIAÇÃO MOLECULAR

RESUMO: Este trabalho objetiva avaliar perdas e variação na frequência alélica de espécies de *Passiflora*, em função da seleção aleatória de plantas durante a conservação do germoplasma. Foram estudados quatro acessos: BGM311 (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.), BGM268 (*Passiflora cincinnata* Mast), BGM004 (*Passiflora alata* Curtis) e BGM237 (*Passiflora setacea* D.C). Para cada acesso, foram avaliadas 60 plantas, das quais 10 estavam plantadas no campo para representar o acesso e 50 derivadas de sementes estoque. Utilizou-se 40 locos SSR desenvolvidos para *P. edulis* e 20 para *P. alata*. O número de locos polimórficos variou de 15; nove; seis e dois para BGM311; BGM268; BGM004 e BGM237, respectivamente. As perdas alélicas provenientes da sub-representação da amostra foram da ordem de 19 (30%); 16 (43%) e nove (39%) alelos, respectivamente para os acessos BGM311, BGM268 e BGM004. No acesso BGM237 não foi verificada perda alélica, possivelmente porque apenas dois locos polimórficos foram identificados. De maneira geral houve variação na frequência alélica entre as amostras de 10 e 60 plantas, sendo que perdas e fixação de alelos foram comumente encontrados nas 10 plantas mantidas em campo. Os acessos que apresentaram menor tamanho efetivo ( $N_e$ ) foram BGM268 e BGM237, para os quais se observou maiores coeficientes de endogamia. A estratégia de conservação adotada deve levar em consideração o nível de endogamia observada em cada espécie.

Palavras chave: Tamanho efetivo, microssatélites, maracujazeiro.

## CONSERVATION OF *Passiflora* GENETIC RESOURCES: A MOLECULAR EVALUATION

ABSTRACT: This paper aims to evaluate losses and variation in allele frequency of *Passiflora* species, due to the random selection of plants for germplasm conservation. Four accessions were studied: BGM311 (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.), BGM268 (*Passiflora cincinnata* Mast), BGM004 (*Passiflora alata* Curtis) and BGM237 (*Passiflora setacea* D.C). To each accession, sixty plants were evaluated, of which 10 were planted in the field to represent the accession and 50 were derived from seed stock. Forty SSR loci developed for *P. edulis* and 20 for *P. alata* were used. The number of polymorphic loci ranged from 15, nine, six and two on BGM311; BGM268; BGM004 and BGM237, respectively. The allelic loss due to the under-representation of the samples was 19 (30%), 16 (43%) and nine (39%) alleles, respectively for BGM311, BGM268 e BGM004. No allelic loss was observed for BGM237 accession, probably because only two polymorphic loci were identified. Overall there was a variation in allele frequency from 10 to 60 in the plant samples, and loss and fixation of alleles were commonly found among the 10 plants grown in field. BGM268 and BGM237 accessions showed lower effective population size ( $N_e$ ), to which was observed higher inbreeding coefficient. The conservation strategy adopted should take into account the level of inbreeding observed in each species.

Keywords: Effective size, microsatellites, passion fruit.

## INTRODUÇÃO

O mercado brasileiro de maracujá tem crescido substancialmente nos últimos anos, conforme pode ser constatado pela evolução da área cultivada e volume comercializado. No Brasil, o interesse comercial concentra-se principalmente na produção e comercialização do maracujazeiro amarelo ou azedo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.), que é a espécie mais cultivada e predominante no mercado (OLIVEIRA et al., 2008).

A produção nacional dessa fruta, em 2010, foi de 920.158 toneladas, cultivados em 62.243 mil ha (14,78 t ha<sup>-1</sup>), sendo 76% produzidos no Nordeste. O estado da Bahia é responsável por 52% da área plantada e 66% da produção brasileira (IBGE, 2012). O cultivo do maracujazeiro é caracterizado por ser desenvolvido em pequenas propriedades de cunho familiar, com tamanho entre 3 e 5 hectares e por conseqüente com forte apelo social (LIMA, 2001).

O Brasil, como centro de diversidade deste gênero (MANICA, 1981), possui ampla variabilidade genética intra e interespecífica. Estima-se que existam cinco gêneros e cerca de 120 espécies, sendo o gênero *Passiflora* o mais comum da família Passifloraceae, podendo ser encontrado principalmente em bordas de floresta por todo o país. (SOUZA e LORENZI, 2008). Não obstante à grande variabilidade apresentada pelo gênero *Passiflora*, às atividades humanas tais como urbanização, expansão da agricultura e a derrubada de florestas constituem-se uma grave ameaça a conservação deste patrimônio genético.

Os Bancos Ativos de Germoplasma (BAG), como forma de conservação *ex situ*, constituem-se importante estratégia de conservação do patrimônio genético que o país detém. Estes bancos possuem a finalidade manter coleções de genótipos de uma espécie, que se constituirão em matéria-prima para programas de pesquisa e melhoramento genético. Neste sentido, a Embrapa Mandioca e Fruticultura possui o maior Banco de Germoplasma de *Passiflora* do país (BAG-Maracujá), com cerca de 220 acessos. Alguns desses acessos são mantidos nas condições de campo, telados protegidos ou na forma de sementes em câmaras frias.

Considerando o ciclo relativamente curto da cultura (1 a 2 anos), condicionada pela alta incidência de doenças de parte aérea e de raízes, bem como perda de viabilidade das sementes armazenadas, faz-se necessário estabelecer ciclos de

regeneração e avaliação para os acessos que são mantidos in vivo nas condições de campo visando manter a variabilidade e a integridade genética ao longo das gerações. Por outro lado, em virtude de fatores como limitação de espaço físico, recursos humanos e financeiros, atualmente cada acesso do BAG-Maracujá é representado no campo por dez plantas provenientes das sementes estoques e que serão provedoras das novas sementes para o próximo ciclo regenerativo dos acessos.

No entanto, o maracujazeiro é uma planta alógama obrigatória (MAY e SPEARS, 1988), condicionada pelo fenômeno auto-incompatibilidade, que impede a autofecundação e até mesmo o cruzamento de diferentes plantas com os mesmos alelos de incompatibilidade. Portanto, é esperada ampla variabilidade genética intra-acessos, sendo possível que dez plantas sejam insuficientes para representar a variabilidade alélica deste germoplasma ao longo dos ciclos de regeneração. Tal fato pode resultar em estreitamento da base genética populacional e perda de genes de importância, que podem reduzir a capacidade das espécies de responderem a adversidades ambientais em gerações futuras (RAPOSO et al., 2007).

A erosão genética pode ser percebida pela perda alélica e as medidas de combate aos seus efeitos negativos podem ser enfocadas sob a ótica do tamanho efetivo populacional, que segundo Crossa e Venkovsky (1994), depende do número de indivíduos que efetivamente participam da reprodução e de sua contribuição para a geração seguinte. O tamanho efetivo da população está relacionado com o coeficiente de endogamia, quanto menor for o tamanho da população, em gerações anteriores, maior será o número de ancestrais comuns e maior será o coeficiente de endogamia (BREDA et al., 2004).

Somado a isso, a alogamia e auto-incompatibilidade necessitam ser consideradas na conservação do germoplasma de maracujazeiro, uma vez que o cruzamento entre um número reduzido de parentais pode resultar em depressão endogâmica, bem como à perda de variabilidade alélica nos locos de incompatibilidade. Assim, é premente monitorar a estratégia de conservação adotada, com vistas a manter a máxima variabilidade genética dos diferentes acessos de *Passiflora*. Se a diversidade interespecífica, intraespecífica e intra-acesso no BAG não forem preservadas ao longo do tempo, poderá comprometer a conservação e os trabalhos futuros com esse valioso recurso genético.

Os marcadores moleculares por serem herdáveis geneticamente e não sofrerem influência de fatores ambientais e por isso, constituem-se em uma das alternativas mais promissoras para monitorar as perdas alélicas dos acessos conservados nos bancos de germoplasma. Dentro os marcadores disponíveis, os microssatélite ou SSR (*Simple Sequence Repeat*) são amplamente utilizados em estudos genéticos e de conservação genética (SANTOS et al., 2010). Esta ampla aplicação deve-se ao fato de que os SSR são codominantes e multialélicos, altamente reprodutíveis, têm ampla resolução e são baseados na reação em cadeia da DNA *polimerase* (PCR) (OLIVEIRA et al., 2006).

Face ao exposto, este trabalho objetivou usar marcadores microssatélites na detecção de possíveis perdas de alelos e variação na frequência destes, bem como considerar o tamanho efetivo populacional em função da seleção aleatória de plantas para conservação do germoplasma.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Material vegetal**

Foram avaliados quatro acessos de maracujazeiro mantidos no Banco Ativo de Germoplasma de Maracujá da Embrapa Mandioca e Fruticultura, quais sejam: BGM311 (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*), BGM268 (*Passiflora cincinnata* Mast), BGM004 (*Passiflora alata* Curtis) e BGM237 (*Passiflora setacea* D.C) (Figura 01).

Para cada acesso, foram avaliados dois conjuntos de amostras. O primeiro derivado das 10 plantas (n=10) existentes em condições de campo (BAG) e o segundo de 60 plantas (n=60), sendo 50 derivadas de sementes estoque e as mesmas 10 existentes em condição de campo. Totalizando-se 240 plantas.



**Figura 01.** Flores e frutos dos quatro acessos avaliados: BGM311 (*P. edulis* f. *flavicarpa*), BGM004 (*P. alata*), BGM268 (*P. cincinnata*) e BGM237(*P. setacea*).

### Extração e quantificação de DNA

Após germinação das 50 sementes estoque de cada acesso e coleta de folha das 10 plantas mantidas em campo, o DNA foi extraído de acordo com o protocolo de Doyle e Doyle (1990). A quantificação foi feita após eletroforese de alíquotas de cada amostra, comparando-as com uma série de concentrações conhecidas de DNA do fago Lambda (Invitrogen), em géis de agarose a 1,0% (p/v). A concentração de DNA foi estimada a partir da comparação visual das intensidades das bandas, reveladas pela coloração com brometo de etídio ( $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Posteriormente, o DNA de trabalho foi padronizado para 2,5 nanogramas por microlitro.

### Otimização de *primers* e caracterização molecular

Foram utilizados 40 locos SSR desenvolvidos para as espécies *P. edulis* e 21 para *P. alata* (OLIVEIRA, 2006; PENHA, 2008). Previamente foi realizada uma pré-seleção dos locos visando a transferibilidade destes, para as espécies *P. cincinnata* (BGM268) e *P. setacea* (BGM237).

Utilizou-se dois diferentes *mix* que variaram apenas na concentração final de cloreto de magnésio ( $\text{MgCl}_2$ ), sendo 1,5 ou 2,5 mM. Os demais componentes mantiveram-se iguais para ambos *mix*: 10,0 ng de DNA, 20 mM de Tris-HCl (pH

8,4), 50 mM de KCl, 0,2 mM dos iniciadores, 0,2 mM de dNTPs e 0,5 U de *Taq* DNA Polimerase, com volume total de 15  $\mu$ L.

Foram testados os programas de amplificação em esquema *touchdown* (TD) como TD 65-55, TD 45-55 (JESUS, 2010) e TD 60-56 (OLIVEIRA, 2006) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Condições de amplificação utilizadas para otimização da PCR de acordo com os locos microssatélites de *P. edulis* e *P. alata*.

Programas em esquema <i>touchdown</i>								
TD 65-55			TD 55-45			TD 60-56		
Nº de ciclos	Temp	Tempo	Nº de ciclos	Temp	Tempo	Nº de ciclos	Temp	Tempo
1	94°C	4 min	1	94°C	4 min	1	94°C	5 min
	94°C	30s		94°C	30s		94°C	40 s
10	65°C <sup>(*)</sup>	1 min	10	55°C <sup>(*)</sup>	1 min	8	60°C <sup>(Δ)</sup>	40s
	72°C	1 min		72°C	1 min		72°C	50 s
	94°C	30 s		94°C	30 s		94°C	40 s
25	55°C	1 min	25	45°C	1 min	24	56°C	40s
	72° C	1 min		72° C	1 min		72° C	50 s
1	72°C	7 min	1	72°C	7 min	1	72°C	5 min
1	8°C	∞	1	8°C	∞	1	8°C	∞

Temp = temperatura, (\*) = redução de 1°C a cada ciclo, (Δ) = redução de 0,5°C a cada ciclo.

No entanto, para alguns pares de iniciadores, melhores resultados foram conseguidos utilizando o programa constituído com uma desnaturação inicial de 94°C por 5 min e 30 ciclos de 94°C por 40s, 60°C por 1 minuto, 72°C por 50s e uma extensão final de 5 min a 72°C. Após a amplificação, os produtos foram separados em gel de agarose 1000, 4% (Invitrogen), corado com brometo de etídio (1,0  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>). Como padrão molecular foi utilizado o marcador Ludwig 50pb (Ludwig Biotecnologia LTDA).

### Análise dos dados moleculares

Para a estimativa das frequências alélicas, percentagem de locos polimórficos (PIC), número de alelos por loco (A), heterozigosidades médias observada ( $H_O$ ), esperada ( $H_E$ ), Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC) e



endogamia ( $f$ ) utilizou-se o programa PowerMarker versão 3.25 (LIU e MUSE, 2005). O tamanho efetivo populacional foi calculado pela fórmula:  $\hat{N}_e = \frac{n}{1 + \hat{F}}$ , onde  $\hat{N}_e$  é o tamanho efetivo populacional,  $n$  é o número de indivíduos e  $\hat{F}$  o coeficiente de endogamia médio da população (LI, 1976).

## RESULTADOS

Na Tabela 2 são apresentados os locos SSR utilizados e o número de alelos amplificados nos acessos BGM311 (*P. edulis*), BGM268 (*P. cincinnata*), BGM004 (*P. alata*) e BGM237 (*P. setacea*).

Dos 40 iniciadores desenvolvidos de uma biblioteca de *P. edulis* (OLIVEIRA, 2006), 35 amplificaram em *P. edulis*; 18 em *P. cincinnata*, 11 em *P. alata*; e 12 em *P. setacea*. Dentre os 21 locos de *P. alata* (PENHA, 2008), 15 amplificaram em *P. alata*, sete amplificaram em *P. edulis*, seis em *P. setacea* e quatro em *P. cincinnata*, (Tabela 2).

De maneira geral, a transferibilidade foi mais efetiva para os iniciadores desenvolvidos para *P. edulis* (OLIVEIRA, 2006), uma vez que 21 locos (53%) amplificaram também nas outras espécies. Entretanto, dentre os locos amplificados apenas 17 apresentaram polimorfismo. Por outro lado, foi possível promover a transferibilidade de apenas sete (33%) dos 21 locos de *P. alata* (PENHA, 2008); e apenas três destes apresentaram polimorfismo nas espécies estudadas (Tabela 2).

Para todas as plantas avaliadas ( $n=60$ ), o número de locos polimórficos nos acessos estudados foi de 15 (PE07, PE08, PE11, PE15, PE16, PE17, PE18, PE19, PE20, PE23, PE24, PE28, PE42 e PE58 e PA14); nove (PE07, PE08, PE09, PE15, PE18, PE19, PE27, PE58 e PE 90); seis (PE08, PE09, PE18, PE27, PA05 e PA08) e dois (PE18 e PE27) para BGM311; BGM268; BGM004 e BGM237, respectivamente (Tabela 2). Os locos com maior PIC foram o PE07 no BGM311, PE18 no BGM268 e no BGM237 e PE09 no BGM004 (Tabela 3).

O número de locos monomórficos foi de 27 (64%), 20 (77%), 16 (89%) e 13 (59%) para os acessos BGM311 (*P. edulis*), BGM004 (*P. alata*), BGM237 (*P. setacea*) e BGM268 (*P. cincinnata*), respectivamente. Enquanto o número de

alelos identificados variou de 91, 50, 43 e 21 para os acessos BGM311, BGM268, BGM004 e BGM237, respectivamente (Tabela 2).

Sete locos desenvolvidos para *P. edulis* (PE08, PE09, PE18, PE27, PE37, PE66 e PE74), e três locos desenvolvidos para *P. alata* (PA05, PA07 e PA10) geraram amplificação nas quatro espécies. Apenas o loco PE18 gerou um perfil de amplificação polimórfico para todos os acessos. Os 10 melhores perfis moleculares, nas quatro espécies estudadas, foram obtidos com sete locos de *P. edulis* (PE08, PE09, PE18, PE27, PE37, PE 66 e PE 74), e três locos de *P. alata* (PA05, PA07 e PA10).

**Tabela 2.** Amplificação e número de alelos gerados (n=60) a partir dos locos microssatélite desenvolvidos por Oliveira (2006) e Penha (2008), nas espécies *Passiflora edulis* (BGM311), *Passiflora cincinnata* (BGM268), *Passiflora alata* (BGM004) e *Passiflora setacea* (BGM237).

Primer	Iniciador Direto (5'- 3')	Iniciador Reverso (5'- 3')	Número de alelos nos acessos			
			BGM 311	BGM 268	BGM 004	BGM 237
PE02	gggacgacaatcaagtgagg	cccaaactatgcaacaccaa	1	na	na	na
PE03	gcacgaggggaagaaaa	tgagacatcgtgcgtgaa	1	na	na	na
PE04	atgcttttgaaatccggtt	tgctcatgcaaagtactgg	1	na	na	na
PE06	agcggggagggagagtagc	gcctgatgtcaaaaacacag	na	na	na	1
PE07	tgctcattgatgggtctg	tcgctcttctcctcctca	8	4	na	1
PE08	ccgataccacgcatta	tctaagagcggaggaaagc	4	2	3	1
PE09	ggaaatccgaaaactggtg	gggcctttatccatgttga	1	4	5	1
PE10	aacctgatctccagcctat	gtttcgcccgcgtatt	na	na	na	na
PE11	gcataagttgtcggcttgg	cctcgaacctctatcatcca	6	1	na	na
PE12	cgtaaatattgttggcact	atcatgggcgaactcatt	na	1	na	na
PE13	aagcaccccaatcgttga	ccccctgccactgagta	1	na	na	na
PE14	tggtgttctgaatttcatt	tacgcgcctagcgtattctt	na	na	na	na
PE15	accgttaaataccaagcaagt	aatgcaaaaagaatgatatgta	5	6	na	na
PE16	cgcatgtgttttcctctg	cagtccaagctcgttctcc	6	na	na	na
PE17	actcgttggtatgcactg	catagaatgcaagggtcaca	4	na	na	na
PE18	ccgtgaaccaaccattctc	ttgcagcacaacaagtcaa	4	6	8	3
PE19	taaacaggacttagcactga	ctcatccttctccatcttg	4	6	na	1
PE20	aggatcacatagaaaaccat	gttaggtggcattgctctt	2	na	na	na
PE21	ccggaagattggtcgta	atccaatggcaggaaggtc	na	na	na	na
PE23	caatccctgaccataga	cgccatccttctcctt	3	na	na	na
PE24	tcaaaactgaactcgtaaagg	gtgctgggagactgatgtt	7	na	na	na
PE26	gctttcatatttcgggtg	ttgcttgagttggaggaag	1	na	na	na
PE27	ttgctcattgactcatcct	gcagacatttctggagca	1	2	2	2
PE28	gccactaacgttaactgtct	caagctctattagcatcca	2	na	na	na
PE29	cggatgaaggctcgtctt	cggcacactcacctctcc	1	na	na	na
PE35	attatgcctaaaaaccctaaa	tgatcagaggttgagagg	1	na	na	na
PE37	caaaaggataggcctgatgct	tgcttggtcatcactgaag	1	1	1	1
PE38	gatcggctcctcggttagac	agtacacagcatgagaaatc	1	na	na	na
PE41	atcggggttcgcttattg	cgttcatccttagtgggcta	1	1	1	na
PE42	gtcacttcattctccttcc	ttagccactcaaacacaa	2	1	na	na

Continua...

**Tabela 2.** Continuação.

PE54	tggtgtgtgtgggtgattag	cattctcctgccacctgagt	1	3	1	na
PE58	gcaatttcaccatcttctgct	ccacgggtcatggatgttc	4	na	na	na
PE59	gaacacttcgcatggctaga	ttccgaatcaaaccgtaact	1	1	na	na
PE60	tcctcaccttgtttatgct	aatgacctattgaacctgga	1	na	na	1
PE64	atcaattacgcaccccaaac	ggaacgtcaatcaagtgagga	1	na	1	na
PE66	ccatagtcccaacaagcatc	gctgtggaccctaactcagtc	1	1	1	1
PE74	ccctcttatcaatagcgttg	gcacgagcagcagattatt	1	1	1	1
PE75	cacaatcgggtgggaaagata	gtagtttgggcagtttgc	1	1	1	na
PE88	cttcagggtcacacacatt	gttcatccttagtgggct	1	na	na	1
PE90	tcaggaagattgcatgttagt	ctgggtttgtttatgttgc	1	4	na	na
PA01	aatcgtaaatcgggacacaa	ccaggaggggagaaggagaa	na	na	na	na
PA02	aggtgggtgagatagtgaa	cactcgggttcaggaatta	1	na	1	1
PA03	gctgtgtggttgggaatct	tcgtgctattacgtccaac	na	na	1	na
PA04	acggcacaaggagagaaaga	ccacgcaacctactcatca	na	na	1	na
PA05	cccctcccagttctctacc	ccatcatcagtcccagatca	1	1	2	1
PA07	tgctcacatttcagttgcac	ttttgggatgaggaaagc	1	1	1	1
PA08	aggacggagagagaaggag	cgtggactgcccattgataa	1	1	3	na
PA09	ggaaaccctaacctgcaaa	ttggcgcaagagagaagaa	na	na	1	na
PA10	tcgacaaccacactcaaagc	gactgcgtggaggaagagac	1	1	1	1
PA11	caatccaccgattttacc	gcgtggactaacagaaacca	na	na	na	na
PA12	agagcagaggaagagcaacg	atgcgtaaacggaacttcg	na	na	na	na
PA13	cgaaaataaaaccaccaca	ccccaggatttcagtgagga	na	na	na	na
PA14	tgaccaatcgcatgtctctc	aaagtttcattgtgggtgct	3	na	1	na
PA15	accgcacactctctctct	ggcatctggaattgacgaat	na	na	1	na
PA16	tcggtgctccaaatctttct	gtgcctaaccgaagataggg	1	na	1	1
PA17	tgcgaaacacaatgctaaacc	ccacaagcatgagagaggtg	na	na	1	na
PA18	cctccaaaacacctcaact	ataaccgaggattgggagt	na	na	1	1
PA19	tggtcatcaactgcacaaca	tggtgaatttgctggtttg	na	na	1	na
PA20	gctggaacaccaaggaactc	tcttttgcttgcctatcc	na	na	1	na
PA21	tggactagcacacacaca	ggttcgatattttgagttgg	na	na	na	na
PA22	accttcgccttctctctc	tgaagccagccttttgact	na	na	na	na
<b>Número total de locos que amplificaram</b>			42	22	26	18
<b>Número total de alelos (em locos poli e monomórficos)</b>			91	50	43	21
<b>Número de locos monomórficos</b>			27	13	20	16
<b>Número de locos polimórficos</b>			15	9	6	2

PE: iniciador desenvolvido de uma biblioteca enriquecida de *P.edulis*, PA: iniciador desenvolvido de uma biblioteca enriquecida de *P. alata*, na: não amplificou, BGM311: *P. edulis*, BGM268: *P. cincinnata*, BGM004: *P.alata*, BGM237: *P.setacea*.

Considerando as duas amostras avaliadas (n = 10 e 60) para cada acesso, naturalmente, foram identificadas diferenças entre o PIC e número de alelos (Tabela 3). O maior PIC, nas 10 plantas, foi identificado no acesso BGM311 com média de 0,4, seguido dos acessos BGM237 e BGM004 com 0,38 e 0,34, respectivamente. Por outro lado, para as 60 plantas o BGM268 apresentou maior PIC com 0,46 seguindo dos demais com 0,42 (Tabela 3).

As diferenças entre as duas amostras são mais marcantes quando se compara o número médio de alelos para n = 10 e n = 60. A média de alelos por loco para n = 60 foi de 4,27 para *P. edulis* (BGM311), 4,1 para *P. cincinnata* (BGM268), 3,83 para *P. alata* (BGM004) e 2,50 para *P. setacea* (BGM237). Para

n = 10 os valores observados foram de 3,0; 2,33; 2,33 e 2,50, respectivamente para BGM 311, BGM 268, BGM 004 e BGM 237 (Tabela 3).

Tais resultados evidenciam perdas de alelos nas plantas utilizadas para regeneração dos acessos. Assim, foram observadas, para os locos polimórficos, perdas na ordem de 19 (30%); 16 (43%) e nove (39%) alelos, respectivamente para os acessos de *P. edulis* (BGM311), *P. cincinnata* (BGM268) e *P. alata* (BGM004). Em *P. setacea* (BGM237) não foi verificada perda alélica (Figura 2). Um exemplo dessa perda de alelos é mostrado na Figura 3, onde se evidencia a ausência do alelo de 135pb nas 10 plantas em campo, no acesso BGM268 (*P. cincinnata*) utilizando o iniciador PE27.

**Tabela 3.** Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC) e número de alelos para locos polimórficos, com amostragem de 10 e 60 plantas.

Acesso	Primer	PIC		Nº de alelos	
		n=10	n=60	n=10	n=60
BGM311 ( <i>P. edulis</i> )	PE07	0,76	0,77	7	8
	PE08	0,37	0,42	3	4
	PE11	0,66	0,59	4	6
	PE15	0,35	0,47	3	5
	PE16	0,74	0,66	5	6
	PE17	0,50	0,61	3	4
	PE18	0,16	0,20	2	4
	PE19	0,38	0,59	2	4
	PE20	0,16	0,13	2	2
	PE23	0,33	0,42	2	3
	PE24	0,61	0,67	4	7
	PE28	0,10	0,09	2	2
	PE42	0,00	0,03	1	2
	PE58	0,56	0,36	3	4
PA14	0,30	0,36	2	3	
<b>Média</b>		0,40	0,42	3,00	4,27
BGM268 ( <i>P. cincinnata</i> )	PE07	0,00	0,24	1	4
	PE08	0,00	0,30	1	2
	PE09	0,00	0,55	1	4
	PE15	0,40	0,59	5	6
	PE18	0,66	0,80	6	6
	PE19	0,50	0,57	3	6
	PE27	0,00	0,27	1	2
	PE54	0,00	0,37	1	3
PE90	0,09	0,49	2	4	
<b>Média</b>		0,18	0,46	2,33	4,11

Continua...

Tabela 3. Continuação.

	PE08	0,33	0,42	2	3
	PE09	0,69	0,68	4	5
BGM004 ( <i>P. alata</i> )	PE18	0,67	0,72	4	8
	PE27	0,00	0,03	1	2
	PA05	0,00	0,34	1	2
	PA07	0,35	0,32	2	3
	<b>Média</b>		0,34	0,42	2,33
BGM237 ( <i>P. setacea</i> )	PE18	0,40	0,47	3	3
	PE27	0,35	0,37	2	2
<b>Média</b>		0,38	0,42	2,50	2,50

PE: iniciador desenvolvido de uma biblioteca enriquecida de *P. edulis*, PA: iniciador desenvolvido de uma biblioteca enriquecida de *P. alata*, PIC: Conteúdo de Informação Polimórfica.

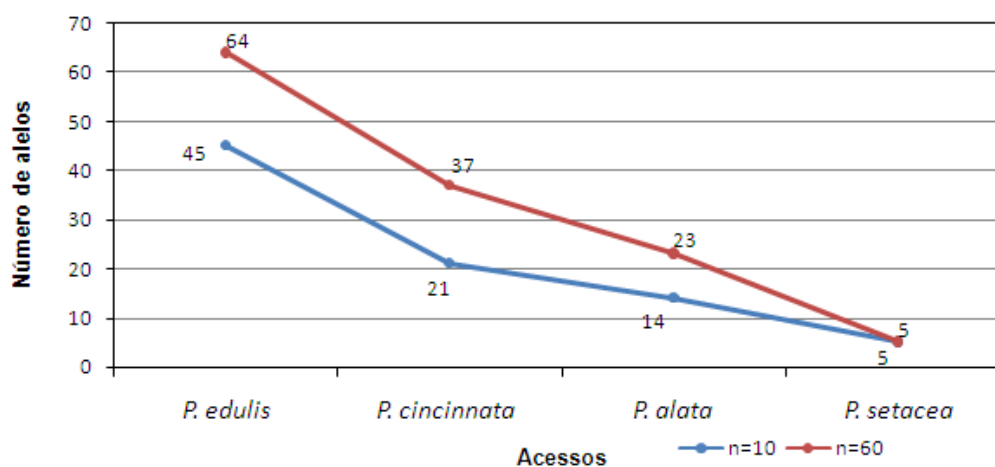


Figura 2. Número de alelos encontrados nos acessos avaliados, considerando uma amostragem de 10 e 60 plantas em cada acesso.

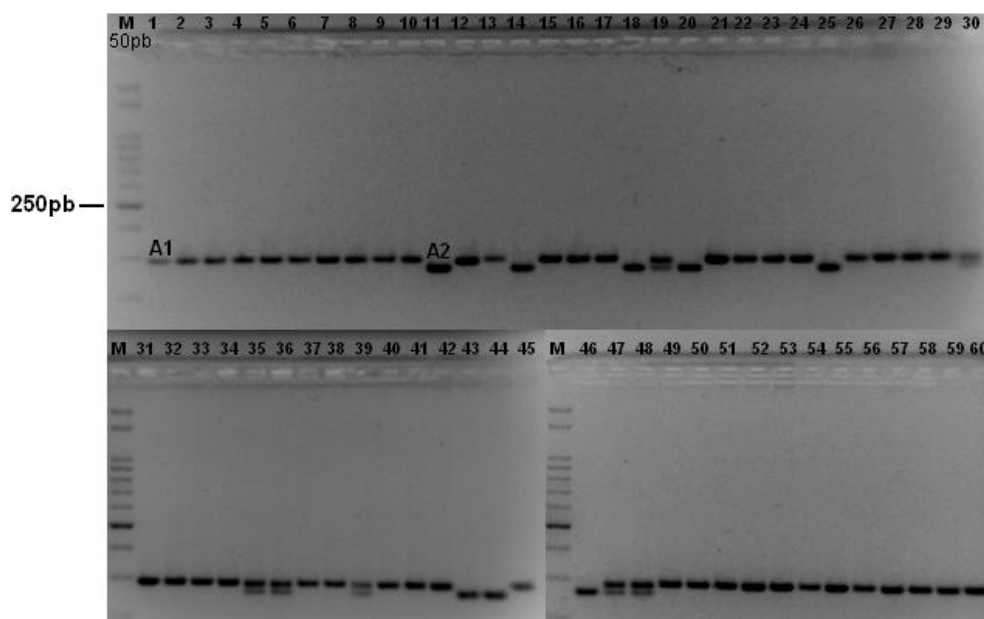


Figura 3. Genotipagem de 60 indivíduos do acesso BGM268 (*P. cincinnata*) utilizando o iniciador PE27. Indivíduos de 1 a 10 são plantas que representam o

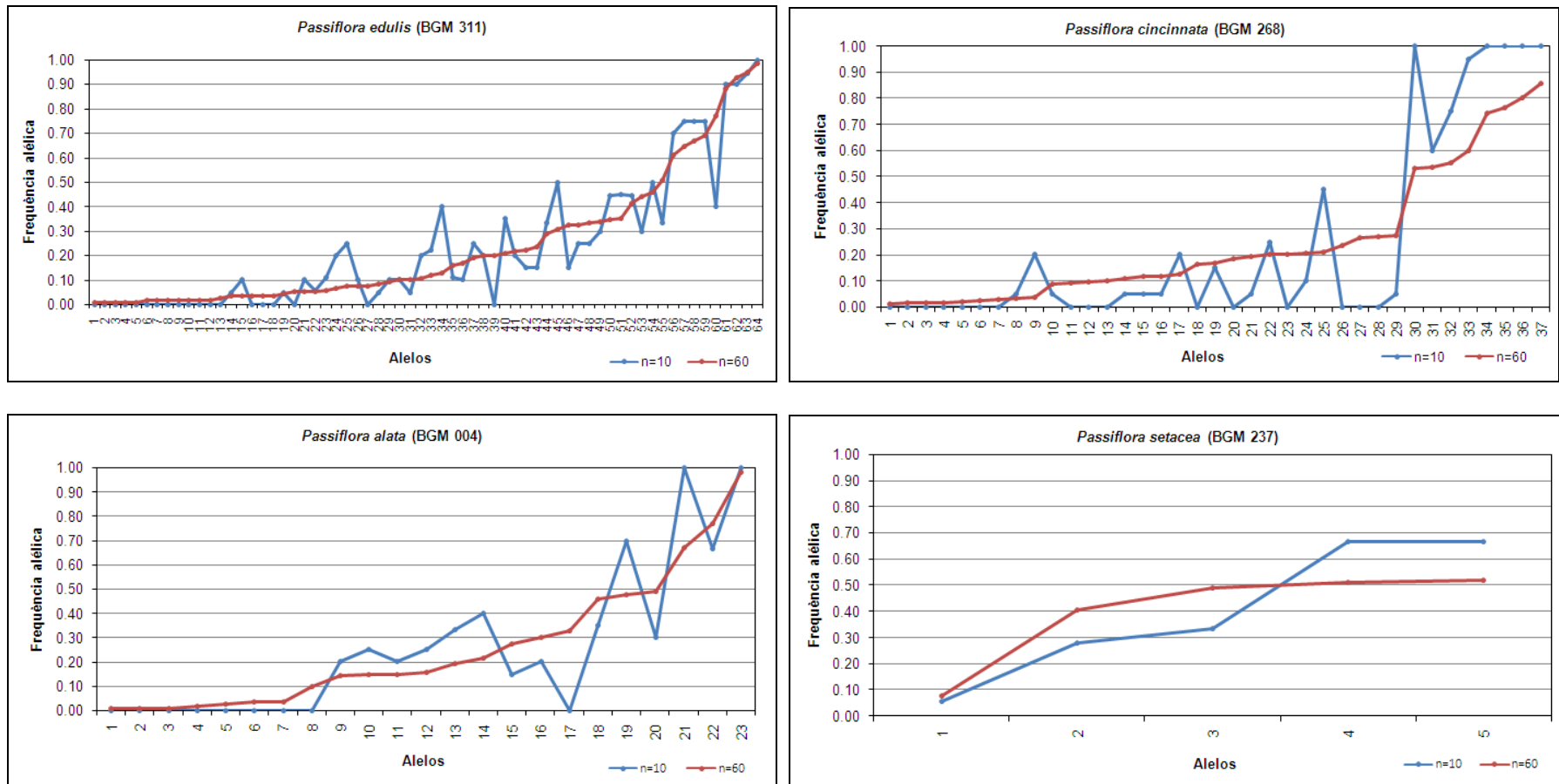
acesso em campo, e de nº 11 a 60 são originados de semente estoque. A1: alelo de 150pb e A2: alelos de 135pb.

A Figura 4 também ilustra essas perdas com base nas frequências alélicas das amostras de 10 e 60 plantas. De maneira geral houve variação entre as amostras de 10 e 60 plantas. Valores de frequência alélica igual a 0 (zero), indicando perda alélica e 1,0 (um), fixação de alelos, foram comumente encontrados nas 10 plantas mantidas em campo.

Considerando-se apenas os locos polimórficos, cinco, dois e um alelos apresentaram frequência de valor um, simultaneamente para as espécies *P. cincinnata* (BGM268), *P. alata* (BGM004) e *P. edulis* (BGM311), respectivamente. Para a amostra de 60 plantas, houve variação na frequência alélica de 0,01 (cinco alelos) a 0,98 (um alelo) no acesso BGM311; 0,01 (um alelo) a 0,86 (um alelo) no BGM268 e de 0,01 (um alelo) a 0,86 (um alelo) no BGM004. Na espécie *P. setacea*, em que apenas dois locos polimórficos foram estudados, não foi verificada perda e fixação alélica. A variação nas frequências de alelos foi de 0,06 a 0,67 para n=10 e de 0,08 a 0,52 para n=60.

Para a amostra de 10 plantas, a média da heterozigozidade observada ( $H_o$ ) foi de 0,43; 0,31; 0,27 e 0,09, respectivamente para os acessos BGM004, BGM311, BGM237 e BGM268. Enquanto para as 60 plantas, os valores foram de 0,40; 0,31; 0,27 e 0,13, respectivamente para BGM004, BGM311, BGM237 e BGM268 (Tabela 4).

Quanto à heterozigozidade esperada ( $H_e$ ), a média para a amostra de 10 plantas foi de 0,46; 0,45; 0,39 e 0,20, respectivamente para *P. setacea*, *P. edulis*, *P. alata* e *P. cincinnata*. Enquanto para as 60 plantas foi de 0,53; 0,51; 0,47 e 0,47, respectivamente para *P. setacea*, *P. cincinnata*, *P. edulis* e *P. alata* (Tabela 4).



**Figura 4.** Variação na frequência alélica, nos acessos BGM311 (*Passiflora edulis*), BGM268 (*Passiflora cincinnata*), BGM004 (*Passiflora alata*) e BGM237 (*Passiflora setacea*), considerando amostragem de 10 e 60 plantas.

**Tabela 4.** Heterozigosidade esperada (He) e observada (Ho) para locos polimórficos identificados nas espécies *P. edulis* (BGM 311), *P. cincinnata* (BGM 268), *P. alata* (BGM 004) e *P. setacea* (BGM237).

Acesso	Primer	He		Ho	
		n=10	n=60	n=10	n=60
BGM311	PE07	0,79	0,80	0,60	0,48
BGM311	PE08	0,41	0,47	0,30	0,45
BGM311	PE11	0,72	0,64	0,44	0,37
BGM311	PA14	0,38	0,45	0,50	0,65
BGM311	PE15	0,40	0,52	0,50	0,57
BGM311	PE16	0,78	0,70	0,50	0,48
BGM311	PE17	0,59	0,67	0,22	0,21
BGM311	PE18	0,18	0,21	0,20	0,20
BGM311	PE19	0,50	0,65	0,00	0,08
BGM311	PE20	0,18	0,14	0,00	0,02
BGM311	PE23	0,42	0,51	0,00	0,10
BGM311	PE24	0,67	0,72	0,90	0,75
BGM311	PE28	0,10	0,10	0,11	0,10
BGM311	PE42	0,00	0,03	0,00	0,00
BGM311	PE58	0,64	0,38	0,40	0,20
<b>Média</b>	-	0,45	0,47	0,31	0,31
BGM268	PE07	0,00	0,26	0,00	0,02
BGM268	PE08	0,00	0,36	0,00	0,00
BGM268	PE09	0,00	0,61	0,00	0,00
BGM268	PE15	0,42	0,63	0,20	0,39
BGM268	PE18	0,71	0,82	0,30	0,37
BGM268	PE19	0,56	0,62	0,20	0,04
BGM268	PE27	0,00	0,32	0,00	0,07
BGM268	PE54	0,00	0,41	0,00	0,19
BGM268	PE90	0,10	0,55	0,10	0,07
<b>Média</b>	-	0,20	0,51	0,09	0,13
BGM004	PE08	0,42	0,53	0,60	0,75
BGM004	PE09	0,74	0,71	0,40	0,28
BGM004	PE18	0,72	0,76	0,90	0,92
BGM004	PE27	0,00	0,03	0,00	0,03
BGM004	PA05	0,00	0,44	0,00	0,00
BGM004	PA07	0,44	0,37	0,67	0,39
<b>Média</b>	-	0,39	0,47	0,43	0,40
BGM237	PE18	0,48	0,56	0,11	0,16
BGM237	PE27	0,44	0,5	0,44	0,39
<b>Média</b>	-	0,46	0,53	0,27	0,27

PIC: Conteúdo de Informação Polimórfica, He: heterozigosidade esperada e Ho: heterozigosidade observada.



### Estimativa de tamanho efetivo populacional

Como esperado, o coeficiente de endogamia comportou-se de forma inversa a heterozigosidade observada ( $H_o$ ). O acesso BGM004, para o qual se observou os maiores valores médios de heterozigosidade observada ( $H_o$ ), apresentou coeficiente de endogamia nulo (0,00) e positivo de 0,17, para as amostras 10 e 60 plantas, respectivamente. Por outro lado, o acesso BGM268 exibiu os menores valores médios de  $H_o$  e maiores coeficientes de endogamia, sendo 0,59 e 0,76, respectivamente para amostragem de 10 e 60 plantas (Tabela 4 e 5).

**Tabela 5.** Coeficiente de endogamia médio da amostra ( $\hat{F}$ ) e tamanho efetivo populacional ( $\hat{N}_e$ ) nos quatro acessos estudados, considerando-se amostragem de 10 e 60 indivíduos.

Acessos	Espécie	( $\hat{F}$ )		( $\hat{N}_e$ )	
		n=10	n=60	n=10	n=60
BGM311	<i>P. edulis</i>	0,35	0,34	7,38	44,73
BGM268	<i>P. cincinnata</i>	0,59	0,76	6,30	34,16
BGM004	<i>P. alata</i>	0,00	0,17	10,00	51,08
BGM237	<i>P. setacea</i>	0,44	0,50	6,92	40,08

O tamanho efetivo de populacional ( $\hat{N}_e$ ), estimado para as 10 plantas que representam o acesso em campo, foi de 7,38 para a espécie *P. edulis* (BGM311); 6,30 para *P. cincinnata* (BGM268); 10,00 para *P. alata* (BGM004) e 6,92 na espécie *P. setacea* (BGM237). No entanto, considerando-se a amostragem de 60 plantas, o tamanho efetivo populacional ( $\hat{N}_e$ ) foi de 44,73 para o acesso BGM311 (*P. edulis*); 34,16 para BGM268 (*P. cincinnata*); 51,08 para BGM004 (*P. alata*) e 40,08 para BGM237 (*P. setacea*) (Tabela 05).

### DISCUSSÃO

Apesar dos iniciadores utilizados terem sido desenhados para a espécie *P. edulis* (OLIVEIRA, 2006) e *P. alata* (PENHA, 2008), foi possível promover a

transferibilidade de alguns deles para *P. cincinnata* (BGM268) e *P. setacea* (BGM237), provavelmente entre essas espécies as regiões que flanqueiam os microssatélites para alguns locos estudados são conservados, o que pode indicar baixa divergência evolutiva entre esses locos nas espécies estudadas.

A monofilia do subgênero *Passiflora* foi confirmada por Muschner (2005), que fez uma abrangente análise do gênero, por meio do estudo de regiões do genoma plastidial, mitocondrial e nuclear. Este trabalho também mostrou proximidade filogenética das quatro espécies aqui estudadas, corroborando assim com a idéia de baixa divergência evolutiva. Pádua (2004), ao fazer análises genéticas do gênero *Passiflora*, também constatou proximidade filogenética entre as espécies *P. edulis*, *P. cincinnata*, *P. alata* e *P. setacea*.

Dentre os locos que geraram amplificação, o número de locos polimórficos variou de 40,91% (nove de 22), 35,71% (15 de 42), 23,08% (seis de 26) e 11,11% (dois de 18) para BGM268, BGM311, BGM004 e BGM237 respectivamente. Em outras espécies alógamas um maior polimorfismo foi observado, como: 52,0% em cacau (PUGH et al., 2004), 50,5% em macieira (CELTON et al., 2009) e 46,0% em seringueira (LESPINASSE et al., 2000).

A diversidade genética entre genótipos comerciais de maracujazeiro e entre espécies de *Passifloras* nativas foi estudada por Viana et al. (2003), com uso de marcadores RAPD. Os autores encontraram elevado polimorfismo na diversidade interespecífica, no entanto, o estudo intra-específico revelou baixo polimorfismo entre indivíduos da população de maracujazeiro amarelo, em todos os iniciadores utilizados a amplificação foi muito semelhante, tendo todos, um padrão de bandas semelhante e consistente.

Loss et al. (2006), também utilizaram marcadores RAPD para estudo da diversidade de *P. alata* em diferentes regiões do estado do Espírito Santo. Neste trabalho, a porcentagem de locos polimórficos variou de 57,1% a 22,9%; e a diversidade genética nas populações analisadas variou de 0,09 a 0,15. Estes baixos valores foram atribuídos a baixa capacidade de dispersão dos insetos polinizadores, quando comparado, por exemplo, com plantas polinizadas pelo vento.

Por outro lado, Ganga et al. (2004), ao estudarem a diversidade genética em maracujazeiro amarelo com marcadores fAFLP, encontraram 93,89% de marcas polimórficas, além de alta divergência entre as plantas avaliadas. A

diversidade observada, segundo os autores, pode ser explicada pelo fato de o maracujá ser uma espécie alógama, com presença de um sistema genético de auto-incompatibilidade que favorece a polinização cruzada e, conseqüentemente, o fluxo gênico entre genótipos distintos, inclusive entre espécies.

A grande quantidade de locos monomórficos encontrados, para os quatro acessos estudados, pode ser conseqüência da fixação alélica ocorrida ao longo do processo de conservação do germoplasma. A forma de coleta dos acessos também pode interferir na variabilidade dos acessos conservados, pois para conseguir a máxima representatividade genética durante a coleta, devem-se coletar sementes do maior número possível de plantas genitoras e de preferência em número igual, de cada uma (VENCOVSKY, 1987). No entanto, para os acessos avaliados, depositados no BAG-Maracujá da Embrapa Mandioca e Fruticultura, não existe informação de como estes acessos foram coletados e se foram tomadas medidas adequadas durante a coleta. Um único período de tamanho populacional pequeno é chamado de efeito gargalo de garrafa, e a deriva genética aleatória que acompanha este evento é conhecida como efeito fundador (HARTL e CLARK, 2010). Sendo assim, se a introdução do germoplasma de determinado acesso foi feita com número reduzido de indivíduos, isso pode resultar em grave perda de heterozigosidade.

Porém, considerando que maracujazeiro é uma espécie alógama, espera-se que essa homozigosidade observada pudesse resultar em efeito deletério, como depressão por endogamia relacionada à expressão de genes recessivos. Contudo, observações de campo têm mostrado uma ampla variabilidade para a maioria dos acessos conservados (FREITAS et al., 2011) indicando que a variabilidade dos locos SSR podem não refletir na variabilidade morfológica observada em campo. Nesse contexto, outros grupos também têm notado a baixa variabilidade de locos SSR em maracujazeiro com os observados por Penha (2008), que desenvolveu 111 pares de iniciadores para a espécie *P. alata*, encontrando apenas 15,2% de locos polimórficos. Oliveira et al. (2005) e Pereira (2010) observaram percentagem de polimorfismo de 24,7% para *P. edulis* e 31,9% para *P. alata*, respectivamente. Ao promover o mapeamento genético em progênies de araucária com marcadores AFLP e SSR, Scott et al. (2005) destacaram que, devido ao baixo nível de heterozigosidade existente entre genitores, a criação dos mapas de ligação foi prejudicada. Um dos motivos seria a

baixa taxa de mutação em regiões neutras do genoma, onde os marcadores utilizados no estudo são predominantemente esperados. Segundo Pereira (2010), este fenômeno, descrito por Scott et al. (2005), pode ser uma das causas da dificuldade de obter marcadores codominantes em *Passiflora* sp.

No presente trabalho, o número médio de alelos por loco polimórfico variou de 2,5 a 4,27 nas quatro espécies estudadas. Reis et al. (2011), encontraram valores inferiores, 2,46 e 2,31 alelos por loco microssatélites, respectivamente, em duas populações de progênies resultantes de seleção recorrente em maracujazeiro amarelo. Para espécies alógamas, geralmente é esperado maior número de alelos por loco, por exemplo, para a espécie *Carapa guianensis* foi observado um número médio de 7,3 alelos por loco; sendo que os locos mais polimórficos apresentaram 11 alelos cada (RAPOSO et al., 2007).

No presente trabalho, foi estudada a variabilidade existente dentro de um mesmo acesso, sendo assim, é esperado um menor número de alelos por loco. Somado a isso, o efeito fundador, em virtude da forma de coleta do germoplasma, pode ter colaborado com a redução do número de alelos por loco.

O PIC, descrito por Botstein et al. (1980), é um indicador da qualidade do marcador em estudos genéticos como segregação, identificação de populações e controle de paternidade. A variação observada no valor de PIC para os acessos estudados de 0 a 0,80, é coerente com as observações de Oliveira et al. (2005), que ao avaliarem uma amostra de 43 plantas de 12 diferentes acessos de maracujazeiro amarelo, obtiveram valores de PIC que variaram de 0 a 0,81.

Marcadores com valores de PIC superiores a 0,5 são considerados muito informativos, com valores entre 0,25 e 0,50 medianamente informativos, e com valores inferiores a 0,25, pouco informativos (BOTSTEIN et al., 1980). Segundo essa classificação, observou-se iniciadores altamente informativos, para os acessos BGM311, BGM268 e BGM004 cujos valores de PIC foram maiores que 0,5. No entanto, os dois iniciadores que geraram amplificação polimórfica no acesso BGM237 são medianamente informativos. Dessa forma, os locos mais informativos podem ser utilizados para futuros trabalhos de caracterização molecular e mapeamento genético (Tabela 3).

Os locos polimórficos permitiram identificar perdas alélicas em três dos quatro acessos estudados em decorrência da seleção de 10 plantas para representar o acesso em campo. Por exemplo, na espécie *P. cincinnata*

(BGM268) foram perdidos 43%, ou seja, quase metade dos alelos identificados. Isso indica que, especialmente para aqueles locos que não dispõem de grande riqueza alélica, o aumento da homozigose pode ocorrer em poucos ciclos regenerativos. O efeito amostral ocasiona modificações na variabilidade e perda de alelos no processo, podendo reduzir acentuadamente a variabilidade genética e comprometer ganhos genéticos (HALLAUER et al,1988). Além disso, a perda alélica pode reduzir a capacidade das espécies de responderem a adversidades ambientais em gerações futuras (RAPOSO et al., 2007).

Reis et al. (2011), ao avaliarem o impacto da seleção recorrente em maracujazeiro amarelo, por dois ciclos, encontraram um total de 32 alelos, dos quais apenas dois foram perdidos durante a seleção. Esta perda foi atribuída ao possível efeito amostral dos indivíduos. Furlan et al. (2007), também observaram redução no número de alelos por loco a cada etapa de melhoramento, de 2,35 na população base para 2,25 nas matrizes selecionadas e 1,88 na população melhorada de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*.

No presente trabalho, maior tamanho amostral (n=60) correspondeu, para as espécies de maracujazeiro estudadas uma maior diversidade intraloco. No caso da espécie *P. setacea* (BGM237) apenas dois locos polimórficos foram analisados, isso pode ter contribuído para a não constatação de perda alélica neste genótipo. O uso de um número maior de locos poderá inferir sobre as perdas alélicas que possam estar ocorrendo neste acesso.

A análise das frequências alélicas é de grande importância, pois pode refletir melhor os efeitos aleatórios que a maioria dos parâmetros utilizados no estudo de genética de populações, uma vez que tais parâmetros não refletem diretamente frequências alélicas muito baixas (OLIVEIRA et al., 2002). Nas quatro espécies, a redução no tamanho amostral tornou as populações mais suscetíveis às flutuações amplas nas frequências alélicas, bem como a eventos de perda e fixação de alelos (Figura 4).

Exceto para a amostragem de 10 indivíduos do acesso BGM004, observou-se que os valores de heterozigidade observada foram baixos em relação aos de heterozigidade esperada, isso indica excesso de locos em homozigose e endogamia. A frequência de heterozigotos representa a existência de variabilidade, pois cada indivíduo diplóide pode ter até dois alelos por loco (WEIR, 1996), em que a variabilidade é maior com a maior frequência de heterozigotos.

Semelhantemente aos valores encontrados neste trabalho, Oliveira et al. (2005) obtiveram estimativas médias de  $H_o$  e  $H_e$  de 0,52 e 0,54, respectivamente, ao analisar germoplasma não melhorado de maracujazeiro amarelo com marcadores microssatélites.

### **Estimativa de tamanho efetivo populacional**

Tendo em vista que as espécies de maracujazeiro estudadas são alógamas e auto-incompatíveis, os valores de endogamia observados podem ser decorrentes do acasalamento entre os indivíduos aparentados dentro dos acessos mantidos em campo. A endogamia provoca redução no mérito genético individual nas características produtivas. Portanto, é fundamental monitorar a endogamia nas plantas que representam o acesso em campo, uma vez que, segundo Breda et al. (2004), ela tende a fixar alelos favoráveis, assim como desfavoráveis, em alguns locos.

O tamanho populacional efetivo de uma população real é o número de indivíduos que, em uma população ideal, sofreria a mesma magnitude de deriva genética aleatória que a população real (HARTL e CLARK, 2010). Moraes (1997) ressalta que as estimativas de tamanhos efetivos populacionais são indicadores instantâneos da representatividade genética das amostras. Os acessos que apresentaram menor tamanho efetivo ( $N_e$ ) foram os acessos BGM268 e BGM237, para os quais se observou maiores coeficientes de endogamia, em comparação com as de maior tamanho efetivo. Este resultado é corroborado pelo trabalho de Breda et al. (2004), que por meio de simulações, estimou a variação na endogamia e limite de seleção em populações selecionadas.

Raposo et al. (2007), ao estudarem a diversidade genética de populações de andiroba no Baixo Acre, verificaram que índices de fixação próximos a zero resultaram em maior tamanho efetivo populacional, próximo ao número de indivíduos amostrados. Desta forma, a fixação de locos, observada neste trabalho, produz efeito inverso: a redução do tamanho efetivo populacional.

Apesar dos valores estimados para  $\hat{N}_e$ , observou-se severa perda alélica com redução da amostragem de 60 para 10 plantas. Sendo assim, os efeitos deletérios de se manter coleções com poucos indivíduos deverão ser austeros em longo prazo, devido aos efeitos da deriva genética aleatória.

## CONCLUSÕES

1. Houve alterações significativas no número de alelos e nas frequências alélicas observadas com a seleção de 10 plantas para representar o acesso em campo. Portanto, é indicada a alteração no esquema de conservação adotado, de forma a minimizar o percentual de perda alélica observada, bem como aumentar a eficiência de manutenção da variabilidade das espécies de maracujazeiro.
2. A perda alélica de 30% para *P. edulis* (BGM311), 43% em *P. cincinnata* e 39% para *P. alata*, pode comprometer futuros ganhos genéticos nos programas de melhoramento genético.
3. O tamanho efetivo populacional é inversamente proporcional à endogamia observada. Sendo assim, a estratégia de conservação a ser adotada será diferente para cada espécie.
4. O parâmetro perda alélica, associado à endogamia e tamanho efetivo populacional, devem ser adotados como indicadores da forma mais adequada de conduzir a conservação dos recursos genéticos do maracujazeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. **American Journal of Human Genetics**, v.32, p.314-331, 1980.
- BREDA, F. C.; EUCLYDES, R. F.; PEREIRA, C. S.; TORRES, R. A.; CARNEIRO, P. L. S.; SARMENTO, J. L. R.; FILHO, R. A. T.; MOITA, A. K. F. Endogamia e limite de seleção em populações selecionadas obtidas por simulação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 2017-2025, 2004.
- CELTON, J.M.; TUSTIN, D.S.; CHAGNÉ, D.; GARDINER, S.E. Construction of a dense genetic linkage map for apple rootstocks using SSR developed from *Malus*

EST and *Pyrus* genomic sequences. **Tree Genetics and Genomes**, v.5, n.1, p.93-107, 2009.

CROSSA, J; VENCOVSKY, R. Implication of the variance in effective population size on the genetic conservation of monoecious species. **Theoretical and Applied Genetics**.v.89, p. 936–942, 1994.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, n.1, p.13-15, 1990.

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

FURLAN, R. de A.; MORI, E.S.; TAMBARUSSI, E.V.; MORAES, C.B. de; JESUS, F.A. de; ZIMBACK, L. Estrutura genética de populações de melhoramento de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* por meio de marcadores microssatélites. **Bragantia**, v.66, p.553-563, 2007.

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

HALLAUER, A.R.; RUSSELL, W.A.; LAMKEY, K.R. Corn breeding. In: SPRAGUE, G.F.; DUDLEY, J.W. (Ed.). Corn and corn improvement. 3ed . Madison: **American Society of Agronomy**, p.463-564, 1988.

HARTL, D. L e CLARK, A. G. **Princípios de genética de populações**. 4º ed. Porto Alegre: Artmed, p. 135-137, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Banco de dados agregados. Sistema IBGE de recuperação automática – SIDRA. Disponível



em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=1613&z=t&o=11>. Acesso em 20 de janeiro de 2012.

JESUS, O. N. **Caracterização molecular de acessos de bananeira do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa**. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas). Escola Superior de Agronomia “Luiz de Queiroz”, ESALQ/USP. 137p. 2010.

LESPINASSE, D.; RODIER, G.M.; GRIVET, L.; LCONTE, A.; LEGNATE, H.; SEGUIN, M. A saturated genetic linkage map of rubber tree (*Hevea* spp.) based on RFLP, AFLP, microsatellite and isozymes markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.100, p. 127-138, 2000.

LIMA, M. M. **Competitividade da cadeia produtiva do maracujá na região integrada de desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno-Ride**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2001.

LIU, K.; MUSE, S. V. PowerMarker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis. **Bioinformatics**, v. 21, p. 2128–2129, 2005.

LOSS, A. C. C.; LEITE, Y. L.R.; IÚRI D. LOURO, I. D.; BATITUCCI, M. C. P. Diversidade genética de populações de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) no estado do Espírito Santo, Brasil. **Natureza on line**, v. 4, n. 2, p. 55-61, 2006.

MAY, P.G.; SPEARS, JUNIOR, E.E. Andromonoecy and variation in phenotypic gender of *Passiflora incarnata* (*Passifloraceae*). **American Journal of Botany**, **Gainsville**, v.75, p.1830-1841, 1988.

MANICA, I. Fruticultura tropical: maracujá. São Paulo: **Agronômica Ceres**, p.160. 1981.

MORAES, P. L. R. **Estrutura genética de população de *Cryptocarya moschata* Nees e *Martius ex Nees* (Lauraceae)**. Tese doutorado, Universidade Estadual de São Paulo, Rio Claro, 1997.

MUSCHNER, V.C. **Filogenia molecular, taxas evolutivas, tempo de divergência e herança organelar em *Passiflora* L. (Passifloraceae).** Tese (Doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 80-162pp, 2005.

OLIVEIRA, A.F., CARVALHO, D.; ROSADO, S.C.S. Taxa de cruzamento e sistema reprodutivo de uma população natural de *Copaifera langsdorffii* Desf. na região de Lavras (MG) por meio de isoenzimas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, p.331-338, 2002.

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

OLIVEIRA, E. J. **Desenvolvimento e uso de marcadores microssatélites para construção e integração de mapas genéticos de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.).** 2006. 152 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, Universidade de São Paulo, 2006.

OLIVEIRA, E.J.; PÁDUA, J.G.; ZUCCHI, M.I.; VENCOSKY, R.; VIEIRA, M.L.C. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v.29, p.294-307, 2006.

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

PÁDUA, J. G. **Análises genéticas de espécies do gênero *Passiflora* L. com base em abordagens filogenéticas, morfométricas e em marcadores**

**microssatélites.** Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, p.84, 2004.

PENHA, H.A. **Desenvolvimento de marcadores microssatélites em *Passiflora alata* Curtis.** 2008. 93p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

PEREIRA, G.S. **Desenvolvimento de marcadores SSR, M-AFLP E SNP visando à integração de mapas genético-moleculares de *Passiflora alata* Curtis.** Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo (USP). Piracicaba, p. 57-80, 2010.

PUGHT, T.; FOUET, O.; RISTERUCCI, A.M.; BROTTIER, P.; ABOULADZE, M.; DELETREZ, C.; COURTOIS, B.; CLEMENT, D.; LARMANDE, P.; N’GORAN, J.A.K.; LANAUD, C.A. A new cacao linkage map based on codominant markers: development and integration of 201 new microsatellite and isozymes markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v.108, p.1151-1161, 2004.

RAPOSO, A.; MARTINS, K.; CIAMPI, A. Y.; WADT, L. H. O.; VEASEY, E. A. Diversidade genética de populações de andiroba no Baixo Acre. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 9. p. 1291-1298, 2007.

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

SANTOS, C. A. F.; OLIVEIRA, V. R.; RODRIGUES, M. A.; RIBEIRO, H. L. C. Caracterização molecular de cultivares de cebola com marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p.49-55, 2010.

SATO, G. S.; CHABARIBERY, D.; BESSA, A. A. **Panorama da produção e de mercado do maracujá.** Informações Econômicas, SP., v. 22, n. 6, jun. 1992.

SCOTT, L.J.; SHEPHERD, M.J.; NIKLES, D.G.; HENRY, R.J. Low efficiency of pseudotestcross mapping design was consistent with limited genetic diversity and low heterozygosity in hoop pine (*Araucaria cunninghamii*, Araucariaceae). **Tree Genetics and Genomes**, v.1, p.124-134, 2005.

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

VENCOVSKY, R. **Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasma de espécies alógamas**. Série IPEF, v.35, p.79-84, 1987.

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

WEIR, B.S. **Genetic data analysis II**. Sunderland: Sinauer Associates, 76p, 1996.

## **CAPÍTULO 2**

### **DEFINIÇÃO DE DESCRITORES MORFO-AGRONÔMICOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE MARACUJAZEIRO**

## DEFINIÇÃO DE DESCRITORES MORFO-AGRONÔMICOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE MARACUJAZEIRO AMARELO

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi gerar informações sobre a capacidade discriminatória dos descritores de maracujazeiro, bem como selecionar descritores importantes para caracterização e avaliação do germoplasma de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.). Para isso, foram utilizados 20 descritores quantitativos e oito qualitativos multicategóricos, relacionados a características da planta, folhas, flores e frutos em 24 genótipos de maracujazeiro amarelo. Os descritores quantitativos foram submetidos à análise de componentes principais e a seleção dos descritores foi realizada com base na seleção direta e método de Singh, enquanto os descritores qualitativos foram analisados por correlação. Oito e sete descritores quantitativos foram descartados pela seleção direta e método de Singh, respectivamente. Entretanto, considerando a análise concordante dessas metodologias, quatro destes foram descartados, para maximizar a variação total dos genótipos. Quanto aos descritores qualitativos multicategóricos, dos oito caracteres avaliados, dois foram descartados por estarem correlacionados com outros avaliados. Com isso, a lista de descritores mínimos do maracujazeiro foi constituída por 22 descritores, sendo 16 quantitativos e seis multicategóricos, com alta contribuição para a variação total e baixa correlação com os demais. Ao mesmo tempo em que disponibilizará informações valiosas, este menor número de descritores permitirá a redução na mão-de-obra, tempo e recursos gastos na caracterização de *P. edulis*.

Palavras chave: *Passiflora edulis*, análise multivariada, componente principal, descritores mínimos.

## DEFINITION OF MORPHO-AGRONOMICAL DESCRIPTORS FOR CHARACTERIZATION OF YELLOW PASSION FRUIT

ABSTRACT: The objective of this study was to generate information about the discriminatory effectiveness of the passion fruit descriptors as well as select the most important descriptors for yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) germplasm characterization and evaluation. Twenty quantitative descriptors and eight multicategoric qualitatives, related to characteristics of the plant, leaves, flowers and fruits were evaluated in 24 genotypes of yellow passion fruit. The quantitative descriptors were subjected to the analysis of the principal components and the descriptors selection was based on direct selection and Singh method while qualitative descriptors were analyzed by correlation studies. Eight and seven quantitative descriptors were discarded by the direct selection and Singh method, respectively. However, considering concordant analysis of both methodologies, four descriptors were discarded in order to maximize the total variation of genotypes. Regarding the multicategoric descriptors, from eight characteristics evaluated, two were discarded because they were correlated with other evaluated. Therefore, the list of minimum descriptors of yellow passion fruit consisted of 22 descriptors, being 16 quantitative and six multicategoric with high contribution to the total variance and low correlation with each other. At the same time it will provide valuable information; this smaller number of descriptors allows the reduction in labor, time and resources spent in the *P. edulis* characterization.

Keywords: *Passiflora edulis*, multivariate analysis, main component, minimum descriptors.

## INTRODUÇÃO

O Brasil é apontado como centro de diversidade do gênero *Passiflora*, além de maior produtor mundial desta fruta. A família Passifloraceae possui distribuição pantropical, incluindo cerca de 20 gêneros e 600 espécies. No Brasil, ocorrem cinco gêneros e cerca de 120 espécies. *Passiflora* é o gênero mais comum da família da flora brasileira (SOUZA e LORENZI, 2008).

O maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) é a espécie mais explorada pela comercialização de seus frutos, que possuem elevadas concentrações de sais minerais e vitaminas A e C, podendo ser destinados para o consumo “in natura” ou na fabricação de sucos e doces (RAMOS et al., 2002). Esta fruteira exibe elevado potencial produtivo em regiões tropicais e subtropicais, por apresentar grande diversidade de aptidão edafoclimática (CARVALHO et al., 1999). A produção nacional dessa fruta, em 2010, foi de 920.158 toneladas, cultivados em 62.243 mil ha (14,78 t ha<sup>-1</sup>), sendo 76% produzidos no Nordeste. O estado da Bahia é responsável por 52% da área plantada e 66% da produção brasileira (IBGE, 2012).

Dada a relevância econômica desta espécie, a Embrapa Mandioca e Fruticultura (Cruz das Almas - BA) vem realizando estudos de caracterização e avaliação do germoplasma de maracujazeiro. Esta atividade, além de se constituir importante etapa dos programas de conservação e melhoramento genético, subsidia a seleção de genitores geneticamente mais divergentes, que poderão ser utilizados em intercruzamentos para se obter efeito heterótico na geração de híbridos, além de aumentar a probabilidade de recuperação de segregantes superiores em gerações avançadas.

Nas coleções mantidas em campo, cada planta ou linha é denominada acesso e seu objetivo é manter uma amostra representativa de uma população obtida por coleta ou intercâmbio, sendo responsável pela variação genética. Enquanto o termo descritor refere-se a um atributo ou caráter que se observa ou se mensura nos acessos, discriminando um acesso de outro (VILELA-MORALES et al., 1997). Para que as coleções de germoplasma possam ser efetivamente utilizadas, é necessário que as mesmas sejam perfeitamente caracterizadas.

No caso do maracujazeiro amarelo, uma lista de descritores morfológicos e agrônômicos, proposta pelo Ministério da Agricultura, tem sido utilizada para a



caracterização de acessos de germoplasma da espécie *P. edulis* (BRASIL, 2008). Contudo, o grande número de genótipos a serem caracterizados, bem como o elevado número de observações e mensurações, aumenta os custos de avaliação e o tempo necessário para descrição precisa dos genótipos. Além disso, com o aumento do número de descritores, há uma tendência de que alguns caracteres sejam redundantes, por estarem quase sempre associados a outros caracteres (DAHER et al., 1997). Dessa forma, a eliminação de descritores redundantes seria vantajosa, pois reduziria o trabalho de tomada de dados sem ocasionar redução da precisão da caracterização (PEREIRA et al., 1992; OLIVEIRA et al., 2011).

Técnicas de análises multivariadas, como componentes principais (CRUZ e REGAZZI, 1994), regressão (BEALE et al., 1967) e análise discriminante (MARDIA et al., 1979), são sugeridas para a seleção ou descarte de variáveis. No entanto, tem-se observado na literatura, que o uso combinado de diferentes metodologias estatísticas possibilita a seleção mais precisa dos descritores utilizados (SANTOS et al., 1995; OLIVEIRA et al., 2006) dentre as quais destacam-se a análise de componentes principais e o método de Singh.

Embora a eficiência do uso de componentes principais não tenha sido muito explorada na cultura do maracujazeiro, esta técnica tem sido utilizada com sucesso na seleção de descritores em várias espécies como mamão (OLIVEIRA et al., 2011), cupuaçu (ARAÚJO et al., 2002; ALVES et al., 2003), quiabo (ARIYO, 1993; BISH et al., 1997), cacau (BEKELE et al., 1994) e mandioca (CURY, 1993), e portanto apresenta alto potencial de uso no maracujazeiro. Segundo Cruz et al. (2004), a análise multivariada de componentes principais é um instrumento útil na identificação de descritores com maior conteúdo informativo para caracterização de germoplasma e melhoramento genético, além de fornecer indicação para eliminar os caracteres que pouco contribuem para a variação total disponível. Em adição, o método de Singh (1981) permite mensurar a contribuição relativa de cada característica para a diversidade entre os acessos.

Assim, o objetivo deste trabalho foi gerar informações sobre a capacidade discriminatória dos descritores de maracujazeiro, bem como selecionar descritores importantes para caracterização e avaliação do germoplasma de maracujazeiro amarelo (*P. edulis*), por meio da técnica de componentes principais e do método de Singh.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados 24 genótipos de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) pertencentes ao BAG - Maracujá da Embrapa Mandioca e Fruticultura, a saber: BGM007, BGM017, BGM022, BGM023, BGM034, BGM043, BGM048, BGM049, BGM051, BGM078, BGM079, BGM092, BGM158, BGM168, BGM181, BGM185, BGM188, BGM205, BGM208, BGM222, BGM277, BGM292, BGM311 e BRSGA-I. O BAG foi instalado em Cruz das Almas, BA, Brasil (12°48'38"S e 39°6'26"W), na área Experimental da Embrapa, em delineamento de blocos aumentados. O plantio foi realizado no espaçamento 2,5 m entre fileiras e 5m entre plantas. Todos os tratos culturais foram feitos conforme recomendação técnicas para a cultura.

A avaliação foi realizada com uso de descritores quantitativos (20) e qualitativos multicategóricos (oito) relacionados a características da planta, folhas, flores e frutos (Tabela 1), sendo que 22 destes fazem parte da lista de descritores proposta para o maracujazeiro pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2008), e os demais são empregados na caracterização do germoplasma de maracujá da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Como as variáveis analisadas foram mensuradas em diferentes unidades, foi realizada a padronização, como  $X_j$  ( $j = 1, 2, \dots, p$ ). A diferença das escalas das variáveis quantitativas foi eliminada pelo uso de variáveis reduzidas, conforme:

$Z_{ij} = \frac{X_{ij} - \bar{X}_j}{S(X_j)}$ , em que  $Z_{ij}$  = variável padronizada no indivíduo  $i$ , na característica

$j$ ;  $X_{ij}$  = valor observado no indivíduo  $i$ , na característica  $j$ ;  $\bar{X}_j$  = média estimada da característica  $j$ ; e  $S(X_j)$  = desvio-padrão dos dados da característica  $j$ . Assim, a

matriz de correlação das variáveis padronizadas foi:  $R = \begin{bmatrix} 1 & r_{12} & \Lambda & r_{1p} \\ r_{21} & 1 & \Lambda & r_{2p} \\ M & M & O & M \\ r_{p1} & r_{p2} & \Lambda & 1 \end{bmatrix}$ , sendo:

$$r_{jj'} = r(X_j, X_{j'}) = \text{Cov}(Z_j, Z_{j'}) = \frac{\text{Cov}(X_j, X_{j'})}{\sqrt{\text{Var}(X_j)\text{Var}(X_{j'})}}$$

A seleção dos descritores foi realizada com base na análise de componentes principais e executada com base na média das medidas tomadas

de cada descritor, a partir da matriz de correlação, utilizando-se o programa Genes (Cruz, 2008).

**Tabela 1.** Descritores quantitativos e qualitativos multicategóricos utilizados na caracterização de 24 genótipos de maracujazeiro amarelo (*P. edulis*). Cruz das Almas, BA, 2011.

Parte da planta	Natureza do descritor	Descritor *	Abreviatura
Fruto	Qualitativo	Coloração da polpa	COP
Planta	Qualitativo	Coloração do ramo	CR
Folha	Qualitativo	Limbo foliar: profundidade do sinus	PSF
Folha	Qualitativo	Pecíolo: posição dos nectários	PN
Flor	Qualitativo	Bandeamento nos filamentos da corona	BFC
Flor	Qualitativo	Coloração dos anéis (exceto brancos) da corona	CAC
Flor	Qualitativo	Filamentos da corona	FC
Fruto	Qualitativo	Coloração da casca (epiderme)	CC
Planta	Quantitativo	Número de frutos	NF
Planta	Quantitativo	Produtividade (NF/planta)	PROD
Fruto	Quantitativo	Peso do fruto (g)	PF
Fruto	Quantitativo	Comprimento de frutos (cm)	CF
Fruto	Quantitativo	Diâmetro de frutos (cm)	DF
Fruto	Quantitativo	Espessura da casca (cm)	EC
Fruto	Quantitativo	Peso da casca (g)	PC
Fruto	Quantitativo	Peso da polpa (g)	PP
Fruto	Quantitativo	Teor de sólidos solúveis totais (°Brix)	SST
Fruto	Quantitativo	Acidez total titulável (g de ácido cítrico/100g suco)	ATT
Fruto	Quantitativo	Razão entre SST e ATT	RATIO
Folha	Quantitativo	Comprimento do limbo foliar (cm)	CLF
Folha	Quantitativo	Largura máxima do limbo foliar (cm)	LLF
Folha	Quantitativo	Comprimento do pecíolo (cm)	CP
Flor	Quantitativo	Comprimento da bráctea (cm)	CB
Flor	Quantitativo	Comprimento da sépala (cm)	CS
Flor	Quantitativo	Largura da sépala (cm)	LS
Flor	Quantitativo	Diâmetro da corona (cm)	DC
Flor	Quantitativo	Largura dos anéis coloridos nos filamentos da corona (cm)	LANC
Fruto	Quantitativo	Número de sementes por fruto	NS

\* g: grama e cm: centímetro.

Os componentes principais foram obtidos a partir da matriz de correlação com base nas seguintes expressões:  $|R - \lambda I| = 0$ , que fornece os autovalores  $\lambda_1, \lambda_2, K, \lambda_p$  e  $|R - \lambda_i I| a_i = \phi$ , que fornece os autovetores  $a_1, a_2, K, a_p$ , em que R = matriz de correlação entre as características avaliadas;  $\lambda_i$  = autovalores da Matriz R;  $a_i$  = autovetor associado ao autovalor  $\lambda_i$ ; I = matriz identidade de ordem p (p = número de características); e  $\phi$  = vetor nulo, de dimensão p x 1. Os autovetores  $a_i$  foram normalizados para se obter  $a_i^*$  tal que  $a_i^* \cdot a_i^* = 1$  para  $i=1,2,K, p$  e  $a_i^* \cdot a_j^* = 0$  para  $i \neq j$ .

A importância relativa de um componente principal foi avaliada pela percentagem de variância total explicada, ou seja, a percentagem de seu autovalor em relação ao total dos autovalores dos outros componentes, ou a percentagem de seu autovalor em relação ao traço da matriz R, que é dado por:

$$CP_j = \frac{V\hat{a}r(CP_j)}{\sum_{j=1}^p V\hat{a}r(CP_j)} \cdot 100 = \frac{\lambda_j}{\sum_{j=1}^p \lambda_j} \cdot 100 = \frac{\lambda_j}{\text{traço}(R)} \cdot 100$$

Para descarte dos descritores quantitativos menos informativos utilizou-se um método com base na importância relativa das características (SINGH, 1981) e um segundo com base na seleção direta (JOLLIFFE, 1973), sendo indicado para descarte todo descritor que apresentou maior coeficiente de ponderação em valor absoluto (autovetor), no componente principal de autovalor menor, partindo do último componente até aquele cujo autovalor não excedeu 0,70. O descarte de um descritor final foi realizado com base na informação obtida nos dois procedimentos.

Após descarte dos descritores quantitativos concordantes em ambas as metodologias, a correlação de Pearson foi utilizada para verificar a eficiência do descarte, uma vez que os caracteres descartados devem estar correlacionados a outros selecionados.

Para os descritores multicategóricos o descarte foi realizado com base nos coeficientes de correlação de Pearson entre todos os descritores qualitativos. A significância do coeficiente de correlação foi verificada pelo teste de *t*. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do Programa Genes (CRUZ, 2008).

## RESULTADOS

As estimativas dos autovalores associados aos componentes principais e suas respectivas variâncias relativas e acumuladas, explicam 57,13% da variação total nos dois primeiros componentes. A maior parte da variação foi distribuída até o 10º componente principal, correspondendo a 95,31% da variação relativa observada (Tabela 2).

**Tabela 2.** Estimativa dos autovalores associados aos componentes principais e suas variâncias relativas e acumuladas, obtidas para os 20 descritores quantitativos avaliados em 24 genótipos de maracujazeiro (*P. edulis*).

Componente	$\lambda$	$\lambda$ (%)	$\lambda$ (%) acumulada	Componente	$\lambda$	$\lambda$ (%)	$\lambda$ (%) acumulada
1	7,36	36,82	36,82	11	0,39	1,96	97,28
2	4,06	20,30	57,13	12	0,21	1,03	98,30
3	2,01	10,04	67,17	13	0,13	0,66	98,96
4	1,41	7,05	74,21	14	0,10	0,49	99,45
5	1,01	5,03	79,24	15	0,05	0,25	99,69
6	0,88	4,42	83,66	16	0,03	0,13	99,83
7	0,79	3,93	87,59	17	0,02	0,09	99,92
8	0,64	3,20	90,79	18	0,01	0,06	99,97
9	0,47	2,35	93,13	19	0,00	0,02	100,00
10	0,44	2,18	95,31	20	0,00	0,00	100,00

O primeiro componente, que explicou 36,82% da variação total, teve como descritores de maior peso NF, PP, DF, LLF e CB. O segundo componente, que explicou 20,30% está associado aos descritores PROD, PP, CB, PC E PF. E o terceiro componente, que explicou 10,04% da variação total, teve como descritores de maior peso: NS, PROD, LLF, LANC e PP (Tabela 2).

Quando se avalia o descarte preliminar efetuado pela seleção direta, oito dos 20 descritores (40%) que apresentaram os maiores coeficientes de ponderação, em valor absoluto, a partir do último componente principal são passíveis de descarte, em razão do número de componentes que apresentaram autovalores menores que 0,7 (Tabela 2).

O primeiro carácter indicado para descarte, com uso da seleção direta, foi CP, apresentando o maior coeficiente de ponderação em módulo com o último componente principal (0,004), seguido pelos caracteres CF,

SST, EC, LLF, ATT, RATIO e CB, cujos valores ocorreram nos componentes principais 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14 e 13, respectivamente (Tabela 3). Assim, a sequência de descarte sugerida seria: CP, CF, SST, EC, LLF, ATT, RATIO e CB.

Utilizando o método de Singh (1981) observou-se valores de contribuição relativa variando de 0,36 a 71,08%. As características com maiores contribuições relativas para a diversidade dos acessos de maracujazeiro (variando de 2,48 a 71,08%) foram NF, PROD, CF e DF. As características LANC, PC, PF, ATT, RATIO, PP, CLF, LS e CP apresentaram contribuições intermediárias, com estimativas entre 1,01 a 1,98% da variação total. Adicionalmente, de acordo com este critério, os descritores LLF, CS, DC, EC, SST, CB e NS seriam inicialmente indicados para descarte por apresentaram contribuições individuais menores do que 1,0% da variação total e assim, passíveis de descarte (Tabela 4).

Com base na análise simultânea, observou-se que quatro descritores foram indicados para descarte com base em ambas as metodologias (EC, SST, LLF e CB) (Tabela 5).

A combinação de ambos os métodos permitiu uma redução de 20% dos descritores quantitativos a serem avaliados para a completa descrição dos genótipos de maracujazeiro analisados.

Empregando correlação de Pearson entre os descritores selecionados e descartados fica evidente a eficiência do descarte já que os quatro descritores quantitativos indicados para o descarte final apresentam nove (LLF), seis (EC), quatro (SST) e duas (CB) correlações positivas com os descritores selecionados (Tabela 6).

**Tabela 3.** Estimativas dos coeficientes de ponderação associados aos componentes principais com autovalores inferiores a 0,7 e identificação dos descritores a serem descartados em cada componente (em negrito), pela seleção direta nos 24 genótipos de maracujazeiro (*P. edulis*). Cruz das Almas, BA, 2011.

Descritor*	Componentes principais							
	20	19	18	17	16	15	14	13
<b>NF</b>	0,0000	0,1823	-0,0912	-0,3596	-0,1904	-0,0729	0,0832	0,0080
<b>PROD</b>	0,0005	0,9215	0,0505	-0,4846	-0,1294	0,0863	0,2452	0,1118
<b>PF</b>	-0,0007	2,5346	-1,3008	-2,0186	-1,3514	-0,6582	-0,1410	0,0679

Continua...

**Tabela 3.** Continuação.

<b>CF</b>	-0,0006	<b>3,1036</b>						
<b>DF</b>	-0,0017	1,8747	1,1401	2,4204	1,0597	0,0961	-0,8419	-0,1606
<b>EC</b>	0,0019	-0,6275	1,0469	<b>3,3252</b>				
<b>PC</b>	0,0008	0,0717	-1,5283	-0,8823	0,9725	0,4605	0,6107	-0,0444
<b>PP</b>	0,0017	-0,1792	0,6734	-0,2235	0,4791	0,0080	-0,0495	-0,1043
<b>SST</b>	0,0003	1,4836	<b>2,0690</b>					
<b>ATT</b>	0,0004	-0,8009	1,0300	1,4319	-0,3320	<b>-2,0591</b>		
<b>RATIO</b>	-0,0026	0,8353	-0,8214	2,6263	-0,6395	-0,6444	<b>1,1037</b>	
<b>CLF</b>	0,0043	1,5564	-0,1627	0,8915	-0,2609	-0,5016	-0,1692	-0,1299
<b>LLF</b>	0,0009	-0,8126	0,4100	2,4763	<b>-2,1138</b>			
<b>CP</b>	<b>0,0044</b>							
<b>CB</b>	-0,0002	-0,1958	1,2021	-0,6363	-0,3596	-0,0679	0,3017	<b>-0,2316</b>
<b>CS</b>	0,0019	0,6180	0,1692	-0,9447	-0,0960	0,8094	-0,1785	0,0841
<b>LS</b>	-0,0014	-0,4676	-1,1551	0,7077	1,2106	-0,8804	-0,4527	0,1644
<b>DC</b>	0,0030	0,1315	0,6754	-0,9874	0,2916	-0,5406	0,2619	0,1904
<b>LANC</b>	-0,0010	-0,4462	0,3736	-1,9483	0,6232	-0,0855	-0,1960	-0,1507
<b>NS</b>	-0,0005	-0,2972	-0,1697	-0,1581	0,4604	-0,5434	0,0441	0,0552

\* NF = Número de frutos; PROD = produtividade; PF = peso do fruto; CF = comprimento do fruto; DF = diâmetro do fruto; EC = espessura da casca; PC = peso da casca; PP = peso da polpa; SST = Teor de sólidos solúveis totais; ATT = Acidez total titulável, expressa em gramas de ácido cítrico por 100 g; RATIO = ratio; CLF = comprimento do limbo foliar; LLF = largura do limbo foliar; CP = comprimento do pecíolo; CB = comprimento da bráctea; CS = comprimento da sépala; LS = largura da sépala; DC = diâmetro da coroa; LANC = largura dos anéis coloridos nos filamentos da coroa; NS = número de sementes por fruto.

**Tabela 4.** Contribuição relativa de 20 descritores, avaliadas em 24 genótipos de maracujazeiro (*P. edulis*) pertencentes ao Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Mandioca e Fruticultura, com base no método de Singh (1981).

<b>Descritor*</b>	<b>S,j</b>	<b>%</b>	<b>Descritor</b>	<b>S,j</b>	<b>%</b>
NF	36231,07	71,08	RATIO	699,21	1,37
PROD	2932,79	5,75	CLF	560,46	1,10
PF	866,59	1,70	LLF	498,05	0,98
CF	1578,47	3,10	CP	516,41	1,01
DF	1268,63	2,49	CB	272,02	0,53
EC	346,47	0,68	CS	492,55	0,97
PC	866,64	1,70	LS	544,64	1,07
PP	635,05	1,25	DC	372,26	0,73
SST	332,13	0,65	LANC	1007,79	1,98
ATT	769,45	1,51	NS	182,15	0,36

\* NF = Número de frutos; PROD = produtividade; PF = peso do fruto; CF = comprimento do fruto; DF = diâmetro do fruto; EC = espessura da casca ; PC = peso da casca; PP = peso da polpa; SST = Teor de sólidos solúveis totais; ATT = Acidez total titulável, expressa em gramas de ácido cítrico por 100 g; RATIO = ratio; CLF = comprimento do limbo foliar; LLF = largura do limbo foliar; CP = comprimento do pecíolo; CB =

comprimento da bráctea; CS = comprimento da sépala; LS = largura da sépala; DC = diâmetro da coroa; LANC = largura dos anéis coloridos nos filamentos da coroa; NS = número de sementes por fruto.

**Tabela 5.** Descritores pré-selecionados nos procedimentos de seleção direta e seleção com base no método de Singh (1981), da análise de 20 descritores quantitativos em 24 genótipos de maracujazeiro amarelo (*P. edulis*).

Descritor <sup>1</sup>	Pré-selecionado <sup>2</sup>		Selecionados	Descritor <sup>1</sup>	Pré-selecionado <sup>2</sup>		Selecionados
	Método Singh	Seleção direta			Método Singh	Seleção direta	
NF	S	S	S	RATIO	S	D(7)	S
PROD	S	S	S	CLF	S	S	S
PF	S	S	S	LLF	D(7)	D(5)	D
CF	S	D(2)	S	CP	S	D(1)	S
DF	S	S	S	CB	D(2)	D(8)	D
EC	D(4)	D(4)	D	CS	D(6)	S	S
PC	S	S	S	LS	S	S	S
PP	S	S	S	DC	D(5)	S	S
SST	D(3)	D(3)	D	LANC	S	S	S
ATT	S	D(6)	S	NS	D(1)	S	S

NF = Número de frutos; PROD = produtividade; PF = peso do fruto; CF = comprimento do fruto; DF = diâmetro do fruto; EC = espessura da casca; PC = peso da casca; PP = peso da polpa; SST = Teor de sólidos solúveis totais; ATT = Acidez total titulável, expressa em gramas de ácido cítrico por 100 g; RATIO = ratio; CLF = comprimento do limbo foliar; LLF = largura do limbo foliar; CP = comprimento do pecíolo; CB = comprimento da bráctea; CS = comprimento da sépala; LS = largura da sépala; DC = diâmetro da coroa; LANC = largura dos anéis coloridos nos filamentos da coroa; NS = número de sementes por fruto. <sup>(2)</sup> Os números entre parênteses indicam a ordem de descarte; S = selecionados, D = descartados.

Dessa forma, foram selecionados como descritores mínimos para maracujazeiro dezesseis caracteres quantitativos: número de frutos (NF), produtividade (PROD), peso do fruto (PF), comprimento do fruto (CF), diâmetro do fruto (DF), peso da casca (PC), peso da polpa (PP), acidez titulável (ATT), ratio (RATIO), comprimento do limbo foliar (CLF), comprimento do pecíolo (CP), comprimento da sépala (CS), largura da sépala (LS), diâmetro da coroa (DC), largura dos anéis coloridos nos filamentos da coroa (LANC) e número de sementes por fruto (NS).

Com relação aos oito descritores qualitativos multicategóricos (morfológicos) avaliados, os genótipos foram divididos em duas (CR, PSF, PN, BFC e FC), três (COP e CC) e quatro classes (CAC) (Tabela 7). A análise de correlação feita entre todos os descritores qualitativos (Tabela 8) indicou que COP e PN apresentaram respectivamente, duas e três correlações positivas com outros descritores, sendo assim, estes dois caracteres foram indicados para



descarte (Tabela 9). Os descritores CR, PSF, BFC, CAC, FC e CC foram selecionados para compor a lista final de descritores para o maracujazeiro (Tabela 9).

**Tabela 6.** Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre os descritores quantitativos selecionados e os descartados, avaliados em 24 genótipos de maracujazeiro amarelo (*P. edulis*). Cruz das Almas, BA, 2011.

Selecionados	Descartados			
	EC	SST	LLF	CB
NF	0,06	0,34	0,11	-0,29
PROD	0,51*	0,55**	0,53**	-0,07
PF	0,57**	0,30	0,54**	0,34
CF	0,40*	0,27	0,53**	0,26
DF	0,69**	0,37	0,61**	0,21
PC	0,64**	0,34	0,53**	0,24
PP	0,34	0,21	0,46*	0,41*
ATT	0,28	0,02	-0,37	-0,05
RATIO	-0,38	-0,38	-0,37	0,11
CLF	0,45*	0,66**	0,89**	0,00
CP	0,35	0,22	0,55**	0,08
CS	-0,39	-0,41*	-0,30	0,61**
LS	-0,15	-0,17	-0,17	0,38
DC	-0,01	-0,25	-0,06	0,21
LANC	0,32	0,53**	0,53**	-0,07
NS	0,30	0,11	0,33	0,13

\* e \*\* = significativos a 5 e 1%, respectivamente pelo teste *t*. Descritores: NF = Número de frutos; PROD = produtividade; PF = peso do fruto; CF = comprimento do fruto; DF = diâmetro do fruto; EC = espessura da casca; PC = peso da casca; PP = peso da polpa; SST = Teor de sólidos solúveis totais; ATT= Acidez total titulável, expressa em gramas de ácido cítrico por 100 g; RATIO = ratio; CLF = comprimento do limbo foliar; LLF = largura do limbo foliar; CP = comprimento do pecíolo; CB = comprimento da bráctea; CS = comprimento da sépala; LS = largura da sépala; DC = diâmetro da coroa; LANC = largura dos anéis coloridos nos filamentos da coroa; NS = número de sementes por fruto.

**Tabela 7.** Distribuição de classes (%) observadas em relação a descritores qualitativos, avaliados em 24 genótipos de maracujazeiro. Cruz das Almas, BA, 2011.

Descritor	Classes						
	1	2	3	4	5	6	7
COP	4,17	62,5	33,33	-	-	-	-
CR	-	37,5	62,50	-	-	-	-
PSF	-	-	-	-	4,17	-	95,83
PN	91,67	8,33	-	-	-	-	-
BFC	95,83	4,17	-	-	-	-	-
CAC	-	-	4,17	4,17	4,17	87,5	-
FC	95,83	4,17	-	-	-	-	-
CC	8,33	75	1,67	-	-	-	-

COP: Coloração da polpa; CR: Coloração do ramo; PSF: posição do sinus (folha); BFC: Bandeamento nos filamentos da coroa; CAC: Coloração dos anéis (exceto branco) da coroa; FC: Filamentos da coroa; CC: Coloração da casca e PN: posição dos nectários.

**Tabela 8.** Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre todos os descritores qualitativos, avaliados em 24 genótipos de maracujazeiro. Cruz das Almas, BA, 2011.

Descritores	COP	CR	PSF	PN	BFC	CAC	FC	CC
<b>COP</b>	-	-0,06	-0,27	-0,44*	-0,50*	0,29	-0,50*	0,28
<b>CR</b>		-	-0,16	0,23	0,16	-0,27	0,16	0,13
<b>PSF</b>			-	0,63	0,43	-0,72	0,43	0,35
<b>PN</b>				-	0,69**	-0,73**	0,69**	-0,36
<b>BFC</b>					-	-0,22	1,00	-0,46*
<b>CAC</b>						-	-0,22	-0,59
<b>FC</b>							-	-0,46*
<b>CC</b>								-

\* e \*\* = significativos a 5 e 1%, respectivamente, pelo teste *t*. Descritores: COP: Coloração da polpa; CR: Coloração do ramo; PSF: profundidade do sinus (folha); BFC: Bandeamento nos filamentos da coroa; CAC: Coloração dos anéis (exceto branco) da coroa; FC: Filamentos da coroa; CC: Coloração da casca e PN: posição dos nectários.

**Tabela 9.** Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre os descritores qualitativos selecionados e os descartados, avaliados em 24 genótipos de maracujazeiro. Cruz das Almas, BA, 2011.

		Selecionados				
Descartados	CR	PSF	BFC	CAC	FC	CC
COP	-0,60	-0,27	-0,50*	0,29	-0,50*	0,38
PN	0,23	0,06	0,69**	-0,73**	0,69**	-0,36

\* e \*\* = significativos a 5 e 1%, respectivamente, pelo teste *t*. Descritores: COP: Coloração da polpa; CR: Coloração do ramo; PSF: profundidade do sinus (folha); BFC: Bandeamento nos filamentos da coroa; CAC: Coloração dos anéis (exceto branco) da coroa; FC: Filamentos da coroa; CC: Coloração da casca e PN: posição dos nectários.

## DISCUSSÃO

O estabelecimento de descritores mínimos para maracujazeiro surge da necessidade de otimizar a caracterização de genótipos, uma vez um número grande de descritores acarreta aumento nos custos e tempo gasto na descrição. Aliado a isso, a determinação das diferenças genéticas é importante quando se deseja caracterizar materiais com o propósito de registro ou proteção de cultivares. Dentre as metodologias para estabelecimento de descritores mínimo, destaca-se o uso de análise de componentes principais e método de Singh.

As estimativas dos autovalores associados aos componentes principais e suas respectivas variâncias relativas e acumuladas explicaram 57,13% da variação total para os dois primeiros componentes (CP1 e CP2), e o restante ficou distribuído até o décimo componente, onde a variação atingiu 95,31% da variação total disponível na coleção de germoplasma. Porcentual próximo ao observado neste trabalho foi registrado por Oliveira et al. (2011) e Martel (2003), que na análise dos dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2), obtiveram respectivamente, valores de 52,09% ao definir descritores morfo-agronômicos para caracterização de cultivares de mamoeiro (*Carica papaya* L.) e de 59,2% ao utilizar estatística multivariada na discriminação de raças amazônicas de pupunheiras (*Bactris gasipaes* Kunth). Por outro lado, ao realizar a seleção de descritores para caracterização de germoplasma de açaizeiro, Oliveira et al. (2006), obtiveram valor inferior, com a explicação de 35,8% da variação total nos dois primeiros componentes principais.

Segundo Barros (1991) e Pereira et al. (1992), a distribuição da variância está associada à natureza e ao número de caracteres empregados na análise, estando concentrada nos primeiros componentes, apenas quando se avaliam poucos caracteres de interesse agrônomo ou de um mesmo grupo (planta, floração, frutos e agrônômicos).

A eliminação por seleção direta, de oito dos 20 descritores quantitativos, foi possível porque variáveis altamente correlacionadas com os componentes principais de menor variância representam variação praticamente insignificante. Segundo Daher et al. (1997), a técnica dos componentes principais tem a vantagem de avaliar a importância de cada caráter estudado sobre a variação total disponível entre os acessos avaliados, possibilitando o descarte dos caracteres menos discriminantes, por já estarem correlacionados com outras variáveis ou pela sua invariância.

Utilizando este mesmo critério de descarte, Oliveira et al. (2006) obteve resultado semelhante: efetuou o descarte preliminar de 18 dos 28 (64%) descritores morfoagronômicos utilizados para caracterização de germoplasma de açaizeiro. Das oito características indicadas para descarte preliminar no maracujazeiro pela seleção direta, cinco são caracteres de frutos (CF, SST, EC, ATT e RATIO), duas de folha (CP e LLF) e um de flor (CB). No entanto,

considerando-se que o fruto é a parte de interesse comercial do maracujazeiro, parece drástico adotar o descarte de cinco características do fruto.

Por outro lado, utilizando o método de Singh observou que a os caracteres que mais contribuíram para a diversidade dos acessos foram o número de frutos, produtividade, comprimento e diâmetro dos frutos, enquanto sete caracteres, sendo três relacionados à flor (CS, DC e CB), três ao fruto (EC, SST e NS) e uma a folha (LLF) foram sugeridos para descarte em virtude da baixa contribuição (4,90%) na diversidade total. Desta forma, neste segundo método, as características recomendadas para descarte possuem uma melhor distribuição em relação às partes da planta, isso ameniza o descarte de cinco descritores relacionados ao fruto, conforme indicado pela seleção direta.

De maneira geral, houve divergência de informações entre as duas metodologias haja vista que na análise de componentes foram indicados para descarte oito caracteres contra sete da análise de Singh. Dessa forma, visando reduzir inconsistências na eliminação de descritores, é comum a adoção de dois procedimentos para indicar os descritores de maior relevância. Por exemplo, Oliveira (2006) empregaram a análise de componentes principais e a seleção com reanálise para definir descritores morfoagronômicos, para açaizeiro. Santos et al. (1995) também empregaram técnicas de análise de componentes principais e análise de regressão múltipla para a seleção dos descritores discriminantes ou explicativos da produção de grãos de guandu.

No presente estudo foram concordantes em ambas as análises quatro descritores (20% das características foram descartados), sendo dois foram relacionados ao fruto (espessura da casca-EC e sólido solúveis totais-SST), um a folha (largura da folha-LLF) e um da flor (comprimento da bráctea -CB). Sendo assim, o uso conjunto da seleção direta e método de Singh reduzem erros e atenuam a drasticidade do descarte. Percentuais de descarte próximos também foram encontrados por Oliveira et al. (2006), que indicaram o descarte de 21,43% dos caracteres utilizados na diferenciação do germoplasma de açaí e Martel et al. (2003), que eliminaram 33,33% dos descritores morfológicos empregados em acessos de pupunheira. Oliveira et al. (2011), empregando os mesmos critérios de seleção direta e método de Singh, indicou a redução de 40% dos descritores a serem avaliados para a caracterização de mamoeiro. Adicionalmente, Pinto et al.

(2010), estudando a contribuição de 18 descritores morfológicos em guariroba (*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.), descartaram 55% dos descritores.

Vale salientar que descritores de grande importância nos programas de melhoramento genético, a exemplo da espessura da casca e teor de sólidos solúveis também foram descartados das análises, porém sem perda de informação já que apresentaram correlação com no mínimo outros dois caracteres selecionados. Fato semelhante foi observado por Oliveira et al. (2006), onde foram descartados quatro caracteres (peso do fruto, diâmetro transversal do fruto, peso de frutos por cacho e produção total de frutos), relevantes para avaliação e seleção de açazeiro, porém fortemente associados com outros caracteres estudados, havendo assim baixa perda de informação.

Por outro lado, os 16 caracteres quantitativos selecionados (NF, PROD, PF, CF, DF, PC, PP, ATT, RATIO, CLF, CP, CS, LS, DC, LANC e NS) serão de grande importância para a caracterização de germoplasma de maracujá (*P. edulis*) e devem compor a lista de descritores mínimos para esta espécie, a qual deve ser complementada por caracteres qualitativos.

Além dos descritores quantitativos, existem também os qualitativos multicatégoricos que são de natureza simples e facilmente mensurável por uma escala de notas previamente estabelecida. Dos oito caracteres avaliados, dois (25%) foram descartados por estarem correlacionados com outros avaliados. Oliveira et al. (2011), também por meio da análise da correlação de Pearson, descartou oito (25%) dentre 21 descritores multicatégoricos utilizados na caracterização de mamoeiro.

A lista dos 22 descritores selecionados (16 quantitativos e seis multicatégoricos) neste trabalho deverá representar um instrumento importante na caracterização do germoplasma de maracujazeiro e na mensuração da variabilidade existente em coleções, disponibilizando informações para programas de conservação e melhoramento genético. Ao mesmo tempo em que disponibilizará informações valiosas, este menor número de descritores permitirá a redução na mão-de-obra, tempo e recursos gastos na caracterização de *P. edulis*.

## CONCLUSÕES

1. O descarte de quatro descritores quantitativos, e dois qualitativos, não ocasiona perdas significativas de informação, minimiza custos e dinamiza a caracterização do germoplasma de maracujá (*P. edulis*).
2. A lista de descritores mínimos para a caracterização de genótipos melhorados de maracujazeiro amarelo pode ser constituída por 16 descritores quantitativos e seis qualitativos multicategóricos.
3. Os 16 descritores podem aperfeiçoar os trabalhos de avaliação, registro e proteção de variedades e híbridos de maracujazeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, R.M.; GARCIA, A.A.F.; CRUZ, E.D.; FIGUEIRA, A. Seleção de descritores botânico-agronômicos para caracterização de germoplasma de cupuaçuzeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.807-818, 2003.

ARAÚJO, D.G. de; CARVALHO, S.P.; ALVES, R.M. Divergência genética entre clones de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Willd ex Spreng Schum). **Ciência e Agrotecnologia**, v.26, p.13-21, 2002.

ARIYO, O.J. Genetic diversity in West African okra (*Abelmoschus caillei*) (A. chev.) Stels - Multivariate analysis of morphological and agronomic characteristics. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 40, p. 25-32, 1993.

BARROS, L. de M. **Caracterização morfológica e isoenzimática do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), tipos comum e anão-precoce, por meio de técnicas multivariadas.** 256p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1991.

BEALE, E.M.; KENDALL, M.G.; MANN, D.W. The discarding of variables in multivariate analysis. **Biometrika**, v.54, p.357-366, 1967.

BEKELE, F.L.; KENNEDY, A.J.; McDAVID, C.; LAUCKNER, F.B.; BEKELE, I. Numerical taxonomic studies on cacao (*Theobroma cacao* L.) in Trinidad. **Euphytica**, v.75, p. 231-240, 1994.

BISHT, I.S.; PATEL, D.P.; NAHAJAN, R.K. Classification of genetic diversity in *Abelmoschus tuberculatus* germplasm collection using morphometric data. **Annals of Applied Biology**, v.130, p. 325-335, 1997.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de maracujá (*Passiflora edulis* Sims).** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 18 dezembro de 2008. Seção 01, pag. 49-50

CARVALHO, A. J. C. de.; MONERAT, P. H.; MARTINS, D. P.; BERNARDO, S. Produtividade e qualidade do maracujazeiro amarelo em resposta à adubação potássica sob lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.21, p.333-337, 1999.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Viçosa: UFV, Imp. Univ., 1994.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, J.A.; CARNEIRO, P.C.S. Divergência genética. In: CRUZ, C.D.; REGAZZI, J.A.; CARNEIRO, P.C.S. (Ed.). **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Viçosa: UFV, v.1, p.377-413, 2004.

CRUZ, C. D. **Programa Genes - Diversidade Genética.** 1. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, v.1, p.278, 2008.

CURY, R. **Dinâmica evolutiva e caracterização de germoplasma de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) na agricultura autóctone do Sul do Estado de**

**São Paulo.** 103p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1993.

DAHER, R.F.; MORAES, C.F.; CRUZ, C.D.; PEREIRA, A.V.; XAVIER, D.F. Seleção de caracteres morfológicos discriminantes em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, p.265-270, 1997.

DOYLE, J. J. T.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12, p.13-18, 1990.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Banco de dados agregados. Sistema IBGE de recuperação automática – SIDRA. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=1613&z=t&o=11>. Acesso em 20 de janeiro de 2012.

JOLLIFFE, I.T. Discarding variables in a principal component analysis; II. Real data. **Applied Statistics**, v.22, p.21-31, 1973.

MARDIA, R.F.; KENT, J.T.; BIBBY, J.M. **Multivariate analysis**. (S.I): Academic Press, p. 521, 1979.

MARTEL, J.H.I.; FERRAUDO, A.S.; MÔRO, J.R.; PERECIN, D. Estatística multivariada na discriminação de raças amazônicas de pupunheiras (*Bactris gasipaes* Kunth.) em Manaus (Brasil). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, p.115-118, 2003.

OLIVEIRA, M.S.P.; FERREIRA, D.F.; SANTOS, J.B. dos. Seleção de descritores para caracterização de germoplasma de açaizeiro para produção de frutos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.1133-1140, 2006.

OLIVEIRA, E.J; DIAS, N. L. P; DANTAS, J.L.L. Selection of morpho-agronomic descriptors for characterization of papaya cultivars. **Euphytica**, 2011. Disponível



em: <http://www.springerlink.com/content/c428ut432x37174u/>. Acesso em 01 fevereiro 2011.

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

PINTO, J.F.N.; REIS, E.F.; FALEIRO, F.G.; BARBOSA, E.C.C.; NUNES, H.F.; JEEDER FERNANDO NAVES PINTO, J.F.N. Seleção de descritores vegetativos para caracterização de acessos de guariroba (*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, p.832-840, 2010.

RAMOS, J. D.; PIO, R.; LOPES, P. J. N. **Recomendações básicas para a cultura do maracujazeiro-azedo**. Lavras: UFLA. (UFLA. Boletim de Extensão, 101). P.36, 2002.

SANTOS, C.A.F.; OLIVEIRA, C.A.V., MENEZES, E.A. Seleção de descritores na caracterização e avaliação preliminar de germoplasma de guandu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, p.917-975, 1995.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, v.41, p.237-245, 1981.

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

VILELA-MORALES, E.A.; VALOIS, A.C.C.; NASS, L.L. **Recursos genéticos vegetales**. Brasília: Embrapa-SPI; Embrapa-Cenargen, p. 78, 1997.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a redução da amostragem, foi observada grande perda alélica e maior tendência à fixação. Além disso, coeficientes de endogamia elevados reduzem a representatividade da amostra, diminuindo assim o tamanho efetivo populacional. Desta forma, sugere-se que seja realizada análises genéticas com marcadores microsatélites para definir o grau de endogamia dos acessos que representam a coleção do BAG-Maracujá da Embrapa Mandioca e Fruticultura, de forma que aqueles que apresentam maiores coeficiente de endogamia sejam representados em campo por um maior número de plantas, a fim de minimizar os efeitos da deriva genética aleatória.

A introdução de germoplasma deve ser periódica, visando assim enriquecer a base genética disponível e, ao mesmo tempo, fornecer alelos à medida que estes são perdidos nos ciclos de regeneração do germoplasma. No entanto, cuidados também devem ser adotados no momento da coleta, de forma que o material introduzido seja representativo quanto à variabilidade genética nele contido. No presente estudo, a forma de coleta e introdução dos acessos pode ser uma das possíveis causas da grande quantidade de locos fixados e baixa riqueza alélica. Desta forma, é apropriado seguir as recomendações de Vencovsky (1987), de que se devem coletar sementes do maior número possível de plantas genitoras e de preferência em número igual, de cada uma.

O presente trabalho, que estudou quatro dentre 220 acessos depositados no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura, foi suficiente para indicar as diferenças existentes entre diferentes espécies, no que diz respeito a número de alelos, coeficiente de endogamia, tamanho efetivo populacional e taxas de perda e fixação alélica. Sendo assim, fica evidente que a forma de conservar o germoplasma deve ser diferenciada, variando em virtude dos parâmetros genéticos observados.

No que diz respeito à seleção de descritores suficientes e mínimos para caracterização de genótipos de maracujazeiro amarelo, a redução para 16 descritores quantitativos e seis multicategóricos mostra-se favorável a descrição do germoplasma. A aplicação prática imediata representará economia de tempo e recursos.

Assim sendo, espera-se que o estabelecimento desta nova lista de descritores mínimos, constitua-se em uma importante ferramenta, capaz de aperfeiçoar o trabalho de caracterização desenvolvido para maracujazeiro.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

VENCOVSKY, R. **Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasma de espécies alógamas.** Série IPEF, v.35, p.79-84, 1987.