

**GANHO GENÉTICO EM DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE
OBTENÇÃO DE FAMÍLIAS DE IRMÃOS COMPLETOS E
ESTRUTURA POPULACIONAL EM MARACUJAZEIRO AZEDO**

NATAN RAMOS CAVALCANTE

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
FEVEREIRO – 2019**

GANHO GENÉTICO EM DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE
OBTENÇÃO DE FAMÍLIAS DE IRMÃOS COMPLETOS E
ESTRUTURA POPULACIONAL EM MARACUJAZEIRO AZEDO

NATAN RAMOS CAVALCANTE

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutor em Genética e Melhoramento de
Plantas.”

Orientador: Prof. Alexandre Pio Viana

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
FEVEREIRO – 2019

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

C376

Cavalcante, Natan Ramos.

Ganho genético em diferentes estratégias de obtenção de famílias de irmãos completos e estrutura populacional em maracujazeiro azedo / Natan Ramos Cavalcante. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

100 f.

Bibliografia: 69 - 87.

Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2019.

Orientador: Alexandre Pio Viana.

1. Herdabilidade. 2. melhoramento genético. 3. *Passiflora edulis*. 4. post-hoc blocking Row-Col. 5. variabilidade. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 631.5233

GANHO GENÉTICO EM DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE
OBTENÇÃO DE FAMÍLIAS DE IRMÃOS COMPLETOS E
ESTRUTURA POPULACIONAL EM MARACUJAZEIRO AZEDO

NATAN RAMOS CAVALCANTE

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutor em Genética e Melhoramento de
Plantas.”

Aprovada em 26 de fevereiro de 2019.

Comissão Examinadora:



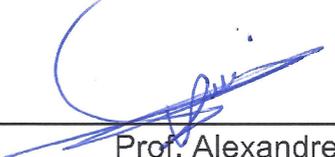
Prof. Willian Krause (D.Sc., Genética e Melhoramento) - UNEMAT



Prof. Rogério Figueiredo Daher (D.Sc., Produção Vegetal) - UENF



Prof. Antônio Teixeira do Amaral Júnior (D.Sc., Genética e Melhoramento) - UENF



Prof. Alexandre Pio Viana (D.Sc., Produção Vegetal) - UENF
(Orientador)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Antonio da Fonseca Cavalcante e Rosa Ramos Cavalcante, pelo amor e apoio incondicional em todas as etapas. As minhas irmãs Izabel Ramos Cavalcante Araújo, Maria Ramos Cavalcante Lacerda e Marta Ramos Cavalcante, pelo incentivo.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me dar força e proteção. Agradeço por todos dias vividos, e todos os trabalhos aos quais me dediquei foram alcançados graças a tua proteção.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela formação acadêmica.

À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (Faperj), pela concessão da bolsa de estudo e financiamento da pesquisa.

A meu orientador, Alexandre Pio Viana, pela oportunidade de me aprimorar como profissional, pela paciência, ensinamento, sugestões e confiança depositada em mim para realizar a pesquisa.

Aos professores, Rogério Figueiredo Daher e Antônio Teixeira do Amaral Júnior, pelas sugestões e pelo aperfeiçoamento desta pesquisa.

Ao professor Willian Krause, pela disponibilidade em compartilhar conhecimento e por contribuir no aprimoramento da pesquisa;

Ao Leandro Hespanhol, pela orientação nas atividades da cultura. Aos funcionários Benedito, Maurício, Noé, Marquinhos, Julho e Arnaldo, pelo auxílio nas atividades de campo.

Ao secretário Daniel, pela competência e disponibilidade em esclarecer toda ou qualquer dúvidas que precisei.

À Eileen, por me orientar nas atividades de laboratório e por todo conhecimento transmitido. Ao José Daniel pelo auxílio no laboratório.

Ao Janeo Eustáquio de Almeida Filho pelo auxílio nas análises e e pelo conhecimento compartilhado.

Ao meu amigo Moises Ambrósio por todo incentivo, amizade e apoio em todos os momentos que precisei.

Aos amigos Sandra, Vagner, José Arantes, Paulo Ricardo, Misael, Rodrigo, Flávia, Caio, Gessica, Valquíria, Pedro, Beatriz, Daniele, Juninho, Bruno e Odimar. Obrigado por toda a ajuda, pelas confraternizações e por tantos momentos felizes.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	5
2.1. Objetivo Geral	5
2.2. Objetivos Específicos	5
3. CAPÍTULOS	6
3.1. ASSOCIAÇÕES ENTRE CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE FRUTOS EM POPULAÇÕES DE MARACUJAZEIRO-AZEDO SUBMETIDAS A TRÊS CICLOS DE SELEÇÃO RECORRENTE INTRAPOPULACIONAL	6
3.1.1. INTRODUÇÃO	6
3.1.2. REVISÃO DE LITERATURA	8
3.1.2.1. Aspectos gerais da cultura	9
3.1.2.2. Estudo de correlações e análise de trilha	11
3.1.3. MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1.3.1. População avaliada	12
3.1.3.2. Condução do experimento	13
3.1.3.3. Características avaliadas	13
3.1.3.4. Análise dos dados	14
3.1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
3.1.5. CONCLUSÕES	22

3.2. ESTIMATIVA DE GANHO GENÉTICO NA ETAPA DE OBTENÇÃO DE FAMÍLIAS DE IRMÃOS COMPLETOS EM MARACUJAZEIRO-AZEDO SOB SELEÇÃO RECORRENTE	23
3.2.1. INTRODUÇÃO	23
3.2.2. REVISÃO.....	25
3.2.2.1. Melhoramento do maracujazeiro.....	25
3.2.2.2. Melhoramento do maracujazeiro-azedo na UENF via seleção recorrente.....	28
3.2.2.3. Técnica <i>Post-hoc blocking Row-Column</i> (Row-Col).....	30
3.2.3. MATERIAL E MÉTODOS	31
3.2.3.1. População avaliada.....	31
3.2.3.2. Condução do experimento	31
3.2.3.3. Características avaliadas	33
3.2.3.4. Análise dos dados.....	33
3.2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
3.2.5. CONCLUSÕES	43
3.3. ESTRUTURA POPULACIONAL DE MARACUJAZEIRO-AZEDO NO QUARTO CICLO DE SELEÇÃO RECORRENTE	44
3.3.1. INTRODUÇÃO	44
3.3.2. REVISÃO.....	46
3.3.2.1. Diversidade genética a partir de variáveis agronômicas	46
3.3.2.2. Diversidade utilizando marcadores SSR e ISSR	47
3.3.3. MATERIAL E MÉTODOS	49
3.3.3.1. Material vegetal.....	49
3.3.3.2. Caracterização agronômica	51
3.3.3.3. Extração e quantificação do DNA genômico.....	51
3.3.3.4. Triagem dos Primers.....	52
3.3.3.5. Reação em cadeia da polimerase (PCR) para marcadores SSR e ISSR	52
3.3.3.6. Análise estatística dos marcadores SSR	55
3.3.3.7. Análise estatística dos marcadores ISSR	56
3.3.3.8. Análise da estrutura genética da população utilizando marcadores SSR	56
3.3.3.9. Análise conjunta das variáveis agronômicas e moleculares	56
3.3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56

3.3.5. CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69

RESUMO

CAVALCANTE, Natan Ramos; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; fevereiro de 2019; GANHO GENÉTICO EM DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE OBTENÇÃO DE FAMÍLIAS DE IRMÃOS COMPLETOS E ESTRUTURA POPULACIONAL EM MARACUJAZEIRO-AZEDO; Orientador: Prof. Alexandre Pio Viana; Conselheiros: Prof. Antônio Teixeira do Amaral Júnior e Prof. Geraldo de Amaral Gravina.

O Brasil ao longo dos últimos anos vem se destacando no cenário mundial como maior consumidor e produtor do maracujazeiro. Mas alguns fatores, como falta de cultivares adaptadas às condições climáticas das regiões produtoras do Brasil têm ocasionado perda na produtividade do maracujazeiro. Neste contexto, se tornam importantes estudos voltados para o desenvolvimento de cultivares mais adaptadas às condições edafoclimáticas das regiões, melhorando assim, a produtividade e contribuindo para o aumento da renda dos produtores. Deste modo, os objetivos deste estudo foram estimar parâmetros genéticos e valores genotípicos pelo procedimento REML/BLUP em famílias de meios-irmãos de maracujazeiro-azedo; analisar a relação entre características produtivas e de qualidade físico-químicas de frutos de maracujazeiro-azedo e seus desdobramentos em efeitos diretos e indiretos; comparar a eficiência da técnica *post-hoc blocking Row-Col* em relação ao delineamento em blocos ao acaso; avaliar a diversidade genética e investigar a estrutura genética de uma população de maracujazeiro-azedo usando marcadores microssatélites. Foram avaliadas 23 famílias de meios-irmãos oriundas do terceiro ciclo de seleção recorrente do programa de melhoramento genético da UENF. O

ensaio foi realizado na unidade experimental da UENF em Itaocara - RJ. As plantas foram conduzidas em espaldeira vertical, com quatro repetições e três plantas por parcela. Foram avaliadas as características número de frutos por planta, massa de frutos por planta (g), porcentagem de polpa (%), comprimento e diâmetro de frutos (mm), espessura da casca (mm), teor de sólidos solúveis totais (°brix), pH e produtividade por planta (kg). Para realizar análise de trilha, a característica produção de frutos por planta foi considerada a variável dependente e as demais características variáveis independentes. Para comparar a eficiência da técnica *post-hoc blocking row-col* com o delineamento em blocos casualizados e comparar diferentes estratégias de seleção entre e dentro de famílias de meios-irmãos, utilizou-se a metodologia de modelos mistos REML/BLUP. Para a análise molecular, o material utilizado na extração de DNA e na caracterização agronômica foi coletado no mesmo experimento descrito acima. Foram selecionados para extração de DNA 95 genótipos pertencentes as 20 melhores famílias de meios-irmãos de maracujazeiro-azedo, tendo como critério os indivíduos mais produtivos. Nos resultados do estudo, observou-se pela análise de trilha, que a seleção direta de genótipos com maior número de frutos ou massa média de frutos acarreta aumento na produção por planta, no entanto, a seleção indireta é ineficiente em promover ganhos simultâneos. Assim, pela verificação das correlações ao longo dos ciclos de seleção, pode-se afirmar que, apesar de a variável produção por planta ser a mais importante, deve-se dar preferência para o uso dos índices de seleção, visto que há melhores possibilidades de obtenção de ganho para características de qualidade e produção de frutos na seleção entre as progênies de meios-irmãos de maracujazeiro-azedo. Vale ressaltar que não foi encontrada diferença estatística no teste de eficiência dos delineamentos em todas as características avaliadas. A herdabilidade dentro das famílias (h^2_{ad}) apresentou magnitude similar a herdabilidade individual (h^2_a), inferindo que mesmo no quarto ciclo de seleção recorrente ainda há variabilidade genética dentro das progênies avaliadas. A melhor estratégia de seleção foi dentro de famílias por gerar estimativas de ganhos de seleção superiores à seleção entre e à metodologia de seleção direta e índice de seleção. Nos resultados da análise molecular, observou-se variabilidade genética no quarto ciclo de seleção recorrente, no qual é possível dar continuidade ao programa, obtendo ganhos genéticos ao selecionar os genótipos superiores.

ABSTRACT

CAVALCANTE, Natan Ramos; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; february 2019; GENETIC GAIN IN DIFFERENT STRATEGIES FOR OBTAINING FULL-SIB FAMILIES AND POPULATION STRUCTURE IN PASSION FRUIT; Adviser: Alexandre Pio Viana; Committe Members: Antônio Teixeira do Amaral Júnior e Geraldo de Amaral Gravina.

Over the last few years Brazil has been standing out in the world scenario as the largest consumer and producer of passion fruit. But some factors such as lack of cultivars adapted to the climatic conditions Brazilian producer regions have caused a loss in the passion fruit productivity. In this context, it becomes important studies aimed at the cultivars development more adapted to the region edaphoclimatic conditions, thus improving productivity and contributing to the increase of producers' income. Thus, the objective of this study was to estimate genetic parameters and genotypic values by the REML / BLUP procedure in passion fruit half-sibs families; to analyze the relationship between productive and physical-chemical quality characteristics of passion fruit and their consequences in direct and indirect effects; to compare the efficiency of the post-hoc blocking Row-Col technique in relation to the randomized block design; to evaluate genetic diversity and to investigate the genetic structure of a passion fruit population using microsatellite markers. Twenty-three half-sibling groups from the third recurrent screening cycle of the UENF genetic program were evaluated, and the test was performed at the UENF experimental site in Itaocara - RJ. The plants were conducted in vertical, with four replications and three plants per plot. The characteristics evaluated were number of

fruit per plant, fruit mass per plant (g), percentage of pulp (%), fruit length and diameter (mm), bark thickness (mm), total soluble solids content ($^{\circ}$ Brix), pH and productivity per plant (kg). To perform path analysis, the characteristic fruit production per plant was considered the dependent variable, and the other independent variable characteristics. In order to compare the efficiency of the blocking row-col post-hoc technique with the randomized block design and to compare different selection strategies between and within half-sib families, the methodology of mixed models REML/BLUP. For molecular analysis, the material used in DNA extraction and agronomic characterization was collected in the same experiment described above. A total of 95 genotypes were selected for DNA extraction from the best 20 families of passion fruit half-siblings, with the most productive individuals as criterion. In the study results, it was observed by the path analysis that the direct selection of genotypes with greater number of fruits or average mass of fruits leads to increase in production per plant, however, indirect selection is inefficient in promoting simultaneous gains. Thus, by checking the correlations over the selection cycles, it can be stated that, although the production-per-plant variable is the most important, preference should be given to the use of selection indexes, since there are better possibilities of obtaining gain for quality characteristics and fruit production in the selection among the progenies of half-sibs of passion fruit. No statistical difference was found in the design efficiency test in all evaluated characteristics. Heritability within families (h^2_{ad}) presented similar magnitude to individual heritability (h^2_a), inferring that even in the 4th cycle of recurrent selection there is still genetic variability within the evaluated progenies. The best selection strategy was within families by generating estimates of selection gains greater than the selection between and the direct selection methodology and selection index. In the molecular analysis results, genetic variability was observed in the fourth recurrent selection cycle, in which it is possible to continue the program, obtaining genetic gains when selecting the superior genotypes.

1. INTRODUÇÃO

O maracujazeiro-azedo é originário da América Tropical, sendo mais de 150 espécies nativas do Brasil (Bernacci et al., 2015). Dentre estas, inclui-se a mais importante comercialmente, o maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims.), representando 95% dos pomares no país, sendo também a espécie mais plantada no mundo (Meletti et al., 2011). A produtividade no estado do Rio de Janeiro em 2017 foi de 14.075 kg ha⁻¹, sendo ainda baixa quando comparada com a maior produtividade brasileira que é do Distrito Federal com 34.600 kg ha⁻¹ ano⁻¹ (Ibge, 2017).

Essa baixa produtividade está relacionada às técnicas inadequadas de cultivo, problemas fitossanitários e baixa utilização de cultivares melhoradas que sejam adaptadas às condições edafoclimáticas da região norte e noroeste fluminense (Gonçalves et al., 2007), o que tem ocasionado a redução da vida útil dos novos plantios (Lima et al., 2004, Cavichioli, et al., 2011). Neste contexto, para contornar os efeitos desta baixa produtividade, a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro vem desenvolvendo há cerca de 20 anos o programa de melhoramento genético do maracujazeiro-azedo, via seleção recorrente intrapopulacional, com a obtenção de resultados promissores (Viana et al., 2004; Ferreira et al., 2016; Viana et al., 2016; Silva et al., 2017; Ribeiro et al., 2019).

Neste raciocínio, a metodologia de modelos mistos REML/BLUP vem sendo uma ótima alternativa para a estimação de parâmetros genéticos, por envolver a estimação dos componentes de variância pelo método de máxima

verossimilhança restrita (Restricted Maximum Likelihood - REML) e a predição dos valores genotípicos pela melhor predição linear não viciada (Best Linear Unbiased Prediction - BLUP), resultando num processo de seleção mais acurado (Resende, 2002; Alves e Resende, 2008; Viana e Resende, 2014).

Além disso, o programa de melhoramento genético do maracujazeiro-azedo tem por finalidade obtenção de genótipos aprimorados para um conjunto de características. Deste modo, o conhecimento da natureza e magnitude das correlações entre os caracteres é de fundamental importância. De acordo com Cruz et al. (1988) e Vencovsky e Barriga (1992), estudos dessa natureza fornecem informações importantes para o melhoramento genético, como a possibilidade de identificar a proporção da correlação fenotípica que é devida a causas genéticas; verificar se a seleção em um caráter afeta outro; quantificar ganhos indiretos devido a seleção efetuada em caracteres correlacionados e avaliar a complexidade dos caracteres.

As análises de correlação entre características produtivas e de qualidade de frutos são essenciais na determinação dos critérios de seleção, todavia, a magnitude e o valor das correlações não são suficientes para esclarecer as relações entre as variáveis estudadas, pois pode não haver uma relação real de causa e efeito. Dessa maneira, um alto ou baixo coeficiente de correlação pode ser o resultado do efeito de outras variáveis, sem revelar a exata importância relativa dos efeitos diretos e indiretos desses fatores (Cruz et al., 2004). A fim de reduzir tais problemas, Wright (1921, 1923) propôs a metodologia de análise de trilha, que desdobra as correlações estimadas em efeitos diretos e indiretos de caracteres sobre uma variável básica. O sucesso da análise de trilha reside basicamente na formulação do relacionamento causa-efeito entre as variáveis (Schuster, 1996), bem como na experiência do pesquisador em desdobrar as correlações para as características de maior importância agrônômica (Cruz et al., 2004). Ao longo dos últimos anos, essa técnica tem sido utilizada no estudo de diversas fruteiras (Reynolds e Wardle, 1993; Okut e Akca, 1995; Negreiros et al., 2007; Lúcio et al., 2013; Santos et al., 2017).

Nos experimentos de campo com a cultura do maracujazeiro-azedo, normalmente, são instalados em delineamento em blocos casualizados, o qual tem objetivo de controlar as diferenças que ocorrem entre as parcelas ou unidades experimentais. Espera-se que a heterogeneidade dentro dos blocos seja a menor

possível, e adequada para a predição de parâmetros e valores genéticos. Entretanto, esse tipo de delineamento, é eficiente somente quando a variabilidade dentro do bloco é relativamente pequena, o que é raro quando um grande número de genótipos é avaliado (Ramalho et al., 2000; Costa e Silva et al., 2001).

Deste modo, várias alternativas existem para este desafio em ambos os estágios, seja no delineamento ou na análise estatística, visando avaliar o máximo de genótipos com a máxima precisão. Na fase de execução, delineamentos experimentais mais eficientes que considerem algum controle da variação espacial, pode ser implementado, tais como bloco incompleto e linha-coluna, pois utilizam estratos menores e incompletos para agrupar os genótipos (Welham et al., 2014). Na fase de análise, existem alternativas estatísticas, tais como análise espacial (Gilmour et al., 1997) e a técnica *post hoc blocking Row-Col* (RC) que podem fornecer melhorias relevantes na estimativa e predição de parâmetros (Gezan et al., 2006). A utilização da técnica RC é uma alternativa para a avaliação das variáveis, pois trata-se de uma técnica *posteriori*, ou seja, é realizada após a etapa de execução do experimento e, portanto, é de baixo custo, a qual consiste na sobreposição de uma estrutura de blocos sobre o desenho do campo original (Gezan et al., 2006), adicionando linhas e colunas, ajustando um modelo linear, de modo que, além dos efeitos de blocos e tratamentos, estejam presentes os efeitos de linhas e colunas, permitindo maior acurácia no tratamento das características fenotipadas na população (Silva et al., 2016).

Outro fator importante é o conhecimento da variabilidade e estrutura genética de uma população, o qual pode garantir o sucesso em longo prazo dos programas de melhoramento genético. A diversidade e a estrutura genética populacional são comumente estimadas utilizando marcadores microssatélites (SSR - *Simple Sequence Repeats*) e ISSR – (*Inter Simple Sequence Repeats*). Os marcadores moleculares ISSR quando comparados com outros tipos de marcadores, apresentam maior número de locos polimórficos, o que permite a distinção entre acessos, mesmo com morfologia similar (Moulin et al., 2012). Os marcadores ISSR são dominantes e podem auxiliar em estudos de divergência genética por ser uma técnica simples, eficiente e gerar altos índices de polimorfismo (Reddy et al., 2002). Os marcadores SSR se destacam entre os marcadores moleculares na análise da diversidade genética por serem codominantes, multialélicos, polimórficos e reprodutíveis. Assim, conteúdos altamente informativos

podem ser gerados (Schlötterer, 2004). E a utilização desses marcadores vem sendo usada nos trabalhos desenvolvidos com a cultura do maracujazeiro para o estudo de diversidade genética (Oliveira et al., 2013; Paiva et al., 2014; Cerqueira-Silva et al., 2014).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o potencial agronômico de 23 famílias de meios-irmãos de maracujazeiro-azedo pertencentes o quarto ciclo de seleção recorrente e caracterizar quanto à diversidade e estrutura genética dessa população.

2.2. Objetivos Específicos

- I. Estimar parâmetros genéticos e valores genotípicos pelo procedimento REML/BLUP em famílias de meios-irmãos de maracujazeiro-azedo;
- II. Analisar a relação entre características produtivas e de qualidade físico-química de frutos de maracujazeiro-azedo e seus desdobramentos em efeitos diretos e indiretos;
- III. Comparar a eficiência da técnica post-hoc blocking Row-Col em relação ao delineamento em blocos ao acaso;
- IV. Avaliar a diversidade genética e investigar a estrutura genética de uma população de maracujazeiro-azedo usando marcadores microssatélites; e
- V. Investigar o efeito da junção de informações agronômicas e moleculares na expressão da diversidade genética.

3. CAPÍTULOS

3.1. ASSOCIAÇÕES ENTRE CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS E DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE FRUTOS EM POPULAÇÕES DE MARACUJAZEIRO-AZEDO SUBMETIDAS A TRÊS CICLOS DE SELEÇÃO RECORRENTE INTRAPOPULACIONAL

3.1.1. INTRODUÇÃO

O Brasil, desde a década de 70, vem se destacando como maior produtor mundial de maracujá-azedo, devido a sua crescente evolução na área de cultivo. Em 2017, a safra atingiu uma produção de 554.598 toneladas de área plantada de aproximadamente 41 mil hectares (Ibge, 2017). Contudo, a cultura sofre com alguns fatores limitantes, como a baixa produtividade, que é causada, dentre outros, pela falta de genótipos adaptados às regiões produtoras. Desta maneira, o melhoramento genético torna-se indispensável para suprir essas demandas do setor produtivo.

Com objetivo de contornar essa realidade, em 1999 a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) iniciou o programa de melhoramento genético do maracujazeiro-azedo, via seleção recorrente intrapopulacional, a fim de lançar cultivares mais produtivas e adaptadas às

condições climáticas da região norte fluminense e demais regiões produtoras do Brasil (Viana et al., 2004).

Para que se obtenha ganhos com a seleção de genótipos superiores, é importante tanto o conhecimento da variabilidade genética disponível nas populações de melhoramento, quanto das associações entre características para desenvolvimento de genótipos com tipos agrônômicos desejáveis (Oliveira et al., 2010). Para a cultura do maracujazeiro, vários são os caracteres relacionados com a qualidade dos frutos. Desta forma, é importante identificar quais são estes caracteres que apresentam maior efeito na qualidade dos frutos e que poderão ser empregados no momento da seleção de melhores genótipos produtores de frutos, facilitando as avaliações e as práticas do melhoramento genético (Lúcio et al., 2013).

Neste contexto, a correlação entre dois caracteres pode ser de natureza fenotípica, genotípica ou ambiental, sendo que somente as correlações genotípicas, que envolvem uma associação de natureza herdável, são de maior interesse para o melhoramento. Os coeficientes de correlação, apesar de serem de grande utilidade na quantificação da magnitude e direção das influências dos fatores na determinação de caracteres complexos, não dão a exata importância relativa dos efeitos diretos e indiretos destes fatores. Associado a isso, diversas situações demonstram que as associações são transitórias e podem sofrer alterações em suas estimativas devido ao processo de seleção que são submetidas as populações de melhoramento (Falconer, 1964; Fakorede e Mock, 1978; Walters et al., 1991; Farias Neto e Miranda Filho, 2001).

Para tanto, estudos sobre o desdobramento do coeficiente de correlação são feitos pela análise de trilha (Cruz et al., 2012). A análise de trilha consiste na quantificação dos efeitos diretos e indiretos das variáveis explicativas sobre uma variável básica, cujas estimativas são obtidas por meio de equações de regressão, em que as variáveis são previamente padronizadas (Cruz et al., 2012; Cabral et al., 2016). Sendo assim, um dos objetivos dos programas de melhoramento é identificar os caracteres que mais merecem atenção em experimentos, em populações sob processo seletivo.

No caso da cultura do maracujazeiro-azedo, Lúcio et al. (2013) quantificaram os efeitos diretos e indiretos das variáveis explicativas sobre a variável produção total de frutos e concluíram que o peso médio de polpa e o

número de frutos são os caracteres de maior correlação com o peso total de frutos de maracujá. Estes autores relataram também que o teor de sólidos solúveis total, peso médio de frutos, comprimento e o diâmetro do fruto, espessura da casca e a percentagem de polpa têm baixa correlação com o peso total de frutos de maracujá.

Esses estudos de correlação permitem identificar e quantificar as associações de caracteres morfológicos e produtivos com o desempenho das culturas (Carvalho et al., 2015). Viana et al. (2003) estudaram as correlações simples e canônicas entre características de frutos de maracujá-azedo, e verificaram a existência de correlações genóticas positivas entre massa e largura de frutos, largura e comprimento de frutos, acidez e largura de frutos, e negativa entre sólidos solúveis total e comprimento de frutos.

Tanto a análise de trilha quanto os demais estudos de correlações tornam-se mais efetivas quando fundamentadas em valores genóticos preditos do que quando aplicadas sobre valores fenóticos. Os valores genóticos, preditos pelo método de modelos mistos (REML/BLUP), proporcionam inferências mais precisas e acuradas, o que aumenta a eficiência dos programas de melhoramento. Por meio do BLUP (melhor predição linear não viesada), os valores fenóticos são corrigidos para os efeitos ambientais e são ponderados pela herdabilidade do caráter, a qual é estimada pelo procedimento REML (máxima verossimilhança restrita) (Resende, 2002; Viana e Rezende, 2014).

O método dos modelos mistos tem sido utilizado para gerar informações em programas de melhoramento de espécies perenes, como açazeiro (Teixeira et al., 2012), palmeira juçara (Marçal et al., 2015), goiabeira (Santos et al., 2017) e semi-perenes como cana-de-açúcar (Silva et al., 2009) e maracujazeiro-azedo (Santos et al., 2015, Silva et al., 2016).

Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar as associações entre as características produtivas e de qualidade físico-química de frutos de maracujazeiro-azedo em uma população, submetida a três ciclos de seleção recorrente intrapopulacional, verificando assim os principais caracteres de importância na condução de programas de melhoramento populacional.

3.1.2. REVISÃO DE LITERATURA

3.1.2.1. Aspectos gerais da cultura

Originário das Américas, o gênero *Passiflora* pertence à família Passifloraceae, havendo relatos de que os ancestrais de desse gênero são originários da África e se dispersaram para a Europa e Ásia até chegar ao Continente Americano (Muschner et al., 2012). O Brasil é um dos principais centros de diversidade genética da família Passifloraceae, com quatro gêneros e 153 espécies, sendo 87 espécies endêmicas (Bernacci et al., 2015).

O clima ideal para a cultura se encontra em regiões tropicais e subtropicais, com temperaturas médias mensais de 20 a 30 °C. Em relação a questões pluviométricas, o maracujazeiro se desenvolve em regiões de precipitações de 800 a 1300 mm, distribuídas regularmente durante o ano. Em regiões subúmidas e semiáridas, onde há menor disponibilidade hídrica, a irrigação dos pomares é essencial para garantir a produção (Martins, 1998).

O maracujazeiro-azedo floresce em vários meses do ano, com florescimento iniciando por volta das 12 horas (meio dia) e vai até o final da tarde. Considerada planta de “dias longos”, necessita entre 11 a 12 horas de luz para florescer (Piza Júnior, 1993). Souza et al. (2012), estudando a fenologia reprodutiva do maracujazeiro no município de Campos dos Goytacazes, estado do Rio de Janeiro, verificaram que para as condições em estudo, a maior temperatura média apresentou alta correlação com o número de flores (0,87), indicando que este é um agente que interfere de forma fundamental no florescimento do maracujazeiro.

A cultura desenvolve-se em diferentes tipos de solos, preferencialmente, os mais profundos, bem drenados, ricos em matéria orgânica, de topografia ligeiramente inclinada e com bom nível de fertilidade são mais adequados, não sendo recomendada a utilização de baixadas, solos pedregosos ou com possibilidade de encharcamento, pois esses aspectos favorecem a incidência de doenças no sistema radicular (Pires, 2007).

O maracujazeiro-azedo é uma espécie diploide, alógama e auto incompatível, possuindo $2n = 18$ cromossomos (Bruckner, 1997; Ferreira, 1998). O gênero *Passiflora* é constituído de plantas trepadeiras herbáceas ou arbustivas, raramente eretas. Em geral, possuem caule cilíndrico ou quadrangular, ramificado, anguloso, suberificado, glabro ou piloso (Vanderplank, 2000). Na maioria das espécies, as folhas são simples e alternas, elípticas ou orbiculares, inteiras ou

lobadas, pecíolo com ou sem glândulas. É possível observar glândulas nectaríferas, no pecíolo, na margem da bráctea ou na parte dorsal da folha (Feuillet e Macdougall, 2007).

As gavinhas, geralmente solitárias, desenvolvem-se nas axilas das folhas e são ausentes em espécies lenhosas (Cunha et al., 2002). As flores são hermafroditas, grandes, vistosas e protegidas na base por brácteas foliares, e os estames aparecem em número de cinco, presos a um androginóforo bem desenvolvido (Vanderplank, 2000). Os frutos do maracujazeiro têm forma ovoide ou globosa, raramente fusiforme, com polpa mucilaginosa, com coloração amarela, vermelha ou roxa. A casca é coriácea, quebradiça e lisa, protegendo o mesocarpo, no interior do qual estão as sementes (Bernacci et al., 2008). As sementes são ortodoxas ou ortodoxas intermediárias, comprimidas, reticuladas, pontuadas ou transversalmente alveoladas, envolvidas por um arilo mucilaginoso (Nunes e Queiroz, 2001).

O sistema radicular apresenta uma raiz central pivotante ou axial mais grossa que as demais. O volume da maioria das raízes finas se concentra num raio de 0,50 m do tronco da planta, na profundidade de 0,30 m a 0,45 m (Souza e Meletti, 1997). De acordo com Kliemann et al. (1986), o sistema radicular do maracujazeiro apresenta três fases de crescimento: do plantio até os 210 dias, o crescimento é lento, com reduzida produção de matéria seca; dos 210 aos 300 dias, há uma rápida expansão das raízes; e, a partir dos 300 dias, o crescimento praticamente se estabiliza.

As flores do gênero *Passiflora* são hermafroditas e possuem vários mecanismos que impedem a autofecundação, dentre estes, o sistema de autoincompatibilidade do tipo esporofítico (Suassuna et al., 2003). Segundo Duvick (1967), a autoincompatibilidade é um mecanismo que induz à alogamia e que mantém alto grau de heterozigose. Este mecanismo pode ser tão eficiente quanto à condição dioica no forçamento à polinização cruzada (Allard, 1999).

O agente polinizador natural mais eficiente é a *Xylocopa* sp, que devido a seu grande porte encosta seu dorso nos estames ao visitar as flores, e leva os grãos de pólen ao estigma. A polinização influencia a produção do maracujazeiro, já que a quantidade de sementes e o conteúdo de suco estão correlacionados com o número de grãos de pólen depositados sobre o estigma. Sendo assim, para a produção comercial de maracujá, é imprescindível a técnica da polinização artificial.

Esta prática tem demonstrado ótimos resultados que podem chegar a 76% de pegamento em flores cruzadas e polinizadas manualmente comparados com apenas 7% obtidos com a polinização natural (Junqueira et al., 2001; Lima e Cunha, 2004).

3.1.2.2. Estudo de correlações e análise de trilha

Em programas de melhoramento genético, ao longo do processo de seleção, objetiva-se melhorar um caráter principal, além de manter ou aprimorar a expressão de outros caracteres simultaneamente (Lopes et al., 2002). Nesse aspecto, o conhecimento das relações existentes entre caracteres, tais como estimados pelas correlações, tem sido de grande relevância no melhoramento vegetal, pois fornece informações úteis ao melhorista que auxiliam no processo seletivo (Nogueira et al., 2012).

Cruz et al. (1988) ressaltam que o estudo de correlações possibilita a obtenção de diversas informações úteis para os programas de melhoramento, tais como: identificação das variações genética e ambiental contidas na variação fenotípica, quantificação de ganhos indiretos através de seleção em caracteres correlacionados, avaliação da complexidade dos caracteres envolvidos na seleção, e a possibilidade de seleção indireta através de caracteres correlacionados.

A correlação entre dois caracteres pode ser de natureza fenotípica, genotípica ou ambiental, sendo que somente as correlações genotípicas que envolvem uma associação de natureza herdável são as de maior interesse para o melhoramento. Segundo Ramalho et al. (2008) a correlação genética procura explicar por meio de mecanismos genéticos, a variação conjunta de duas variáveis, sendo a pleiotropia e a ligação gênica os fenômenos genéticos que explicam a ocorrência da correlação genética. A pleiotropia é definida como sendo o fenômeno pelo qual um gene controla dois ou mais caracteres.

O conhecimento das correlações tem papel fundamental ao medir o grau de associação entre variáveis e possibilita avaliar o quanto a alteração em uma variável pode afetar as demais. Se a seleção de uma variável é dificultada pela baixa herdabilidade ou por problemas de mensuração e identificação, esse tipo de conhecimento se torna importante nas diferentes etapas dos programas de melhoramento (Cruz et al., 2012).

Os coeficientes de correlação, apesar de serem de grande utilidade na quantificação da magnitude e direção das influências dos fatores na determinação de caracteres complexos, não dão a exata importância relativa dos efeitos diretos e indiretos destes fatores. Para tanto, estudos sobre o desdobramento do coeficiente de correlação são feitos pela análise de trilha (Cruz et al., 2012).

Para melhor entender a associação entre caracteres, utiliza-se o método denominado análise de trilha, que desdobra as correlações estimadas em efeitos diretos e indiretos de cada caráter sobre uma variável básica (Wright, 1921). Este método baseia-se na avaliação do efeito de uma variável independente (x) sobre uma variável dependente (y), após a remoção da influência de todas as outras variáveis independentes (xi) incluídas na análise (Hartwig et al., 2007).

No entanto, antes da aplicação da análise de trilha, deve-se fazer o diagnóstico de multicolinearidade dos dados, para evitar o viés nos resultados. Assim, há duas estratégias básicas para a análise de trilha: identificação e exclusão de variáveis responsáveis pela colinearidade; ou análise de trilha com regressão em crista, no caso de não se desejar a eliminação de variáveis. Nesta segunda estratégia, utiliza-se uma constante k, cujo valor deve ser o menor possível, para estabilizar os coeficientes de trilha e manter o fator de inflação da variância (VIF) menor que 10, em todas as variáveis explicativas (Cruz e Carneiro, 2006; Rios et al., 2012).

Estudos de correlações e análise de trilha têm sido utilizados em fruteiras, como, por exemplo, no maracujazeiro (Negreiros et al., 2007; Lúcio et al., 2013), goiabeira (Santos et al., 2017) e Jabuticabeira (Salla et al., 2015)

3.1.3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1.3.1. População avaliada

Foram avaliadas 23 progênies de meios-irmãos oriundas do programa de melhoramento genético da UENF via seleção recorrente. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com quatro repetições e três plantas por parcelas.

3.1.3.2. Condução do experimento

O experimento foi conduzido entre janeiro de 2016 a janeiro de 2017, na Unidade Experimental da UENF em Itaocara - RJ (21°40' latitude sul, 42°04' longitude oeste e altitude de 76 m). O solo da área experimental é classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo (Embrapa, 2006).

O sistema de condução adotado foi o de espaldeira vertical, com mourões de eucalipto tratados de 2,5 m de altura, espaçados a 4 metros e com um fio de arame número 12 a 1,80 m do solo. A distância entre as linhas de plantio foi de 3,5 m e 3 m entre covas. A calagem e adubações de plantio e de cobertura foram efetuadas de acordo com a análise de solo, seguindo as recomendações de Borges et al. (2006). As plantas foram irrigadas usando o sistema de gotejamento com vazão de quatro litros por hora, aplicando de forma suplementar nos períodos de estiagem.

3.1.3.3. Características avaliadas

Para fenotipagem foram amostradas plantas individualmente dentro das famílias avaliadas. Para tal, foram analisadas as seguintes características: número de frutos por planta (NF), peso de frutos por planta em grama (PF), porcentagem de polpa (PP), comprimento e diâmetro de frutos em milímetros (CF e DF), espessura da casca em milímetros (EC), teor de sólidos solúveis totais (SST), potencial hidrogeniônico (PH) e produtividade por planta em quilos (PROD).

O número de frutos por planta foi avaliado em colheitas ao longo da condução do experimento. O peso de frutos foi obtido pelo quociente da produção total por planta pelo número total de frutos. A característica de porcentagem de polpa foi obtida por meio da pesagem da polpa (sementes com arilo) e dividido este valor pelo peso total dos frutos e multiplicado por 100. O comprimento e diâmetro de frutos foram obtidos a partir de medições da média aritmética das dimensões longitudinais e das dimensões transversais de cinco frutos, por meio do uso de paquímetro digital. A espessura de casca foi determinada com uso de um paquímetro digital, medindo-se a porção mediana de cinco frutos, cortados transversalmente, no sentido de maior diâmetro.

A determinação do teor de sólidos solúveis totais foi realizada mediante a refratometria, utilizando-se refratômetro digital (modelo RTD-45), com leitura na faixa de 0 a 95°. As leituras foram realizadas colocando gotas de suco de cinco frutos individualmente. A determinação do pH foi realizada com a imersão do sensor do pHmetro (potenciômetro com eletrodo de vidro), digital modelo (W3B) no suco extraído dos frutos. A produtividade por planta foi obtida pela soma do total de colheitas realizadas durante a condução do experimento.

3.1.3.4. Análise dos dados

Foi utilizado o método de máxima verossimilhança restrita e melhor predição linear não viesada (REML/BLUP) para análise das observações pelo software estatístico genético Selegen, via modelo que permite a avaliação de indivíduos dentro de progênies de meios-irmãos, (Resende, 2016). O modelo utilizado foi número 1: $y = Xr + Za + Wp + e$, em que y é o vetor de dados; r é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral; a é o vetor dos efeitos genéticos aditivos individuais (assumidos como aleatórios); p é o vetor dos efeitos de parcela; e é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). X , Z e W representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

Após a obtenção das médias corrigidas pelo procedimento BLUP, foram estimadas as correlações genéticas a partir dos valores genotípicos ($u+a$) entre as características avaliadas (Resende, 2016). As correlações genéticas serviram como base para o diagnóstico de multicolinearidade, para verificar a existência de multicolinearidade, proposta por Montgomery e Peck (1981) e evitar superestimava dos coeficientes de trilha (Cruz et al., 2012).

Os coeficientes de correlação foram classificados de acordo com as seguintes magnitudes, em que, para valores iguais a zero, a correlação é nula, valores de zero a 0,30, é fraca, de 0,30 a 0,60, é média, de 0,60 a 0,90, é forte, e de 0,90 a 1,00 é fortíssima (Carvalho et al., 2004).

A análise de trilha foi realizada com base na matriz de correlações genéticas, com um estimador de mínimos quadrados (Cruz et al., 2012). Consideraram-se uma cadeia para a realização do diagrama causal na decomposição das relações genéticas entre a produção por planta, considerada como a variável principal, e as demais características de variáveis explicativas.

Também verificou-se a resposta das diferentes estimativas de correlações genéticas em diferentes ciclos de seleção a que foi submetida a população de estudo.

As análises das observações foram realizadas pelo programa estatístico Selegen (Resende, 2016) e pelo programa Genes (Cruz, 2013).

3.1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As maiores estimativas de correlações genéticas positivas foram observadas em produção por planta x número de frutos (0,9512) e polpa x sólidos solúveis totais (0,5664) (Tabela 1). Segundo Carvalho et al. (2004), estão respectivamente na faixa de correlação fortíssima e correlação média (Tabela 1). Dessa forma, é possível obter ganhos com respostas correlacionadas para produção por planta e número de frutos, assim como porcentagem de polpa e sólidos solúveis totais. No entanto, as demais relações entre as características apresentaram correlações inferiores a 0,44.

Para as características de número de frutos e produção de frutos por planta, foi observada uma associação negativa em relação ao peso de frutos (-0,5134 e -0,2646), comprimento de frutos (-0,2104 e -0,0726), sólidos solúveis totais (-0,3681 e -0,3876) e porcentagem de polpa (-0,3351 e -0,3834), e positivamente com diâmetro de fruto (0,2933 e 0,402), espessura de casca (0,0059 e 0,1387) e pH (0,4044 e 0,3938) (Tabela 1). Esses resultados indicam que a seleção de plantas com maior número de frutos ou produção por planta resultará em plantas com menor peso de frutos total, comprimento, sólidos solúveis totais e porcentagem de polpa. Em contrapartida, haverá um aumento nas características de diâmetro de fruto, espessura de casca e pH. Viana et al. (2003), estimaram correlação genética positiva e significativa entre número de frutos e de peso de frutos para o ambiente de Campos dos Goytacazes (0,59), contradizendo os resultados acima encontrados.

Pode ser observado que um aumento no peso de frutos resultará em aumento no comprimento de frutos, verificado pela correlação positiva (0,4406) entre essas duas características, o que se torna extremamente desejável, uma vez

que os frutos do maracujazeiro são classificados comercialmente em relação à medida de seu comprimento e diâmetro; e frutos maiores e mais pesados são mais apreciáveis para o mercado *in natura* (Tabela 1).

Tabela 1. Coeficientes de correlação genotípica entre características de produção e qualidade de frutos de maracujazeiro-azedo. Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Caracteres	PROD	PF	CF	DF	EC	SST	PH	PP
NF	0,9512**	-0,5134*	-0,2104	0,2933	0,0059	-0,3681	0,4044*	-0,3351*
PROD		-0,2646*	-0,0726	0,402*	0,1387	-0,3876*	0,3938*	-0,3834*
PF			0,4406*	0,0981	0,1915	0,1008	-0,1158	0,0832
CF				0,3433*	0,1705	-0,0013	-0,2927*	-0,046
DF					0,1069	-0,1478	-0,2178*	-0,2887*
EC						-0,1656	0,23	-0,687**
SST							-0,3581*	0,5664*
PH								-0,2283

NF: Número de frutos por planta; PROD: produção por planta em quilos; PF: peso de frutos por planta em grama; CF e DF: comprimento e diâmetro de frutos em milímetros; EC: espessura da casca em milímetros; SST: teor de sólidos solúveis totais; PH: potencial hidrogeniônico; PP: porcentagem de polpa. ** Significativo a 1% pelo teste T, * significativo a 5% pelo teste T.

Também houve correlação negativa entre a espessura de casca e porcentagem de polpa (-0,687), evidenciando que o aumento na espessura de casca reduz o diâmetro da cavidade interna do fruto, onde se acumula a polpa comestível (Tabela 1). Fortaleza et al. (2005) afirmam que frutos de maracujá são preferidos quando possuem casca mais fina, pois apresentam maior quantidade de polpa. A espessura da casca é utilizada como critério de qualidade visando ao aumento do espaço na câmara interna do fruto de maracujá (cavidade ovariana). Assim, frutos destinados tanto à indústria quanto ao consumo *in natura*, necessitam ter casca fina e cavidade interna totalmente preenchida, desta maneira conferindo alto rendimento de suco (Bruckner et al., 2002).

Com relação à característica sólidos solúveis totais pode-se obter ganhos indiretamente com a característica de porcentagem de polpa (0,5664), desta forma, frutos com maior teor de sólidos solúveis totais apresentam também maior quantidade de polpa (Tabela 1). O estudo de correlações possibilita a predição dos efeitos em uma determinada característica quando outra correlacionada a ela for manipulada por processos seletivos. Desse modo, permite-se estabelecer a

viabilidade de realizar seleção em outra característica de fácil mensuração, visando obter ganhos de difícil avaliação ou de baixa herdabilidade (Cruz et al., 2012).

Também foi verificado a correlação das características qualitativas e quantitativas e como estas se correlacionam com a característica NF ao longo dos três primeiros ciclos de seleção recorrente e do ciclo atual (C4) em andamento (Tabela 2). Esta característica foi escolhida por ter sido avaliada em todos os ciclos já realizados e por se correlacionar fortemente com a produção total de frutos por planta, justamente pelo desejo de se obter plantas mais produtivas e com maiores qualidades físico-químicas. Neste contexto, foi verificado que a correlação entre NF e PROD foi fortíssima em todos os ciclos onde a produção total de frutos por planta foi avaliada, sendo para o ciclo C2 (0,928), C3 (0,971) e C4 (0,951).

Sendo assim, plantas com elevado potencial em produzir um número maior de frutos são aquelas que apresentam uma maior produção por unidade de área, fato que vem se mantendo ao longo dos ciclos (Tabela 2). O mesmo não ocorre com a característica peso de fruto (PF), onde esperava-se que quanto mais pesados fossem os frutos maior seria a produção total. Mas pelo contrário, podem ser verificados valores negativos de correlação entre NF e PF para todos os ciclos, com exceção para o ciclo C2 onde a correlação foi positiva, porém muita baixa (0,085), sendo considerado nula (Carvalho et al., 2004). Para as características CF, DF, EC, PP e SST, a correlação foi negativa para com a característica NF na maioria dos ciclos, e quando não, foi considerada nula ou fraca. Isto ratifica a necessidade de acuidade no processo de seleção, haja vista que estas características determinam a qualidade final dos frutos, a qual deve ser alcançada em um programa de melhoramento.

Contudo, estas se correlacionam negativamente com a produção e número de frutos, que também são altamente desejáveis. Assim, faz-se necessário a utilização de estratégias de melhoramento que visam contornar este entrave no processo de melhoramento do maracujazeiro-azedo, sendo os índices de seleção uma excelente alternativa. O pH dos frutos só foi avaliado no ciclo C4 e apresentou correlação de média magnitude com NF (0,404) (Tabela 2). O pH merece mais atenção nos próximos ciclos de seleção, visto que o Regulamento Técnico para a Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) para polpa de Maracujá do Ministério da Agricultura estabelece que o valor de pH deve situar-se entre 2,70 a

3,80, portanto, o progresso genético com a população também visa atender os valores adequados para essa característica.

Tabela 2. Coeficientes de correlação genotípica entre nove características agrônômicas em população de maracujazeiro-azedo ao longo de quatro ciclos de seleção recorrente. Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Caracteres	NF				
	C0	C1	C2	C3	C4*
PROD	-	-	0,928	0,971	0,951
PF	-0,87	-0,038	0,085	-0,155	-0,513
CF	-0,89	-0,734	-0,022	-0,152	-0,210
DF	-0,82	-0,111	0,185	-0,433	0,293
EC	-0,11	-1,634	-0,070	0,118	0,006
SST	-	-	0,158	0,004	-0,368
PH	-	-	-	-	0,404
PP	0,18	-	0,187	0,081	-0,335

C4* = Quarto ciclo de seleção recorrente em fase de execução

O diagnóstico de multicolinearidade realizado com base nas correlações genéticas indicou um número de condições igual a 440,2, sendo classificada como multicolinearidade moderada (Montgomery e Peck, 1981). Conseqüentemente, não houve superestimativas dos coeficientes de correlação de trilha neste trabalho e, com isso, não se realizou o descarte de variáveis. Somente a multicolinearidade severa superestima tanto os valores dos coeficientes de correlações simples quanto os efeitos diretos sobre a variável básica estimados por meio da análise de trilha (Coimbra et al., 2005).

Pela Tabela 3, verificou-se alto coeficiente de determinação (0,98) e baixo efeito residual (0,12), demonstrando assim maior confiabilidade para explicar os efeitos das variáveis explicativas sobre a variável básica. Esses resultados corroboram com os de Negreiros et al. (2007), que obtiveram coeficiente de determinação igual a 1,00 por meio de análise de trilha em maracujazeiro-azedo.

Verificou-se que o componente primário número de frutos, teve o maior efeito direto (1,09) sobre a produção total de frutos, porém, baixo efeito negativo indireto via peso de frutos (-0,13). O efeito direto de peso de frutos na produção por planta foi (0,26), apresentando efeito negativo via número de frutos (-0,56).

Quando se analisou a porcentagem de polpa observou-se efeito direto negativo (-0,09) sobre a variável produção por planta. Para a característica sólidos

solúveis totais, os ganhos diretos e indiretos foram majoritariamente negativos e baixos, tornando a seleção simultânea para essas características ineficaz.

Esses resultados indicam que a seleção direta de progênies com maior número de frutos ou peso de frutos acarreta aumento na produção por planta. No entanto, a seleção indireta não será eficiente em promover ganhos simultâneos para produção por planta. Para contornar essa dificuldade, sugere-se que os ganhos simultâneos podem ser alcançados por meio do uso de estratégias de índices de seleção como sugerem Cabral et al. (2016) e Santos et al. (2017).

Tabela 3. Estimativas dos efeitos diretos e indiretos das variáveis dependentes número de frutos por planta, peso de frutos por planta, porcentagem de polpa, comprimento e diâmetro de frutos, espessura da casca, teor de sólidos solúveis totais e pH sobre a variável principal produção por planta de maracujazeiro-azedo. Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Variáveis primárias	Vias de associações	Estimativa
NF	Efeito direto sobre PROD	1,097244
	Efeito indireto via PF	-0,13437
	Efeito indireto via CF	0,001291
	Efeito indireto via DF	0,015606
	Efeito indireto via EC	0,000833
	Efeito indireto via SST	0,016036
	Efeito indireto via pH	-0,01502
	Efeito indireto via POLPA	-0,03042
	Total	0,9512
PF	Efeito direto sobre PROD	0,261723
	Efeito indireto via NF	-0,56333
	Efeito indireto via CF	-0,0027
	Efeito indireto via DF	0,00522
	Efeito indireto via EC	0,027032
	Efeito indireto via SST	-0,00439
	Efeito indireto via pH	0,004302
	Efeito indireto via POLPA	0,007552
	Total	-0,2646

Tabela 3. Cont

Variáveis primárias	Vias de associações	Estimativa
CF	Efeito direto sobre PROD	-0,00614
	Efeito indireto via NF	-0,23086
	Efeito indireto via PF	0,115315
	Efeito indireto via DF	0,018267
	Efeito indireto via EC	0,024068
	Efeito indireto via SST	0,00005663
	Efeito indireto via pH	0,010874
	Efeito indireto via POLPA	-0,00418
	Total	-0,0726
DF	Efeito direto sobre PROD	0,05321
	Efeito indireto via NF	0,321822
	Efeito indireto via PF	0,025675
	Efeito indireto via CF	-0,00211
	Efeito indireto via EC	0,01509
	Efeito indireto via SST	0,006439
	Efeito indireto via pH	0,008091
	Efeito indireto via POLPA	-0,02621
	Total	0,402
EC	Efeito direto sobre PROD	0,141161
	Efeito indireto via NF	0,006474
	Efeito indireto via PF	0,05012
	Efeito indireto via CF	-0,00105
	Efeito indireto via DF	0,005688
	Efeito indireto via SST	0,007214
	Efeito indireto via pH	-0,00854
	Efeito indireto via POLPA	-0,06236
	Total	0,1387

Tabela 3. Cont

Variáveis primárias	Vias de associações	Estimativa
SST	Efeito direto sobre PROD	-0,04357
	Efeito indireto via NF	-0,4039
	Efeito indireto via PF	0,026382
	Efeito indireto via CF	0,00000798
	Efeito indireto via DF	-0,00786
	Efeito indireto via EC	-0,02338
	Efeito indireto via pH	0,013304
	Efeito indireto via POLPA	0,051415
	Total	-0,3876
PH	Efeito direto sobre PROD	-0,03715
	Efeito indireto via NF	0,443726
	Efeito indireto via PF	-0,03031
	Efeito indireto via CF	0,001796
	Efeito indireto via DF	-0,01159
	Efeito indireto via EC	0,032467
	Efeito indireto via SST	0,015601
	Efeito indireto via POLPA	-0,02072
	Total	0,3938
PP	Efeito direto sobre PROD	0,090775
	Efeito indireto via NF	-0,36769
	Efeito indireto via PF	0,021775
	Efeito indireto via CF	0,000282
	Efeito indireto via DF	-0,01536
	Efeito indireto via EC	-0,09698
	Efeito indireto via SST	-0,02468
	Efeito indireto via PH	0,008482
	Total	-0,3834
Coeficiente de determinação		0,983
Efeito residual		0,129

3.1.5. CONCLUSÕES

As características número de frutos e peso de frutos possuem maior efeito direto sobre a produção de frutos em progênies de meios-irmãos. Os efeitos indiretos apresentam pouca influência na produção de frutos.

O uso de índices de seleção é estratégia recomendada para ganhos consecutivos para características de qualidade e produção de frutos no maracujazeiro-azedo.

3.2. ESTIMATIVA DE GANHO GENÉTICO NA ETAPA DE OBTENÇÃO DE FAMÍLIAS DE IRMÃOS COMPLETOS EM MARACUJAZEIRO-AZEDO SOB SELEÇÃO RECORRENTE

3.2.1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá, porém, a produtividade é considerada baixa quando analisado seu potencial produtivo que pode ser superior a 40.000 kg ha⁻¹ ano⁻¹ (Freitas et al., 2011). Em 2017, a safra brasileira atingiu uma produção de 554.598 toneladas em área de aproximadamente, 41 mil hectares e rendimento médio de 13.497 kg ha⁻¹. O Estado do Rio de Janeiro obteve uma produção de 6.418 toneladas e rendimento médio de 14.075 kg ha⁻¹ (Ibge, 2017). Porém a cultura sofre com fatores limitantes como a baixa produtividade causada, dentre outros, por problemas fitossanitários e pela falta de genótipos adaptados às regiões de cultivo, desta maneira, o melhoramento genético torna-se indispensável para suprir essas necessidades (Silva et al., 2009).

Em 1999 a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), iniciou o programa de melhoramento genético do maracujazeiro-azedo, via seleção recorrente intrapopulacional, realizando a coleta de vários genótipos em três regiões produtoras e distintas do estado do Rio de Janeiro (Viana et al., 2004). Esse programa tem como objetivo o lançamento de cultivares mais produtivas e adaptadas às condições climáticas da região norte e noroeste fluminense.

Em geral os experimentos do maracujazeiro, incluindo os ensaios conduzidos na UENF, utilizam o delineamento em blocos casualizados (Viana et al., 2003; Gonçalves et al., 2009; Silva et al., 2009). Entretanto, a eficiência do delineamento pode ser prejudicada a medida que o número de tratamentos aumente. A heterogeneidade pode afetar a avaliação do desempenho dos genótipos, assim como as estimativas dos componentes de variância (Ramalho et al., 2005).

Uma alternativa para superar esse problema é a utilização do *post-hoc blocking Row-Col*, para a avaliação das diversas características. Trata-se de uma técnica a *posteriori* que consiste na sobreposição de uma estrutura de blocos sobre o desenho do campo original (Gezan et al., 2006), com adição de linhas e colunas. Dessa forma, no modelo linear comumente utilizado, além dos efeitos de blocos e tratamentos, estejam presentes os efeitos de linhas e colunas. Tal procedimento permite uma maior acurácia no tratamento das características fenotipadas na população (Silva et al., 2016).

Segundo Resende e Dias (2000), além da variabilidade genética, o sucesso do programa de melhoramento genético depende quase que totalmente da adoção de métodos precisos de seleção. Várias estratégias têm sido empregadas no melhoramento do maracujazeiro-azedo visando à obtenção de genótipos superiores. Na literatura, tem sido relatado o uso da seleção direta, entre e dentro, seleção combinada e modelos mistos (REML/BLUP) (Gonçalves et al., 2007; Oliveira et al., 2008; Santos et al., 2008; Assunção et al., 2015).

Nos ciclos anteriores do programa de melhoramento do maracujazeiro-azedo via seleção recorrente intrapopulacional da UENF, o método comumente utilizado é a seleção das melhores famílias, onde as famílias são recombinadas na estrutura de meios-irmãos. Para a continuidade dos ciclos de seleção recorrente são obtidas famílias de irmãos completos que são posteriormente avaliadas, nesta etapa a coleta de pólen para a obtenção das famílias é feita de forma indiscriminada dentro das parcelas ou unidades experimentais.

Como essa obtenção se dá em nível de família, o presente trabalho pretende verificar a existência de variabilidade genética dentro das famílias, avaliando as plantas individualmente e verificar se há incremento no ganho genético, pelo fato de se utilizar para geração das famílias de irmãos completos as melhores plantas dentro da cada família de meios-irmãos e comparar a eficiência

da técnica *post-hoc blocking Row-Col* em relação ao delineamento em blocos ao acaso.

3.2.2. REVISÃO

3.2.2.1. Melhoramento do maracujazeiro

O melhoramento do maracujazeiro tem diversas finalidades, em função do produto a ser considerado (fruto, folhas ou sementes) e da região de cultivo. Em geral, o melhoramento está dirigido ao produto mais importante do mercado, o fruto, sendo seus principais objetivos a produtividade, a qualidade e a resistência a doenças. Do ponto de vista econômico, é altamente positivo o aumento da qualidade e produtividade do maracujazeiro, pois o lucro está estreitamente relacionado com essas variáveis. Uma vez classificado, o fruto de melhor qualidade é remunerado a preços que chegam a ser 150% maiores que os obtidos com a comercialização de frutos de classes inferiores (Meletti et al., 2000).

Outras aplicações do melhoramento genético, ainda de forma incipiente, concentram na seleção de plantas com maior concentração de alcaloides e flavonóides para a indústria farmacêutica, bem como na possibilidade de utilização das sementes de algumas espécies como matéria-prima para a extração de compostos químicos de uso medicinal (Meletti et al., 2005).

Porém, o número de cultivares comerciais de maracujazeiro-azedo é pequeno, considerando a grande variabilidade dos agroecossistemas no Brasil. Nesse sentido, é de suma importância o aprimoramento dos trabalhos de melhoramento genético, nessa cultura, para acelerar o desenvolvimento de novas cultivares (Bruckner et al., 2002; Viana e Gonçalves, 2005; Gonçalves et al., 2007). As principais cultivares comerciais de maracujá disponíveis no mercado são os híbridos intravarietais da série 270 desenvolvidos pelo Instituto Agrônomo de Campinas, os híbridos lançados pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Cerrados, e as cultivares da série da Flora Brasil (Borges et al., 2008; Meletti, 2011). E recentemente lançado a cultivar de polinização aberta UENF Rio

Dourado, adaptada as condições climáticas do Norte e Noroeste fluminense (Viana et al., 2016).

Para que se alcance o sucesso em um programa de melhoramento, a escolha do germoplasma é etapa essencial. As características do germoplasma determinarão o potencial máximo ao qual a população submetida ao melhoramento pode chegar, e os métodos de melhoramento o quanto do potencial máximo será alcançado (Hallauer e Miranda Filho, 1988).

Por ser uma planta alógama, vários são os métodos de melhoramento que podem ser aplicados ao maracujazeiro. Entre eles, Oliveira e Ferreira (1991) citam a seleção massal, a hibridação e a seleção com teste de progênie. Outros procedimentos como a seleção recorrente, modelos mistos e hibridação interespecífica, com a finalidade de transferências de genes de resistência a doenças vem ganhando maior enfoque atualmente. Cunha (1996) propôs que a seleção massal, em maracujazeiro, fosse feita na primeira colheita, com base no vigor vegetativo e na produção pendente, e as sementes fossem coletadas, na segunda e terceira colheitas, de plantas selecionadas, polinizadas manualmente com mistura de pólen igualmente selecionado. Essa medida visa otimizar o ganho genético por ciclo, em virtude de a seleção ser feita nos dois sexos. Utilizando seleção massal estratificada por dois ciclos em maracujazeiro, Cunha (2000) obteve ganhos de 100% em relação à característica número de frutos, quando comparadas com as plantas não selecionadas.

A hibridação em maracujazeiro é uma técnica simples podendo ser empregada em alguma fase do processo de melhoramento do maracujazeiro (Bruckner e Otoni, 1999). Meletti et al. (2005) caracterizaram três híbridos intravarietais (IAC-273, IAC-275 e IAC-277), lançados em 1999. Obtenção destes materiais, primeiro realizou-se seleção massal, hibridação entre os indivíduos promissores, retrocruzamento e teste de progênies (Meletti et al., 2000).

Os métodos de melhoramento baseados em hibridações interespecíficas têm sido citados como promissores, como uma forma de transferir genes de resistências para a espécie comercial. Esta estratégia também permite a expansão da base genética da resistência e dos genótipos utilizados em programas de melhoramento (Junqueira et al., 2005). Neste contexto, um exemplo de trabalho bem sucedido foi o realizado por Santos et al. (2015) que obtiveram híbridos interespecíficos resistentes à CABMV (a partir do cruzamento entre os genótipos

de *P. edulis* e *P. setacea*), contribuindo para o estabelecimento de um programa de melhoramento para obtenção de plantas resistentes ao CABMV na região Norte Fluminense do Rio de Janeiro (Ribeiro et al., 2019).

O teste de progênie é a avaliação do genótipo dos genitores com base no fenótipo de seus descendentes (Allard, 1999). No maracujazeiro, a seleção com teste de progênie pode ser realizada utilizando-se dois tipos de progênie: meios-irmãos ou irmãos completos. As progênie de meios-irmãos podem ser obtidas por polinização controlada ou não. Neste caso, coleta-se diretamente um fruto por planta selecionada e, como este normalmente possui grande número de sementes, é suficiente para compor um experimento com várias repetições. A obtenção de progênie de irmãos completos, que também é viável num programa de melhoramento, necessita de realização de polinização controlada entre os genótipos selecionados (Bruckner et al., 2002).

Outro método que merece destaque é a seleção recorrente. Trata-se de um procedimento bastante eficaz e vem sendo utilizado na cultura do maracujazeiro-azedo, nos programas de melhoramento da UENF e UNEMAT. Este método busca-se a melhoria da performance das populações de forma contínua e progressiva por meio do aumento das frequências dos alelos favoráveis dos caracteres sob seleção, mantendo a variabilidade genética em níveis adequados para permitir ganhos genéticos nos ciclos subsequentes (Hull, 1945; Hallauer, 1985; Souza Júnior, 2001).

Meletti et al. (2000) estudaram a resposta de oito híbridos de maracujazeiro, obtidos em sucessivos ciclos de seleção recorrente, a partir de indivíduos pré-selecionados em pomares comerciais. A melhor combinação para as diversas características estudadas resultou na seleção dos híbridos “IAC-3”, “IAC-5” e “IAC-7”, sendo essas três seleções reunidas no “Composto IAC-27”, que foi lançado como cultivar em 1998.

A metodologia de modelos mistos REML/BLUP permite gerar estimativas não tendenciosas, de parâmetros, pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML), e predição dos valores genéticos e genotípicos pelo procedimento BLUP, conduzindo à maximização do ganho genético por avaliar e ordenar os candidatos à seleção com precisão (Viana e Resende, 2014). Devido às vantagens desse método, seu emprego no melhoramento de espécies perenes e semi-perenes tem crescido expressivamente. Podendo também ser aplicado às espécies anuais,

como exemplo: espécies florestais, tais como pupunheira (Farias Neto et al., 2001), e espécies frutíferas, maracujazeiro-azedo (Ferreira et al., 2016; Assunção et al., 2015).

3.2.2.2. Melhoramento do maracujazeiro-azedo na UENF via seleção recorrente

A seleção recorrente, como método de melhoramento intrapopulacional associado às ferramentas biométricas pode auxiliar na seleção de genótipos superiores (Hallauer e Miranda filho, 1988). Borém e Miranda (2009) ressaltam que os métodos intrapopulacionais, em geral, são os mais comumente utilizados do que os interpopulacionais, pois são de mais fácil execução e aplicáveis à maioria das características agronômicas.

Na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), o programa de melhoramento genético do maracujazeiro teve início em 1999, com a coleta inicial de vários genótipos em três regiões produtoras e distintas do estado do Rio de Janeiro (Viana et al., 2003, 2004). Com base nesses estudos iniciais, procurou-se, em uma segunda fase, realizar uma amostragem mais ampla em áreas comerciais da região Norte Fluminense, onde, por meio de delineamentos genéticos apropriados, como o Delineamento I de Comstock e Robinson (1948), obteve-se um maior número de progênies. Assim, com base nos resultados destas análises iniciais, optou-se pela elaboração de um programa de seleção recorrente intrapopulacional (Gonçalves et al., 2008; 2009; Silva et al., 2009; Reis et al., 2011; Ferreira et al., 2016; Silva et al., 2016).

Em trabalho de Gonçalves (2005), para uma população de maracujá-azedo, o uso da seleção recorrente intrapopulacional foi indicado por apresentar maior facilidade de execução e por várias características importantes terem apresentado predominância de ação gênica aditiva. Esse trabalho deu início à seleção recorrente, nomeado Maracujá Amarelo Zero (MA₀), com avaliação de 97 progênies de maracujá-azedo e seleção de 27 indivíduos. Para a obtenção dessas progênies, foram amostradas plantas ao acaso nas linhas de plantio, na área da Empresa Bela Joana em Campos dos Goytacazes-RJ, no período de maio a julho de 2002, sendo esta população composta pelos seguintes materiais: Maguary, Yellow Master e seleções de São Francisco do Itabapoana, com coeficiente de

endogamia $F=0$. Realizaram-se cruzamentos seguindo o Delineamento I, procedimento proposto por Comstock e Robinson (1948), formando progênies de irmãos completos e meios-irmãos.

O primeiro ciclo de seleção recorrente foi conduzido por Silva et al., (2009), com a denominação de Maracujá Amarelo Um (MA_1), no qual os indivíduos selecionados foram obtidos de cruzamentos dirigidos, envolvendo as 27 progênies selecionadas por Gonçalves (2005). A recombinação foi realizada utilizando meios-irmãos maternos, cuja mãe foi à própria progênie selecionada e o pai foi à mistura de pólen oriundo de todas as progênies selecionadas. Com a recombinação, foram obtidas 140 progênies de irmãos completos, formando a nova população de trabalho e, utilizando índice de seleção, foram selecionados 30% dessas progênies, obtendo-se um total de 39 genótipos (Silva et al., 2009).

Em trabalho de Reis et al. (2011), objetivou-se estimar e comparar a variabilidade genética de progênies de maracujazeiro entre a população inicial (MA_0) em relação à população (MA_1) dos dois ciclos de seleção recorrente do maracujazeiro-azedo, além de analisar a divergência genética das progênies obtidas nos dois ciclos de seleção por meio de marcadores microssatélites, selecionando os genótipos mais divergentes, a fim de verificar o impacto dos procedimentos de seleção recorrente na variabilidade genética da população de trabalho via marcadores microssatélites. Verificou-se uma pequena perda de variabilidade genética nesses dois ciclos de seleção recorrente, via marcadores microssatélites. No entanto, esta oscilação pode ser considerada normal ao realizar a seleção, sendo possível dar continuidade ao programa.

O segundo ciclo de seleção recorrente foi conduzido por Ferreira et al., (2016) onde foram avaliadas 28 progênies de meios-irmãos resultantes da recombinação de 30% das melhores progênies das 140 progênies de irmãos completos, selecionadas via índice de seleção no primeiro ciclo de seleção recorrente (Silva et al., 2009). Verificou-se que a análise do experimento via metodologia REML/BLUP mostrou-se adequada para a avaliação do maracujazeiro-azedo, possibilitando obter estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos, que revelaram a possibilidade de sucesso com a seleção de progênies superiores, com ganhos simultâneos de 18,02%, 23,08% e 9,65% para NF, PROD e PF, respectivamente.

Silva et al. (2016) conduziu o terceiro ciclo de seleção recorrente do maracujazeiro-azedo, avaliando 81 progênies de irmãos completos. Os principais resultados foram: há variabilidade genética entre as progênies de maracujazeiro estudadas, o que possibilita a composição de grupos heteróticos como forma de direcionamento de novos cruzamentos e avanço genético. O método REML/BLUP apresenta os melhores ganhos genéticos preditos, em comparação aos obtidos pelos índices de seleção, e é eficiente para seleção de progênies de maracujazeiro-azedo.

Após o terceiro ciclo de seleção recorrente do maracujazeiro-azedo, em agosto de 2015 foi liberado pelo Ministério da Agricultura, o registro de novo cultivar e autorização de produção de sementes e o cultivo da UENF Rio Dourado, visando à recomendação de uma variedade produtiva e adaptada para as regiões Norte e Noroeste Fluminense, o que impulsionará à cadeia produtiva da cultura, e, como consequência, o aumento de renda de muitas famílias com a comercialização dos frutos (Viana et al., 2016).

3.2.2.3. Técnica *Post-hoc blocking Row-Column (Row-Col)*

A seleção adequada de um delineamento experimental e análises estatísticas apropriadas podem produzir melhorias na predição de valores genéticos e um eficiente aproveitamento dos recursos disponíveis (Gezan et al., 2006).

Em programas de melhoramento genético com elevado número de genótipos a serem avaliados uma grande área física é requerida, gerando blocos de grandes tamanhos. Nesse caso, supõe-se que a heterogeneidade dentro dos blocos é a menor possível, e adequada para a predição de parâmetros e valores genéticos. Além disso, o maior tamanho dos blocos formados restringe a sua quantidade. Um delineamento experimental mais eficiente, nestes casos, poderia ser aquele que capta a variação espacial de forma mais eficaz, tal como o delineamento em linhas e colunas (*Row-Col*) (Silva et al., 2016).

A técnica *post-hoc blocking Row-Col* é uma técnica *posteriori* e foi proposta inicialmente por Patterson e Hunter (1983). A técnica consiste na sobreposição de uma estrutura de linhas e colunas sobre o croqui do campo original (Gezan et al.,

2006). Torna-se um método de baixo custo para avaliar a eficiência de um delineamento experimental (Patterson e Hunter, 1983).

A técnica permite a eliminação da heterogeneidade por “dois diferentes caminhos” em contrapartida o delineamento em blocos casualizados, a única fonte de variação, além do tratamento, é a de blocos. No entanto, em um experimento avaliado em *Row-Col*, além dos efeitos de blocos e tratamento, estão presentes os efeitos de linhas e colunas (Silva et al., 2016).

Alguns autores têm utilizado com sucesso a técnica *post-hoc blocking Row-Col* para aumentar a herdabilidade e a precisão da previsão de efeitos genéticos (Ericsson, 1997; Dutkowski et al., 2002; Lopez et al., 2002).

3.2.3. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.3.1. População avaliada

Foram avaliadas 23 famílias de meios-irmãos oriundas do programa de melhoramento genético da UENF via seleção recorrente. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso (DBC) com quatro repetições e três plantas por parcela. Para avaliar a técnica *post-hoc blocking row-column*, foi implantado um arranjo com 27 linhas e 12 colunas sobre o croqui experimental em DBC.

3.2.3.2. Condução do experimento

O experimento foi conduzido entre janeiro de 2016 a janeiro de 2017, seguindo metodologia adotada por Cavalcante et al. (2017). Na Unidade Experimental da UENF em Itaocara - RJ (21°40' latitude sul, 42°04' longitude oeste e altitude de 76 m). O solo da área experimental é classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo (Embrapa, 2006).

O sistema de condução adotado foi o de espaldeira vertical, com mourões de eucalipto tratados de 2,5 m de altura, espaçados a 4 metros e com um fio de arame número 12 a 1,80 m do solo. A distância entre as linhas de plantio foi de 3,5

m, a fim de possibilitar a mobilização de máquinas dentro do experimento, e 3 m entre covas. A calagem, adubações de plantio e de cobertura foram efetuadas de acordo com a análise do solo seguindo as recomendações de Incaper (2008). Todos os tratamentos culturais como poda e controle de pragas, doenças e plantas daninhas foram realizados quando necessários, conforme as recomendações para a cultura do maracujazeiro.

Quando necessário, as plantas foram irrigadas usando o sistema de gotejamento com vazão de quatro litros por hora, aplicando de forma suplementar nos períodos de estiagem.

Como forma de otimizar os ganhos de seleção na fase de geração das famílias, modificamos o processo de avaliação, fazendo a fenotipagem em plantas individuais dentro de cada família. Selecionando as melhores plantas dentro de cada família, essas plantas serão cruzadas aos pares para formar as famílias que darão continuidade ao programa de seleção recorrente (Figura 1).

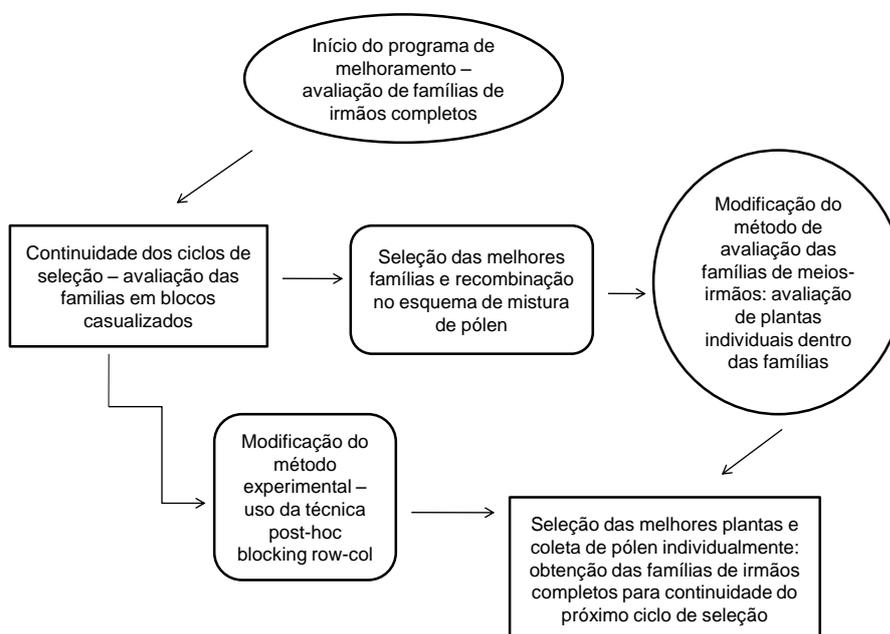


Figura 1: Esquema do programa de melhoramento de maracujá-azedo da UENF. Proposta de alteração da metodologia de avaliação de famílias e coleta de pólen em plantas individuais dentro das melhores famílias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

3.2.3.3. Características avaliadas

Foram fenotipadas as seguintes características: número de frutos por planta (NF) foi avaliado pelas coletas ao longo da condução do experimento. O peso de frutos (PF) foi obtido pela divisão da produção total por planta pelo número total de frutos. A característica de porcentagem de polpa (PP) foi obtida pela pesagem da polpa de cinco frutos por planta (massa de sementes com arilo) dividida pelo peso total dos cinco frutos e multiplicada por 100.

O comprimento e diâmetro de frutos (COMP e DIAM) foram obtidos a partir de medições de uma amostra composta de cinco frutos por planta das dimensões longitudinais e das dimensões transversais dos frutos, por meio do uso de paquímetro digital. A espessura de casca (EC) foi determinada com uso de um paquímetro digital, medindo-se a porção mediana dos cinco frutos, cortados transversalmente, no sentido de maior diâmetro.

A determinação do teor de sólidos solúveis totais (SST) foi realizada mediante a refratometria, utilizando-se refratômetro digital (modelo RTD-45), com leitura na faixa de 0 a 95° de Brix. As leituras foram realizadas colocando gotas de suco de frutos individualmente. A determinação do potencial hidrogeniônico (pH) foi realizada com a imersão do sensor do pHmetro digital (potenciômetro com eletrodo de vidro), modelo (W3B) no suco extraído dos frutos. A produção por planta (PROD) foi obtida pela quantidade colhida em quilogramas durante a condução do experimento.

3.2.3.4. Análise dos dados

Para comparar o modelo em blocos casualizados (DBC) e post-hoc blocking Row-Col foi realizada a análise no programa R por meio do pacote ASReml. Segue abaixo as equações: primeiro utilizando o modelo em DBC, e segundo a equação baseada no modelo *row-column*.

$$Y_{ijk} = \mu + \text{bloco}_i + \text{indivíduo}_j + \varepsilon_{ij}$$

$$Y_{ijkl} = \mu + \text{bloco}_i + \text{indivíduo}_j + \text{row}_k + \text{col}_l + \varepsilon_{ijkl}$$

Onde: Y_{ijk} é o valor para a respectiva característica no i th bloco (1–4); na j th indivíduo ($j=1-263$), na k th linha ($k=1-27$) e na l th coluna ($l=1-12$); μ é a média global; B_i corresponde ao efeito fixo de blocos; I_j corresponde ao efeito aleatório de indivíduo \sim NIID (0, A σ_a^2), row_k corresponde ao efeito aleatório das linhas \sim NIID (0, I σ_{row}^2), col_l corresponde ao efeito aleatório das colunas \sim NIID (0, I σ_{col}^2) e ε_{ijkl} é o efeito aleatório do resíduo para i th bloco j th indivíduo na k th linha e l th coluna \sim NIID (0, I σ_e^2). A matriz I é a matriz identidade, enquanto A é a matriz de parentesco derivada da informação de *pedigree*.

Foi utilizado o teste de Qui-Quadrado (χ^2) para comparar os modelos por meio do teste de razão de verossimilhança (LRT). Essa comparação tem como objetivo avaliar a significância da técnica post-hoc blocking Row-Col na análise das observações. Baseado no LRT foi escolhido o melhor modelo para prever os BLUP dos valores genéticos aditivos e estimar os componentes de variância via REML.

De acordo com modelo descrito em Viana e Resende (2014), a análise de deviance foi obtida da seguinte forma:

$$D = -2\ln(L)$$

$$\ln(L) = -1/2\ln|X'V^{-1}X| - 1/2\ln|V| - 1/2(y-Xm)'V^{-1}(y-Xm),$$

Em que: $\ln(L)$ é o ponto máximo da função de logaritmo de máxima verossimilhança restrita (REML); y é o vetor da variável analisada; m é o vetor dos efeitos das observações, assumido fixo, X é a matriz de incidência dos efeitos fixos; e V é a matriz de variância-covariância de y .

O teste estatístico LRT (teste de razão de verossimilhança) foi utilizado para testar o significado dos efeitos, da seguinte forma:

$$LRT = -2\ln(L_{se}) + 2\ln(L_{fm}),$$

Em que: L_{se} é o ponto máximo da função de máxima verossimilhança para o modelo reduzido (sem os efeitos) e L_{fm} é o ponto máximo da função de máxima verossimilhança para o modelo completo.

As análises de predição dos ganhos genéticos e estimativa dos componentes de variância via REML/BLUP foram realizadas pelo software estatístico genético Selegen, via modelo que permite a avaliação de indivíduos em famílias de meios-irmãos (Resende, 2016). O modelo utilizado foi: $y = Xr + Za + Wp$

+ e, em que y é o vetor de dados; r é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral; a é o vetor dos efeitos genéticos aditivos individuais (assumidos como aleatórios); p é o vetor dos efeitos de parcela; e é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). X, Z e W representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

As soluções para as equações de modelos mistos foram obtidas por métodos iterativos de resolução de sistemas de equações lineares. Estimadores iterativos dos componentes de variância por REML via algoritmos EM (Expectation-Maximization).

$$\sqrt{\text{herdabilidade individual no sentido restrito no bloco; } h^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_a^2 + \sigma_e^2}}$$

$$\sqrt{\text{Variância fenotípica; } \sigma_f^2 = \sigma_a^2 + \sigma_e^2}$$

$$\sqrt{\text{variância genética aditiva; } \sigma_a^2 = [\hat{a}'A^{-1}\hat{a} + \sigma_e^2 \text{tr}(A^{-1}C^{22})]/q}$$

, em que:

tr: operador traço matricial;

C^{22} advém de:

$$C^{-1} = \begin{bmatrix} C_{11} & C_{12} \\ C_{21} & C_{22} \end{bmatrix}^{-1} = \begin{bmatrix} C^{11} & C^{12} \\ C^{21} & C^{22} \end{bmatrix}$$

C: matriz dos coeficientes das equações de modelos mistos.

$\sqrt{\text{acurácia da predição dos valores genéticos;}}$

$$r_{aa}^2 = [1 - \text{PEV}/\sigma_a^2]^{1/2}$$

Utilizou-se a classificação das herdabilidades baseada em Resende (1995), que considera os valores 0,01 até 0,15 baixos, de 0,15 até 0,50 são medianos e superiores a 0,50 são altos. E para acurácia classificou-se como muito alta ($\geq 0,90$), alta (0,89 a 0,70), moderada (0,69 a 0,50) e baixa ($\leq 0,49$) Resende e Duarte (2007).

Para verificar se há incremento no ganho genético foram utilizadas três diferentes estratégias de seleção. A seleção dentro de famílias baseia-se em selecionar as duas melhores plantas das 23 famílias de meios-irmãos, totalizando 46 plantas. Outro método consiste na seleção entre famílias utilizando-se as 18 melhores famílias. Para essas duas estratégias os ganhos com a seleção foram fornecidos pelas análises do software estatístico genético Selegen e os ganhos em porcentagem foram estimados pela expressão $G\% = (\text{ganho} \times 100) / \text{média geral}$,

em que ganho é o ganho genético predito; e média geral é a média da característica avaliada. O terceiro método consiste na estratégia de seleção obtida por Silva et al. (2009) pelo uso da metodologia de seleção direta e índice de seleção.

3.2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelo teste de razão de verossimilhança o modelo proposto *post-hoc blocking Row-Col* apresentou desempenho semelhante ao modelo de blocos casualizados, não havendo diferença estatística para todas as características avaliadas (Tabela 1).

Silva et al. (2016) encontraram resultado diferente ao avaliar 81 progênies de irmãos completos de maracujazeiro-azedo. Observaram que o modelo *post-hoc blocking Row-Col* apresentou melhor ou igual desempenho quando comparado ao modelo de blocos casualizados para todas as características avaliadas. Para as características número de frutos e produção observaram diferenças significativas ($P < 0,01$) entre os modelos avaliados. Com base nos resultados favoráveis obtidos, o modelo proposto *post-hoc blocking Row-Col* foi escolhido para todas as análises subsequentes. Kempton et al. (1994) verificaram uma superioridade da técnica *post-hoc blocking Row-Col* em comparação ao de blocos casualizados em ensaios com cereais, reportando ganhos mais eficientes.

Uma das possíveis causas de não haver diferença significativa entre os dois modelos testados, deve-se ao número inferior de famílias utilizado no presente trabalho, desta maneira não houve problemas com heterogeneidade das parcelas dentro de cada bloco. O delineamento em blocos ao acaso sofre com perdas de eficiência quando ocorre avaliação de um número elevado de tratamentos. Isto porque o tamanho do bloco aumenta proporcionalmente com o número de tratamentos, e a homogeneidade das parcelas dentro de blocos grandes fica difícil de ser mantida, o que prejudica, conseqüentemente, as comparações dos tratamentos. Assim, para delineamento em blocos ao acaso espera-se elevação do erro experimental com o aumento do número de tratamentos (Gomez e Gomez, 1984).

A partir disto, o modelo em blocos casualizados, por apresentar maior simplicidade na realização da análise de dados, foi escolhido para estimar os componentes de variância e predição dos valores genéticos do presente estudo.

Tabela 1. Probabilidade de significância (*P*-valor) para o teste de razão de verossimilhança, comparando os modelos propostos para o delineamento em blocos completos casualizados (DBC) e post-hoc blocking Row-Col, em características de maracujazeiro-azedo. Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Características	DBC	Row-Col	d= 2[log L₂ – log L₁]	χ² P-valor
Número de frutos	-965,05	-965,05	0,00035	0,99
Produção	-2281,53	-2281,53	-1,31E-05	1
Peso fruto	-1049,66	-1049,56	0,200	0,90
Comprimento de frutos	-617,38	-616,72	1,314	0,51
Diâmetro de frutos	-1335,28	-1334,82	0,914	0,63
Espessura de casca	-163,23	-162,83	0,802	0,66
Porcentagem de polpa	-595,43	-595,26	0,339	0,84
Sólidos solúveis totais	-305,93	-305,91	0,043	0,97
pH	389,86	391,80	3,870	0,14

Na Tabela 2, são apresentados os valores de deviance, cujos resultados demonstram a existência de diferença significativa pelo teste de Qui-quadrado a 5% de probabilidade para as características número de frutos, peso de frutos, comprimento e diâmetro de frutos e porcentagem de polpa, indicando a existência de variabilidade genética entre os genótipos avaliados, o que possibilita o sucesso na seleção de genótipos superiores.

Os maiores valores de variância aditiva foram observados para as características de produção por planta e peso de frutos (3.463 e 385,94), indicando uma alta variabilidade genética para estas características na população avaliada (Tabela 3). Ramalho et al. (1993) consideram a variância aditiva como a mais importante para o melhorista e é ela a responsável pelo efeito positivo da seleção.

Tabela 2. Análise de deviance para características produtivas e de qualidade de frutos em famílias de meios-irmãos de maracujazeiro-azedo. Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Efeito	NF		PROD		PF	
	Deviance	LRT (χ^2)	Deviance	LRT (χ^2)	Deviance	LRT (χ^2)
Genótipos	1935,14	5,87**	4562,52	1,74 ^{ns}	2102,79	4,11**
Modelo completo	1929,27		4560,78		2098,68	
Efeito	COMP		DIAM		EC	
	Deviance	LRT (χ^2)	Deviance	LRT (χ^2)	Deviance	LRT (χ^2)
Genótipo	1240,49	5,72**	1054,94	6,12**	325,79	2,05 ^{ns}
Modelo completo	1234,77		1048,82		323,74	
Efeito	SST		PH		PP	
	Deviance	LRT (χ^2)	Deviance	LRT (χ^2)	Deviance	LRT (χ^2)
Genótipo	404,98	0,57 ^{ns}	-779,38	1,76 ^{ns}	1194,56	3,77**
Modelo completo	404,41		-781,14		1190,79	

** significativo a 5 % de probabilidade pelo teste Qui-quadrado. LRT(χ^2): teste de razão de verossimilhança.

As estimativas de variância fenotípica variaram de 15829,00 a 0,01 (Tabela 3). Os maiores valores foram obtidos para as características de produção por planta e peso de fruto (15829,00 e 1179,85, respectivamente) indicando maior influência do ambiente na expressão dessas características. Silva e Viana (2012) avaliaram 140 famílias de irmãos completos de maracujazeiro-azedo, provenientes do segundo ciclo de seleção recorrente e obtiveram estimativas de variância fenotípica de 328,25 para PF. No entanto, o valor obtido neste trabalho foi superior, indicando maior influência ambiental na expressão dessa característica.

Tabela 3. Estimativas dos parâmetros genéticos via procedimento REML, para características de produção e qualidade de maracujá. Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Parâmetros Genéticos	Características								
	NF	PROD	PF	COMP	DIAM	EC	SST	PH	PP
σ^2_a	259,46	3463,9	385,94	13,75	7,33	0,31	0,22	0,003	10,60
σ^2_f	622,59	15829,00	1179,85	41,69	20,41	1,25	1,71	0,01	35,10
h^2_a	0,41	0,21	0,32	0,33	0,35	0,24	0,13	0,21	0,30
h^2_{mp}	0,55	0,36	0,48	0,51	0,53	0,38	0,23	0,36	0,48
h^2_{ad}	0,37	0,19	0,28	0,27	0,29	0,22	0,12	0,18	0,25
c^2_{parc}	0,05	0,10	0,05	0,004	0,005	0,11	0,16	0,08	0,01
AC_{prog}	0,74	0,60	0,69	0,71	0,73	0,62	0,47	0,60	0,69
Média geral	47,32	7,77	168,13	87,26	77,27	6,59	11,5	2,68	46,24

Variância genotípica aditiva entre progênies de maracujazeiro (σ^2_a), variância fenotípica individual (σ^2_f), herdabilidade individual no sentido restrito (h^2_a), herdabilidade com base na média de progênies (h^2_{mp}), herdabilidade aditiva dentro de família (h^2_{ad}), coeficiente de determinação dos efeitos de parcela (c^2_{parc}), acurácia da seleção de progênies (AC_{prog}).

As estimativas de herdabilidade individual (h^2_a) variaram de 0,41 a 0,13 (Tabela 3). Apenas a característica sólidos solúveis totais obteve baixo valor de herdabilidade (0,13) seguindo classificação de Resende (1995), indicando dificuldades na seleção para esse caráter. Uma das possíveis causas dessa baixa estimativa é o fato de que a população já passou por três ciclos de seleção e essa variável já estaria estabilizada com uma presença de baixa variabilidade genética na população, porém com valores já aceitáveis para os frutos. Assunção et al. (2015) avaliaram a seleção individual de plantas de maracujazeiro-azedo quanto à qualidade de frutos via REML/BLUP e também observaram baixas estimativas de herdabilidade individual para a característica de SST (0,07).

Para as demais características as herdabilidades individuais (h^2_a) foram de magnitude mediana. Valores de herdabilidade de média e alta magnitude indicam situação favorável à seleção (Viana et al., 2004). De acordo com Farias Neto et al. (2007), a herdabilidade individual de 44,6% encontrada na seleção de progênes de açazeiro para altura de cachos, demonstrou um grande potencial para seleção dentro do experimento.

As maiores estimativas para a herdabilidade média da progênie (h^2_{mp}) foram observadas para número de frutos, comprimento e diâmetro de frutos (0,55, 0,51 e 0,53) sendo classificados como valores de alta magnitude (Tabela 3). Como essas famílias já são selecionadas, não se torna interessante à seleção entre, mas sim dentro de famílias. Oliveira et al. (2008) avaliando os ganhos genéticos preditos por meio de diferentes índices de seleção, em seis caracteres relacionados ao fruto, em 16 famílias de meios-irmãos de maracujá, observaram valores das estimativas dos coeficientes de herdabilidade médias (h^2_{mp}), variaram de 0,11 a 0,57, e as maiores herdabilidades (acima de 0,50) foram encontradas em comprimento dos frutos, número de frutos por planta e peso de fruto.

A herdabilidade para a seleção dentro de famílias (h^2_{ad}) (Tabela 3) apresentou magnitude similar a herdabilidade individual. Observa-se que mesmo no quarto ciclo de seleção recorrente ainda há variabilidade dentro das famílias avaliadas. Ferreira et al. (2016) ao avaliar o segundo ciclo de seleção recorrente do maracujazeiro-azedo da UENF, verificou estimativas de herdabilidade dentro das famílias de alta magnitude (0,65, 0,78 e 0,67 para NF, PT e PF, respectivamente) mostrando que o ganho genético dentro foi maior que entre famílias. Neste caso,

pode-se fazer seleção entre e dentro de famílias para explorar a variabilidade e aumentar o ganho genético.

O coeficiente de determinação dos efeitos de parcela (c^2_{parc}) foi de baixa magnitude, com exceção das características de espessura e sólidos solúveis totais (11 e 16%) (Tabela 3). O c^2_{parc} quantifica a variabilidade das parcelas dentro dos blocos, sendo que estimativas até 10% não chegam a interferir na estimativa dos parâmetros genéticos (Resende, 2002).

A acurácia é o parâmetro mais importante na avaliação da precisão no acesso à variação genética verdadeira, assim, quanto maior o valor da acurácia, maior é a confiança na avaliação e no valor genético predito (Resende, 2002). Para as características de número de frutos (0,74), comprimento e diâmetro de frutos (0,71 e 0,73), a acurácia foi de alta magnitude, segundo classificação de Resende e Duarte (2007) (Tabela 3). A produção, peso de frutos, espessura de casca, pH e porcentagem de polpa (0,60; 0,69; 0,62; 0,60 e 0,69) estão em média magnitude, valores que ainda estimam com segurança os valores genéticos preditos e herdáveis. Apenas a característica de sólidos solúveis totais (0,47) apresentou baixo valor de acurácia, inferindo menor confiabilidade dos dados, possivelmente por essa característica ser altamente influenciada pelo ambiente ou pela baixa herdabilidade e por consequência reduz os valores de acurácia.

Silva et al., (2009) avaliaram uma estratégia de seleção na fase de geração e teste de progênies de maracujazeiro-azedo e obtiveram ganhos genéticos por meio da seleção truncada e do uso de índice de seleção, considerando duas simulações de ganho, uma, selecionando oito famílias superiores, e outra, selecionando 18 famílias superiores. Os ganhos observados pelos autores foram inferiores quando comparado aos dois métodos testados neste presente estudo para as características de número e peso de frutos. Os ganhos diretos selecionando oito famílias superiores para característica de número de frutos (2,97%) e peso de frutos (7,83%) e selecionando 18 famílias superiores o ganho para número de frutos (1,19%) e peso de frutos (3,49%). Os ganhos utilizando índice de seleção quando foram selecionadas oito famílias superiores para característica de número de frutos (2,47%) e peso de frutos (3,1%) e selecionando 18 famílias superiores o ganho para número de frutos (1,03%) e peso de frutos (3,18%). Os ganhos diretos para cada característica individual foram maiores do que os obtidos pelo índice de seleção.

Tabela 4. Estimativas de ganhos de seleção preditos em três diferentes métodos de seleção em maracujazeiro-azedo. Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Características	Seleção dentro		Seleção entre		Silva et al. (2009)			
					Seleção direta		Índice de seleção	
	Ganho %	Ne	Ganho %	Ne	GS% ¹	GS% ²	GS% ¹	GS% ²
NF	42,83	36,8	26,76	36	2,97	1,19	2,47	1,03
PROD	21,88	36,8	15,08	36	-	-	-	-
PF	14,29	36,8	8,59	36	7,83	3,49	3,1	3,18
COMP	4,70	36,8	3,02	36	2,79	1,27	0,64	0,47
DIAM	3,70	36,8	2,35	36	3,56	1,56	2,64	1,36
EC	1,37	36,8	2,91	36	-5,85	-3,07	0,64	0,65
SST	2,69	36,8	1,91	36	-	-	-	-
PH	2,04	36,8	1,43	36	-	-	-	-
%POLPA	6,43	36,8	4,72	36	-	-	-	-

GS%¹ -ganho de seleção em porcentagem, considerando a seleção de 8 progênes superiores.

GS%² - ganho de seleção em porcentagem, considerando a seleção de 18 progênes superiores.

Ne - Tamanho efetivo.

Com a seleção dentro de famílias de meios-irmãos pode-se observar ganhos superiores à seleção entre famílias e aos ganhos encontrados por Silva et al. (2009) para as características número de frutos, produção, peso de frutos, comprimento e diâmetro de frutos, sólidos solúveis totais, pH e porcentagem de polpa (Tabela 4). Para a característica de espessura de casca (1,37%) o ganho foi positivo, porém menor do que o encontrado com a seleção entre famílias (2,91), uma vez que se busca a redução da expressão dessa característica. Fortaleza et al. (2005) afirmam que frutos de maracujá são preferidos quando possuem casca mais fina, pois apresentam maior quantidade de polpa.

Estudos indicam redução na variabilidade genética após alguns ciclos de seleção recorrente, geralmente, em virtude da redução no tamanho da população (Hallauer, 1971). A deriva genética pode acarretar perda de alelos favoráveis ou fixação dos alelos desfavoráveis e pode haver redução acentuada da variabilidade genética, o que pode comprometer os ganhos genéticos (Hallauer et al., 1988). Associado a isso, no caso do maracujazeiro-azedo, deve-se preservar a diversidade de alelos de autoincompatibilidade, visto que o cruzamento entre indivíduos aparentados via redução do número efetivo, pode gerar problemas de polinização e frutificação das famílias selecionadas. Portanto, a intensidade de

seleção a ser aplicada é uma decisão importante, já que, se for muito elevada, pode ocorrer deriva genética por causa do tamanho efetivo reduzido das populações geradas pela recombinação das progênes selecionadas (Reis et al., 2011).

Associado a esse fato, um melhor equilíbrio pode ser estabelecido entre a covariância genética a ser capitalizada. A covariância entre os modelos de efeitos aleatórios pode ser otimizada na seleção dentro das famílias. O controle de polinização, com a coleta individual das melhores plantas, promoverá um melhor aproveitamento do componente genético aditivo, capitalizado nas famílias dos meios-irmãos (Viana e Resende, 2014).

3.2.5. CONCLUSÕES

A estratégia de seleção dentro de famílias de meios-irmãos permitiu à obtenção de ganhos superiores a seleção entre famílias, tornando-se o método mais indicado por promover uma pressão de seleção menor, possibilitando a geração de famílias superiores de irmãos completos de maracujazeiro-azedo.

A técnica *post-hoc blocking Row-Col* para o presente estudo, apresentou desempenho semelhante ao modelo de blocos casualizados, não havendo uma coleta de dados com maior acurácia dos tratamentos. Sendo assim, torna-se mais relevante à utilização do delineamento em blocos casualizados.

3.3. ESTRUTURA POPULACIONAL DE MARACUJAZEIRO-AZEDO NO QUARTO CICLO DE SELEÇÃO RECORRENTE

3.3.1. INTRODUÇÃO

O melhoramento genético do maracujazeiro trouxe avanços significativos em relação à produtividade, qualidade de frutos, resistência e tolerância às doenças e pragas importantes da cultura (Santos et al., 2015; Silva et al., 2016; Ribeiro et al., 2019). Ainda assim, devido à importância econômica e social do maracujazeiro-azedo, os programas de melhoramento genético devem intensificar suas pesquisas visando o desenvolvimento de novas cultivares (Silva et al., 2016).

A metodologia de seleção recorrente intrapopulacional tem sido utilizada para o lançamento de novas cultivares de maracujazeiro no mercado (Viana et al., 2016). Contudo, o êxito de qualquer programa de seleção recorrente depende, necessariamente, da variabilidade genética da população envolvida. A variabilidade genética é de essencial importância para o melhorista, pois sem ela não seria possível identificar genótipos superiores para a obtenção de progressos no melhoramento de plantas por meio da seleção artificial (Ramalho et al., 2012).

Para que se obtenha ganho genético com o uso da seleção recorrente é necessário compreender as variações genéticas, já que as alterações nas frequências alélicas devido à seleção e à fixação aleatória dos alelos, atuante em populações finitas, poderia ocasionar perda ou redução na variabilidade (Pereira e Vencovsky, 1988; Solomon et al., 2010).

Com isso, torna-se necessário o uso de descritores agronômicos na determinação da divergência genética, por avaliar simultaneamente vários caracteres e permitir diferentes abordagens sobre os dados analisados, possibilitando esclarecer tanto a relação quanto o efeito de cada variável separadamente (Ferreira, 1996; Coimbra et al., 2007).

No caso do maracujazeiro-azedo, por se tratar de uma espécie semi-perene, as estimativas de redução da variabilidade genética com base em informações agronômicas requerem muito tempo e sofre forte influência ambiental. Na busca por métodos de seleção mais eficientes, os marcadores moleculares podem conferir algumas vantagens em relação ao processo seletivo de plantas, com economia de tempo e recursos financeiros, além de garantir a existência da diversidade genética necessária para a continuidade do programa (Silva et al., 2016).

Marcadores moleculares são tidos como ferramentas úteis para detecção de variações no genoma, aumentando o poder da análise genética das plantas (Caixeta et al., 2009). Entre as classes de marcadores moleculares disponíveis, os marcadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) podem ser utilizados na discriminação e caracterização molecular de indivíduos. O método ISSR tem como vantagem ser um marcador reprodutível, sem qualquer necessidade de informações prévias de sequência para análises genéticas (Kumar et al., 2011).

Os marcadores SSR's se destacam por serem abundantes no genoma, codominantes, multialélicos, possuem boa reprodutibilidade e ampla cobertura do genoma (Moe et al., 2010). Estudos de estrutura genética populacional são comumente estimadas utilizando marcadores microssatélites (SSR). Segundo Pritchard et al. (2000), um dos métodos frequentemente utilizados para examinar a estrutura da população é chamado *STRUCTURE*, uma abordagem baseada em um modelo para atribuir indivíduos a subgrupos.

Portanto, o presente estudo tem como objetivo estimar a variabilidade genética no quarto ciclo de seleção recorrente do maracujazeiro-azedo, visando compreender melhor a estrutura genética da população. Desta forma, realizar a seleção de genótipos superiores e contrastantes para avanço de gerações no programa de melhoramento da cultura.

3.3.2. REVISÃO

3.3.2.1. Diversidade genética a partir de variáveis agronômicas

O sucesso de um programa de melhoramento depende inicialmente da escolha dos genitores, que, ao serem cruzados, aumentam as chances de obtenção de genótipos superiores em gerações segregantes (Cruz e Carneiro, 2006).

A exploração da variabilidade genética dentro do gênero *Passiflora* ou em populações segregantes constitui uma atividade importante para o melhoramento genético, pela possibilidade de identificação de plantas que apresentem melhores características de produtivas, qualidades organolépticas e de adaptação a diferentes estresses abióticos e bióticos (Gepts, 2006; Gonçalves et al., 2008; Faleiro et al., 2011).

O estudo da divergência genética permite a tomada de decisões na escolha de parentais. Uma vez que se utilizam genótipos mais divergentes em esquema de cruzamentos é possível obter populações segregantes com maior variabilidade genética (Cruz et al., 2011). A diversidade genética pode ser determinada por meio de caracterizações morfoagronômicas, fisiológicas, bioquímicas, citogenéticas e moleculares (Valois et al., 2001).

A estatística multivariada tem sido amplamente utilizada para quantificar a divergência genética (Fonseca et al., 2006). Vários métodos multivariados podem ser aplicados na predição da divergência genética. A escolha do método mais adequado deve ser realizada em função da precisão desejada, da facilidade de análise e da forma como os dados foram obtidos (Cruz et al., 2004).

As medidas de dissimilaridade, muito utilizadas em estudos de diversidade, têm sido a distância euclidiana e a distância generalizada de *Mahalanobis*, esta última a preferida, dependendo seu uso de uma matriz de covariâncias residuais estimadas pelos ensaios experimentais com repetição. Sabe-se que em experimentos com culturas perenes nem sempre é possível atender essas condições. A distância euclidiana média pode ser obtida por meio das observações individuais dos genótipos, sem a necessidade de experimento que envolvem delineamentos experimentais (Cruz et al., 2012).

Os métodos de agrupamento têm por finalidade separar um grupo original de observações em vários subgrupos, de forma a obter homogeneidade dentro e heterogeneidade entre os subgrupos. Dentre estes métodos, os hierárquicos e os de otimização são empregados em grande escala pelos melhoristas de plantas. (Bertan et al., 2006).

Entre os métodos de agrupamento, os hierárquicos têm sido utilizados com maior frequência, o de ligação média entre grupos (UPGMA) e Ward (Mohammadi e Prasanna, 2003). A confiabilidade dos métodos de agrupamentos depende da magnitude da correlação cofenética, que mede o grau de associação entre as distâncias estimadas e suas respectivas projeções em diagramas ou gráficos (Sokal e Rohlf, 1962). Padilla et al. (2007) e Cerqueira-Silva et al. (2010) compararam diferentes métodos de agrupamentos e verificaram, com base nos valores de correlação cofenética, que o UPGMA foi mais confiável que os métodos Ward e Ligação Simples (SL) em todas as situações de análise.

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

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

3.3.2.2. Diversidade utilizando marcadores SSR e ISSR

Comparados com os caracteres morfológicos, os marcadores moleculares detectam polimorfismos no nível do DNA têm a vantagem de ser neutros frente ao

ambiente, possuem um maior poder discriminativo e são altamente reproduzíveis, detectáveis em todas as fases de crescimento da planta (Francia et al., 2005).

Os marcadores moleculares podem ser utilizados para *fingerprinting* de genótipos, estudos de diversidade genética, mapeamento, avaliação de estrutura populacional e para a seleção de genótipos desejáveis (Rauscher e Simko, 2013). O uso dos marcadores moleculares em programas de seleção recorrente inicialmente também pode auxiliar na investigação das mudanças nas frequências alélicas decorrentes da etapa de seleção inerente a este método.

Os microssatélites consistem de regiões compostas por pequenas sequências de um a quatro nucleotídeos repetidos em *tandem*. Alguns experimentos verificaram que o genoma dos eucariotos apresenta grandes quantidades dessas regiões altamente repetitivas (Litt e Luty, 1989). Esses sítios altamente polimórficos podem ser amplificados via reação em cadeia da polimerase e constituir uma classe de marcadores moleculares altamente informativa (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

O uso deste marcador tem crescido em virtude das suas características de codominância, alta reprodutibilidade das bandas, neutro na evolução e alto nível de polimorfismo proporcionado (Buschiazzo e Gemmell, 2010). Essas características e a necessidade de pequena quantidade de material para análise tornaram os SSR marcadores indicados para diversas aplicações, inclusive em trabalhos taxonômicos, sistemáticos e filogenéticos (Versieux et al., 2012). Os marcadores microssatélites têm sido utilizados com êxito em trabalhos em maracujazeiros (Reis et al., 2011; Cerqueira-Silva et al., 2012).

A vantagem da utilização dos marcadores microssatélites, no que se refere ao conteúdo informativo, está associada à sua expressão codominante e multialelismo. Além disso, os microssatélites estão amplamente distribuídos no genoma. Além da capacidade de gerar altos níveis de polimorfismo, os marcadores microssatélites apresentam alta reprodutibilidade, são simples de manusear, têm a capacidade de gerar dados rapidamente e requerem pequenas quantidades de DNA. A principal desvantagem é o custo do desenvolvimento dos iniciadores, que são espécie-específicos (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Os trabalhos com o uso de marcadores microssatélites em maracujazeiro estão voltados para identificação e caracterização de locos (Pádua et al., 2005; Pereira, 2010; Cazé et al., 2012; Oliveira et al., 2013), inserção de marcas em

mapas genéticos previamente construídos (Oliveira et al., 2008; Pereira et al., 2013) e na diversidade genética (Oliveira et al., 2013; Paiva et al., 2014; Cerqueira-Silva et al., 2014).

Os marcadores ISSR foram desenvolvidos a partir da necessidade de explorar repetições de microssatélites sem a necessidade do conhecimento prévio da sequência – alvo do DNA. O princípio da técnica está baseado em reação de PCR (*Reaction Chain Polymerase*) e envolvem amplificações de segmentos de DNA, presente entre duas regiões idênticas de microssatélites orientadas em direções opostas (Zietjewicz et al., 1994).

Os produtos amplificáveis são geralmente de 200-2000 pb (pares de bases) de comprimento e apresentam alta reprodutibilidade, possivelmente devido ao uso de iniciadores longos e de alta temperatura de anelamento. A limitação dessa classe de marcadores está relacionada ao fato de serem dominantes que impossibilita estabelecer relações alélicas entre os indivíduos.

Costa et al. (2012) caracterizou a variabilidade genética presente em acessos do banco de germoplasma e em acessos melhorados do programa de melhoramento genético do maracujazeiro da Embrapa Mandioca e Fruticultura (CNPMPF), com o uso de marcadores ISSR. Os marcadores ISSR mostraram-se ferramentas valiosas para estudo de diversidade genética dentro de *P. edulis*. Com uso dos marcadores ISSR foi possível observar variabilidade presente nos acessos que compõem o BAG-Maracujá e poderão auxiliar na implementação de estratégias mais eficientes a serem utilizadas no Programa de Melhoramento Genético de Maracujazeiro do CNPMPF.

3.3.3. MATERIAL E MÉTODOS

3.3.3.1. Material vegetal

O material utilizado na extração de DNA e na caracterização agronômica foi coletado na Unidade Experimental da UENF em Itaocara – RJ. Foram selecionados para extração de DNA 95 genótipos pertencentes as 20 melhores famílias de meios-irmãos de maracujazeiro-azedo, tendo como critério os indivíduos mais produtivos (Tabela 1).

Tabela 1. Codificação dos 95 genótipos de maracujazeiro-azedo selecionados. Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Genótipos	Família	planta	Rep	Genótipos	Família	planta	Rep
1	1	2	1	49	22	2	2
2	6	1	1	50	6	3	2
3	6	2	1	51	7	2	2
4	14	1	1	52	1	2	3
5	7	1	1	53	19	3	3
6	7	2	1	54	10	1	3
7	15	1	1	55	10	2	3
8	16	2	1	56	18	2	3
9	21	2	1	57	14	3	3
10	5	1	1	58	7	3	3
11	5	2	1	59	17	1	3
12	5	3	1	60	17	3	3
13	13	1	1	61	15	3	3
14	13	2	1	62	9	1	3
15	18	1	1	63	9	3	3
16	18	3	1	64	11	2	3
17	19	1	1	65	11	3	3
18	19	2	1	66	13	2	3
19	3	1	1	67	13	3	3
20	3	3	1	68	4	1	3
21	20	2	1	69	22	2	3
22	22	1	1	70	21	1	3
23	22	3	1	71	21	2	3
24	4	2	1	72	2	1	3
25	10	3	1	73	2	2	3
26	1	3	2	74	2	3	3
27	10	2	2	75	1	1	4
28	15	1	2	76	1	3	4
29	15	2	2	77	14	1	4
30	15	3	2	78	14	2	4
31	4	1	2	79	17	2	4
32	4	2	2	80	5	2	4
33	19	3	2	81	11	3	4
34	20	1	2	82	3	1	4
35	20	2	2	83	3	3	4
36	20	3	2	84	7	1	4
37	9	2	2	85	9	1	4
38	9	3	2	86	19	3	4
39	14	1	2	87	6	2	4
40	18	2	2	88	6	3	4
41	2	1	2	89	16	1	4
42	2	3	2	90	20	1	4
43	16	2	2	91	21	1	4
44	16	3	2	92	4	2	4
45	17	1	2	93	13	2	4
46	17	3	2	94	18	1	4
47	11	1	2	95	10	2	4
48	3	3	2				

3.3.3.2. Caracterização agronômica

Os 95 genótipos foram caracterizados com base nas seguintes características quantitativas:

- Número de frutos por planta (NF): avaliado pelas coletas ao longo da condução do experimento.
- Produção por planta em quilograma (PROD): obtida pela quantidade colhida em quilogramas durante a condução do experimento.
- Peso médio de frutos por planta em gramas (PF): obtido pela divisão da produção total por planta pelo número total de frutos.
- Comprimento e diâmetro médio de frutos em milímetros (COMP e DIAM): obtidos a partir de medições de uma amostra composta de cinco frutos por planta das dimensões longitudinais e das dimensões transversais dos frutos, por meio do uso de paquímetro digital.
- Espessura média da casca em milímetros (EC): determinada com uso de um paquímetro digital, medindo-se a porção mediana dos cinco frutos, cortados transversalmente, no sentido de maior diâmetro.
- Teor de sólidos solúveis totais em grau brix (SST): realizada mediante a refratometria, utilizando-se refratômetro digital (modelo RTD-45), com leitura na faixa de 0 a 95° de Brix. As leituras foram realizadas colocando gotas de suco de frutos individualmente.

Com as informações das características agronômicas, foi obtida uma matriz numérica com base na distância euclidiana média, utilizando o programa genes (Cruz et al., 2013). A análise de agrupamento dos indivíduos via dendrograma foi feita pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Average*), com auxílio do programa R.

3.3.3.3. Extração e quantificação do DNA genômico

As amostras de folhas jovens foram coletadas individualmente de cada genótipo e maceradas em nitrogênio líquido, no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,

sendo efetuada a extração do DNA genômico empregando-se o método CTAB padrão (Doyle e Doyle 1990) com modificações.

Após a extração, o DNA foi submetido à quantificação via análise em gel de agarose a 1% com tampão TAE 1X (Tris, Acetato de Sódio, EDTA, pH 8,0). As amostras de DNA foram coradas utilizando a mistura de *GelRed*TM e *Blue Juice* (1:1). As alíquotas de cada DNA foram aplicadas nos poços do gel ao lado de uma marcador Lambda (λ) de 100 pb ($100 \text{ ng}/\mu\text{L}^{-1}$) (Invitrogen, USA) e submetidas à eletroforese (80W por 120 min) e a imagem foi capturada pelo sistema de foto documentação MiniBis Pro (*Bio-Imaging Systems*). A concentração das amostras foi estimada por comparação visual da intensidade de fluorescência das bandas de DNA em relação ao marcador Lambda (λ). Com base neste resultado, todas as amostras foram diluídas para a concentração de trabalho de $5 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$.

3.3.3.4. Triagem dos Primers

Foram utilizados 107 iniciadores microssatélites, desenvolvidos para *P. edulis* (Oliveira et al., 2006) com a finalidade de identificar locos SSR capazes de diferenciar os genitores. Após rastreio, um conjunto de 6 iniciadores polimórficos foram selecionados para as reações de amplificação. Dos 50 marcadores SSR da série de Cerqueira-Silva et al. (2014) apenas 2 marcadores foram polimórficos. Quanto aos 13 SSR desenvolvidos por Pádua (2005) apenas 1 marcador foi polimórfico. Para os marcadores do tipo RGA dos 14 iniciadores utilizados, apenas 2 foram polimórficos (Tabela 2).

Em relação aos 58 iniciadores ISSR utilizados, 14 detectaram polimorfismo nos genótipos analisados (Tabela 3).

3.3.3.5. Reação em cadeia da polimerase (PCR) para marcadores SSR e ISSR

As reações de PCR foram realizadas em termocicladores da Applied Biosystems/Veriti 96 well, obedecendo às seguintes temperaturas e tempo: 1 ciclo de $94 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 4 minutos (desnaturação inicial), seguindo-se os 35 ciclos de $94 \text{ }^\circ\text{C}$ por um minuto (desnaturação cíclica), temperatura específica de cada iniciador, em $^\circ\text{C}$, por 1 minuto (anelamento do *primer*), $72 \text{ }^\circ\text{C}$ por três minutos (extensão pela taq-DNA polimerase e incorporação de nucleotídeos). Após os 35 ciclos, foi

realizada uma etapa de extensão final de 72 °C por 7 minutos, posteriormente, a temperatura foi reduzida para 4°C por tempo indefinido. Para marcadores ISSR foram utilizados 38 ciclos.

A reação teve um volume final de 13 µL para cada amostra, contendo 5,38 µL água ultrapura, 2µL de DNA (5 ng/µL), 1,5 µL de Tampão 10X (NH₄SO₄), 1,5 µL de MgCl₂ (25 mM), 1,5 µL de dNTPs (2 mM), 1 µL de iniciador (F+R) (5 µM) e 0,12 µL de Taq-DNA polimerase (5 U/µL) (Invitrogen, Carlsbad, Califórnia, EUA).

Após a amplificação, foram adicionados, a cada amostra, 3 µL de *Blue Juice* e 3 µL do corante *GelRed*TM. Essas amostras foram aplicadas em gel de agarose Metaphor (4%), submerso em tampão TAE 1X. A separação eletroforética foi de aproximadamente quatro horas, a 80 volts. Utilizou-se como marcador de peso molecular o DNA Scada 100 pb ladder. Ao término da corrida, os géis foram fotodocumentados utilizando o aparelho MiniBis Pro (*Bio-Imaging Systems*).

Para marcadores ISSR a separação dos fragmentos foi realizada em gel de agarose a 2%. Para as demais etapas os processos foram os mesmos.

Tabela 2. Marcadores moleculares microssatélites e TRAP de regiões análogas a genes de resistência (Rga) utilizados na genotipagem de 95 genótipos de *Passiflora edulis*. Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Loco	Primer forward	Primer reverse	Motivo	Ta (°C)	Referência
PE08	CCGGATACCCACGCATTA	TCTAATGAGCGGAGGAAAGC	(GTTGTG) ₄	60	Oliveira (2006)
PE10	AACCTTGATCTCCAGCCTAT	GTTTTCGCCCGCGTATT	(GA) ₃₄	60	Oliveira (2006)
PE23	CAATCCCTTGACCCATAGA	CGTCCATCCTTCTCCTTT	(GA) ₁₉	58	Oliveira (2006)
PE46	CATTTCTCAGTCACCCGATA	GTCAATGCAGTCATTCACAA	(AT) ₂₈ (TG) ₁₆	61	Oliveira (2006)
PE58	GCAATTTACCATCTTCTGCT	CCACGGTCATGGATGTTC	(AC) ₁₁	62	Oliveira (2006)
PE90	TCAGGAAGATTGCATGTTAGT	CTGGGTTTTGTTTATGTTGC	(AGC) ₅	56	Oliveira (2006)
mPs- UNICAMP06	GTTGGATCAAAGGGTCACA	CAACTACTGGATCGAACTGGTA	(CGTG) ₃ (ATGA) ₃	63	Cerqueira-Silva et al. (2014)
mPs- UNICAMP17	CATCCAACCTCCGAACCTTA	TACCCAGTCCGGTCCATTAG	(AC) ₅	58	Cerqueira-Silva et al. (2014)
A08FP1	CACATTTGCCGTCACTGG	CGGCATACGATAAATCTCCTG	(TG) ₉	60	Pádua et al. (2005)
Glus Rga	RYNGGNGTW TGYTAYGG	A01 (GACTGCGTACGAATTAA)	-	47	Pereira et al. (2013)
Rghdr2 Rga	CARMGCYAAWGGYAADCC	A01 (GACTGCGTACGAATTAA)	-	45	Pereira et al. (2013)

Para rga código degenerado: K = G / T; M = A / C; N = A / C / G / T; R = A / G; S = C / G; W = A / T; Y = C / T
 Temperatura de anelamento Ta (°C).

Tabela 3. Sequência de primers ISSR selecionados, temperatura de anelamento (Ta), utilizados na genotipagem de 95 genótipos de *Passiflora edulis*. Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Primer	Sequência*	Ta (°C)
1	(GA) ₈ C	54
2	CY(GT) ₈	58
3	(GA) ₈ YC	50
4	(GA) ₈ T	50
5	(CA) ₈ RG	56
6	(AG) ₈ T	48
7	(CA) ₈ G	52
8	(GA) ₈ YT	46
9	(TC) ₈ A	47
10	(CT) ₈ G	47
11	(GA) ₈ A	47
12	(CT) ₈ T	47
13	(AG) ₈ YT	47
14	(AG) ₈ YA	47

* R = A ou G; Y = C ou T

3.3.3.6. Análise estatística dos marcadores SSR

Os dados obtidos pela amplificação dos 9 iniciadores SSR foram convertidos em código numérico para cada alelo por loco. Tal matriz numérica foi desenvolvida como descrito a seguir: para um loco que apresenta três alelos, tem-se a representação 11, 22 e 33 para as formas homozigotas (A1A1, A2A2 e A3A3) e 12, 13 e 23 para as heterozigotas (A1A2, A1A3 e A2A3). A partir da matriz numérica foi calculada a distância genética de Smouse e Peakall para 95 genótipos. A análise de agrupamento dos indivíduos via dendrograma foi feita pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Average*), com auxílio do programa R (<http://www.r-project.org>).

A distribuição da variabilidade genética dos 95 genótipos foi estimada, com o auxílio do programa Genalex 6.5 (Peakall e Smouse, 2012), tendo por base os seguintes parâmetros: número de alelos por loco polimórfico (NA), heterozigosidade observada (Ho), heterozigosidade esperada (He), índice de informação (I) e índice de fixação (f).

3.3.3.7. Análise estatística dos marcadores ISSR

As bandas polimórficas obtidas foram convertidas em dados binários, onde (1) é presença e (0) é ausência. Para análise da variabilidade genética foi estimado o coeficiente de similaridade de Jaccard, utilizando-se o Programa Genes (Cruz, 2013). Como resultado foi gerado uma matriz de distância genética que foi utilizada pelo *software* R, para obtenção do dendrograma utilizando como método de agrupamento UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*).

3.3.3.8. Análise da estrutura genética da população utilizando marcadores SSR

Para verificar a estruturação genética dos 95 genótipos analisados, utilizou-se o método baseado em algoritmos de agrupamentos bayesianos utilizando o programa “Structure 2.3.4” (Pritchard et al., 2000). Foram empregados o modelo “*no admixture model*” e frequências alélicas independentes, usando um “*Burnin Period*” de 10.000, seguido de uma extensão (*Markov Chain Monte Carlo*) de 50.000 repetições, e 10 simulações por (k), com (k) variando de 1 a 5. O número de grupos mais provável foi estimado pelo método Δk proposto por Evanno et al. (2005).

3.3.3.9. Análise conjunta das variáveis agronômicas e moleculares

As matrizes de distância relativa entre as sete variáveis agronômicas avaliadas foram comparadas com as matrizes obtidas com base nos marcadores SSR e ISSR, utilizando o pacote Dendextend no programa R (<http://www.r-project.org>).

3.3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos dados agronômicos, utilizando-se o método hierárquico UPGMA, com base na distância euclidiana média, separou os 95 genótipos em

cinco grupos, onde o ponto de corte no dendrograma foi determinado pelo método de Mojena (1977), baseado no tamanho relativo dos níveis de fusões (distâncias) (Figura 1).

O grupo 1, formado pelos genótipos (26, 45 e 65) apresentou as maiores médias para as características de produção (20 kg por planta), número de frutos (114), comprimento e diâmetro de frutos (95, 69 e 79,44 mm). Porém, para a característica de sólidos solúveis totais (10,54) obteve a menor média comparado aos demais grupos (Figura 1). Esse comportamento pode ser explicado devido ao efeito de competição entre os frutos por fotoassimilados e um efeito de diluição com o aumento da quantidade de polpa (Morgado et al., 2010).

O Grupo 2 (genótipos 19, 30, 32, 34, 35, 44, 46, 73 e 79) foi o segundo grupo mais produtivo, com médias próximas ao do grupo 1. O grupo 4 (92, 29, 81, 28, 57, 67, 66, 71, 5, 83 e 50) se caracterizou por apresentar genótipos com as menores médias de produção (7,4 kg), número de frutos (50) e peso de frutos (153 gramas) (Figura 1).

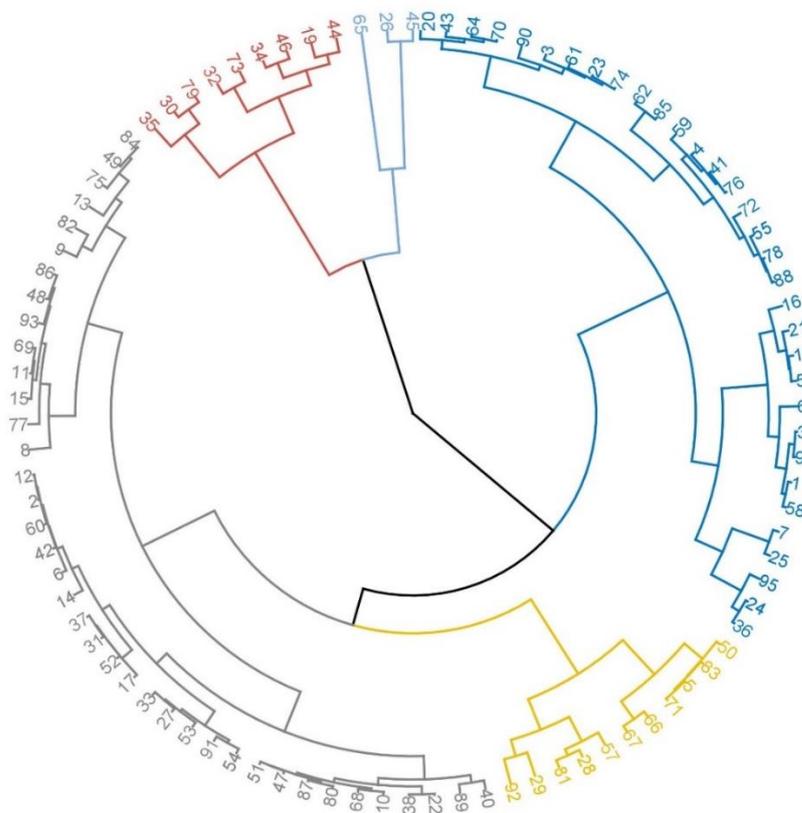


Figura 1. Dendrograma de dissimilaridade genética entre 95 genótipos de maracujazeiro-azedo, obtido pelo método UPGMA, baseado na distância euclidiana média via características fenotípicas quantitativas. Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Os genótipos que apresentaram maiores similaridades foram 49 com o 84 (4,92) pertencentes ao grupo 3, estes genótipos apresentaram segunda menor média para a característica de produção de frutos (10 kg por plantas). Os genótipos com maior dissimilaridade foram 65, grupo 1 mais produtivo, e 29, grupo 4 menos produtivo, com distância de (5841,54). Para escolhas futuras de cruzamentos esse genótipo pertencente ao grupo 4, por apresentar baixo potencial produtivo não seria indicado (Figura 1). Como o maracujazeiro é uma planta alógama, a escolha adequada de genitores e o planejamento dos cruzamentos podem elevar ao máximo a utilização de genes favoráveis ou explorar a heterose por meio de cruzamentos entre indivíduos com bons atributos agronômicos e com certo grau de divergência genética, possibilitando a obtenção de variedades superiores (Negreiros et al., 2008).

O grupo 5 reuniu 33 genótipos que apresentaram bom desempenho agronômico, sendo o terceiro grupo mais produtivo (12,9 kg) (Figura 1). Para futura escolhas de cruzamento torna-se favorável utilizar genótipos do grupo 1 e 2 (genótipos mais produtivos) com genótipos do grupo 5 que apresentaram maior distância fenotípica e boas características produtivas e de qualidade de frutos.

Dos 14 *primers* ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) selecionados foram gerados um total de 42 bandas polimórficas, com uma média de 3 bandas por primer. O número de bandas polimórficas geradas por *primer* variou de 1 a 7 (Figura 2).

Considerando a divergência para marcadores ISSR o dendrograma apresentado na Figura 2, foram formados 3 grupos. O grupo 1 foi constituído pela maioria dos genótipos (96.84%). O grupo 2, alocou os genótipos 23 e 35 e o grupo 3 apenas o genótipo 75. Os resultados indicam baixa variabilidade entre os acessos, considerando que as regiões acessadas por esses marcadores são conservadas entre os genótipos. Resultados similares foram observados por Viana et al. (2003), ao estudar a diversidade genética entre 21 genótipos comerciais de maracujá, por meio 36 iniciadores de RAPD. Os autores verificaram baixo polimorfismo, mesmo com grandes variações morfológicas observadas em condições de campo.

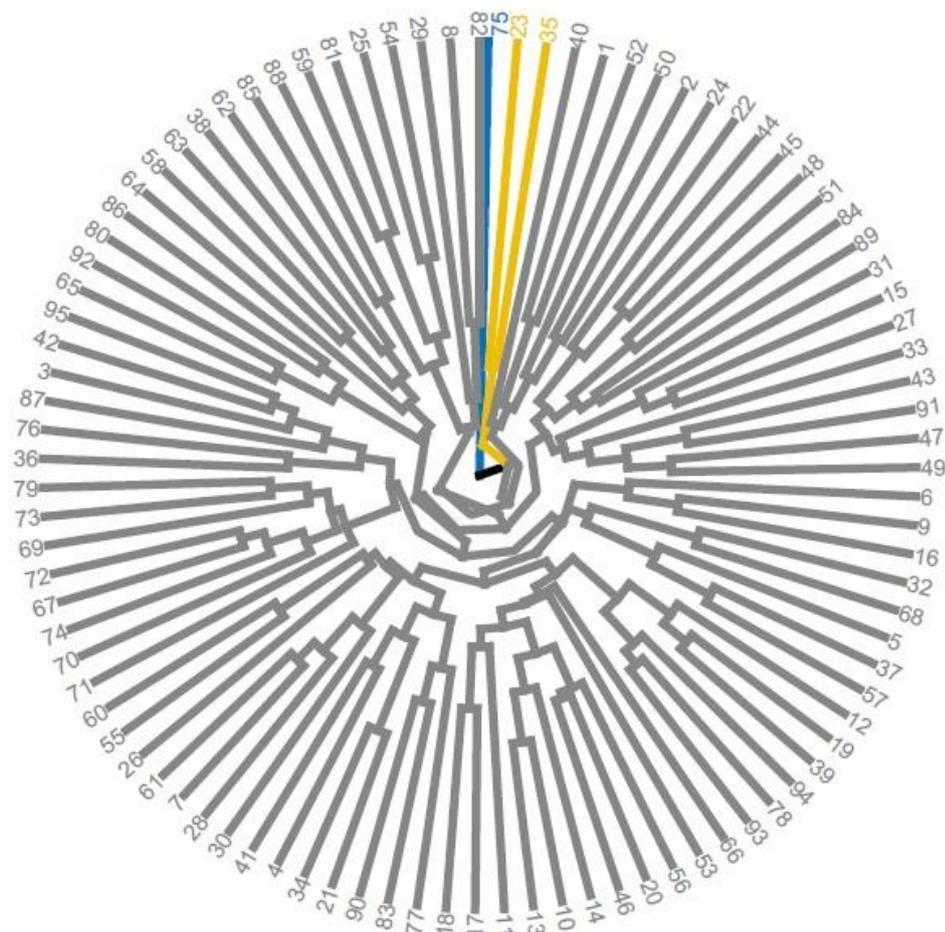


Figura 2. Dendrograma de similaridade genética entre 95 genótipos de maracujazeiro-azedo, obtido pelo método UPGMA, baseado na distância de Jaccard via marcadores ISSR. Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Considerando os marcadores SSR a distância genética entre os acessos variou de 0 a 0,8. Foram formados três grupos, com maior distância entre o genótipo 33 e 58. O grupo 1 foi o que agrupou o maior número de genótipos (86), representando um percentual de 90,52%, isso remete a uma baixa variabilidade entre os genótipos avaliados do quarto ciclo de seleção recorrente (Figura 3).

Cruzamentos entre indivíduos do grupo 2 (26, 21, 52 e 68) e do grupo 3 (6, 39, 33, 38 e 59) são indicados para manutenção de variabilidade genética na população, por contribuir em retardar a elevação da endogamia populacional, com consequente manutenção da diversidade genética (Figura 3).

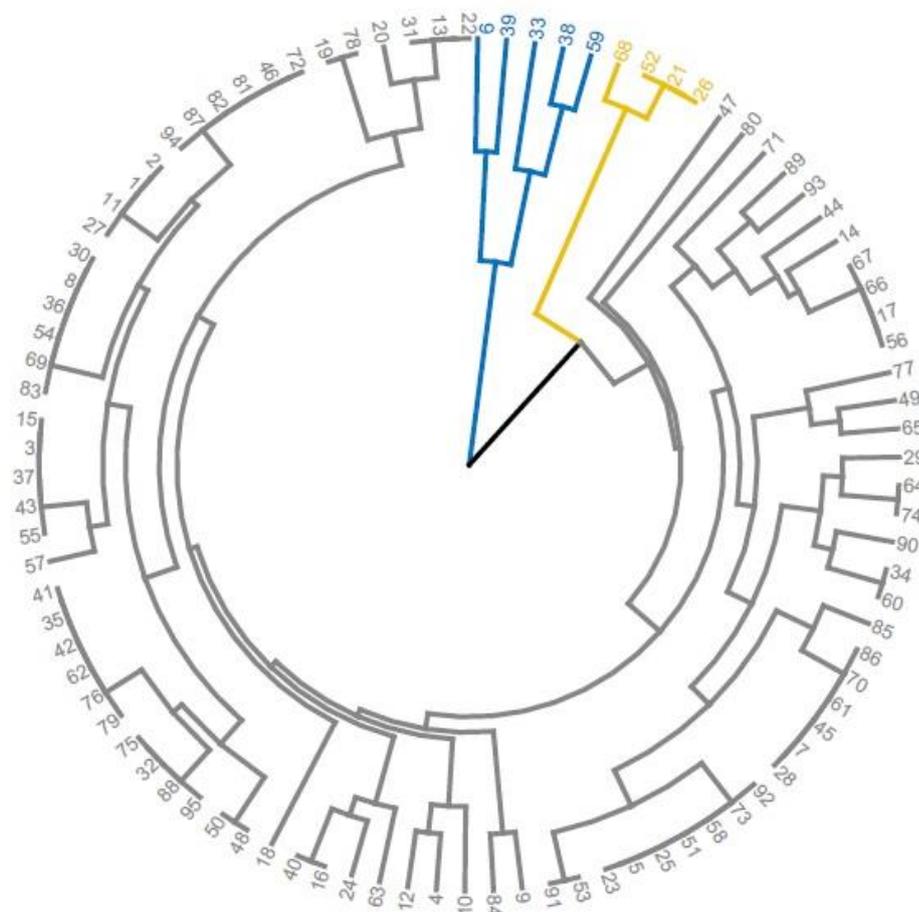


Figura 3. Dendrograma de dissimilaridade genética entre 95 genótipos de maracujazeiro-azedo, obtido pelo método UPGMA, baseado na distância de Smouse e Peakall via marcadores SSR. Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

No presente estudo, no quarto ciclo de seleção recorrente o número de alelos por loco variou de 2 a 4, com média igual a 2,22 obtendo-se um total de 20 alelos para os 9 locos avaliados (Tabela 4). Silva et al. (2016) avaliaram o terceiro ciclo de seleção recorrente maracujazeiro-azedo da UENF, observaram que em 10 locos SSR amplificaram um total de 29 alelos, sendo um mínimo de dois alelos (PE01, PE09, PE18 e PE64) e um máximo de seis (PE04), com uma média de 2,9 alelos por loco. Estudos indicam redução na variabilidade genética após alguns ciclos de seleção recorrente, geralmente, em virtude da redução no tamanho da população (Hallauer, 1971).

Pinto et al. (2003) e Franzoni et al. (2012) utilizando marcadores SSR para relatar efeitos da seleção recorrente interpopulacional de milho (tropical BR 105 e BR 106 com a sintéticos IG-3 e IG4) e intrapopulacional em milho-pipoca (CMS-43) respectivamente, encontraram uma redução no número de alelos e uma mudança

na frequência do alelo ao longo dos ciclos, ocasionando o afunilamento genético das populações, porém, com a diversidade genética total encontrada permitiu realizar ciclos posteriores com possíveis ganhos genéticos para as principais características. Essa é uma das principais preocupações do melhorista, ou seja, manter a variabilidade sem estreitar a base genética da população de estudo. Uma sugestão importante, para que não ocorra tal estreitamento, é verificar se o tamanho efetivo da população (N_e) que irá compor a etapa de recombinação da seleção recorrente, está sendo suficiente para garantir o progresso com a seleção (Falconer, 1981).

Tabela 4. Estimativa de parâmetros genéticos em 95 genótipos de maracujazeiro-azedo, sendo NA: número de alelos; I: índice de informação; He: heterozigosidade esperada; Ho: heterozigosidade observada; e F: índice de fixação. Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Lócus	NA	I	He	Ho	F
PE08	2,000	0,511	0,329	0,415	-0,262
PE10	2,000	0,655	0,463	0,614	-0,326
PE23	2,000	0,158	0,071	0,074	-0,038
PE46	4,000	1,075	0,586	0,753	-0,284
PE58	2,000	0,192	0,091	0,096	-0,050
PE90	2,000	0,102	0,041	0,042	-0,022
UN06	2,000	0,058	0,021	0,021	-0,011
UN17	2,000	0,361	0,207	0,234	-0,133
A08	2,000	0,209	0,102	0,000	1,000
Média	2,222	0,369	0,212	0,250	-0,014

O índice de informação variou de 0,058 (UN06) a 1,075 (PE46) com valor médio de 0,369, o que indica baixa variabilidade nesta população, mas suficiente para a continuidade deste programa de melhoramento (Tabela 4). Segundo Pádua et al. (2011) quanto mais próximo a 1 for o valor do índice de informação mais diversificada é a população. Santos (2018) avaliando a diversidade genética por meio de marcadores moleculares microssatélites SSR em populações segregantes de uva de mesa observaram índice de informação variando de 0,30 a 1,25 com média de 0,93, demonstrando alta variabilidade dos genótipos avaliados.

A Ho variou de 0 a 0,753, com média 0,250 e a He variou de 0,102 a 0,586, com uma média de 0,212 (Tabela 4). Valores de He e Ho apresentaram médias próximas, porém a heterozigosidade observada foi maior que a esperada, isso indica um elevado número de indivíduos heterozigotos. Isso pode ser explicado,

pois se trata de plantas que apresentam autoincompatibilidade, mecanismo esse que induz à alogamia e que mantém um alto grau de heterozigose (Duvick, 1967).

Guimarães et al. (2018) avaliando a diversidade genética entre os ciclos de seleção recorrente da população UENF-14 de milho-pipoca com o uso dos 16 iniciadores SSR-ESTs, indicou uma perda de 61,90% de heterozigosidade observada (H_o), do ciclo inicial (C0) ao ciclo final (C8), o que pode ser considerada relativamente grande em comparação à heterozigosidade esperada (H_e), que reduziu em 18,37%. Por sua vez, a deficiência de heterozigotos pode ser devido à deriva genética, provavelmente resultante da recombinação de número limitado de indivíduos selecionados ao longo dos ciclos, favorecendo o cruzamento entre indivíduos aparentados e consequente incremento de endogamia.

Os valores relacionados ao índice de fixação (F) foram negativos para os locos PE74, PE66, PE18, PE38, PE42, PE90, PE75 e PE58, o que sugere heterozigosidade (Tabela 4). Os valores negativos ocorrem devido maiores valores de H_o em relação à H_e . Valores positivos de f foi observado no loco (A08), o que indica a existência de endogamia para esse loco. O f estimado em toda população apresentou valor médio de -0,014, e variou de -0,011 a 1,000 entre os locos.

Foi utilizada uma abordagem bayesiana para verificar a estrutura genética da população seguindo critérios de Evano (2005), observou-se o maior valor de ΔK , quando foi obtido $k=3$, indicando que a estruturação máxima observada foi obtida quando foram formados três grupos (Figura 4).

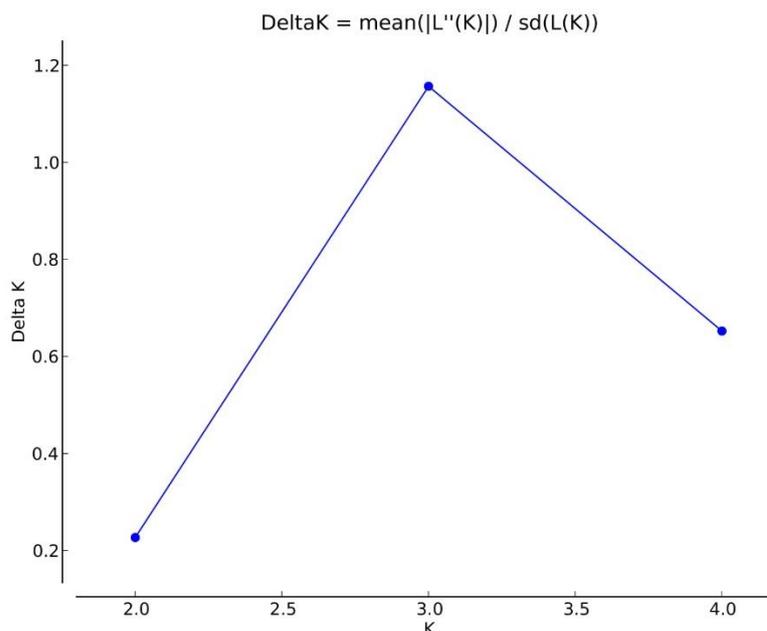


Figura 4. Valores de delta K (ΔK) para os respectivos números de grupos (K). Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

O agrupamento bayesiano indicou que não houve nítida estruturação entre os 95 genótipos, sugerindo que todos os indivíduos compartilham os mesmos alelos, com uma leve mudança na frequência para alguns genótipos. Tais resultados indicam pouca variabilidade entre os locos estudados (Figura 5).

Preisigke (2017) estudando a estruturação da variabilidade genética em genótipos RC1 do programa de resistência ao CABMV em populações segregantes de maracujazeiro, observou que 94 genótipos avaliados foram agrupados da seguinte forma: *P. setacea* no grupo 1; híbrido interespecífico no grupo 2; *P. edulis* no grupo 3; e os 91 genótipos RC1 no grupo 4. Mesmo trabalhando com população de retrocruzamento de *P. setacea* x *P. edulis* verificou-se que todos os grupos formados compartilham os mesmos alelos, indicando pouca variabilidade entre a população para os locos estudados, embora os genótipos sejam originados de parentais fenotipicamente contrastantes. Esses resultados reforçam a hipótese de que estes locos se concentram em regiões conservadas no genoma do gênero *Passiflora*, com pequena taxa de mutação.

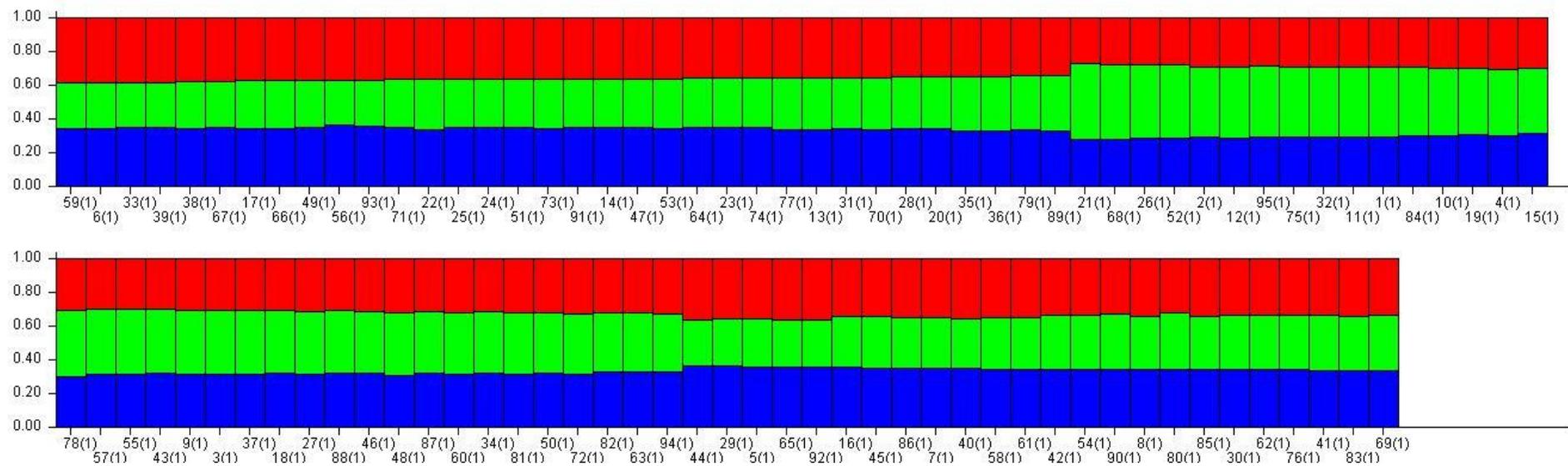


Figura 5. Agrupamento pela inferência bayesiana de 95 genótipos de maracujazeiro-azedo ($k=3$). Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Com base na análise conjunta foram formados cinco grupos para variáveis fenotípicas e três grupos para variáveis moleculares (SSR e ISSR), porém, o arranjo entre os genótipos nas análises foi distinto (Figura 6 e 7).

O valor de emaranhamento, mede a correspondência de genótipos entre dendrogramas distintos variando de 0 a 1, onde 0 indica dendrogramas totalmente correspondentes e 1 dendrograma sem nenhuma correspondência. O emaranhamento obtido foi de 0,57, comparando características fenotípicas e marcadores SSR e 0,58 para dados fenotípicos e marcadores ISSR. Sugerindo uma explicação, que esta distinção de arranjos possivelmente se dê pelo fato de os marcadores moleculares utilizados não serem específicos para determinadas características fenotípicas. Eles amplificam regiões mais conservadas do genoma, não sendo possível assimilar uma marca molecular a uma determinada característica fenotípica. Bianchi (2017), avaliando o emaranhamento entre 55 acessos de *Capsicum chinense* com base na Distância de Gower considerando as variáveis morfoagronômicas e moleculares, obteve um entanglement de 0,58, próximo do observado neste estudo.

Os agrupamentos com base em informações fenotípicas indicaram genótipos a serem utilizados em futuras etapas do programa de melhoramento do maracujazeiro. Assim, visando aumentar a variabilidade e o ganho com a seleção nos ciclos subseqüente, os genótipos do grupo 1, 2 e 5 tem potencial para serem intercruzados constituindo a nova população de seleção recorrente.

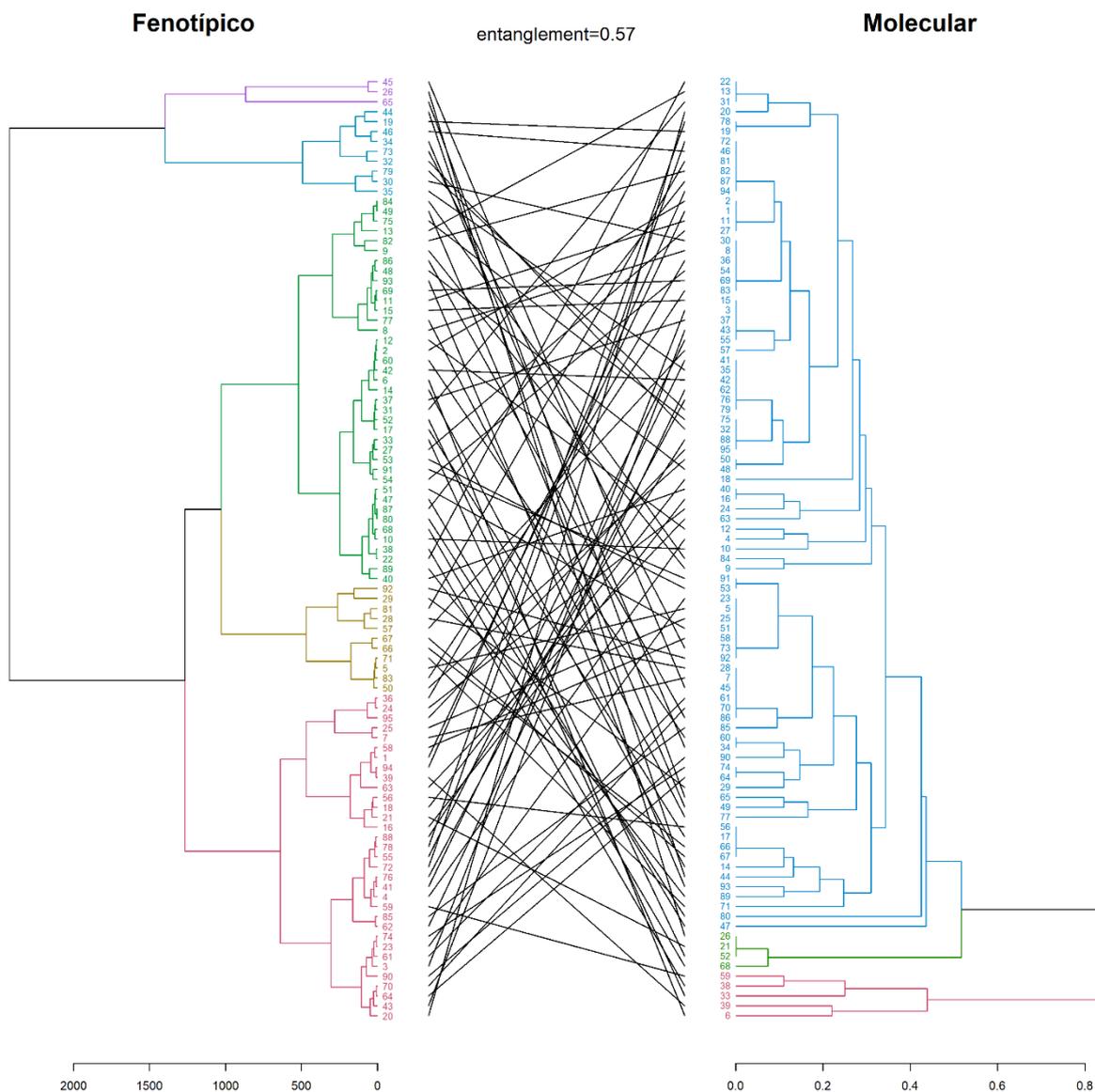


Figura 6. Emaranhamento entre 95 genótipos de maracujazeiro-azedo, obtido pelo pacote Dendextend, com base na Distância Euclidiana média para características fenotípicas quantitativas e Smouse e Peakall para dados moleculares de SSR. Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

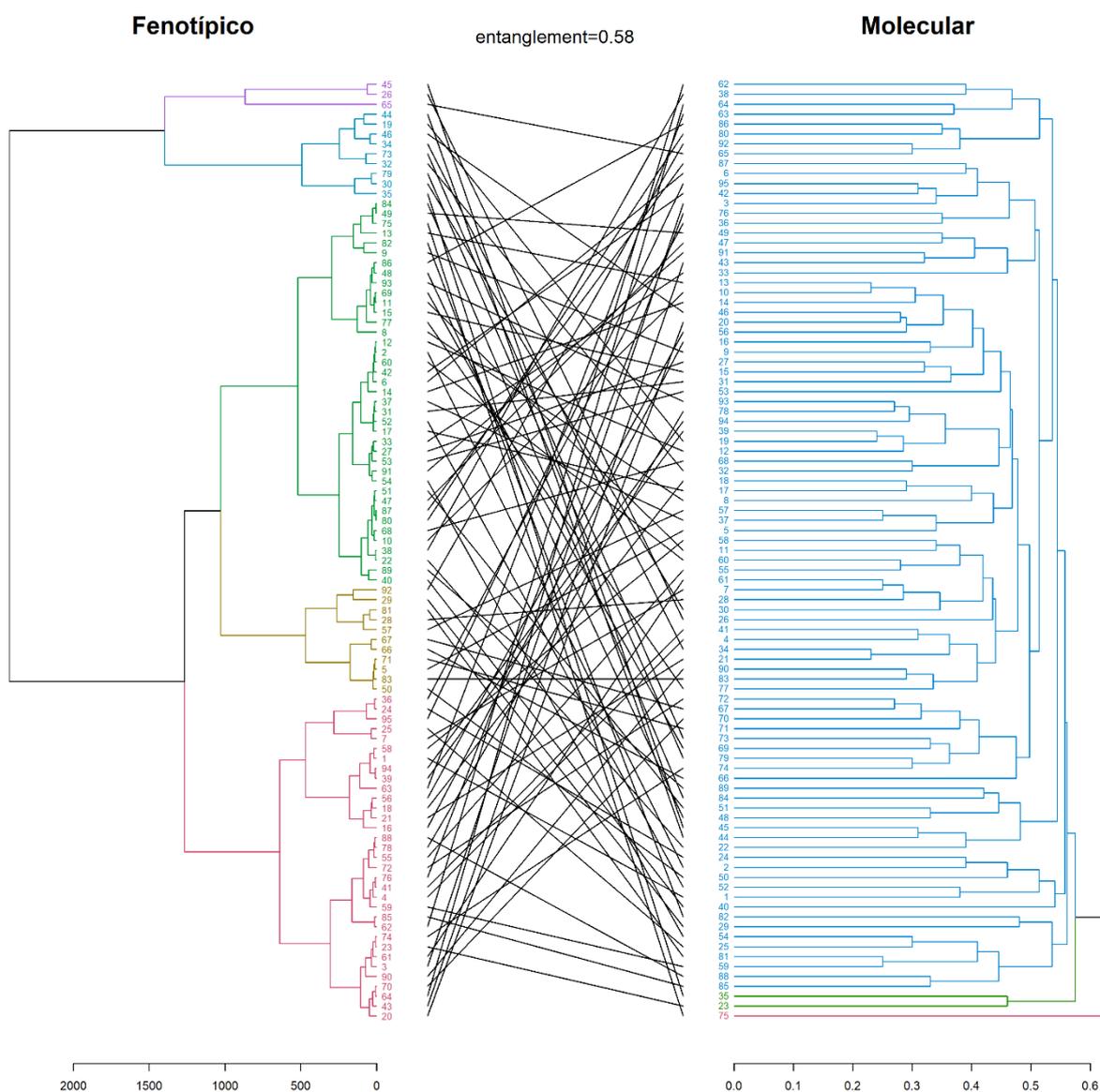


Figura 7. Emaranhamento entre 95 genótipos de maracujazeiro-azedo, obtido pelo pacote Dendextend, com base na Distância Euclidiana média para características fenotípicas quantitativas e Jaccard para dados moleculares de ISSR. Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

3.3.5. CONCLUSÕES

Há variabilidade na população proveniente do quarto ciclo de seleção recorrente constatada por meio de dados agronômicos e moleculares, o que

possibilita a continuidade do programa e a obtenção de ganhos genéticos com a seleção de genótipos superiores.

Pela inferência bayesiana não foi possível observar uma estruturação bem definida entre os grupos, o que indica diminuição na variabilidade entre os ciclos.

Os genótipos do grupo 1, 2 e 5 apresentam potencial para ser intercruzados para constituir a próxima população.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allard, R. W. (1999) *Principles of plant breeding*. 2. ed. New York: John Wiley & Sons. 254p.
- Alves, F.M.; Resende, M.D.V. (2008) Avaliação genética de indivíduos e progênes de cupuaçuzeiro no estado do Pará e estimativas de parâmetros genéticos. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 30: p. 696-701.
- Assunção, M.P., Krause, W., Dallacort, R., Santos, P.R.J., Neves, L.G. (2015) Seleção individual de plantas de maracujazeiro azedo quanto à qualidade de frutos via REML/BLUP. *Revista Caatinga*. 28: 57-63.
- Bernacci, L.C., Cervi, A.C., Milward-de-Azevedo, M.A., Nunes, T.S., Imig, D.C., Mezzonato, A.C. (2015) *Passifloraceae* in *Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB182>>. (Acessado em 5 de novembro de 2018).
- Bernacci, L.C., Soares-Scott, M.D., Junqueira, N.T.V., Passos, I.R.S., Meletti LMM. (2008) *Passiflora edulis* Sims: the correct taxonomic way to cite the yellow passion fruit (and of others colors). *Revista Brasileira de Fruticultura*. 30: 566-576.
- Bertan, I., Carvalho, F. I. F., Oliveira, A.C., Vieira, E. A., Hartwig, I., Silva, J. A. G., Shimidt, D. A. M., Valério, I. P., Busato, C. C., Ribeiro, G. (2006) Comparação de

métodos de agrupamento na representação da distância morfológica entre genótipos de trigo. *Revista Brasileira de Agrociência*. 12: 279-286.

Bianchi, P.A.(2017) *Variabilidade intraespecífica para caracteres morfológicos, agronômicos e moleculares entre acessos de capsicum chinense* I. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, 92 P.

Borém, A.; Miranda, G.V. (2009) *Melhoramento de plantas*. Viçosa: UFV. 529p.

Borges, R. S., Scaranari, C., Nicoli, A. M., Coelho, R. R. (2008) Novas variedades: validação e transferência de tecnologia. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. *Maracujá: Germoplasma e melhoramento genético*. Ed.1. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. 1: 634-635.

Bruckner, C. H. (1997) Perspectivas do melhoramento genético do maracujazeiro. In: Manica, I. (ed) *Maracujá: melhoramento, morte prematura, polinização, taxonomia*. Porto Alegre: Cinco Continentes. p. 25-46.

Bruckner, C. H.; Otoni, W. C. (1999) *Hibridação em maracujá*. In: Borém, A. (Ed.) *Hibridação artificial de plantas*. Viçosa: UFV. p. 379-399.

Bruckner, C.H., Meletti, L.M.M., Otoni, W.C., Zerbini Júnior, F.M. (2002) Maracujazeiro. In. BRUCKNER, C.H. (Ed.). *Melhoramento de fruteiras tropicais*. Viçosa: UFV, cap. 13, p.373-410.

Buschiazzo, E., Gemmell, N.J. (2010) Conservation of human microsatellites across 450 million years of evolution. *Genome Biology and Evolution*. 2: 153-165.

Cabral, P.D.S., Amaral Júnior, A.T., Freitas, I.L.J., Ribeiro, R.M., Silva, T.R.C. (2016) Relação causa e efeito de caracteres quantitativos sobre a capacidade de expansão do grão em milho-pipoca. *Revista Ciência Agronômica*. 47: 108-117.

Caixeta, E.T., Oliveira, A.C.B., Brito, G.G., Sakiyama, N.S. (2009) *Tipos de Marcadores Moleculares*. In: Borém, A., Caixeta, E.T. (Org.). *Marcadores moleculares*. 2. ed. Viçosa: Editora Jard, 101p.

- Carvalho, F.I.F., Lorencetti, C., Benin, G. (2004) *Estimativas e implicações da correlação no melhoramento vegetal*. Pelotas: UFPel, 142p.
- Carvalho, I. R., Souza, V. Q., Nardino, M., Follmann, D. N., Schmidt, D., Baretta, B. (2015) Correlações canônicas entre caracteres morfológicos e componentes de produção em trigo de duplo propósito. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 50: 690-697.
- Castro, J.A., Neves, C.G., de Jesus, O.N., Oliveira, E.J. (2012) Definition of morpho-agronomic descriptors for the characterization of yellow passion fruit. *Scientia Horticulturae*. 145: 17-22.
- Cavichioli, J. C.; Corrêa, L. S.; Garcia, M. J. M.; Flscher, I. H. (2011) Desenvolvimento, produtividade e sobrevivência de maracujazeiro-amarelo enxertado e cultivado em área com histórico de morte prematura de plantas. *Revista Brasileira de Fruticultura*.33: 567-574.
- Cazé, A.L.R., Kriedt, R.A., Beheregaray, L.B., Bonatto S.L., Freitas, L.B. (2012) Isolation and characterization of microsatellite markers for *Passiflora contracta*. *Int. J. Mol. Sci*. 13: 11343-11348.
- Cerqueira-Silva, C. B., Santos, E. S., Vieira, J. G., Mori, G. M., Jesus, O. N., Corrêa,R.X., Souza, A.P. (2014) New microsatellite markers for wild and commercial species of *Passiflora* (Passifloraceae) and cross-amplification. *Appl Plant Sci*.2: 1-5.
- Cerqueira-Silva, C.B.M., Conceição, L.D.H.C.S., Santos, E.S.L., Cardoso-Silva, C.B., Pereira, A.S., Oliveira, A.C., Corrêa, R.X. (2010) Genetic variability in wild genotypes of *Passiflora cincinnata* based on RAPD markers. *Genetics and molecular research*, 9: 2421–2428.
- Cerqueira-Silva, C.B.M., Santos, E.S.L., Conceição, L.D.H.C.S., Cardoso-Silva, C.B., Pereira, A.S., Oliveira, A.C., Corrêa, R. X. (2012) Genetic variation in a wild population of the “sleep” passion fruit (*Passiflora setacea*) based on molecular markers. *Genetics and molecular research*. 11: 731-738.

- Coimbra, J.L.M., Benin, G., Vieira, E.A., Oliveira, A.C., Carvalho, F.I.F., Guido Lim, A.F., Soares, A.P. (2005) Conseqüências da multicolinearidade sobre a análise de trilha em canola. *Ciência Rural*. 35: 347-352.
- Coimbra, J.L.M., Santos, J.C.P., Alves, M.V., Barzotto, I. 2007 Técnicas multivariadas aplicadas ao estudo da fauna do solo: contrastes multivariados e análise canônica discriminante. *Revista Ceres*. 54: 270-276.
- Comstock, R.E.; Robinson, H.F. (1948) The components of genetic variance in populations of biparental progenies and their use in estimating the average degree of dominance. *Biometrics*, 4: 254-266.
- Coque, M., Gallais, A. (2006) Genomic regions involved in response to grain yield selection at high and low nitrogen fertilization in maize. *Theoretical and Applied Genetics*. 112: 1205-1220.
- Costa e Silva, J.; Dutkowski, G.W.; Gilmour, A.R. (2001) Analysis of early tree height in forest genetic trials is enhanced by including a spatially correlated residual. *Can. J. For. Res.* 31: 1887-1893.
- Costa, J.L., O.N. Jesus, G. Alvarenga, F. Oliveira., E.J. Oliveira. 2012 Effect of selection on genetic variability in yellow passion fruit. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. 12: 253-260.
- Cruz, C.D. (2013) Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum. Agronomy*. 35: 271-276.
- Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S. (2006) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 2. ed. Viçosa: UFV.
- Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S. 2003 *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: Editora UFV. 579p.
- Cruz, C.D., Ferreira, F.M., Pessoni, L.A. (2011) *Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética*. Viçosa: Suprema, p. 2-28.
- Cruz, C.D., Regazzi, A.J., Carneiro, P.C.S. (2004) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: UFV, 480 p.

- Cruz, C.D., Regazzi, A.J., Carneiro, P.C.S. (2012) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 4. ed. Viçosa: Editora UFV, 514p.
- Cruz, C.D.; Miranda, J.E.C.; Costa, C.P. (1988) Correlações, efeitos diretos e indiretos de caracteres agronômicos sobre a produção de pimentão (*Capsicum annuum* L.). *Revista Brasileira de Genética*. 11: 921-928.
- Cunha, M. A. P. (1996) Recursos genéticos e modificações em métodos de seleção para produtividade em maracujá. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 18: 423-423.
- Cunha, M. A. P. (2000) *Criação e seleção de variedades de maracujazeiro*. In: *Reunião técnica de pesquisa em maracujazeiro*. Londrina: IAPAR-SBF.97p.
- Cunha, M.A.P. Da, Barbosa, L.V., Junqueira, N. T. V. Aspectos botânicos. In: Lima, A. A. (Ed.) (2002) *Maracujá produção: aspectos técnicos*. Embrapa mandioca e Fruticultura Cruz das Almas. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, p.15-24.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L. (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12: 13-15.
- Dutkowski, G.W., Costa E Silva, J., Gilmour, A.R., Lopez, G.A. (2002) Spatial analysis methods for forest genetic trials. *Can. J. For. Res.* 32: 2201-2214.
- Duvick, D.N. (1967) Influence of morphology and sterility on breeding methodology. In: Frey, K. J. (ed.) *Plant breeding*. Iowa: Iowa States University Press, p. 85-138.
- Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. (2006) Centro Nacional de Pesquisa do Solo. *Sistema brasileiro de classificação de solos*. 2 ed. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 306p.
- Ericsson, T. (1997) Enhanced heritabilities and best linear unbiased predictors through appropriate blocking of progeny trials. *Can. J. For. Res.* 27: 2097-2101.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14:2611-2620.
- Fakorede, M.A.B., Mock, J.J. (1978) Changes in morphological and physiological traits associated with recurrent selection for grain yield in maize. *Euphytica*. 27: 397-409.

- Falconer, D.S. (1964) *Introduction to quantitative genetics*. 2.ed. New York: Ronald Press. 365p.
- Falconer, D.S. (1981) *Introduction to Quantitative Genetics*. 2 ed. London, New York: Longmans Green.
- Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Braga, M.F., Peixoto, J.R. (2011) *Pré-melhoramento do maracujá*. In: Lopes, M.A., Favero, A.P., Ferreira, M.A.J.F., Faleiro, G., Folle, S.M. (ed.). *Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 550- 569.
- Farias Neto, A. L., & Miranda Filho, J. B. (2001). Genetic correlation between traits in the ESALQ-PB1 maize population divergently selected for tassel size and ear height. *Scientia Agricola*. 58: 119–123.
- Farias Neto, J. T., Resende, M. D. V., Oliveira, M. S. P., Nogueira, O. L., Falcão, P. N. B., Santos, N. S. A. (2008) Estimativas de parâmetros genéticos e ganhos de seleção em progênies de polinização aberta de açaizeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 30: 1051-1056.
- Farias Neto, J.T. de., Resende, M.D.V.D de., Oliveira, M.S.P. De., Santos, N.S.A., Canuto, E.L., Nogueira, O.L., Muller, A.A. (2007) Avaliação genética de progênies de polinização aberta de açaí (*Euterpe oleracea*) e estimativas de parâmetros genéticos. *Cerne*. 13: 376-383.
- Ferreira R.T., Viana, A.P., Silva, F.H.L., Santos, E.A., Santos, J.O. (2016) Seleção recorrente intrapopulacional em maracujazeiro-azedo via modelos mistos. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 38: 158-166.
- Ferreira, D.F. 1996. *Análise Multivariada*. Lavras. 388p.
- Ferreira, F. R. (1998) *Germoplasma de maracujá*. In: Cunha, M. P. (ed.) *Reunião Técnica: Pesquisa em Maracujazeiro no Brasil*. Cruz das Almas: EMBRAPACNPMF. p.48-53.
- Ferreira, M.E., Grattapaglia, D. (1998) *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos. 220 p.

- Feuillet, C., Macdougall, J.M. (2007) Passifloraceae. In: Kubitzki, K. The Families and Genera of Vascular Plants. *Springer*, v. IX. Berlin, p.270-281p.
- Fonseca, A.F.A., Sedyama, T., Cruz, C.D., Sakaiyama, N.S., Ferrão, M.A.G., Ferrão, R.G., Bragança S.M. (2006) Divergência genética em café conilon. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 41: 599-605.
- Fortaleza, J.M., Peixoto, J.R., Junqueira, N.T.V., Oliveira, A.T., Rangel, L.E.P. (2005) Características físicas e químicas em nove genótipos de maracujá-azedo cultivado sob três níveis de adubação potássica. *Rev. Bras. Frutic.* 27: 124-127.
- Francia, E., Tacconi, G., Crosatti, C., Barabaschi, D., Bulgarelli, D., Dall'aglio, E., Vale, G. (2005) Marker assisted selection in crop plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 82: 317-342.
- Franzoni, J., Scapim, C. A., Beviláqua, M. R., Pacheco, C. A., Mangolin, C. A. (2012) Application of microsatellite markers to evaluate the heterozygosity from the popcorn composite CMS-43 (*Zea mays* L.) during eight cycles of selection. *Plant breeding*, 131: 479-485.
- Freitas, I.L. de J., Amaral Junior, A.T., Viana, A.P., Pena, G.F., Cabral, P.S., Vittorazzi, C., Silva, T.R.C. (2013) Ganho genético avaliado com índices de seleção e com REML/Blup em milho pipoca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 48: 1464-1471.
- Freitas, J.P.X., Oliveira, E.J., Cruz neto, A.J., Santos, L.R. (2011) Avaliação de recursos genéticos de maracujazeiro amarelo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 46: 1013-1020.
- Gepts, P. (2006) Plant genetic resources conservation and utilization: the accomplishments and future of a societal insurance policy. *Crop Sci.* 46: 2278-2292.
- Gezan, S.A., Huber, D.A., White, T.L. (2006) Post hoc blocking to improve heritability and precision of best linear unbiased genetic predictions. *Can. J. For. Res.* 36: 2141-2147.

- Gilmour, A.R.; Cullis, B.R.; Verbyla, A.P. (1997) Accounting for natural and extraneous variation in the analysis of field experiments. *J. Agric. Biol. Environ. Stat.* 2: 269-293.
- Gomez, K.A., & Gomez, A.A. (1984) *Statistical procedures for agricultural research*. 2. ed. Nova York, John Wiley & Sons. 680p.
- GONÇALVES, G. M. *Estimativas de parâmetros genéticos em características produtivas de maracujazeiro amarelo (Passiflora edulis f. flavicarpa), baseado no delineamento I*. 2005. 87 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2005.
- Gonçalves, G. M.; Viana, A. P.; Reis, L. S.; Bezerra Neto, F. V.; Amaral Júnior, A. T. Do; Reis, L. S. (2008) Correlações fenotípicas e genético aditivas m maracujá-amarelo pelo delineamento I. *Ciência e Agrotecnologia*, 32: 1413-1418.
- Gonçalves, G.M., Viana, A.P., Bezerra Neto, F.V., Amaral Junior, A.T., Pereira, M.G. (2009) Genetic parameter estimates in yellow passion fruit based on design I. *Brazilian Archives of Biology and Technology*.52: 523- 530.
- Gonçalves, G.M., Viana, A.P., Bezerra Neto, F.V., Pereira, M.G., Pereira, T.N.S. (2007) Seleção e herdabilidade na predição de ganhos genéticos em maracujá-amarelo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 42: 193-198.
- Gonçalves, L. S., Rodrigues, R., Sudré, C. P., Bento, C. S., Moulin, M. M., Araújo, M. D., Daher, R.F; Pereira, T.N.S., Pereira, M. G. (2008) Divergência genética em tomate estimada por marcadores RAPD em comparação com descritores multicategóricos. *Hort. Bras.* 26: 362-368.
- Guimarães, A.G., Amaral Junior, A.T., Almeida Filho, J.E., Pena, G.F., Vitorazzi, C., Pereira, M.G. (2018) Population structure and impact of recurrent selection on popcorn using EST-SSR markers. *Acta scientiarum-agronomy*. 40: 33-42.
- Hallauer, A. R. (1985) Compendium of recurrent selection methods and their application. *Review in Plant Science*. 3: 1-34.

- Hallauer, A. R. Miranda Filho, J. B. (1988) *Quantitative Genetics in Maize Breeding*. Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa, 2nd edn. p. 468.
- Hallauer, A.R. (1971) Changes in genetic variance for seven plant and ear traits after four cycles of reciprocal recurrent selection for yield in maize. *Iowa State Journal Science* 45: 575-593.
- Hallauer, A.R., Russell, W.A., Lamkey, K.R. (1988) Corn breeding. In: SPRAGUE, G.F.; DUDLEY, J.W. (Ed.). *Corn and corn improvement*. 3rd ed. Madison: American Society of Agronomy, 463-564.
- Hull, F. H. (1945) Recurrent selection and specific combining ability in corn. *Journal Am. Agron.* 37: 134–145.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2017) *Produção agrícola*. Rio de Janeiro: Banco de dados agregados – SIDRA. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457#resultado>> (acesso em: 10 de janeiro de 2019).
- INCAPER - Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (2008) *Recomendações técnicas para o cultivo do maracujazeiro*. Vitória, ES: Incaper 56p.
- Junqueira, N.T. V., Braga, M.F., Faleiro, F.G., Peixoto, J.R., Bernacci, L.C. (2005) Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Braga, M.F. (eds.) *Maracujá, germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina: Embrapa Cerrados, p.81-108.
- Junqueira, N.T.V., Veras, M.C.M., Nascimento, A.C., Chaves, R.C., Matos, A.P., Junqueira, K.P. (2001) *Importância da polinização manual para aumentar a produtividade do maracujazeiro*. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 18p.
- Kempton, R.A., Seraphin, J.C., Sword, A.M. (1994) Statistical analysis of two-dimensional variation in variety yield trials. *J Agric Sci.*122: 335-342.
- Kliemann, H. J; Campelo Júnior, J. H; Azevedo, J. A. (1986) Nutrição mineral e adubação do maracujazeiro. In: H.P. HAAG. *Nutrição Mineral e adubação de fruteiras tropicais*. Campinas: Fundação Cargill, p.247-284.

- Kumar, R., Dwivedi, N., Singh, R.K., Kumar, S. (2011) A review on molecular characterization of pepper for Capsaicin and Oleoresin. *Intl. J. Plant Breed.* 5: 99-110.
- Lima, A.A., Cunha, M.A.P. (2004) PRÁTICAS CULTURAIS. IN: Lima, A. A., Cunha, M. A. P. *Maracujá: produção e qualidade na passicultura*. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p.169-178.
- Litt, M., Luty, J.A.A. (1989) hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics*, 44: 397-401.
- Lopez, G.A., Potts, B.M., Dutkowski, G.W., Apiolaza, L.A., And Gelid, P.E. (2002) Genetic variation and inter-trait correlations in *Eucalyptus globulus* base population trials in Argentina. *For. Genet.* 9: 217-231.
- Lúcio, A. D., Storcki, L., Krause, W., Gonçalves, R.Q., Nied, A. H. (2013) Relações entre os caracteres de maracujazeiro-azedo. *Ciência Rural*, 43: 225-232.
- Marçal, T.S., Ferreira, A., Oliveira, W.B.S., Guilhen, J.H.S., Fereira, M.F.S. (2015) Correlações genéticas e análise de trilha para caracteres de fruto da palmeira juçara. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 37: 692-698.
- Martins, D.P. (1998) *Resposta do maracujazeiro amarelo (Passiflora edulis Sims var. flavicarpa Deg.) a lâminas de irrigação e doses de nitrogênio e potássio*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 84p.
- Meletti, L. M. M ; Soares-Scott, M. D.; Bernacci, L. C.; Passos, I. R. Da S. (2005) *Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro*. In: Faleiro, F. G.; Junqueira, N. T. V.; Braga, M. F. (Org.). *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina: EMBRAPA CERRADOS, 1: 55-78.
- Meletti, L.M.M. (2011) Avanços na cultura do maracujá no Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 33: 83-91.

- Meletti, L.M.M.; Santos, R.R. Dos; Minami, K. (2000) Melhoramento do maracujazeiro-amarelo: obtenção do cultivar 'COMPOSTO IAC-27'. *Scientia Agricola*, 57: 491-498.
- Moe, K.T., Zhao, W.G., Song, H.S., Kim, Y.H., Chung, J.W., Cho, Y.I., Park, P.H., Park, H.S., Chae, S.C., Park, Y.J., (2010). Development of SSR markers to study diversity in the genus *Cymbidium*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 38: 585-594.
- Mohammadi, S.A., Prasanna, B.M. (2003) Analysis of Genetic Diversity in Crop Plants — Salient Statistical Tools. *Crop Science*, 43:1235-1248.
- Mojena R. (1977) Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. *The Computer Journal*.20: 359-363.
- Montgomery, D.C. & Peck, E.A. (1981) *Introduction to linear regression analysis*. New York, John Wiley. 504p.
- Morgado, M.A.D., Santos, C.E.M. dos., Linhares, H., Bruckner, C.H. (2010) Correlações fenotípicas em características físicoquímicas do maracujazeiro-azedo. *Acta Agronômica*. 59: 457-461.
- Moulinet, M. M.; Rodrigues R.; Gonçalves, L. S. A.; Sudré, C. P.; Perreira, M. G. P. (2012) A comparison of RAPD and ISSR markers reveals genetic diversity among sweet potato landraces (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). *Acta Scientiarum Agronomy*. 34: 139-147.
- Muschner, V.C., Zamberlan, P.M., Bonatto, S.L., Freitas, L.B. (2012) Phylogeny, biogeography and divergence times in *Passiflora* (Passifloraceae). *Genet. Mol. Biol.* 35:1036–43.
- Negreiros, J.R.S., Álvares V.S., Bruckner C.H., Morgado M.A.D., Cruz C.D. (2007) Relação entre características físicas e o rendimento de polpa de maracujá-amarelo. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 29: 546-549.
- Negreiros, J.R.S., Araújo Neto, S.E., Álvares, V.S., Lima, V.A., Oliveira, T.K. (2008) Caracterização de frutos de progênies de meios-irmãos de maracujazeiro-amarelo em Rio Branco - Acre. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30: 431-437.

- Nunes, T.S.; Queiroz, L.P. (2001) A família Passifloraceae na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Sitientibus*. 1: 33-46.
- Okut, H.; Akca, Y. (1995) Study to determine the causal relations between fruit weight and certain important fruit characteristics with using a path analysis. *Acta Horticulturae*. 384: 97-102.
- Oliveira, E. J. (2006) *Desenvolvimento e uso de marcadores microssatélites para construção e integração de mapas genéticos de maracujá-amarelo (Passiflora edulis Sims f. flavicarpa Deg.)*. Tese de Doutorado – Piracicaba – SP, 152 p.
- Oliveira, E.J. de., Santos, V.S., Lima, D.S. de, Machado, M.D., Lucena, R.S., Motta, T.B.N., Castellen, M.S. (2008) Seleção em progênies de maracujazeiro amarelo com base em índices multivariados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 43: 1543-1549.
- Oliveira, E.J., Lima, D.S., Lucena, R.S., Motta, T.B.N., Dantas, J.L.L. (2010) Correlações genéticas e análise de trilha para número de frutos comerciais por planta em mamoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 45: 855-862.
- Oliveira, E.J., Vieira, M.L.C., Garcia, A.A.F., Munhoz, C.F., Margarido, G.R., Consoli, L., Matta, F.P., Moraes, M.C. (2008) An integrated molecular map of yellow passion fruit based on simultaneous maximum-likelihood estimation of linkage and linkage phases. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 133: 35-41.
- Oliveira, G.A.F., Pádua, J.G., Costa, J.L., Jesus, O.N.D., Carvalho, F.M.D., Oliveira, E.J.D. (2013) Cross-species amplification of microsatellite loci developed for *Passiflora edulis* Sims. in related *Passiflora* Species. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 56: 785-792.
- Oliveira, J. C. De, Ferreira, F. R. (1991) *Melhoramento genético do maracujazeiro*. In: São José, A. R., Ferreira, F. R., Vaz, R. L. (eds.) *A cultura do maracujá no Brasil*. Jaboticabal: FUNEP. p. 211-239.
- Padilla, G., Cartea, M., Ordás, A. (2007) Comparison of several clustering methods in grouping kale landraces. *Journal of American Society for Horticultural Science*. 132: 387–395.

- Pádua, J. G., Schwingel, L. C., Mundim, R. C., Salomão, A. N., José, S. C. B. R. (2011) Germinação de sementes de *Passiflora setacea* e dormência induzida pelo armazenamento. *Rev. Bras. Sementes*. 33: 80-85.
- Pádua, J.G., Oliveira, E.J., Zucchi, M.I., Oliveira, G.C.X., Camargo, L.E.A., Vieira, M.L.C. (2005) Isolation and characterization of microsatellite markers from the sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis: Passifloraceae). *Mol. Ecol. Notes*. 5: 863-865.
- Paiva, C.L., Viana, A.P., Santos, E.A., Freitas, J.C.D.O., Silva, R.N.O., Oliveira, E. J.D. (2014) Genetic variability assessment in the genus *Passiflora* by SSR markers. *Chilean J. Agric. Res*. 74: 355-360.
- Patterson, H.D., Hunter, E.A. (1983) The efficiency of incomplete block designs in National List and Recommended List cereal variety trials. *J. Agric. Sci. Camb.*, 103: 427-433.
- Peakall, R., Smouse, P.E. (2012) GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research an update. *BMC Bioinformatics*. 28:2537-2539.
- Pereira G.S., Nunes E.S., Laperuta L.D.C., Braga M.F., Penha H.A., Diniz A.L., Munhoz C.F., Gazaffi R., Garcia A.A.F., Vieira M.L.C. (2013) Molecular polymorphism and linkage analysis in sweet passion fruit, an outcrossing species: Molecular map in sweet passion fruit. *Ann Appl Biol* 162: 347-361.
- Pereira, M.B., Vencovsky, R. (1988) Limites da seleção recorrente. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 23:769-780.
- Pereira, T.N.S. (2010) Germoplasma: conservação, manejo e uso no melhoramento de plantas. In: Pereira, T.N.S (eds)., Costa, F.R., Damasceno Junior, P.C. *Espécies silvestre: um germoplasma importante para as atividades de melhoramento*. 1. ed. Viçosa: Arca, p.177-204.
- Pinheiro, L. S., Rangel, P. H. N., Vianello, R. P., Brondani, C. (2012) Genetic variability of rice recurrent selection populations as affected by male sterility or manual recombination. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47: 808-814.

- Pinto, L.R., Vieira, M.L.C., Souza Júnior. C.L., Souza, A.P. (2003) Reciprocal recurrent selection effects on the genetic structure of tropical maize populations assessed at microsatellite loci. *Genetics and Molecular Biology*, 26: 355-364.
- Pires, A.A. *Adubação alternativa do maracujazeiro amarelo na região norte fluminense*. 2007, 120p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 2007.
- Piza Júnior, C. T. (1993) *Cultura do maracujá*. Campinas: Secretaria da Agricultura e Abastecimento. 71p.
- Preisigke, S.C. (2017) *Retrocruzamento em maracujazeiro visando à resistência genética ao Cowpea aphid-borne mosaic vírus assistida por técnicas clássicas e moleculares*. Tese (doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 115p.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 155: 945-959.
- Ramalho, M. A. P.; Ferreira, D. F.; Oliveira, A. C. (2000) *Experimentação em genética e melhoramento de plantas*. Lavras: UFLA. 303
- Ramalho, M.A.P., Ferreira, D.F., Oliveira, A.C. (2005) *Experimentação em genética e melhoramento de plantas*. 2. ed. Lavras: UFLA, 322 p.
- Ramalho, M.A.P., Santos, J.B. dos., Zimmermann, M.J.O. (1993) *Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro*. Goiânia: UFG 171p.
- Ramalho, M.A.P., Santos, J.B., Pinto, C.A.B.P., Souza, E.A., Gonçalves, F.M.A., Souza, J.C. (2012) *Genética na Agropecuária*. 5. ed. Lavras: UFLA, 566p.
- Ramalho, M.A.P., Santos. J.B. Dos., Zimmermann, M.J.O. (1993) *Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro*. Goiânia: UFG, 171p.

- Rauscher, G., Simko, I. (2013) Development of genomic SSR markers for fingerprinting lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivars and mapping genes. *BMC Plant Biol.* 13:1-11.
- Reddy, M.P.; Sarla, N.; Siddiq, E. A. (2002) Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica.* 128: 9-17.
- Reis, R.V., Oliveira, E.J., Viana, A.P., Pereira, T.N.S., Pereira, M.G., Silva, M.G.M. (2011) Diversidade genética em seleção recorrente de maracujazeiro-amarelo detectada por marcadores microssatélites. *Pesquisa Agropecuária Brasileira.* 46: 51-57.
- Resende, M. D. V. (1995) Delineamento de experimentos de seleção para maximização da acurácia seletiva e do progresso genético. *Revista Árvore,* 19: 479-500.
- Resende, M.D.V. (2002) *Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes.* Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 975 p.
- Resende, M.D.V. (2016) Software Selegen-REML/BLUP: a useful tool for plant breeding. *Crop Breeding and Applied Biotechnology.* 16: 330-339.
- Resende, M.D.V. de., Dias, L.A.S. (2000) Aplicação da metodologia de modelos mistos (REML/BLUP) na estimação de parâmetros genéticos e predição de valores genéticos aditivos e genotípicos em espécies frutíferas. *Revista Brasileira de Fruticultura.* 22: 44-52.
- Resende, M.D.V. de., Duarte, J.B. (2007) Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. *Pesquisa Agropecuária Tropical.* 37: 182-194.
- Reynolds, A.G.; Wardle, D.A. (1993) Yield component path analysis of okanagan riesling vines conventionally pruned or subjected to simulated mechanical pruning. *American Journal of Enology and Viticulture.* 44: 173-179.
- Ribeiro, R. M.; Viana, A. P.; Santos, E. A.; Rodrigues, D. L.; Preisigke, S. C (2019). Breeding passion fruit populations - review and perspectives. *Functional Plant Breeding Journal.* 1: 1-14.

- Santos E.A., Viana A.P., Freitas J.C.O., Rodrigues D.L., Tavares R.F., Paiva L.C., Souza M.M. (2015) Genotype selection by REML/BLUP methodology in a segregating population from an interspecific *Passiflora* spp. crossing. *Euphytica*. 204: 1-11.
- Santos, C.E.M. dos., Pissioni, L.L.M., Morgado, M.A.D., Cruz, C.D., Bruckner, C.H. (2008) Estratégias de seleção em progênies de maracujazeiro amarelo quanto ao vigor e incidência de verrugose. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 30: 444-449.
- Santos, E.A., Viana, A.P., Freitas, J.C.O., Silva, F.H.L., Rodrigues, R., Eiras, M. (2015) Resistance to Cowpea aphid-borne mosaic virus in species and hybrids of *Passiflora*: advances for the control of the passion fruit woodiness disease in Brazil. *European Journal of Plant Pathology*. 143: 85-98.
- Santos, P. R., Preisigke, S. C., Viana, A. P., Cavalcante, N. R., Sousa, C. M. B., Amaral Júnior, A. T. (2017) Associations between vegetative and production traits in guava tree full-sib progenies. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 52: 303-310.
- Santos, P.R. (2018) *Novas abordagens para identificação da resistência ao *Pratylenchus Brachyurus* e estrutura genética de segregantes interespecíficos em espécies de *Vitis**. Tese (doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, 110 p.
- Schlötterer, C. (2004) The evolution of molecular markers - just a matter of fashion? *Nat. Rev. Genet.* 5: 63-69.
- Schuster, I. (1996) *Correlações, coeficientes de trilha, composição de gluteninas e qualidade do trigo para panificação*. Viçosa: UFV, 98p.
- Silva, F. H. de L.; Viana, A. P.; Freitas, J. C. de O.; Santos, E. A.; Rodrigues, D. L.; Amaral Júnior, A. T. do. (2017) Prediction of genetic gains by selection indexes and REML/BLUP methodology in a population of sour passion fruit under recurrent selection. *Acta scientiarum-agronomy*. 39: 183-190.
- Silva, F.H.L. (2015) *Abordagem fenotípica e molecular em progênies de maracujazeiro-azedo submetidas à seleção recorrente*. Tese (doutorado em Genética e

- Melhoramento de Plantas) - Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, 85p.
- Silva, F.H.L., Muñoz, P.R., Vincent, C.I., Viana, A.P. (2016) Generating relevant information for breeding *Passiflora edulis*: genetic parameters and population structure. *Euphytica*. 208: 609-619.
- Silva, F.L., Pedrozo, C.A., Barbosa, M.H.P., Resende, M.D.V., Peternelli, L.A., Costa, P.M.A., Vieira, M.S. (2009) Análise de trilha para os componentes de produção de cana-de-açúcar via blup. *Revista Ceres*. 56: 308-314.
- Silva, M. G. M., Viana, A. P., Goncalves, G. M., Amaral Junior, A. T., Pereira, M. G. (2009) Seleção recorrente intrapopulacional no maracujazeiro amarelo: Alternativa de capitalização de ganhos genéticos. *Ciência e Agrotecnologia*. 33: 170-176.
- Silva, M.G. M., e Viana, A.P. (2012) Alternativas de seleção em população de maracujazeiro-azedo sob seleção recorrente intrapopulacional. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 34: 525–531.
- Sokal, R.R., Rohlf, F.J. (1962) The comparison of dendrograms by objective methods. *Taxon*, 11: 33-40.
- Solomon, K.F., Martin, I., Zeppa, A. (2010) Temporal genetic structure patterns in tropical maize populations under reciprocal recurrent selection. *Euphytica*. 176: 239-249.
- Sousa, L.B. de., Silva, E.M., Gomes, R.L.F., Lopes, A.C.A., Silva, I.C.V. (2012) Characterization and genetic divergence of access of *Passiflora edulis* and *P. cincinnata* based on physical and chemical characteristics of fruits. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 34: 832-839.
- Souza Júnior, C. L. De. (2001) *Melhoramento de espécies alógamas*. In: Nass, L. L.; Valois, A. C. C.; Melo, I. S. de, Valadares-ingles, M. C. (Org.) Recursos genéticos e melhoramento de plantas. Rondonópolis: Fundação MT, 1: 59-199.
- Souza, J. S. I. De.; Meletti, L. M. M. (1997) *Maracujá: espécies, variedades, cultivo*. Piracicaba: FEALQ. 177p.

- Souza, S. A. M.; Martins, K. C.; Azevedo, A. S. (2012) Telma Nair Santana Pereira, T. N.P. Fenologia reprodutiva do maracujazeiro-azedo no município de Campos dos Goytacazes, RJ. *Ciência Rural*. 42: 1774-1780.
- Suassuna, T. De M. F.; Bruckner, C. H.; Carvalho, C. R. De; Borém, A. (2003) Self-incompatibility in passionfruit: evidence of gametophytic-sporophytic control. *Theoretical and Applied Genetics*. 106: 298-302.
- Teixeira, D.H.L., Oliveira, M.S.P., Gonçalves, F.M.A., Nunes, J.A.R. (2012) Correlações genéticas e análise de trilha para componentes de produção de frutos de açazeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 34: 1135-1142.
- Valois, A.C.C., Nass, L.L., Goes, M. In: Nass, L.L., Melo, I.S., Valadres-Inglis, M.C.(ed.) (2001) *Recursos genéticos e melhoramento – Plantas*. Rondonópolis: Fundação MT, p.123-149.
- Vanderplank, J. (2000) *Passion flowers*. 3ª ed. Cambridge: The MIT Press. 224p.
- Vencovsky, R. and Barriga, P. (1992) *Genética biométrica no fitomelhoramento*. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 496 p.
- Versieux, L.M., Barbará, T., Wanderley, M.G.L., Calvente, A., Fay, M.F., Lexer, C. (2012) Molecular phylogenetics of the Brazilian giant bromeliads (Alcantarea, Bromeliaceae): implications for morphological evolution and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 64: 177-189.
- Viana, A. P., Pereira, T. N. S., Pereira, M. G., Amaral Jr, A. T., Souza, M. M., Maldonado, J. F. M. (2003) 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*, 25: 489-493.
- Viana, A. P., Pereira, T. N. S., Pereira, M. G., Souza, M. M. De; Maldonado, J. F. M., Amaral Júnior, A. T. do. (2003) Simple and canonic correlation between agronomical and fruit quality traits in yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) populations. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. 3: 133-140.
- Viana, A. P.; Silva, F. H. L. E.; Gonçalves, G. M.; Silva, M. G. M.; Ferreira, R. T.; Pereira, T. N. S.; Pereira, M. G.; Amaral Júnior, A. T. do; Carvalho, G. F. (2016) UENF Rio

- Dourado: a new passion fruit cultivar with high yield potential. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*.16: 250-253.
- Viana, A.P., & Resende, M.D.V. (2014) *Genética quantitativa no melhoramento de fruteiras*. Rio de Janeiro, Interciência. 296p.
- Viana, A.P., Pereira, T.N.S., Pereira, M.G., Amaral Júnior, A.T. do, Souza, M.M. de., Maldonado, J.F.M. (2004) Parâmetros genéticos em populações de maracujazeiro-amarelo. *Revista Ceres*. 51: 545-555.
- Viana, A.P.; Gonçalves, G.M. (2005) Genética quantitativa aplicada ao melhoramento genético do maracujazeiro. In: Faleiro, F.G.; Junqueira, N.T.V.; Braga, M.F. (Ed.). *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina: Embrapa Cerrados, p.243-274.
- Viana, A.P.; Pereira, T.N.S.; Pereira, M.G.; Amaral Júnior, A.T. Do; Souza, M.M. De; Maldonado, J.F.M. (2004) Parâmetros genéticos em populações de maracujazeiro-amarelo. *Revista Ceres*. 51: 545-555.
- Walters, S. P., Russell W. A., Lamkey, K. R. (1991). Comparison of phenotypic correlations among S1 lines, and their testcrosses, from four Iowa Stiff Stalk populations of maize. *Maydica*. 36: 39-44.
- Welham, S.J.; Gezan, S.A.; Clark, S.J.; Mead, A. (2014) *Statistical methods in biology: design and analysis of experiments and regression*. CRC Press, Boca Raton.
- Wright, S. (1921) Correlation and causation. *Journal of Agricultural Research*. 20: 57-585.
- Wright, S. (1923) The theory of path coefficients a reply to niles's criticism. *Genetics*. 8: 239-255.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., Labuda, D. (1994) Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) - anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*. 20: 176–183.