

RETROCRUZAMENTO EM MARACUJAZEIRO VISANDO À
RESISTÊNCIA GENÉTICA AO *Cowpea aphid-borne mosaic virus*
ASSISTIDA POR TÉCNICAS CLÁSSICAS E MOLECULARES

SANDRA DA COSTA PREISIGKE

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
NOVEMBRO – 2017

RETROCRUZAMENTO EM MARACUJAZEIRO VISANDO À
RESISTÊNCIA GENÉTICA AO *Cowpea aphid-borne mosaic virus*
ASSISTIDA POR TÉCNICAS CLÁSSICAS E MOLECULARES

SANDRA DA COSTA PREISIGKE

“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 Doutora em Genética e Melhoramento
de Plantas.”

Orientador: Prof. Alexandre Pio Viana

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
NOVEMBRO – 2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCH / UENF

002/2018

P924 Preisigke, Sandra da Costa.

Retrocruzamento em maracujazeiro visando à resistência genética ao *Cowpea aphid-borne mosaic virus* assistida por técnicas clássicas e moleculares / Sandra da Costa Preisigke – Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

101 f. : il.

Bibliografia: f. 81 - 101.

Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2017.

Orientador: Alexandre Pio Viana.

1. Passiflora *edulis*. 2. Melhoramento Vegetal. 3. Virose do Endurecimento dos Frutos. 4. Maracujá – Melhoramento Genético. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD – 634.425

RETROCRUZAMENTO EM MARACUJAZEIRO VISANDO
RESISTÊNCIA GENÉTICA AO *Cowpea aphid-borne mosaic virus*
ASSISTIDA POR TÉCNICAS CLÁSSICAS E MOLECULARES

SANDRA DA COSTA PREISIGKE

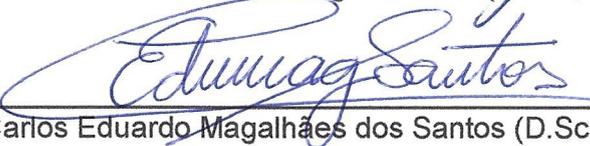
“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutora em Genética e Melhoramento
de Plantas.”

Aprovada em 22 de novembro de 2017.

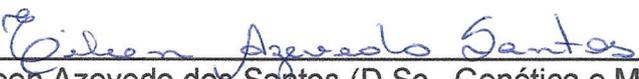
Comissão Examinadora:



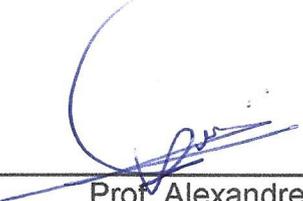
Prof. Messias Gonzaga Pereira (Ph.D., Plant Breeding) – UENF



Prof. Carlos Eduardo Magalhães dos Santos (D.Sc., Genética e Melhoramento) – UFV



Dr.ª Eileen Azevedo dos Santos (D.Sc., Genética e Melhoramento) – UENF



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

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Lúcio Preisigke e Aparecida da Costa Preisigke, por todo o apoio e ajuda em todas as etapas. Aos meus irmãos, pelo incentivo e pelo amor. A todos os meus amigos, que tornaram essa jornada mais leve. Ao meu marido Wagner da Silva de Oliveira, que divide comigo as alegrias e as dificuldades.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me fortalecido, conceder sabedoria e coragem para seguir em frente.

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

À Faperj, pela concessão da bolsa, e aos demais órgãos, Capes e CNPq, pelo fomento da pesquisa.

Ao meu orientador, professor Alexandre Pio Viana, que, com sabedoria, me auxiliou durante todo o doutorado. Agradeço também pela oportunidade de fazer parte do programa de melhoramento genético do maracujazeiro.

Aos professores Telma Nair Santana Pereira, Rosana Rodrigues, Messias Gonzaga Pereira e Antônio Teixeira do Amaral Júnior, por todos os conhecimentos transmitidos durante a ministração das disciplinas da pós-graduação, por estarem sempre disponíveis para esclarecer dúvidas e também por disponibilizarem equipamentos e laboratórios para a realização dessa pesquisa.

Ao Daniel, secretário do Programa de Pós-Graduação, por ser sempre solícito e ajudar em todas as questões burocráticas. O melhor secretário do mundo. Obrigada, também, pela amizade.

Aos técnicos Geraldo e Durval, pelo grande auxílio prestado nas atividades de campo durante as etapas desta pesquisa.

Aos meus amados pais, Lúcio Preisigke e Aparecida da Costa Preisigke, pois sem eles nem estaria aqui. Obrigada por me ensinarem a procurar o caminho certo, não o mais curto, obrigada pelas orações em meu favor, obrigada pela ajuda financeira e obrigada por estarem vivos.

Ao Vagner da Silva de Oliveira, meu parceiro de caminhada. Obrigada por sempre me apoiar incondicionalmente, por estar ao meu lado me dando forças para continuar, por me ajudar a ser uma pessoa melhor.

Aos meus irmãos, Denise da Costa Preisigke, Douglas da Costa Preisigke e Edimara da Costa Preisigke, por sempre estarem ao meu lado e ajudar nas horas difíceis.

À Maria Luiza Silva Oliveira, pelo apoio, carinho e confiança.

À Eileen, por me orientar na pesquisa e por todo conhecimento passado, pelos aconselhamentos e pela amizade.

Ao Paulo Ricardo, pela ajuda em tudo e por ser um bom amigo. Meu primeiro amigo em Campos e que vou levar para o resto da vida.

Ao Nardelio, pela ajuda e amizade.

Aos amigos Flávia, Caio, Gessica, Valquíria, Pedro, Beatriz, Moisés, Natan, Evillyn, Foluke, Misael, Raiane, Daniele, Rodrigo, Juninho e Odimar. Obrigada por toda a ajuda, pelos momentos de descontração, pelas confraternizações calorosas e por terem sido uma família para mim em Campos.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	iii
SUMÁRIO	v
RESUMO	vii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	5
3. CAPÍTULOS.....	7
3.1 RETROCRUZAMENTO EM MARACUJAZEIRO: AVANÇO DE GERAÇÃO E SELEÇÃO DE GENÓTIPOS RESISTENTES AO <i>Cowpea aphid-borne mosaic virus</i>	7
3.1.1. INTRODUÇÃO.....	7
3.1.2. REVISÃO	9
3.1.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
3.1.5 CONCLUSÕES.....	30
3.2. PRODUTIVIDADE DE GENÓTIPOS DA PRIMEIRA GERAÇÃO DE RETROCRUZAMENTO DE MARACUJAZEIRO	31
3.2.1 INTRODUÇÃO.....	31
3.2.2. REVISÃO	33
3.2.3. MATERIAL E MÉTODOS.....	37
3.2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41

3.2.5 CONCLUSÕES.....	56
3.3 DIVERSIDADE MOLECULAR, AGRONÔMICA E DE RESISTÊNCIA GENÉTICA AO VÍRUS DO ENDURECIMENTO DOS FRUTOS EM POPULAÇÕES SEGREGANTES DE MARACUJAZEIRO	57
3.3.1. INTRODUÇÃO.....	57
3.3.2. REVISÃO	59
3.3.3. MATERIAL E MÉTODOS.....	62
3.3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
3.3.5 CONCLUSÕES.....	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81

RESUMO

PREISIGKE, Sandra da Costa; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; novembro de 2017; RETROCRUZAMENTO EM MARACUJAZEIRO VISANDO RESISTÊNCIA GENÉTICA AO *Cowpea aphid-borne mosaic virus* ASSISTIDA POR TÉCNICAS CLÁSSICAS E MOLECULARES; Orientador: Prof. Alexandre Pio Viana; Conselheiros: Profa. Rosana Rodrigues e Profa. Telma Nair Santana Pereira.

O cultivo do maracujazeiro-azedo é afetado pela virose do endurecimento dos frutos causada por *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). Não existem cultivares de *P. edulis* resistentes a essa doença. O presente estudo teve por objetivos: i) avaliar a resistência ao CABMV em populações segregantes de maracujazeiro; ii) estimar parâmetros genéticos para características agronômicas e de resistência ao CABMV em seis famílias de irmãos completos de macujazeiro-azedo; iii) selecionar genótipos resistentes e com bom desempenho agronômico; e iv) estimar a diversidade genética com base em informações de resistência ao CABMV, desempenho agronômico e marcadores moleculares, em uma população segregante de maracujazeiro-azedo. O experimento foi implantado em blocos casualizados com quatro repetições, composto por seis famílias de irmãos completos (genótipos do primeiro retrocruzamento - RC₁), híbridos interespecíficos das espécies *P. setacea* e *P. edulis*. Os sintomas da doença foram avaliados durante 14 meses, por uma escala de notas, nas folhas jovens, em toda a área ocupada pela planta, tendo sido obtida com essas notas a área média abaixo da curva de progresso (AACPD). Foram estimados, somente para os genótipos RC₁,

os componentes de variância e o valor genético para AACPDm e oito características morfoagronômicas via procedimento REML/BLUP. O material vegetal utilizado na caracterização morfoagronômica e molecular foram genótipos de *P. setacea*, *P. edulis* e da primeira geração de retrocruzamento. Na caracterização morfoagronômica, foram avaliadas três características de produção e uma de resistência ao CABMV. Posteriormente, foram obtidos a matriz de distância genética pela distância euclidiana média e o agrupamento, pelo método UPGMA. Para a caracterização molecular, foram utilizados 14 pares de iniciadores microssatélite. Com essas informações, foram obtidas a estrutura genética da população, a estimação dos parâmetros de diversidade genética, a distância genética e o agrupamento dos genótipos. Por fim, foi feita uma análise conjunta com os agrupamentos das informações morfoagronômicas e moleculares. Os valores da característica de resistência AACPDm variaram de 386,25 a 1241,25, mostrando grande variabilidade para esse caráter. O alto valor de herdabilidade individual no sentido restrito para a característica AACPDm (0,90) indica a possibilidade de seleção de genótipos dentro de família resistente ao CABMV. Na estimação dos parâmetros genéticos para as características morfoagronômicas, observou-se baixa herdabilidade para todas as características, que pôde ser contornada com a estimação dos BLUPs individuais. As características comprimento de fruto, espessura da casca e massa média de fruto foram as que apresentaram maiores valores de herdabilidade, conseqüentemente, as que obtiveram maiores ganhos. O uso de informações morfoagronômicas e moleculares mostrou haver variabilidade genética entre os genitores e a população e dentro da população segregante de maracujazeiro. O número médio de alelos foi de 2,214, próximo do esperado para a população. Os valores de heterozigosidade esperada variaram de 0,011 a 0,618, apresentando média de 0,303. A heterozigosidade observada variou de 0,011 a 0,967, com média de 0,422. O valor médio da heterozigosidade observada foi maior que a esperada, indicando elevado número de indivíduos heterozigotos na população. A análise bayesiana permitiu a distinção dos genótipos de *P. setacea*, híbrido interespecífico, *P. edulis* e de RC₁, alocando-os em diferentes grupos. A análise conjunta das variáveis morfoagronômicas e moleculares apresentou taxa de emaranhamento de 0,65, evidenciando a divergência dos genótipos entre os grupos de ambos os dendrogramas. O intuito deste trabalho foi selecionar genótipos produtivos e resistentes ao CABMV, mas

como não foi possível reunir essas características em um mesmo genótipo, optou-se por genótipos resistentes, pois as características agronômicas serão recuperadas nas próximas gerações de retrocruzamento. Genótipos como o 501, 505, 506, 597, 223, 484 e 312 são os mais indicados para dar continuidade ao programa de melhoramento genético.

ABSTRACT

PREISIGKE, Sandra da Costa; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; novembro de 2017; BACKCROSS IN PASSION FRUIT WITH THE INTENTION OF OBTAINING GENETIC RESISTANCE TO *Cowpea aphid-borne mosaic virus* ASSISTED BY CLASSICAL AND MOLECULAR TECHNIQUES; Orientador: Prof. Alexandre Pio Viana; Conselheiros: Profa. Rosana Rodrigues e Profa. Telma Nair Santana Pereira.

The passion fruit crop is affected by the virus Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) that the main symptom is the hardening of the fruits. There are no cultivars of *P. edulis* resistant to this disease. The present study had the following objectives: i) to evaluate the resistance to the CABMV in segregating populations of passion fruit; ii) to estimate genetic parameters for agronomic characteristics and resistance to CABMV in six families of full sibling families of the passion fruit; iii) to select resistant genotypes and with good agronomic performance; and iv) to estimate the genetic diversity based on information on resistance to CABMV, agronomic performance and molecular marker, in a segregating population of passion fruit. The experiment was performed in a randomized block with four replicates, composed of six families of complete siblings (first generation backcross genotypes - RC₁), interspecific hybrids of the species *P. setacea* and *P. edulis*. The symptoms of the disease were evaluated during 14 months, obtaining the average area below the disease progress curve (AACPD_M). A scale of notes was assigned to young leaves throughout the plant. The variance components and the genetic value for AACPD_M and eight morphoagronomic characteristics were estimated only for the RC₁

genotypes by REML/BLUP. The plant material used in the morphoagronomic and molecular characterization were genotypes of *P. setacea*, *P. edulis* and the first generation of backcross. In the morphoagronomic characterization, three production characteristics and one of resistance to CABMV were evaluated. Subsequently, the genetic distance matrix was obtained by the mean Euclidean distance and the grouping by the UPGMA method. For the molecular characterization, 14 pairs of microsatellite primers were used. With this information, the genetic structure of the population, the estimation of the parameters of genetic diversity, the genetic distance and the grouping of the genotypes was obtained. Finally, a joint analysis was made with the clusters of morphoagronomic and molecular information. The AACPD resistance characteristic values ranged from 386.25 to 1241.25 showing great variability for this character. The high individual heritability value in the restricted sense for the AACPD characteristic (0.90) indicates the possibility of selection of genotypes within the CABMV resistant family. In the estimation of genetic parameters for morphoagronomic characteristics, low heritability was observed for all traits, which could be rectified with the estimation of individual BLUP's. The characteristics of fruit length, bark thickness and average fruit mass were those that presented higher values of heritability, consequently, those that obtained greater gains. The use of morphoagronomic and molecular information showed genetic variability between the parents and the population and within the segregating passion fruit population. The mean number of alleles was 2.214 close to that expected for the population. The expected heterozygosity values ranged from 0.011 to 0.618 presenting an average of 0.303. The observed heterozygosity ranged from 0.011 to 0.967 with a mean of 0.422. The mean value of heterozygosity observed was higher than expected, indicating a high number of heterozygous individuals in the population. Bayesian analysis allowed distinguishing genotypes of *P. setacea*, interspecific hybrid, *P. edulis* and RC₁, by allocating them in different groups. The joint analysis of the morphoagronomic and molecular variables presented an entanglement rate of 0.65 evidencing the divergence of the genotypes between the groups of both dendrograms. The purpose of this work was to select genotypes that are productive and resistant to CABMV, but since it was not possible to combine these characteristics in the same genotype, we chose resistant genotypes because the agronomic characteristics will be recovered in the next

generations of backcrossing. Genotypes such as 501, 505, 506, 597, 223, 484 and 312 are best suited to continue the breeding program.

1. INTRODUÇÃO

O maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims) é a espécie mais conhecida e estudada dentro do gênero *Passiflora*, considerado o maior e mais importante da família Passifloraceae. É originário das Américas Tropical e Subtropical (Vanderplank, 2000). O Brasil é um dos principais centros de diversidade genética dessa família, com quatro gêneros e 153 espécies, sendo 87 espécies endêmicas (Bernacci et al., 2015). As diferentes espécies de *Passiflora* estão distribuídas por todo o território nacional.

O cultivo comercial do maracujazeiro-azedo foi iniciado por volta de 1970, tornando o país o maior produtor e consumidor desta fruteira, com uma produção de 703.489 toneladas, numa área de 50.204 mil hectares, no ano de 2016 (IBGE, 2017). No entanto, houve uma queda na produção referente aos últimos setes anos, podendo ter sido ocasionada por problemas fitossanitários.

Doença como a virose do endurecimento do fruto, causada pelo *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV), transmitida de forma não persistente por várias espécies de afídeos, é considerada uma das mais importantes economicamente. As plantas infectadas têm redução da área foliar e do peso de fruto, com consequente redução do número, da qualidade e do valor comercial dos frutos. As perdas causadas pela infecção do CABMV são consideradas um problema muito grave para a cultura, pois pode afetar 100% dos pomares, inviabilizando o cultivo do maracujazeiro (Nascimento et al., 2004; Cerqueira-Silva et al., 2008). Para essa doença, não existe forma de controle eficiente, e o desenvolvimento de cultivares

resistentes ao CABMV seria uma alternativa viável, uma vez que não existe nenhuma cultivar de maracujazeiro-azedo resistente que tenha sido registrada até o momento, apesar dos esforços dos pesquisadores em programas de melhoramento genético do maracujazeiro. Há relatos de resistência ao CABMV em várias espécies silvestres (Maciel et al., 2009; Oliveira et al., 2013a; Gonçalves et al., 2018) e em híbridos interespecíficos (Freitas et al., 2015; Santos et al., 2015).

Além dos problemas fitossanitários na cultura do maracujazeiro, há ainda carência de genótipos adaptados às regiões de cultivo, sendo necessária a adoção de programas de melhoramento genético que visem a associar essas duas vertentes.

Diante da perspectiva de ampliar a base genética da cultura do maracujazeiro, principalmente em relação à resistência à doença, o grupo de pesquisa de melhoramento genético de maracujazeiro da UENF vem somando contribuições importantes para o progresso genético da cultura, pela condução de pesquisas que visam a obter uma cultivar resistente ao CABMV, com bom desempenho agrônômico. Este programa teve início com a obtenção de híbridos interespecíficos oriundos dos cruzamentos entre *P. setacea*, resistente ao CABMV, e *P. edulis*, espécie comercial suscetível ao CABMV (Santos et al., 2014). Posteriormente, foram avaliados e selecionados quanto à resistência ao CABMV (Santos et al., 2015a) e às características agrônômicas (Santos 2015b; Freitas et al 2016). O genótipo selecionado foi retrocruzado com *P. edulis*, e os descendentes foram inoculados com o CABMV para um estudo preliminar da herança da resistência, tendo sido constatados indícios de herança poligênica (Freitas et al., 2015).

Os híbridos interespecíficos resistentes obtidos neste programa apresentam algumas características agrônômicas indesejáveis ao consumidor, havendo necessidade de o genoma da espécie comercial (*P. edulis*) ser recuperado. Um método que pode ser utilizado para recuperação do genoma é o retrocruzamento.

O método de retrocruzamento, originalmente desenvolvido para a transferência de um ou mais genes, apesar de ser um método conservador, pode originar uma população inicial com considerável distância genética (Lorencetti et al., 2006), aumentando a chance de identificação de indivíduos superiores ao longo do processo. Para a característica cuja expressão é controlada por muitos genes,

esse método também pode ser eficiente na transferência, sendo necessário aumentar o número efetivo da população (Borém et al., 2017)

Uma etapa importante no melhoramento genético do maracujazeiro, principalmente nas fases iniciais, é a caracterização agrônômica e molecular e as estimativas de parâmetros genéticos em populações segregantes, por orientarem na escolha de genitores e no planejamento dos cruzamentos.

A escolha dos métodos de melhoramento depende do conhecimento dos mecanismos genéticos responsáveis pela herança do caráter sob seleção (Viana e Resende, 2014). A utilização das estimativas dos parâmetros genéticos fornece informações para as ações dos programas de melhoramento genético, uma vez que estas estimativas promovem o conhecimento sobre a natureza da ação gênica envolvida na transmissão dos caracteres (Viana e Resende, 2014).

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). Os valores genéticos individuais preditos pelo BLUP têm sido empregados como uma forma de aumentar os ganhos de seleção. A predição do valor genético aditivo levará à maximização da possibilidade de selecionar os melhores indivíduos e à maximização do ganho genético por ciclo de seleção (Resende, 2002; Viana e Resende, 2014). Essa predição dos valores genéticos individuais é uma grande vantagem da metodologia.

Em espécies perenes, que convivem comumente com situações de desbalanceamentos de informações fenotípicas experimentais, os modelos mistos podem ser aplicados por não exigirem balanceamento, além de corrigirem os dados para efeitos ambientais e predizerem de maneira precisa e não viciada os valores genéticos, conduzindo à maximização do ganho genético com a seleção (Resende et al., 2001). Esse procedimento tem sido aplicado em diversas culturas, especialmente em culturas perenes e fruteiras como café (Carias et al., 2016), cana-de-açúcar (Gonçalves et al., 2014), goiaba (Gomes et al., 2017), mamão (Vivas et al., 2014) e maracujá (Santos et al., 2015b; Freitas et al., 2016).

Para o progresso na seleção de genótipos para avanço de gerações em um programa de melhoramento que visa a obter genótipos com boa produtividade e resistente a doenças, é necessário conhecer, explorar e manusear convenientemente a variabilidade genética disponível. Para explorar a variabilidade genética, podem ser utilizadas análises morfoagronômicas e moleculares, que estão entre as ferramentas mais utilizadas para estimar a diversidade genética (Máric et al., 2004). Em programas de melhoramento genético, é importante o uso destas duas categorias de informações, molecular e morfoagronômica, visto ajudarem na compreensão das relações genéticas entre o germoplasma estudado (Ramos et al., 2012).

Nos últimos anos, vem ocorrendo um aumento considerável na pesquisa dedicada à obtenção de estimativas de variabilidade genética, usando marcadores moleculares, seja na diversidade genética entre genótipos da espécie *P. edulis* (Pádua et al., 2005; Ortiz et al., 2012; Costa et al., 2012; Cerqueira-Silva et al., 2014b) ou em espécies silvestres de maracujazeiro (Cerqueira-silva et al., 2012; Cerqueira-Silva et al., 2014b; Cerqueira-Silva et al., 2014c; Paiva et al., 2014). Os marcadores moleculares também estão sendo empregados para o monitoramento da variabilidade genética em populações segregantes sujeitas a ciclos de seleções (Reis et al., 2012; Silva et al., 2016; Viana et al., 2017) em população oriunda de retrocruzamento (Fonseca et al., 2009). Estes trabalhos referenciados evidenciam a importância do uso de marcadores moleculares, associado a programas de melhoramento em diferentes vertentes.

Diante do exposto, esse estudo foi conduzido em decorrência da necessidade de serem desenvolvidas cultivares de maracujazeiro resistentes ao CABMV, dando continuidade ao programa de melhoramento genético de maracujazeiro da UENF. Híbridos interespecíficos resistentes ao CABMV já foram obtidos (Santos et al., 2015a), no entanto é necessário resgatar as características agronômicas presentes em *P. edulis* e manter os genes de resistência à doença. Assim, este trabalho teve por objetivo avançar geração de retrocruzamento entre híbridos (*P. edulis* x *P. setacea*) e o genitor recorrente *P. edulis*, avaliar e selecionar genótipos resistentes ao CABMV e estimar parâmetros genéticos e de diversidade genética via características morfoagronômica e marcadores moleculares.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral: Avanço de geração de retrocruzamento entre híbridos (*P. edulis* x *P. setacea*) e o genitor recorrente *P. edulis*, visando ao desenvolvimento de cultivares de maracujá-azedo resistentes ao CABMV, com bom desempenho agronômico.

2.2 Específicos:

- i) Obter a primeira geração de retrocruzamento entre híbridos (*P. edulis* x *P. setacea*) e o genitor recorrente *P. edulis*;
- ii) Avaliar a resistência ao CABMV nas progênies obtidas por retrocruzamento com o auxílio de três escalas de notas: nas folhas jovens, distribuição dos sintomas da virose em toda a área ocupada pela planta e nos frutos;
- iii) Estimar parâmetros genéticos e valores genotípicos pelo procedimento REML/BLUP em nível de planta dentro de progênies para o caráter resistência ao CABMV (área abaixo da curva de progresso da doença);
- iv) Selecionar genótipos para serem genitores na próxima geração de retrocruzamento com base na resistência genética ao CABMV;
- v) Estimar parâmetros genéticos e valores genotípicos pelo procedimento REML/BLUP em nível de planta dentro de progênies para características agronômicas;
- vi) Selecionar genótipos com bom desempenho agronômico;

- vii) Estimar a divergência genética entre progenitores, genitores e a população segregante por meio de informações morfoagronômicas e moleculares;
- viii) Estimar índices genotípicos para quantificação e estruturação da variabilidade genética; e
- ix) Fazer a análise conjunta das informações morfoagronômicas e moleculares.

3. CAPÍTULOS

3.1 RETROCRUZAMENTO EM MARACUJAZEIRO: AVANÇO DE GERAÇÃO E SELEÇÃO DE GENÓTIPOS RESISTENTES AO *Cowpea aphid-borne mosaic virus*

3.1.1. INTRODUÇÃO

O maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims) é a espécie mais conhecida e estudada dentro do gênero *Passiflora*. O Brasil, desde a década de 70, vem se destacando mundialmente como maior produtor e consumidor desta fruteira, com uma produção de 703.489 toneladas e produtividade de 14,10 t ha⁻¹ no ano de 2016 (IBGE, 2017). No entanto, a produção e a produtividade de maracujazeiro no País têm potencial para atingir patamares bem superiores.

Problemas fitossanitários podem ser uma das causas dessa limitação. Doença como a virose do endurecimento do fruto, causada pelo *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV), é considerada uma das mais importantes economicamente, podendo, em algumas situações, inviabilizar o cultivo do maracujá (Cerqueira-Silva et al., 2008). Para essa doença, não existe forma de controle eficiente, e o desenvolvimento de novas cultivares resistentes ao CABMV

seria uma alternativa viável, uma vez que não existe nenhuma cultivar de maracujazeiro resistente que tenha sido registrada até o momento.

O vírus pode ser transmitido por várias espécies de afídeos, via extrato foliar tamponado, por enxertia e por equipamento de poda (Zerbini et al., 2005; Di Piero et al., 2006). Os sintomas induzidos pela infecção do CABMV consistem em folhas com mosaico com intensidade variada, manchas amareladas em forma de anel, mosqueamento, rugosidade, embolhamento ou distorção. Os internódios tornam-se curtos, por isso há redução no porte das plantas infectadas. Em decorrência da doença, a produtividade é reduzida quantitativa e qualitativamente, uma vez que os frutos ficam menores, deformados e endurecidos, podendo até exibir rachaduras, dependendo da estirpe do vírus. Conseqüentemente, reduz também o valor comercial dos frutos, o ciclo da cultura e a vida econômica do pomar (Gioria et al., 2000; Rezende, 2006).

Alguns estudos relacionados à resistência em maracujazeiro ao CABMV como a obtenção de plantas transgênicas (Monteiro-Hara et al., 2011; Correa et al., 2015), a indução de resistência (Di Piero et al., 2010) e a introgressão de genes de resistência por meio de hibridações interespecíficas vêm sendo desenvolvidos (Fonseca et al., 2009; Santos et al., 2015a; Freitas et al., 2015). Na introgressão de genes de resistência, melhoristas fazem hibridações interespecíficas, seguidas de retrocruzamentos, para combinar a resistência ao CABMV encontrada na espécie silvestre *P. setacea* com as características de qualidade e de produtividade de frutos da espécie comercial *P. edulis* (Fonseca et al., 2009; Santos et al., 2015; Freitas et al., 2015).

Na introgressão de genes de resistência ao CABMV em cultivares de maracujá-azedo, melhoristas têm buscado o uso de espécies silvestres resistentes, pois a base genética das cultivares comerciais de maracujazeiro-azedo é relativamente estreita, não havendo variabilidade genética para resistência a esta virose (Oliveira et al., 2013a). A espécie silvestre *P. setacea* está sendo introduzida em programas de melhoramento genético do maracujazeiro, por ser considerada resistente a algumas doenças, principalmente ao CABMV (Oliveira et al., 2013a; Santos et al., 2015a; Gonçalves et al., 2018). Assim, esta espécie vem sendo usada em introgressão de genes de resistência por meio de hibridação interespecífica. Além da resistência à doença, essa espécie tem outros atributos físico-químicos de

frutos desejáveis para o melhoramento genético (Cerqueira-Silva et al., 2009; Ataíde et al., 2012).

O grupo de pesquisa do maracujazeiro-azedo da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro-UENF, em trabalhos desenvolvidos por Santos et al. (2015) e Freitas et al. (2015), tem contribuições significativas para a obtenção de cultivares resistentes ao CABMV. Nesse estudo, foram observados alguns híbridos interespecíficos (*P. edulis* x *P. setacea*) resistentes ao CABMV. No entanto, as características agrônômicas desejáveis precisam ser recuperadas, neste caso o uso de sucessivas gerações de retrocruzamento é indicado para resgatar as características agrônômicas de interesse e manter a resistência ao vírus.

Este trabalho objetivou estimar parâmetros genéticos para a característica de resistência ao CABMV em populações segregantes de maracujazeiro e selecionar genótipos resistentes para serem genitores na próxima geração de retrocruzamento (RC₂) do programa de melhoramento genético de maracujazeiro da UENF.

3.1.2. REVISÃO

3.1.2.1. Gênero *Passiflora*

Originário das Américas, o gênero *Passiflora* pertence à família Passifloraceae, havendo relatos de que os ancestrais de *Passiflora* são originários da África e se dispersaram para a Europa e Ásia até chegar ao continente americano (Muschner et al., 2012). Segundo os autores, a partir da América Central, esses ancestrais se diversificaram rapidamente por eventos de dispersão de longa distância.

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). As espécies são encontradas em todas as regiões do País.

O gênero *Passiflora* caracteriza-se por apresentar espécies trepadeiras herbáceas ou lenhosas; folhas inteiras ou lobadas; estípulas setáceas, lineares ou

foliáceas, algumas vezes caducas; pecíolo com ou sem glândulas; flores grandes e coloridas; sépalas, às vezes, dorsalmente corniculadas ou aristadas próximo ao ápice; pétalas membranáceas; filamentos da coroa com duas ou várias séries, coloridas; opérculo presente; límen anular ou cupuliforme situado na base do androginóforo; androginóforo alongado, raramente curto; ovário 3-4 carpelar, estigmas 3-4; e frutos em baga ou cápsula deiscente (Ulmer e MacDougal, 2004; Nunes e Queiroz, 2006).

As principais espécies do gênero são diploides ($2n=2x=18$ cromossomos), alógamas e autoincompatíveis (Martin e Nakasone, 1970), mas algumas espécies de *Passiflora* silvestres são autocompatíveis, segundo Meletti et al. (2005) e Junqueira et al. (2005). A autoincompatibilidade é uma característica importante, pois favorece a diversidade genética das espécies. Junqueira et al. (2005) relatam as espécies *P. tenuifila*, *P. elegans*, *P. capsularis*, *P. villosa*, *P. suberosa*, *P. foetida* como autocompatíveis.

Apesar da ampla variabilidade genética existentes no gênero *Passiflora*, os cultivos comerciais do Brasil baseiam-se numa única espécie, o maracujá-azedo (*Passiflora edulis*), que representa mais de 90% dos pomares, pela qualidade dos seus frutos, vigor, produtividade e rendimento em suco (Meletti e Bruckner, 2001; Meletti, 2011; Oliveira et al., 2013a; Viana et al., 2016).

3.1.2.2. Espécies de *Passiflora*: *P. setacea* e *P. edulis*

A *Passiflora setacea* DC. é uma espécie silvestre de maracujazeiro que ocorre nos biomas Cerrado e Caatinga e em áreas de transição, como o Semiárido Norte-Mineiro do Brasil (Figura 1A). É conhecida popularmente como sururuca, maracujá-de-cobra e maracujá-do-sono (Flora do Brasil, 2017). Trata-se de uma espécie silvestre cuja polpa dos frutos, segundo uso popular, previne problemas de insônia (Guimarães et al., 2013).

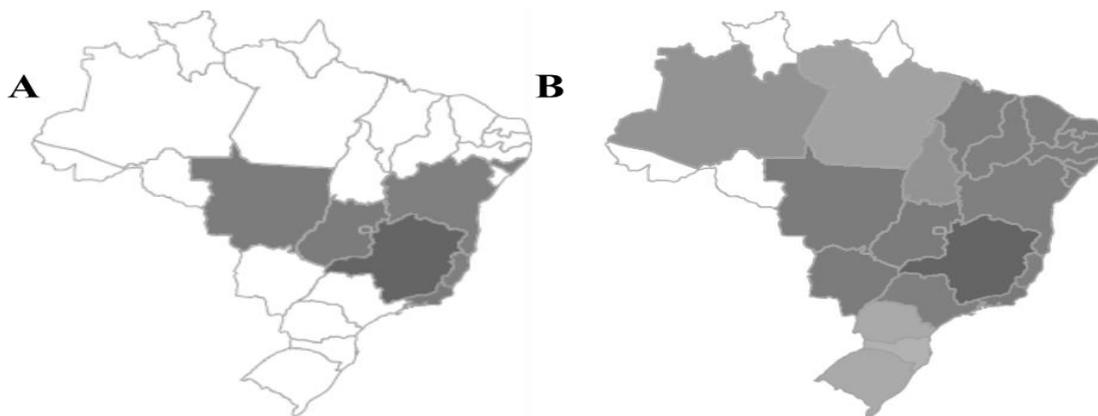


Figura 1. Representação geográfica da ocorrência confirmada das espécies *P. setacea* e *P. edulis*. A) Os estados preenchidos pela cor cinza no mapa representam a ocorrência de *P. setacea* no Brasil; B) Os estados preenchidos pela cor cinza no mapa representam a ocorrência de *P. edulis* no Brasil. Fonte: Flora do Brasil (2017) Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

A espécie *P. setacea* apresenta morfologia semelhante às outras passifloras, como glândulas secretoras de néctar localizadas na folha, especialmente no meio do pecíolo, além da produção de néctar floral utilizado como recurso para seus polinizadores, também apresenta uma estrutura em forma de coluna que sustenta o androceu e o gineceu, denominado de androginóforo. O androceu é composto por cinco anteras e o gineceu, por três estigmas (Melo et al., 2014). Apesar de ter flores completas, a espécie *P. setacea* DC. é alógama e autoincompatível, com alto grau de heterozigose (Duvick, 1967). Essa espécie tem um número básico de cromossomos, $n=x=9$ (MacDougall e Feillet, 2004). Por ser uma das espécies de antese noturna do gênero, está sujeita à visitação de polinizadores como *Chiroptera*, himenópteros, lepidópteros e/ou coleópteros de hábito noturno, tendo como prováveis polinizadores mariposas e morcegos (Junqueira et al., 2005; Ferreira, 2016a).

Os frutos de *P. setacea* têm o formato redondo-ovalado, além de serem menores em relação ao maracujazeiro-azedo, com coloração verde-amarelada, apresentando cinco listras longitudinais (Vieira et al., 2008; Ribeiro et al., 2014). A frutificação dessa espécie, em geral, ocorre em duas épocas do ano, de janeiro a março no sul da Bahia e de agosto a outubro no Estado de São Paulo (Ataíde, et al., 2012; Ribeiro et al., 2014). A semente de *P. setacea* é induzida à dormência quando submetida a baixas temperaturas e a baixo teor de água. Esta dormência pode ser superada por tratamento com ácido giberélico, podendo ser conservada

por até 8 meses, sob baixas temperaturas, a -20 ou -196 °C, pois mantém os padrões mínimos de viabilidade estabelecidos internacionalmente (Pádua et al., 2011). Muitos pesquisadores relatam que essa espécie tem dificuldade de propagação, tanto por sementes como por estacas herbáceas (Chaves et al., 2004; Santos et al., 2016).

A espécie *P. setacea* vem recebendo destaque pelo seu uso em programas de melhoramento genético. A primeira cultivar de maracujazeiro silvestre registrada e protegida pelo Ministério da Agricultura foi a BRS Pérola do Cerrado, obtida por seleção massal entre genótipos de *P. setacea*, visando ao aumento da produtividade, tamanho de frutos e resistência a doenças (Costa et al., 2015; EMBRAPA, 2017). Esta espécie é muito utilizada como fonte de resistências a várias doenças (Oliveira et al., 2013a; Fuhrmann et al., 2014; Santos et al., 2015).

Passiflora edulis Sims, espécie conhecida popularmente como maracujazeiro-azedo ou maracujazeiro-amarelo, é nativa do Brasil, mas não é endêmica, podendo ser encontrada em várias regiões do País (Figura 1B). Tem caule cilíndrico-lenhoso, folha trilobada, glândula no pecíolo, margem serrada glandular; flor com o hipanto campanulado, arista presente nas sépalas, corona multisseriado, androginóforo maior que 1,5 cm comprimento; fruto com formato baga e numerosas sementes (Flora do Brasil, 2017). Assim como a *P. setacea*, a espécie *P. edulis* é diploide ($2n=2x=18$ cromossomos), alógama e auto-incompatível. O tipo de autoincompatibilidade é homomórfica e esporofítica (Bruckner et al., 1995). A abertura das flores ocorre do meio-dia até a noite. O melhor horário para a polinização é quando o estilete se encontra totalmente curvado após a antese (Akamine e Girolami, 1959; Cunha et al., 2004).

Passiflora edulis é a principal espécie cultivada, representando, aproximadamente, 90% dos pomares brasileiros, principalmente pela sua qualidade, produtividade, vigor e rendimento em suco (Meletti e Bruckner, 2001; Meletti, 2011; Oliveira et al., 2013a; Silva et al., 2014; Viana et al., 2016).

Em razão, principalmente, da morfologia floral e da presença de grãos de pólen pesados e pegajosos, a polinização natural do maracujazeiro-azedo é dependente de insetos polinizadores, sendo os principais as mamangavas do gênero *Xylocopa*. Na ausência de insetos polinizadores, há necessidade de polinização artificial, o que se tornou uma técnica de cultivo, cujos benefícios à frutificação são inquestionáveis (Souza e Meletti, 1997; Krause et al., 2012).

No Brasil, o maracujá-azedo foi considerado uma fruta de pomar doméstico durante muitos anos, em razão de suas propriedades medicinais. Seu valor comercial foi descoberto no final da década de 60, quando os primeiros pomares paulistas foram instalados (Meletti, 2011). Após a década de 70, houve uma crescente evolução no plantio dessa fruteira, sendo considerado, atualmente, o maior produtor e consumidor desta fruteira. Vários programas de melhoramento têm contribuído para manter esta posição de destaque do maracujazeiro-azedo no cenário da fruticultura brasileira. A maioria dos trabalhos desenvolvidos está voltada para a produção e a qualidade de frutos (Silva et al., 2016; Viana et al., 2016; Cavalcante et al., 2017; Silva et al., 2017). Pelo fato de o maracujá-azedo ser suscetível a várias doenças, trabalhos voltados para a resistência genética a doenças vêm se destacando (Fonseca et al., 2009; Di Piero et al., 2010; Monteiro-Hara et al., 2011; Preisigke et al., 2015; Santos et al., 2015a; Freitas et al., 2015).

3.1.2.3. Virose do endurecimento dos frutos (*Cowpea aphid-borne mosaic virus-CABMV*)

Segundo Yuki et al. (2006), a cultura do maracujazeiro pode ser acometida por diversas viroses, sendo a doença do endurecimento dos frutos a mais importante da cultura em todo o mundo. Este vírus foi originalmente descrito na Austrália (Taylor e Greber, 1973; Shukla e Ward, 1988). Começou a ser detectado em regiões produtoras do Brasil por volta de 1970, em plantas comerciais de maracujazeiros-azedo e doce, no estado da Bahia (Yamashiro e Chagas, 1979), afetando severamente a produtividade da cultura, o valor comercial dos frutos e o período economicamente produtivo (Pio-Ribeiro e Mariano, 1997).

A doença pode ser detectada na maioria das áreas de produção de maracujá em vários estados do País como São Paulo (Chagas et al., 1992; Yuki et al., 2006), Minas Gerais (Oliveira, 2006), Santa Catarina (Colariccio et al., 2008), e Mato Grosso do Sul (Stangarlin et al., 2017) e Rio de Janeiro (Maciel et al., 2009; Santos et al., 2015a). Sua ocorrência de forma generalizada tem sido detectada nos campos de produção de maracujazeiros, inclusive na Região Norte Fluminense, onde pesquisas visando ao seu controle são ainda incipientes (Santos et al., 2015a).

Pelo menos dois potyvirus podem causar a doença do endurecimento dos frutos em todo o mundo, *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) e *Passion fruit woodiness virus* (PWV). Até aproximadamente meados da década de 1990, acreditava-se que o PWV fosse o único agente causador da virose do endurecimento dos frutos no Brasil (Kitajima et al., 1986; Shukla e Ward, 1988). Entretanto, com o avanço das técnicas de diagnóstico molecular, com base no sequenciamento da proteína capsidial de isolados provenientes dos estados de São Paulo, Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Paraíba, Pernambuco, Sergipe e Distrito Federal, Rio de Janeiro, inclusive alguns anteriormente identificados como PWV, diagnosticou-se o CABMV como o principal, senão o único agente etiológico do endurecimento dos frutos em maracujazeiros cultivados em território nacional. Análises filogenéticas utilizando a sequência da capa proteica desses isolados indicaram identidade máxima com isolados de CABMV (86 a 94%), já com os isolados de PWV, apenas 68 a 76%. Até o momento, nenhum isolado brasileiro sequenciado pertence à espécie PWV (Cerqueira-Silva et al., 2008; Barros et al., 2011; Santos et al., 2015a).

O CABMV é uma espécie do gênero *Potyvirus* transmitido de forma não persistente por várias espécies de afídeos vetores, mecanicamente por extrato foliar tamponado e por enxertia (Di Piero et al., 2006; Gibbs e Ohshima, 2010). Plantas de maracujazeiro infectadas por esse vírus têm sintomas como mosaico comum, acompanhado, em alguns casos, de enrugamento, deformações e bolhas no limbo foliar, redução de crescimento da planta, endurecimento e deformidade dos frutos. Os sintomas foliares podem diminuir em intensidade ou quase desaparecerem em algumas folhas da haste e retornar, posteriormente, nas folhas mais novas, dependendo da estirpe do vírus e das condições ambientais (Rezende, 2006).

Para reduzir a queda na produtividade de maracujazeiro-azedo em plantios com histórico da virose do endurecimento dos frutos, recomendam-se algumas medidas preventivas, como uso de mudas sadias obtidas de viveiros certificados, eliminação completa das instalações antigas, adoção de práticas cuidadosas para poda e desbaste, eliminação sistemática de plantas com sintomas de mosaico e, sempre que possível, plantio em locais isolados suficientemente longe de focos conhecidos do vírus. Embora essas recomendações não sejam totalmente eficazes e seus efeitos possam ser momentâneos, essas adoções poderiam ajudar a

prolongar a vida útil de um pomar e reduzir os danos potencialmente causados pelo CABMV (Cerqueira-Silva et al., 2014a).

O número de estudos relacionados a esta doença tem aumentado consideravelmente, ainda que estejam na fase inicial. Estratégias como a obtenção de plantas transgênicas (Monteiro-Hara et al., 2011), indução de resistência (Di Piero et al., 2010) e introgressão de genes resistência (Fonseca et al., 2009; Freitas et al., 2015; Santos et al., 2015a) vêm sendo consideradas para o controle da doença.

3.1.2.4. Melhoramento de maracujazeiro visando à resistência à doença

Segundo Meletti (2011), o melhoramento do maracujazeiro teve um incremento de trabalhos de pesquisas a partir de 1990 com o lançamento das primeiras cultivares e a consolidação de equipes multidisciplinares de pesquisa. O melhoramento genético dessa cultura trouxe avanços significativos em relação à produtividade e qualidade de frutos (Neves et al., 2011; Silva et al., 2016; Cavalcante et al., 2017; Silva et al., 2017) e também alguns avanços relacionados à resistência às doenças e pragas importantes da cultura (Bueno et al., 2010; Oliveira et al., 2013a; Santos et al., 2015a).

O melhoramento visando à resistência à doença merece uma atenção especial pelas constantes perdas nos pomares, diminuição da qualidade dos frutos, redução na vida útil da lavoura e, muitas vezes, inviabilidade no cultivo dessa fruteira (Gioria et al., 2000; Oliveira et al., 2013a). Algumas doenças como a virose do endurecimento dos frutos vêm se destacando pelo fato de causar sérios prejuízos à cultura do maracujazeiro, até o momento, não havendo uma forma eficiente de conviver com essas doenças.

O uso de espécies silvestres, principalmente como fontes de resistência à doença, em cruzamentos artificiais com a espécie comercial tem mostrado grande potencial. Para obter sucesso na hibridação interespecífica é necessário que as espécies a serem combinadas apresentem homologia cromossômica. Portanto, o conhecimento das relações genômicas é necessário para o sucesso de um programa de hibridação (Pereira et al., 2010). Alguns estudos relatam sucesso na hibridação interespecíficas entre algumas espécies do gênero *Passiflora* (Conceição et al., 2011; Fuhrmann et al., 2014). Pesquisas feitas pela Embrapa

Cerrados têm verificado que *P. setacea*, *P. coccinea* e *P. grandulosa* apresentam compatibilidade genética com *P. edulis*, quando utilizadas como genitor masculino ou feminino, e *P. caerulea*, quando utilizada como genitor masculino (Junqueira et al., 2005). Outros estudos têm confirmado a compatibilidade de cruzamentos entre *P. setacea* e *P. edulis* (Soares-Scott., 2003; Fonseca et al., 2009; Santos et al., 2014; Fuhrmann et al., 2014).

Em programas de melhoramento envolvendo hibridações interespecíficas, os melhoristas enfrentam vários problemas, como a incongruidade, macho-esterilidade, baixa viabilidade polínica ou dificuldade em florescer (Otoni, 1996; Soares-Scott et al., 2003; Meletti et al., 2005; Pereira et al., 2010), além da ausência de características agrônomicas interessantes para o cultivo e a comercialização. Neste caso, uma alternativa é o uso dos retrocruzamentos, utilizando variedades comerciais como genitores recorrentes. Fonseca et al. (2009) fizeram cruzamentos artificiais entre as espécies *P. setacea* e *P. edulis* visando a transferir genes de resistência ao CABMV, contido na espécie *P. setacea*, para a espécie *P. edulis* (suscetível). Os híbridos interespecíficos foram obtidos e utilizado o método de retrocruzamento para o avanço de cinco gerações, ou seja, até a RC₅. Constatou-se que a resistência ao CABMV foi se reduzindo ao longo das gerações, chegando ao mesmo nível de severidade de genótipos de *P. edulis* na geração RC₃. O uso de poucos genótipos, curto período de avaliação e herança da resistência, pode explicar essa perda de resistência.

O programa de melhoramento do maracujazeiro-azedo visando à resistência genética ao CABMV da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) vem obtendo resultados promissores. Esse programa foi iniciado com o trabalho de Santos et al. (2014), com a obtenção de híbridos interespecíficos entre *P. setacea* (resistente ao CABMV) e *P. edulis* (espécie comercial suscetível ao CABMV). Após a obtenção, os híbridos foram avaliados quanto à resistência ao CABMV (Santos et al., 2015a) e às características agrônomicas (Santos 2015b; Freitas et al., 2016). Trabalho desenvolvido por Freitas et al. (2015) deu continuidade ao programa de melhoramento genético com estudo de herança da resistência em genótipos da primeira geração de retrocruzamento, tendo constatado que a herança genética que controla a resistência ao CABMV não é monogênica. Os híbridos obtidos nestes estudos são resistentes ao CABMV, mas não têm as características agrônomicas exigidas pelo

mercado consumidor. São necessárias várias gerações de retrocruzamentos para recompor o genoma da espécie comercial.

O método de retrocruzamento é muito utilizado em programas de melhoramento e consiste em recuperar grande parte do genótipo do genitor recorrente, que é normalmente uma cultivar elite, considerada superior em um grande número de atributos, mas deficiente em uma ou poucas características, as quais o melhorista procura transferir do genitor doador. Esta técnica tem sido utilizada em várias culturas como mamoeiro (Ramos et al., 2011), feijoeiro (Antonio et al., 2012) e maracujá (Fonseca et al., 2009; Fuhrmann et al., 2014).

3.1.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1.3.1. Germoplasma

Foram conduzidas no campo seis famílias de irmãos completos (genótipos RC₁), seis híbridos interespecíficos (genitores doadores de genes de resistência), as espécies *P. setacea* (resistente) e *P. edulis* (genitor recorrente e suscetível) (Tabela 1).

Os híbridos interespecíficos foram obtidos do cruzamento entre as espécies *P. edulis* x *P. setacea* no programa de melhoramento de maracujazeiro visando à resistência genética ao CABMV da UENF (Figura 2).

Os retrocruzamentos foram feitos na área experimental localizada na Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo, município de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, com latitude sul de 21° 45', longitude 41° 20' W e 11 m de altitude, onde os híbridos obtidos por Santos et al. (2015a) foram sendo conduzidos. As polinizações foram feitas antes da abertura da flor, a partir das 10 horas da manhã. Neste horário, as anteras do *P. edulis* já estavam aptas. Genótipos de *P. edulis* foram utilizados como genitor masculino e os híbridos interespecíficos, como genitor feminino. Botões florais dos híbridos foram emasculados e polinizados com pólen do genótipo de *P. edulis* e, posteriormente, protegidos. Estes cruzamentos deram origem a seis famílias de irmãos completos.

Tabela 1. Origem e identificação das populações de estudo compostas por famílias de irmãos completos (FIC), híbridos interespecíficos (HI), *P. setacea* e *P. edulis*, e distribuição dos genótipos na área experimental. Campos dos Goytacazes, RJ, 2017

Descrição	Cruzamentos	Identificação dos genótipos por bloco	Total de genótipos
FIC1*	HI5-14 x <i>P. edulis</i>	BI:1-40; BII:153-192; BIII:305-345; BIV:459-498	160
FIC2	HI1-15 x <i>P. edulis</i>	BI:41-80; BII:193-232; BIII:346-385; BIV:499-538	160
FIC3	HI5-16 x <i>P. edulis</i>	BI:81-120; BII:233-272; BIII:386-426; BIV:539-578	160
FIC4	HI5-1 x <i>P. edulis</i>	BI:121-138; BII:273-290; BIII:427-444; BIV:459-498	72
FIC5	HI2-10 x <i>P. edulis</i>	BI:139-150; BII:291-302; BIII:445-456; BIV:596-608	48
FIC6	HI5-13 x <i>P. edulis</i>	BI:151-152; BII:303-304; BIII:457-458; BIV:609-610	8
Genitor HI5-14**	Ps 367 x Pe 139 (40)	3	12
Genitor HI1-15	Pe 139 (40) x Ps 367	3	12
Genitor HI5-16	Ps 367 x Pe 139 (40)	3	12
Genitor HI5-1	Ps 367 x Pe 139 (40)	3	12
Genitor HI2-10	Pe 139 (38) x Ps 367	3	12
Genitor HI5-13	Ps 367 x Pe 139 (40)	3	12
Genitor <i>P. edulis</i>	***PMGMA-UENF	3	12
Progenitor <i>P. setacea</i>	BAG da UENF	3	12
Total			704

* Famílias de irmãos completos - primeira geração de retrocruzamento.

** híbridos interespecíficos selecionados (Santos et al., 2015). Pe= *P. edulis*; Ps= *P. setacea*.

*** Programa de melhoramento genético do maracujazeiro (PMGMA-UENF).

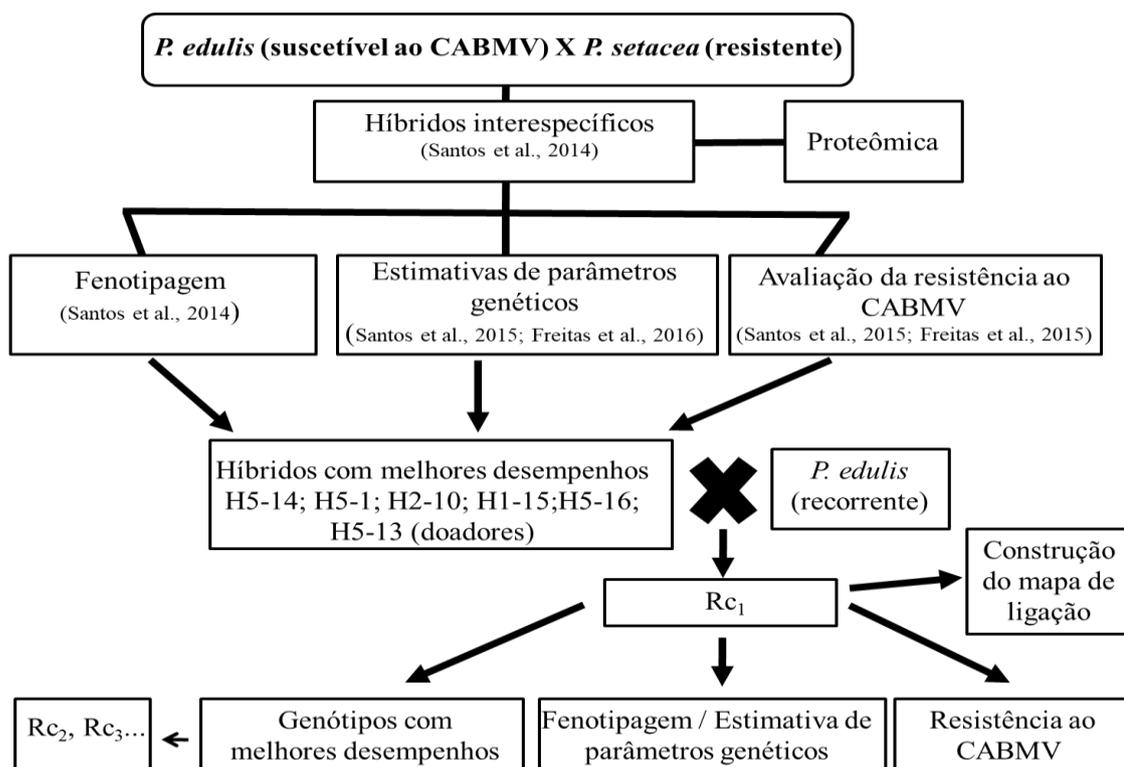


Figura 2. Organograma das etapas do programa de melhoramento de maracujazeiro para resistência à *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

3.1.3.2. Condução do experimento

Os híbridos interespecíficos foram propagados assexuadamente por meio de estacas herbáceas, enraizadas em bandejas de 72 células contendo substrato orgânico e mantidas em casa de nebulização até o completo enraizamento. Posteriormente, as estacas enraizadas foram transplantadas para sacos plásticos de polietileno preto e mantidas em casa de vegetação. O genitor doador *P. edulis* é oriundo do terceiro ciclo de seleção recorrente do programa de melhoramento genético do maracujazeiro-azedo da UENF. A propagação foi feita via seminal.

As sementes obtidas das famílias de irmãos completos foram lavadas em água corrente e mantidas por 15 minutos em uma solução contendo 50% de hipoclorito de sódio e 50% de água. Após essa lavagem em água corrente, permaneceram em água por 3 horas. A semeadura foi feita em bandejas de isopor de 128 células contendo substrato orgânico, tendo sido mantidas em casa de

nebulização até o estágio de plântula. Posteriormente, as plântulas foram transplantadas para sacos plásticos de polietileno preto, com capacidade de 1L, contendo terra vegetal, substrato e areia, na proporção de 1:1:1, e transferidas para casa de vegetação. Após 95 dias, as mudas foram transplantadas para a área experimental da Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso com quatro repetições, desbalanceado para plantas dentro de famílias.

O sistema utilizado para a condução das plantas no campo foi de espaldeira vertical, com mourões de 2,5 m de altura, espaçados de 4 m, com um fio de arame número 12 a 1,80 m do solo. A distância entre linhas de plantio foi de 3,5 m e 2 m entre covas. Na adubação de plantio, foram utilizados 10 L de esterco bovino, 200g de calcário, 400g de superfosfato simples e 250g de cloreto de potássio, na cova. O sistema de irrigação foi o de gotejamento. O controle de pragas e doenças foi feito com produtos fitossanitários recomendados para a cultura pelo Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento.

3.1.3.3. Resistência ao CABMV e estimativas de parâmetros genéticos

As populações de estudo foram conduzidas em uma área com histórico da doença e, com isso, os genótipos não foram inoculados, sendo avaliados sob a ocorrência natural do CABMV. Após os primeiros sintomas de virose, as plantas foram avaliadas quinzenalmente por 14 meses. As avaliações dos sintomas foram feitas visualmente em folhas jovens: a partir da terceira folha mais jovem nos ramos novos; na planta inteira, pela distribuição dos sintomas da virose em toda a área ocupada pela planta e nos frutos (Figura 3). Utilizou-se uma escala de notas com modificações para todas estas avaliações (Tabela 2), proposta por Novaes e Rezende (1999), modificada por Oliveira et al. (2013a).

Tabela 2. Escala de notas utilizada para avaliação dos sintomas induzidos pelo CABMV nos frutos, folhas jovens e plantas de maracujazeiro-azedo, com adaptações de Novaes e Rezende (1999) e Oliveira et al. (2013a). Campos dos Goytacazes, RJ, 2017

Notas	Sintomatologia visual		
	Folhas jovens	Fruto	Planta
1	Folha sem sintomas de mosaico	Fruto normal, sem deformação	Planta sem sintomas
2	Folha apresentando mosaico leve, sem deformações foliares	Fruto ligeiramente deformado, com ou sem manchas	Poucas folhas com sintomas, mosaico leve ou enrugamento, leve nas folhas
3	Mosaico severo sem deformação foliar	Fruto medianamente deformado, com ou sem manchas	Quantidade moderada de folhas com sintomas, mosaico leve enrugamento nas folhas
4	Mosaico severo, bolhas e deformações foliares	Fruto totalmente deformado com manchas e forte endurecimento dos frutos	Muitas folhas com sintomas, mosaico, enrugamento severo e deformação nas folhas

Por meio da escala de notas, foram estimadas a área abaixo da curva de progresso da doença para folhas jovens e a área total da planta para cada genótipo, utilizando o estimador:

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{y_i + y_{i+1}}{2} (T_{i+1} - T_i)$$

Em que Y_i = proporção da doença na i -ésima observação; T_i = tempo em dias da i -ésima observação; e n = número de observações (Campbell e Madden, 1990).

Posteriormente, foi estimada uma média com os valores de AACPD obtidos para folhas jovens e área total ocupada pela planta. Após estimadas, foram obtidas uma média com as AACPDs (AACPDm). Para severidade nos frutos, foram utilizadas a nota máxima e as médias das notas em plantas individuais.



Figura 3. Sintomas de virose no maracujazeiro: A) escala de nota na folha jovem variando de 1 para plantas sem sintomas a 4 sintomas mais severo; B) escala de nota nos frutos variando de 1 fruto sem sintomas a 4 sintomas mais severos; C) escala de nota na aérea total ocupada pela planta variando de 1 plantas sem sintomas a 4 sintomas mais severo. Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

Foram estimados os componentes de variâncias (REML) e os efeitos genéticos aditivos preditos pelo BLUP para o caráter resistência à doença AACPDM somente para as seis famílias, 319 genótipos. As análises foram feitas utilizando o programa Selegen-Reml/Blup (Resende, 2016), que segue o modelo estatístico $y = Xr + Zg + Wp + e$ em que y é o vetor de observações, r é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral, g é o vetor dos efeitos genotípicos individuais (assumidos como aleatórios), p é o vetor dos efeitos de parcelas (aleatórios) e e , o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

Foram estimados os seguintes componentes de variância (REML):

$\hat{\sigma}_g^2$: variância genotípica entre progênies de irmãos completos, equivalendo a 1/2 da variância genética aditiva mais 1/4 da variância genética de dominância, ignorando-se a epistasia;

$\hat{\sigma}_f^2$: variância fenotípica individual;

\hat{h}^2_a : herdabilidade individual no sentido restrito, obtida ignorando-se a fração (1/4) da variância genética de dominância;

\hat{h}^2_{mp} : herdabilidade da média de progênies, assumindo sobrevivência completa; e Acprog: acurácia da seleção de progênies, assumindo sobrevivência completa.

3.1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1.4. 1. Estimativas dos parâmetros genéticos

Os primeiros sintomas da doença foram constatados após 120 dias de avaliações em três genótipos de *P. edulis* e 22 genótipos de RC₁. Aos 180 dias, 100% dos genótipos de *P. edulis* apresentavam sintomas. Confirmando estes resultados, Cavichioli et al. (2011) relataram os primeiros sintomas após 90 dias de avaliações e que, aos 180 dias, 97,5% dos genótipos de *P. edulis* estariam sintomáticos. Já Santos et al. (2015a), estudando uma população de híbridos interespecíficos (*P. edulis* x *P. setácea*), observaram os primeiros sintomas aos 270 dias de avaliações e, ao término das avaliações, constataram genótipos sem sintomas, diferentemente do encontrado nesse trabalho, em que não foram

observados genótipos sem sintomas. Isto pode estar relacionado à quantidade de genes envolvidos na herança da resistência, pois quando a herança é quantitativa, dificilmente é possível encontrar genótipos sem sintomas da doença com o avanço de gerações de retrocruzamentos. Outro fator é o maior período de avaliação feito neste estudo, expondo os genótipos por mais tempo a outros fatores bióticos e abióticos. E por último, deve-se considerar a hipótese de variabilidade genéticas do vírus.

A espécie resistente *P. setacea* apresentou sintomas de virose, embora bem leves, em alguns genótipos após 200 dias de avaliações. Aos 345 dias de avaliações, esses sintomas atingiram todos os genótipos da espécie.

Os valores de AACPD_M variaram de 386,25 (resistente) a 1241,25 (suscetível) para os genótipos avaliados. Os genótipos que obtiveram os menores valores de AACPD_M foram três genótipos de *P. setacea* (386,25 e 401,25) e os RC₁ 153, 501, 505 e 506 (401,25). Estes genótipos apresentaram sintomas leves como mosaico leve, sem deformação foliar e poucas folhas com sintoma da doença, sendo considerados resistentes. Por outro lado, os genótipos que obtiveram maiores valores foram três genótipos de *P. edulis* (1241,25; 1200 e 1177,5) e os RC₁ 385 (1192,5), 365 (1185), 261 (1162). Estes últimos exibiram sintomas mais graves da doença como mosaico severo, bolhas e deformações foliares distribuídas em quase toda área ocupada pela planta, sendo considerados altamente suscetíveis.

Os parâmetros genéticos foram estimados para AACPD_M (Tabela 3). Notam-se valores altos para as estimativas de herdabilidade individual no sentido restrito (h^2_a) e com base na média de família (h^2_{mp}) para AACPD_M.

As estimativas dos parâmetros genéticos são essenciais para programas de melhoramento, uma vez que auxiliam na seleção e escolha do método de melhoramento. Neste trabalho, as estimativas dos componentes de variância genética e fenotípica para a AACPD_M sugerem que a população avaliada apresenta alta variabilidade genética e pequeno efeito ambiental na expressão do caráter resistência ao CABMV, fato que contribui para o aumento das estimativas da herdabilidade e na acurácia seletiva.

Tabela 3. Estimativas dos parâmetros genéticos via procedimento REML em seis famílias de irmãos completos oriundas da primeira geração de retrocruzamento em maracujazeiro para a característica área abaixo da curva de progresso da doença média (AACPDM). Campos dos Goytacazes, RJ, 2015/2016

Parâmetros Genéticos	AACPDM
$\hat{\sigma}_g^2$	23712,54
$\hat{\sigma}_f^2$	24903,57
h_a^2	0,90± 0,12
h_{mp}^2	0,95
Ac_{prog}	0,98
Média	629,26

σ_g^2 : Variância genotípica entre famílias de maracujazeiro; σ_f^2 : variância fenotípica individual; h_a^2 : herdabilidade individual no sentido restrito; h_{mp}^2 : herdabilidade com base na média de família; Ac_{prog} : acurácia da seleção de famílias.

Os valores de herdabilidade individual no sentido restrito e com base na média das famílias foram elevados para a AACPDM. Isso mostra uma situação favorável à seleção de famílias ou de indivíduos dentro de famílias que pode contribuir para redução da virose do endurecimento dos frutos, haja vista que grande parte da variação fenotípica observada nos genótipos advém dos efeitos genéticos. Estes resultados confirmam aqueles encontrados por Freitas et al. (2015), que avaliaram uma população segregante oriunda de retrocruzamento entre híbrido interespecífico (*P. edulis* x *P. setacea*) e *P. edulis*. Avaliando somente as folhas jovens, encontraram para esse caráter uma herdabilidade de 0,94, muito próxima da obtida neste trabalho, de 0,95.

As altas magnitudes das herdabilidades encontradas neste trabalho indicam que a variação fenotípica observada tem mais origem genética que ambiental. De acordo com Beserra Júnior et al. (2006), valores hereditários elevados podem indicar que a característica avaliada é controlada por poucos genes. No entanto, sabe-se que a herança genética que controla a resistência ao CABMV não é monogênica (Freitas et al., 2015). Apesar de a herança do caráter ser poligênica, há grande possibilidade de seleção de genótipos resistentes na primeira geração

de retrocruzamento, pois os valores estimados inferiram que a resistência ao CABMV na população avaliada é altamente herdável.

Para fins de melhoramento genético, obter altos valores para herdabilidade no sentido restrito é o ideal, uma vez que considera somente a aditividade, que é a porção herdável da variância genética, que pode ser passada de geração em geração por seleção (Jung et al., 2008). Neste sentido, recomenda-se fazer seleção individual, pois foram constatadas altas magnitudes de herdabilidade individual no sentido restrito para a característica de resistência ao CABMV e por se tratar de uma população segregante que tem grande variabilidade dentro de famílias.

No que se refere à acurácia seletiva, devem ser buscados valores de acurácia acima de 70% (Resende, 2007). No presente estudo, observou-se estimativa superior a 97% para AACPD. Conforme apresentado por Resende (2007), tal estimativa de acurácia apresenta alta precisão, facilitando a identificação e a seleção de genótipos com a característica desejada.

3.1.4.2. Seleção de genótipos e estimativa de ganho genético por BLUP

O êxito em programas de melhoramento genético depende da escolha dos melhores genótipos para serem os genitores das próximas gerações (Cruz e Carneiro, 2006). A seleção deve ser feita com base nos valores genéticos aditivos dos indivíduos que serão utilizados em gerações futuras. Dessa forma, foram ranqueados os 30 genótipos com os menores valores genéticos para a característica avaliada, o que corresponde a, aproximadamente, 10% dos genótipos avaliados. Os ganhos genéticos foram preditos e as novas médias, estimadas (Tabelas 4).

Os valores genéticos aditivos variaram de -0,6748 a -0,437 (Tabela4). Os ganhos preditos variaram entre -0,0017% a 0,0065%. Em relação às famílias com maior número de genótipos resistentes, a FIC 5 se destacou com 17 genótipos, seguida pela FIC 2 com 13 genótipos. Nenhum genótipo das FIC 1, 3, 4 e 6 foi selecionado, não sendo famílias indicadas para gerar genótipos resistentes.

Tabela 4. Ranqueamento dos 30 genótipos com as menores estimativas para valor genético aditivo, ganhos genéticos e novas médias preditas, estimados via REML/BLUP, em genótipos de maracujazeiro oriundos da primeira geração de retrocruzamentos, para área abaixo da curva de progresso da doença média (AACPDm). Campos dos Goytacazes, RJ, 2017

Ordem	Genótipo (família/bloco)	AACPDm			Nova média
		Valor fenotípico	Valor genético	Ganho (%)	
1	140 (5/1)	495	-0,675	-0,0017	629,1008
2	291 (5/2)	468,75	-0,660	-0,0013	629,1029
3	599 (5/4)	427,5	-0,638	-0,0010	629,1050
4	597 (5/4)	431,25	-0,635	-0,0007	629,1070
5	602 (5/4)	446,25	-0,621	-0,0003	629,1090
6	600 (5/4)	457,5	-0,611	0,0000	629,1110
7	604 (5/4)	465	-0,604	0,0003	629,1129
8	142 (5/1)	615	-0,567	0,0006	629,1149
9	601 (5/4)	513,75	-0,560	0,0009	629,1167
10	608 (5/4)	525	-0,550	0,0012	629,1186
11	150 (5/1)	660	-0,526	0,0015	629,1204
12	69 (2/1)	416,25	-0,503	0,0017	629,1222
13	454 (5/3)	660	-0,500	0,0020	629,1238
14	149 (5/1)	690	-0,499	0,0023	629,1255
15	380 (2/3)	431,25	-0,490	0,0025	629,1272
16	146 (5/1)	720	-0,472	0,0028	629,1289
17	361 (2/3)	453,75	-0,470	0,0031	629,1305
18	373 (2/3)	461,25	-0,463	0,0033	629,1321
19	355 (2/3)	461,25	-0,463	0,0036	629,1338
20	294 (5/2)	690	-0,460	0,0038	629,1354
21	143 (5/1)	735	-0,458	0,0041	629,1370
22	145 (5/1)	738,75	-0,455	0,0044	629,1387
23	211 (2/2)	420	-0,454	0,0046	629,1403
24	213 (2/2)	423,75	-0,451	0,0049	629,1419
25	506 (2/4)	401,25	-0,442	0,0052	629,1436
26	505 (2/4)	401,25	-0,442	0,0054	629,1452
27	501 (2/4)	401,25	-0,442	0,0057	629,1468
28	362 (2/3)	487,5	-0,439	0,0059	629,1485
29	347 (2/3)	487,5	-0,439	0,0062	629,1501
30	201 (2/2)	438,75	-0,437	0,0065	629,1518

Entre os genótipos selecionados com menores valores genéticos aditivos para AACPDm, alguns apresentaram sintomas induzidos pelo CABMV nos frutos ou não produziram durante o período de avaliação (Tabela 5), sendo eles: 140, 599, 602, 604, 142, 601, 608, 150, 69, 454, 149, 380, 146, 294, 143, 211, 213, 505, 362

e 347. Houve genótipos que apresentaram valores baixos para AACPDm, mas tiveram sintomas da virose nos frutos.

Tabela 5. Genótipos selecionados para as características área abaixo da curva de progresso da doença média (AACPDm) e suas respectivas notas máximas e médias para os sintomas induzidos pelo CABMV em frutos. Campos dos Goytacazes, RJ, 2017

Notas dos sintomas de CABMV no fruto		
Genótipos selecionados	Nota máxima	Média
140	-	-
291	1	1
599	-	-
597	1	1
602	-	-
600	1	1
604	-	-
142	3	2,7
601	-	-
608	2	1,25
150	-	-
69	-	-
454	-	-
149	2	1,33
380	-	-
146	-	-
361	1	1
373	1	1
355	1	1
294	-	-
143	2	1,42
145	1	1
211	-	-
213	2	1,33
506	1	1
505	-	-
501	1	1
362	-	-
347	-	-
201	1	1

(-) Não produziram frutos durante o período de avaliação.

Comparando a primeira geração de retrocruzamento selecionada com seus genitores (híbridos interespecíficos e *P. edulis*) e progenitor (*P. setacea*), Figura 4, é possível observar que alguns híbridos apresentaram AACPDm maior que os RC₁. Isso é possível pelo fato de os híbridos interespecíficos já conterem o vírus no momento do transplante no campo, pois são oriundos de propagação vegetativa de plantas infectadas. Mesmo estando infectados desde o início das avaliações, os híbridos mantiveram notas baixas durante o período de avaliação, diferentemente da espécie *P. edulis*, que foi levada para o campo sadia, mas que, em curto período de tempo, apresentou sintoma severo da doença, o que foi constante ao longo das avaliações. Foi observada oscilação nas notas dadas para os genótipos que apresentaram resistência, ou seja, os sintomas surgiam e desapareciam durante as avaliações. Isso pode ter sido causado pela movimentação do vírus no interior da planta.

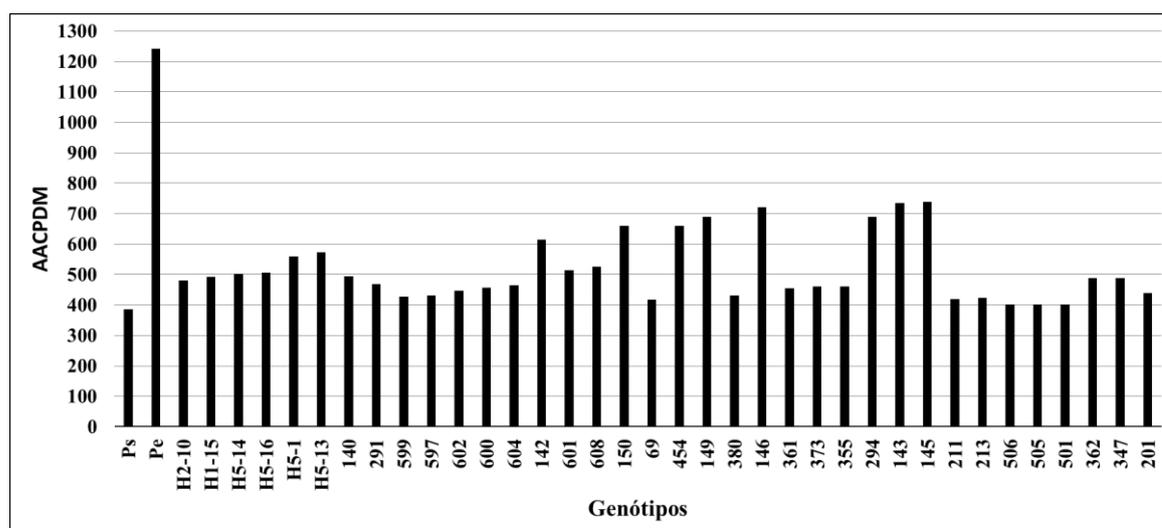


Figura 4. Média da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPDm) ao longo de 14 meses de avaliações em genitores, progenitores, e os 30 genótipos mais bem ranqueado para resistência ao CABMV da primeira geração de retrocruzamento. Genitores: *P. edulis* (Pe), os híbridos interespecíficos H2-10, H1-15, H5-14, H5-16, H5-1, H5-13. Progenitor: *P. setacea* (Ps) e os genótipos RC₁. Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

Nota-se que os 30 genótipos selecionados tiveram AACPDm abaixo de 740, tendo o genótipo RC₁ 145 obtido o maior valor de AACPDm, 738,75. Genótipos com este, que obteve valores elevados para AACPDm, não são recomendados para

compor futuras gerações de retrocruzamento. Entre os genitores, os híbridos HI5-1 e HI5-13, que deram origem a FIC 4 e 6, respectivamente, apresentaram maiores valores de AACPDM, 573,75 e 558,75. Nenhum genótipo dessas famílias compõe os 30 selecionados (Tabela 4). Genótipos como os RC₁ 501, 506 e 597 poderão ser indicados como genitores na próxima geração de retrocruzamento, pois estão entre os 30 ranqueados e apresentaram menores valores de AACPDM.

Embora a característica resistência seja de herança quantitativa, o uso do método de retrocruzamento foi efetivo em transferir genes de resistência ao CABMV, que pode ter sido causado pelas altas estimativas de herdabilidade para o caráter e pelo grande número de genótipos avaliados. Fonseca et al. (2009), utilizando o método de retrocruzamento para avanço das gerações em populações segregantes de maracujazeiro, constataram que a resistência ao CABMV foi se reduzindo ao longo das gerações, chegando ao mesmo nível de severidade de genótipos de *P. edulis* na geração RC₃. O uso de poucos genótipos e o período de avaliação podem explicar essa perda de resistência. Quando a expressão da característica envolve vários genes, como a resistência ao CABMV, recomenda-se avaliar um grande número genótipos em cada geração de retrocruzamento e avaliar também os sintomas induzidos pelo CABMV nas folhas jovens, na área total da planta e nos frutos. Essa estratégia aumenta a acurácia na seleção de genótipos resistentes ao vírus e não compromete as próximas etapas do programa de melhoramento.

3.1.5 CONCLUSÕES

A análise via modelos mistos possibilitou a estimação de parâmetros, predição de ganhos e seleção de genótipos promissores. A herdabilidade individual no sentido restrito apresentou alta magnitude, possibilitando a seleção individual de genótipos. Entre os 30 genótipos ranqueados para resistência ao CABMV, foram selecionados para compor a próxima geração de retrocruzamento os genótipos que apresentaram menores valores de AACPDM, sendo eles os genótipos 501, 506 e 597.

3.2. PRODUTIVIDADE DE GENÓTIPOS DA PRIMEIRA GERAÇÃO DE RETROCRUZAMENTO DE MARACUJAZEIRO

3.2.1 INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* engloba várias espécies que podem ser utilizadas para diferentes finalidades. A espécie que mais se destaca economicamente é a *P. edulis*, fruteira de clima tropical, consumida principalmente em forma de suco, tendo sido considerada fruta de pomar doméstico durante muitos anos (Meletti, 2011). Os primeiros relatos de cultivos surgiram na década de 1960, e a produção era suficiente apenas para atender às necessidades da família e do pequeno mercado regional (Araújo, 1978).

O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá, com uma produção de 703.489 toneladas, sendo que a espécie *Passiflora edulis* (maracujá-azedo) responde por mais de 90% desse montante. Essa espécie tem enfrentado vários problemas fitossanitários, sendo um dos mais graves o vírus do endurecimento dos frutos, causado por *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). Programas de melhoramento, como o da Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), estão em busca da obtenção de cultivares resistentes. Este programa foi iniciado com cruzamentos interespecíficos entre *P. edulis* e *P. setacea*, dos quais foram obtidos híbridos interespecíficos resistentes ao CABMV (Santos et al., 2015).

Além de resistência à doença, o melhoramento genético do maracujazeiro visa a atender também às exigências do mercado consumidor, principalmente no

que se refere à produção e qualidade de frutos, sendo necessária a utilização de procedimentos de seleção mais acurados (Freitas et al., 2016). Nesse contexto, a metodologia de modelos mistos se insere como um procedimento ótimo para a seleção de plantas. Essa metodologia envolve 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 em um processo de seleção mais acurado. O uso do BLUP na seleção de genótipos é muito vantajoso por predizer valores genéticos livres de efeitos ambientais (Resende, 2002; Viana e Resende, 2014).

Em espécies perenes, que convivem comumente com situações de desbalanceamentos de informações experimentais, os modelos mistos podem ser aplicados por não exigirem balanceamento, além de corrigirem os dados para os efeitos ambientais e predizerem de maneira precisa e não viciada os valores genéticos, conduzindo à maximização do ganho genético com a seleção (Resende et al., 2001). Esse procedimento tem sido aplicado em diversas culturas, especialmente em culturas perenes e fruteiras como café (Carias et al., 2016), cana-de-açúcar (Gonçalves et al., 2014), goiaba (Gomes et al., 2017), mamão (Vivas et al., 2014) e maracujá (Santos et al., 2015b; Freitas et al., 2016).

A seleção dos melhores genótipos para serem usados como genitores em futuras gerações é essencial para o melhoramento genético de qualquer cultura. A metodologia REML/BLUP vem mostrando eficiência na seleção de genótipos de maracujazeiro. Trabalhos como os de Santos et al. (2015a) e de Freitas et al. (2015), utilizando a metodologia REML/BLUP para selecionar híbridos interespecíficos resistentes ao CABMV e com boas características agronômicas, confirmaram sua eficiência.

Este trabalho objetivou estimar parâmetros genéticos e obter os valores genéticos para as características agronômicas, utilizando a metodologia dos modelos mistos REML/BLUP e fazer a seleção em nível de planta dentro de progênie, identificando genótipos superiores obtidos do retrocruzamento entre *P. edulis* e híbridos interespecíficos, para o avanço de geração no programa de melhoramento genético do maracujazeiro-azedo, em desenvolvimento na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

3.2.2. REVISÃO

3.2.2.1. Importância econômica

As espécies do gênero *Passiflora*, além de serem utilizadas como alimentos, também servem como medicamento, e algumas têm grande potencial ornamental. Vários autores trabalham o potencial ornamental dessas espécies (Junqueira et al., 2008; Abreu et al., 2009; Pires et al., 2012). Na indústria de cosméticos, algumas espécies do gênero *Passiflora* são utilizadas na fabricação de cremes, sabonetes e xampus (Faleiro et al., 2011; Zeraik et al., 2010).

Embora diversificado, conforme apresentado anteriormente, o valor econômico agregado ao gênero *Passiflora* decorre principalmente da produção e comercialização de frutos. Existem várias espécies que têm os frutos comestíveis, mas a produção comercial de maracujá vem, principalmente, da espécie *P. edulis* Sims, popularmente conhecida como maracujazeiro amarelo ou azedo, sendo seguida pela espécie *P. alata* Curtis, popularmente denominada de maracujazeiro-doce (Wetzel et al., 2011; Faleiro et al., 2011). Pela sua qualidade, produtividade, vigor e rendimento em suco, estima-se que, no mínimo, 90% da área destinada à passicultura seja cultivada com o *P. edulis*, contemplando tanto a produção de frutos de casca amarela quanto roxa (Meletti e Bruckner, 2001; Meletti, 2011; Oliveira et al., 2013a; Silva et al., 2014; Viana et al., 2016).

O maracujá-azedo é uma fruteira de clima tropical, tendo sido considerada uma fruta de pomar doméstico durante muitos anos (Meletti, 2011). Os primeiros relatos de cultivos surgiram na década de 1960, e a produção era em torno de 1.444 t/ano, suficiente apenas para atender às necessidades da família e do pequeno mercado regional (Araújo, 1978).

A partir do ano de 1970, houve uma mudança no cenário da produção de maracujá no Brasil. Em 1986, a cultura adquiriu expressão econômica pela ampliação significativa na área cultivada, e a produção conduziu à profissionalização da atividade (Rizzi et al., 1998; Aguiar et al., 2010).

Atualmente, o Brasil é o maior produtor mundial de maracujá, com uma produção de 703.489 toneladas, numa área de 50.204 mil hectares no ano de 2016. A região nordeste vem liderando a produção de maracujá, com 73,42% da área

plantada e 69,64% da produção brasileira, Figura 1, sendo a Bahia o estado que tem maior produção dessa fruteira (IBGE, 2017).

Apesar de o País ser o maior produtor mundial de maracujá, a produtividade é considerada baixa quando analisado seu potencial produtivo. A produtividade das lavouras no ano de 2016 foi de 14,10 t ha⁻¹ ano (IBGE, 2017). A baixa produtividade tem sido atribuída à pouca quantidade de cultivares melhoradas, ao uso de técnicas agrícolas inadequadas e, principalmente, a problemas fitossanitários (Gonçalves et al., 2007; Cavalcante et al., 2017).

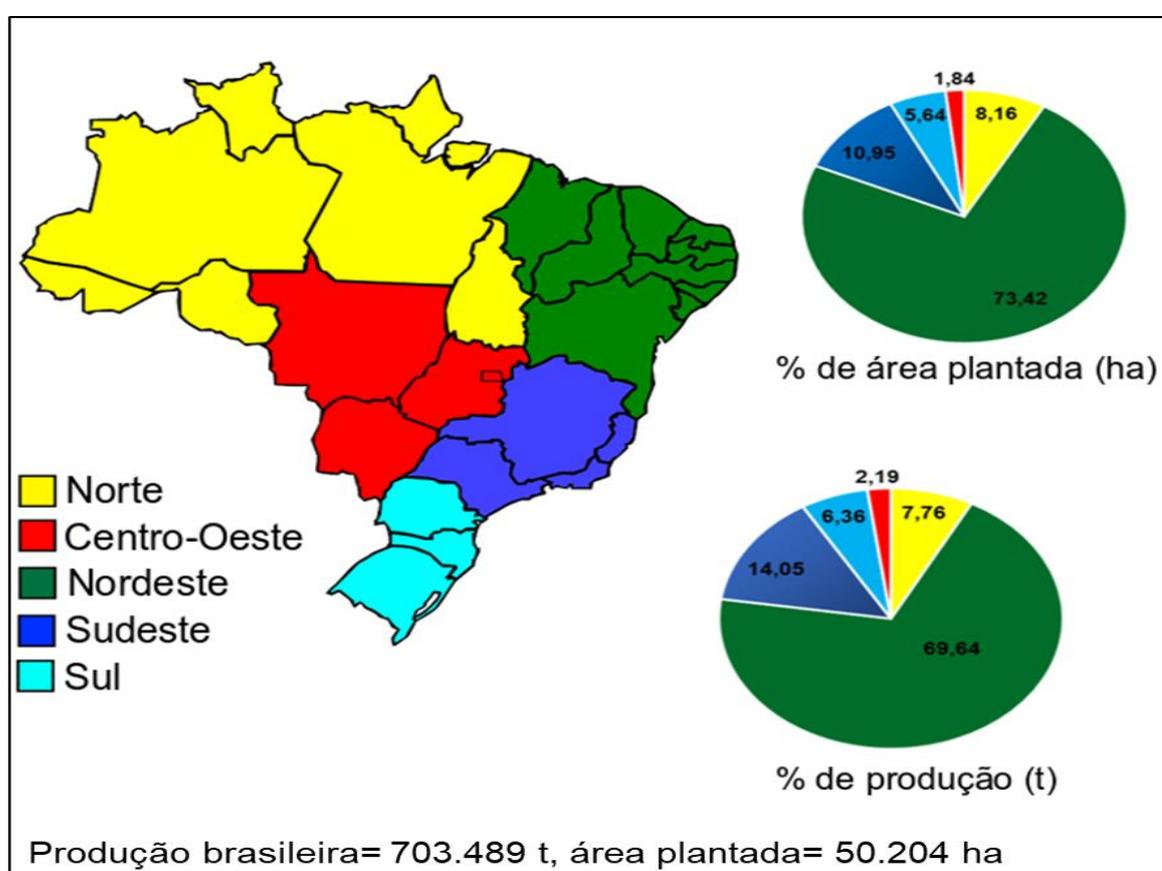


Figura 1. Percentual de área plantada em hectares (ha) e da produção em tonelada (t) de maracujazeiro, distribuído nas cinco regiões brasileiras no ano de 2016. Dados retirados do site do IBGE. Imagem construída com a ferramenta Inkscape. Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

Doenças como a virose do endurecimento do fruto causada pelo *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) é considerada uma das mais economicamente importantes, podendo, em algumas situações, inviabilizar o cultivo de maracujá

(Cerqueira-Silva et al., 2008). Para essa doença, não existe forma de controle eficiente, e o desenvolvimento de novas cultivares resistentes ao CABMV seria uma alternativa viável, uma vez que não existe nenhuma cultivar de maracujazeiro resistente que tenha sido registrada até o momento.

Para melhorar o cenário da passicultura no Brasil, é de grande importância o investimento em pesquisas voltadas para o desenvolvimento de cultivares adaptadas a diferentes regiões, mais produtivas e com resistência a pragas e doenças.

3.2.2.2. Melhoramento do maracujazeiro

Segundo Meletti (2011), o melhoramento do maracujazeiro teve um incremento de trabalhos de pesquisas a partir de 1990 com o lançamento das primeiras cultivares e com a consolidação de equipes multidisciplinares de pesquisa. O maracujazeiro, por ser uma planta alógama, reforçada pela autoincompatibilidade do tipo homomórfica e esporofítica (Bruckner et al., 1995), permite o uso de vários métodos de melhoramento, que se baseiam, principalmente, no aumento de genes favoráveis ou na exploração do vigor híbrido (Meletti e Bruckner, 2001).

Algumas instituições públicas vêm trabalhando com o melhoramento do maracujazeiro-azedo: Universidade Federal de Viçosa – UFV; Universidade Estadual do Oeste da Bahia – UESB; Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC; Universidade Estadual do Mato Grosso – UNEMAT; Universidade Estadual Paulista – UNESP; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA; e Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, entre outras (Silva, 2015). O melhoramento genético dessa cultura trouxe avanços significativos em relação à qualidade do fruto (Assunção et al., 2015), aumento da produtividade, desenvolvimento de cultivares adaptadas a cada região (Ferreira et al., 2010; Neves et al., 2011; Viana et al., 2016; Rodrigues et al., 2017; Viana et al., 2017) e resistência à doença (Bueno et al., 2010; Oliveira et al., 2013a; Fuhrmann et al., 2014; Freitas et al., 2015; Santos et al., 2015a; Preisigke et al., 2015).

Para obter híbridos comerciais resistentes e potencialmente úteis, estudos tentam combinar a resistência encontrada em espécies silvestres (como *P. setacea*) com as características de qualidade e de produtividade de frutos da

espécie comercial (especialmente *P. edulis*). Esta estratégia também permite a expansão da base genética da resistência e dos genótipos utilizados em programas de melhoramento. Santos et al. (2015a) obtiveram híbridos resistentes ao CABMV, pelo 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.

Além da resistência a doenças, o melhoramento genético do maracujazeiro visa a atender também às exigências do mercado consumidor, principalmente no que se refere à qualidade de frutos (Viana e Gonçalves, 2005). O êxito em programas de melhoramento que atendam a estas demandas depende do acerto na escolha dos melhores indivíduos, ou seja, os genitores das próximas gerações. Esta dependência entre eficiência de escolha dos melhores indivíduos e o êxito torna-se ainda mais pronunciada nas espécies perenes e semiperenes, que apresentam ciclos reprodutivos longos e expressões de diferentes caracteres por possíveis alterações dos genes controladores ao longo das várias idades (Ferreira et al., 2016b). Assim, a utilização de métodos que permitam a predição do valor genético do indivíduo por intermédio de suas características fenotípicas torna-se uma alternativa promissora.

O sucesso da seleção depende não apenas da variabilidade do material experimental, mas também da acurácia dos métodos de seleção usados (Santos et al., 2015b). A metodologia de modelos mistos REML/BLUP vem sendo uma ótima alternativa para auxiliar a seleção. Essa metodologia envolve 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 em um processo de seleção mais acurado (Resende, 2002; Alves e Resende, 2008).

Em espécies perenes, que convivem comumente com situações de desbalanceamentos de informações experimentais, os modelos mistos podem ser aplicados por não exigirem balanceamento, além de corrigirem os dados para os efeitos ambientais e predizerem de maneira precisa e não viciada os valores genéticos, conduzindo à maximização do ganho genético com a seleção (Resende et al., 2001). Esse procedimento tem sido aplicado em diversas culturas, especialmente em culturas perenes e fruteiras como café (Carias et al., 2016) cana-

de-açúcar (Gonçalves et al., 2014), goiaba (Gomes et al., 2017) e mamão (Vivas et al., 2014). A metodologia REML/BLUP vem sendo utilizada em programas de melhoramento genético da cultura do maracujazeiro para avanços no ciclo de seleção recorrente (Ferreira et al., 2016b; Silva et al., 2017) e também no avanço de gerações em programas de melhoramento visando à resistência genética ao CABMV (Santos et al., 2015b; Freitas et al., 2016).

A seleção dos melhores genótipos para serem usados como genitores em futuras gerações é essencial para o melhoramento genético de qualquer cultura. Resultados obtidos por Santos et al. (2015a) e Freitas et al. (2015) contribuíram para o programa de melhoramento genético visando à resistência à doença em maracujazeiro-azedo desenvolvido pela Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) com a seleção de genótipos resistentes ao CABMV e com boas características agronômicas em populações segregantes. Trabalhos como esses reforçam a importante contribuição do uso dos modelos mistos na seleção de genótipos promissores em maracujazeiro.

3.2.3. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.3.1. Programa de melhoramento do maracujazeiro e origem das populações de retrocruzamento

Foram avaliados 300 genótipos da primeira geração de retrocruzamento provenientes do programa de melhoramento de maracujazeiro da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Estes genótipos são oriundos de cinco famílias de irmãos completos (Tabela 1).

Os retrocruzamentos foram feitos na área experimental localizada na Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo, no município de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, com latitude sul de 21° 45', longitude 41° 20' W e 11 m de altitude, onde os híbridos obtidos por Santos et al. (2015a) estavam sendo conduzidos. As polinizações foram feitas antes da abertura da flor, a partir das 10 horas da manhã. Neste horário, as anteras do *P. edulis* já se encontravam abertas.

Genótipos de *P. edulis* foram utilizados como genitor masculino e os híbridos interespecíficos, como genitor feminino. Botões florais dos híbridos foram emasculados e polinizados com pólen do genótipo de *P. edulis* e, posteriormente, protegidos. Estes cruzamentos deram origem a seis famílias de irmãos completos.

Tabela 1. Origem e identificação das populações de estudo compostas por famílias de irmãos completos (FIC), híbridos interespecíficos (HI), *P. setacea* e *P. edulis*, e distribuição dos genótipos na área experimental. Campos dos Goytacazes, RJ, 2017

Descrição	Cruzamentos	Número total de genótipos	Número de genótipos avaliados
FIC1*	HI5-14 x <i>P. edulis</i>	160	85
FIC2	HI1-15 x <i>P. edulis</i>	160	79
FIC3	HI5-16 x <i>P. edulis</i>	160	87
FIC4	HI5-1 x <i>P. edulis</i>	72	35
FIC5	HI2-10 x <i>P. edulis</i>	48	14
FIC6	HI5-13 x <i>P. edulis</i>	8	-
Genitor HI5-14**	Ps 367 x Pe 139 (40)	12	-
Genitor HI1-15	Pe 139 (40) x Ps 367	12	-
Genitor HI5-16	Ps 367 x Pe 139 (40)	12	-
Genitor HI5-1	Ps 367 x Pe 139 (40)	12	-
Genitor HI2-10	Pe 139 (38) x Ps 367	12	-
Genitor HI5-13	Ps 367 x Pe 139 (40)	12	-
Genitor <i>P. edulis</i>	***PMGMA-UENF	12	-
Progenitor <i>P. setacea</i>	BAG da UENF	12	-
Total		704	300

*Famílias de irmãos completos - primeira geração de retrocruzamento.

** híbridos interespecíficos selecionados (Santos et al., 2015). Pe= *P. edulis*; Ps= *P. setacea*.

*** Programa de melhoramento genético do maracujazeiro (PMGMA-UENF).

3.2.3.2. Condução do experimento

As sementes obtidas das famílias de irmãos completos foram lavadas em água corrente e mantidas por 15 minutos em uma solução contendo 50% de hipoclorito de sódio e 50% de água, e após a lavagem permaneceram em água por 3 horas. A semeadura foi feita em bandejas de isopor de 128 células, contendo substrato orgânico, tendo sido mantidas em casa de nebulização até o estágio de plântula. Posteriormente, foram transplantadas para sacos plásticos de polietileno preto, com capacidade de 1L, contendo terra vegetal, substrato e areia na

proporção de 1:1:1, e transferidas para casa de vegetação. Após 95 dias, no mês de outubro de 2015, as mudas foram transplantadas na área experimental da Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso com quatro repetições, desbalanceado para plantas dentro de famílias.

Segundo a classificação climática de Köppen, o clima da região é classificado como Aw, isto é, clima tropical úmido, com verão chuvoso, inverno seco e temperatura do mês mais frio superior a 18 °C. Durante o período de condução do experimento no campo, as temperaturas variaram de 17,6 a 34,7°C, e a pluviosidade média foi de 75, 01 mm, variando de 17 a 205,8 mm (Figura 2).

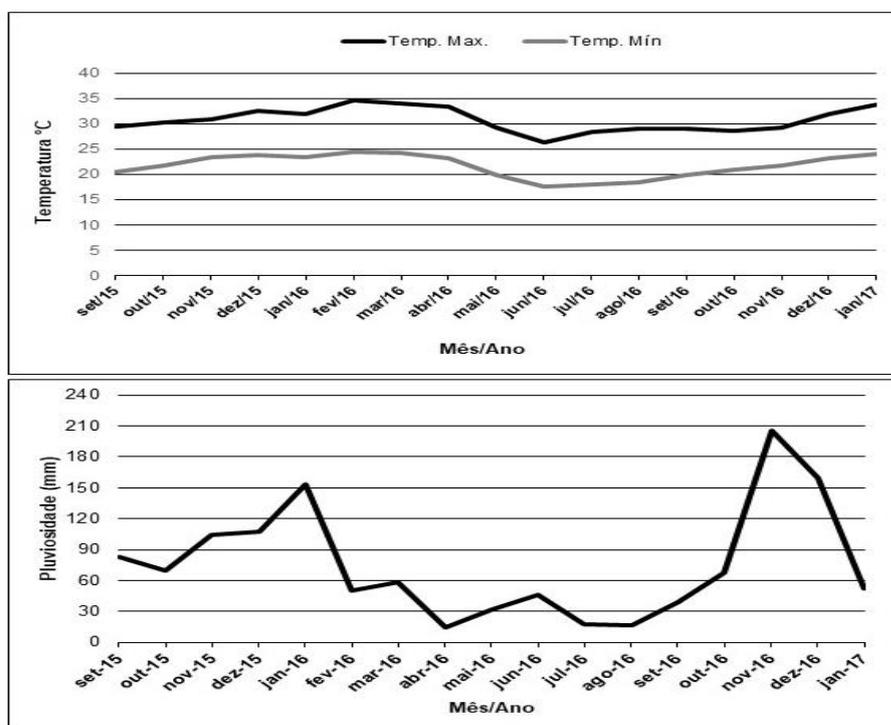


Figura 2. Dados climáticos relativos ao tempo de avaliação do experimento no campo, temperaturas máxima e mínima (Temp. Máx. e Temp. Mín.) e pluviosidade, fornecidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), registradas na Estação Automática de Campos-RJ, no período de outubro de 2015 a janeiro de 2017. Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

O sistema utilizado para a condução das plantas no campo foi o de espaldeira vertical, com mourões de 2,5 m de altura, espaçados de 4 m, com um

fio de arame número 12 a 1,80 m do solo. A distância entre linhas de plantio foi de 3,5 m e 2 m entre covas. Na adubação de plantio, foram utilizados 10 L de esterco bovino, 200g de calcário, 400g de superfosfato simples e 250g de cloreto de potássio na cova. O sistema de irrigação foi o de gotejamento.

3.2.3.3. Características avaliadas e estimativas de parâmetros genéticos

O período de colheita e de avaliação dos frutos ocorreu nos meses de março de 2016 a janeiro de 2017. Foram avaliados 300 genótipos, visto que produziram pelo menos um fruto por planta. Todas as plantas que produziram frutos foram avaliadas. Foram feitas 15 amostragens por planta para aquelas que produziram até 15 frutos. As características avaliadas foram:

- Número de frutos por plantas (NF): foram feitas duas colheitas por semana durante nove meses e, ao final do período de avaliação, o número total de frutos foi contabilizado para cada genótipo;
- Comprimento de fruto (CF): determinado na região longitudinal dos frutos com o auxílio de um paquímetro, expresso em mm;
- Massa total de frutos (MTF): todos os frutos maduros coletados ao longo do período de avaliação foram pesados em balança digital semianalítica, e a massa, expressa em gramas;
- Massa média de Frutos (MMF): determinada pela média aritmética de uma amostragem de no mínimo de um e no máximo de 15 frutos de cada genótipo. Os frutos foram pesados individualmente em balança digital semianalítica, e a massa, expressa em gramas;
- Massa de polpa (MP): determinada pela média aritmética de uma amostragem de no mínimo um e máximo de 15 frutos de cada genótipo, obtido por pesagem da polpa (sementes com arilo), com o auxílio de balança semianalítica, e a massa, expressa em gramas;
- Espessura de casca (EC): determinada pela média aritmética das medidas de quatro pontos da casca externa, com a utilização de paquímetro digital, expressa em milímetros;
- Teor de sólidos solúveis (TSS): obtido por refratometria, utilizando refratômetro digital portátil, com leitura na faixa de 0 a 32° brix.

- Número de sementes (NS): determinado pela média aritmética de uma amostragem de no mínimo um e máximo de 15 frutos de cada genótipo, contada individualmente para cada fruto.

Foram estimados os componentes de variâncias (REML) e os efeitos genéticos aditivos preditos pelo BLUP para cada característica. As análises foram feitas utilizando o programa Selegen-Reml/Blup (Resende, 2016), que segue o modelo estatístico $y = Xr + Zg + Wp + e$, em que y é o vetor de observações, r é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral, g é o vetor dos efeitos genotípicos individuais (assumidos como aleatórios), p é o vetor dos efeitos de parcelas (aleatórios) e e é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

Foram estimados os seguintes componentes de variância (REML):

$\hat{\sigma}_g^2$: variância genotípica entre progênies de irmãos completos, equivalendo a 1/2 da variância genética aditiva mais 1/4 da variância genética de dominância, ignorando a epistasia;

$\hat{\sigma}_f^2$: variância fenotípica individual;

\hat{h}^2_a : herdabilidade individual no sentido restrito, obtida ignorando a fração (1/4) da variância genética de dominância;

\hat{h}^2_{mp} : herdabilidade da média de progênies, assumindo sobrevivência completa;

Acprog: acurácia da seleção de progênies, assumindo sobrevivência completa.

As análises foram feitas utilizando o modelo estatístico 147 do programa Selegen. Este modelo possibilita avaliação de indivíduos em progênies de irmãos completos com várias observações por parcela, sendo a avaliação em um local, em delineamento de blocos ao acaso com várias plantas por parcela.

3.2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.2.4.1. Natureza das variâncias: genéticas ou ambientais

Para todas as características, a variância genotípica ($\hat{\sigma}_g^2$) entre os genótipos da primeira geração de retrocruzamento analisado apresentou baixa contribuição para a variância fenotípica ($\hat{\sigma}_f^2$). Os valores estimados para variância genotípica variaram de 0,0014 a 1035,41 (Tabela 2). Os maiores valores foram obtidos para as características MTF, MMF e CF 1035,41; 35,16 e 17,06, respectivamente, sugerindo que a população avaliada apresenta variabilidade genética em relação a esses caracteres (Tabela 2). No entanto, foram encontrados valores elevados de variância fenotípica para estas características, indicando maior influência ambiental na expressão. Valores elevados de variância fenotípica são esperados em populações segregantes, cujas características são de herança quantitativa. A expressão dessas características é influenciada por vários genes e muito afetada por fatores ambientais, o que contribui para altos valores de variância fenotípica. Confirmando estes resultados, Santos et al. (2015b) e Freitas et al. (2016) constataram valores elevados de variância fenotípica para número de frutos em híbridos interespecíficos (*P. edulis* x *P. setacea*).

A herdabilidade individual no sentido restrito (h_a^2), para todos os caracteres, foi considerada de baixa magnitude, variando de 0,00087 a 0,37. Para as características NF, MTF, MMF, MP, TSS e NS, as herdabilidades aditivas no sentido restrito foram praticamente zero, o que pode ser explicado pelo baixo valor de variância genética em relação a uma alta variância fenotípica. As baixas estimativas de herdabilidade estão relacionadas com a natureza poligênica dessas características, que são altamente influenciadas pelo ambiente.

Santos et al. (2015b) avaliaram uma população de híbridos interespecíficos e constataram valores para h_a^2 de 0,50; 0,25; 0,61 e 0,62 para as características NF, MMF, EC, MP e TSS, respectivamente, valores mais altos do que aqueles encontrados neste estudo. Uma possível causa para essas discrepâncias de valores é a estrutura genética da população, haja vista que, no trabalho de Santos et al. (2015b), as progênies foram provenientes de cruzamento interespecífico com grande variabilidade genética, o que contribuiu para as altas magnitudes desse parâmetro. Neste caso, o uso de métodos de seleção mais acurados é indicado para tais características. No entanto, a aplicação dos procedimentos de modelos mistos para seleção é o recomendado, visto que, mesmo com característica de baixa herdabilidade, os ganhos genéticos são preditos e os genótipos têm potencial para serem selecionados para futuras gerações (Santos et al., 2015b). Entretanto,

sabe-se que a herdabilidade não é imutável, não sendo condicionada apenas à característica, mas também à população e às condições ambientais a que a população foi submetida (Falconer, 1987; Ferreira et al., 2016b).

Tabela 2. Estimativas dos parâmetros genéticos em populações segregantes de maracujazeiro via procedimento REML para características número de frutos (NF), comprimento de fruto (CF), massa total de fruto (MTF), massa média de fruto (MMF), massa da polpa (MP), espessura da casca (EC), teor de sólidos solúveis totais (TSS) e número de semente (NS). Campos dos Goytacazes, RJ, 2015/2016

Parâmetros Genéticos	NF	CF	MTF	MMF	MP	EC	TSS	NS
σ_g^2	0,274	17,060	1035,410	35,168	3,010	0,248	0,0014	2,149
σ_f^2	462,847	90,591	2370367,075	586,836	164,787	2,648	2,399	1909,300
	0,0011	0,3766	0,00087	0,1198	0,03654	0,18748	0,00124	0,0022
h_a^2	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,0080	0,1417	0,0068	0,0800	0,0441	0,10	0,0082	0,0110
h_{mp}^2	0,058	0,957	0,043	0,866	0,603	0,894	0,059	0,089
Ac_{prog}	0,241	0,978	0,208	0,930	0,777	0,945	0,244	0,299
Média	16,126	65,760	1027,202	62,602	23,661	7,809	13,341	82,845

σ_g^2 : Variância genotípica entre famílias de maracujazeiro; σ_f^2 : variância fenotípica individual; h_a^2 : herdabilidade individual no sentido restrito; h_{mp}^2 : herdabilidade com base na média de família; Ac_{prog} : acurácia da seleção de famílias.

As características CF, EC, e MMF foram as que apresentaram maiores valores de h_a^2 , 0,37; 0,18 e 0,11, respectivamente. Valores próximos foram encontrado por Santos et al. (2015b) para as características CF (0,26) e MMF (0,25). Por outro lado, para a característica EC, um valor maior foi obtido neste estudo. Já Assunção et al. (2015), em uma população de maracujazeiro-azedo, obtiveram valor de h_a^2 para a característica EC próximo do obtido neste estudo. Os valores de herdabilidade individual no sentido restrito obtidos para essas características, neste estudo, indicam que é possível obter ganhos maiores com a seleção individual de genótipos.

Em relação à herdabilidade com base na média de famílias (h^2_{mp}), as menores estimativas foram constatadas para as características MTF, NF e TSS, 0,043; 0,058 e 0,059, respectivamente, indicando maior interferência ambiental na expressão das características. Quando se deseja fazer melhoramento para um ou mais caracteres, controlados por vários genes, é impossível obter sucesso em um único ciclo de seleção (Menezes Júnior et al., 2008), sendo necessário utilizar métodos de seleção mais elaborados, a fim de potencializar os ganhos para estas características através da seleção recorrente, buscando aumentar a concentração de alelos favoráveis das características de interesse a cada ciclo (Assunção et al., 2015).

Ferreira et al. (2016b), avaliando progênies de meios-irmãos de maracujazeiro-azedo, utilizando o procedimento REML/BLUP, verificaram estimativas de h^2_{mp} de 0,395 para a variável número de frutos e de 0,439 para massa total de frutos por parcela, sendo estes valores bem mais altos que os encontrados neste estudo. Essa discrepância pode ser atribuída à estrutura genética da população e/ou a condições experimentais como número de repetições, número de plantas por parcela, tratos culturais uniformes e ocorrência de doença. Todos esses fatores podem influenciar diretamente nas estimativas de herdabilidade (Ferreira et al., 2016b).

As maiores estimativas para h^2_{mp} foram observadas para CF, EC e MMF, 0,95; 0,89 e 0,86, respectivamente (Tabela 2). Nessa situação, a seleção pode ser efetiva utilizando informações das progênies ou de genótipos individuais, visto os valores das estimativas de herdabilidade individual no sentido restrito e com base na média da família terem sido significativos. Em estudos desenvolvidos por Santos et al. (2015), valor baixo de h^2_{mp} foi constatado para as características EC,

divergindo do encontrado neste estudo. Para MMF, as estimativas de herdabilidade com base na média de família foram superiores às apresentadas em outros trabalhos, cuja estimativa de herdabilidade variou de 0,47 a 0,69 (Santos et al., 2015b; Ferreira et al., 2016b; Cruz-Neto et al., 2016).

No que se refere à acurácia seletiva, devem ser buscados valores de acurácia acima de 70% (Resende, 2007). No presente estudo, observou-se estimativa superior a 70% para as características CF, MMF, MP e EC. Conforme apresentado por Resende (2007), tais estimativas de acurácia apresentam alta precisão, facilitando a identificação e a seleção genótipos com características desejáveis. Por outro lado, NF, MTF, TSS e NS apresentaram baixa acurácia seletiva. Isto se deve à baixa herdabilidade e variabilidade genética entre os genótipos avaliados para esta característica, o que dificulta a seleção de genótipos superiores para estas variáveis.

Os valores baixos das estimativas de herdabilidade obtidos para as características NF, MTF, MMF, MP, TSS e NS são contornados via estimativas dos BLUPs individuais, podendo obter algum ganho com a seleção individual. Por outro lado, as características CF, MMF e EC obtiveram estimativas que possibilitam ganhos consideráveis, tanto com a seleção individual como com a seleção de família.

3.2.4.2. Seleção dos genótipos e estimativas dos ganhos via BLUP

Os 30 melhores genótipos foram ranqueados para cada variável analisada, o que corresponde 10% dos genótipos avaliados. Os ganhos genéticos foram preditos, e as novas médias, estimadas (Tabelas 3).

No que se refere à seleção de genótipos para as características agronômicas avaliadas, mesmo com baixas estimativas de herdabilidade, foi possível obter ganhos relevantes na seleção para algumas características via estimativas dos BLUPs individuais. Para as características TSS (0,07% a 0,05) e NS (0,75% a 0,59), os ganhos foram quase nulos. O acréscimo na média para a característica teor de sólidos solúveis e para número de sementes variou muito pouco entre o primeiro genótipo ranqueado e o último. Desta forma, pode-se inferir que estas características são pouco relevantes para a seleção de genótipos nesta população, tendo em vista que a variabilidade genética foi muito pequena (Tabela 2). Isto

indica que, para a característica TSS, a população de estudo é bem homogênea em relação a essa característica, visto não ser uma característica que sofre muitas influências ambientais. Já para a característica NS, que está diretamente relacionada à massa de polpa, sua expressão é influenciada por diversos fatores bióticos e abióticos, pois dos 1909,30 da variância fenotípica, somente 2,14 são devidos à variância genotípica, Tabela 2, dificultando a seleção de genótipos superiores.

Confirmando esse resultado, ganhos baixos (entre -0,42 a 0,95%) foram constatados por outros autores para a característica TSS (Krause et al., 2012; Silva et al., 2012; Assunção et al., 2015). Por outro lado, estudos desenvolvidos por Santos et al. (2015) e Freitas et al. (2016) obtiveram maiores ganhos para TSS, por se tratar de híbridos interespecíficos, oriundos de genitores contrastantes, a variabilidade genética para a característica é maior, possibilitando maiores ganhos na seleção.

Tabela 3. Ranqueamento dos 30 genótipos com maiores estimativas para valor genético aditivo (a), ganhos genéticos e novas médias preditas, estimados via REML/BLUP, em genótipos de maracujazeiro oriundos da primeira geração de retrocruzamentos, número de frutos (NF), comprimento de fruto (CF), massa total de fruto (MTF), massa média de fruto (MMF), massa da polpa (MP), espessura da casca (EC), teor de sólidos solúveis totais (TSS) e número de semente (NS). Campos dos Goytacazes, RJ, 2017

Ord.	Progênie (FIC/B)	Número de fruto (planta)		Progênie (FIC/B)	Comprimento de Fruto (mm)		Progênie (FIC/B)	Massa total de fruto (g)		Progênie (FIC/B)	Massa média fruto (g)	
		Ganho (%)	Nova média		Ganho (%)	Nova média		Ganho (%)	Nova média		Ganho (%)	Nova média
1	553 (4/3)	1,33	16,34	223 (2/2)	19,50	78,59	391 (3/3)	1,17	1039,22	223 (2/2)	22,93	76,96
2	387 (3/3)	1,30	16,34	384 (2/3)	17,64	77,36	81 (3/1)	0,99	1037,37	384 (2/3)	21,16	75,85
3	81 (3/1)	1,26	16,33	377 (2/3)	16,76	76,78	387 (3/3)	0,92	1036,70	59 (2/4)	20,50	75,43
4	391 (3/3)	1,24	16,33	520 (2/4)	16,24	76,44	259 (3/2)	0,88	1036,29	520 (2/4)	20,14	75,21
5	83 (3/1)	1,23	16,32	518 (2/4)	15,86	76,19	87 (3/1)	0,86	1036,04	200 (2/2)	19,75	74,97
6	246 (3/2)	1,21	16,32	206 (2/2)	15,53	75,97	83 (3/1)	0,84	1035,85	421 (2/4)	19,40	74,75
7	87 (3/1)	1,19	16,32	50 (2/1)	15,28	75,81	553 (3/4)	0,83	1035,72	52 (2/1)	19,12	74,57
8	259 (3/2)	1,18	16,32	363 (2/3)	15,08	75,67	261 (3/2)	0,81	1035,56	356 (2/3)	18,91	74,44
9	545 (3/4)	1,16	16,31	521 (2/4)	14,90	75,56	99 (3/1)	0,80	1035,42	218 (2/2)	18,73	74,33
10	94 (3/1)	1,15	16,31	354 (2/3)	14,75	75,46	246 (3/2)	0,79	1035,30	530 (2/4)	18,58	74,23
11	261 (3/2)	1,13	16,31	80 (2/1)	14,60	75,36	94 (3/1)	0,78	1035,19	363 (2/3)	18,45	74,15
12	251 (3/2)	1,12	16,31	213 (2/2)	14,47	75,27	545 (3/4)	0,77	1035,10	51 (2/1)	18,33	74,08
13	113 (3/1)	1,11	16,31	372 (2/3)	14,35	75,20	251 (3/2)	0,76	1035,01	506 (2/4)	18,21	74,00
14	268 (3/2)	1,11	16,30	367 (2/3)	14,18	75,09	268 (3/2)	0,75	1034,93	359 (2/3)	18,08	73,92
15	551 (3/4)	1,10	16,30	529 (2/4)	14,04	74,99	85 (3/1)	0,75	1034,86	65 (2/1)	17,97	73,85

Cont. Tabela 3

Ord.	Progênie (FIC/B)	Número de fruto (planta)		Progênie (FIC/B)	Comprimento de Fruto (mm)		Progênie (FIC/B)	Massa total de fruto (g)		Progênie (FIC/B)	Massa média fruto (g)	
		Ganho	Nova		Ganho	Nova		Ganho	Nova		Ganho	Nova
		(%)	média		(%)	média		(%)	média		(%)	média
16	99 (3/1)	1,09	16,30	519 (2/4)	13,91	74,91	552 (3/4)	0,74	1034,79	516 (2/4)	17,85	73,78
17	422 (3/3)	1,08	16,30	65 (2/1)	13,78	74,82	551 (3/4)	0,73	1034,73	50 (2/1)	17,74	73,71
19	85 (3/1)	1,07	16,30	46 (2/1)	13,53	74,66	101 (3/1)	0,72	1034,62	354 (2/3)	17,54	73,58
20	111 (3/1)	1,06	16,30	530 (2/4)	13,41	74,58	419 (3/3)	0,72	1034,56	372 (2/3)	17,44	73,52
21	419 (3/3)	1,06	16,30	373 (2/3)	13,30	74,51	113 (3/1)	0,71	1034,52	206 (2/2)	17,35	73,47
22	48 (3/3)	1,05	16,30	53 8(2/4)	13,19	74,44	554 (3/4)	0,71	1034,47	355 (2/3)	17,27	73,41
23	552 (3/4)	1,05	16,29	359 (2/3)	13,08	74,36	266 (3/2)	0,70	1034,43	538 (2/4)	17,18	73,36
24	239 (3/2)	1,04	16,29	199 (2/2)	12,97	74,29	412 (3/3)	0,70	1034,39	199 (2/2)	17,09	73,30
25	101 (3/1)	1,04	16,29	52 (2/1)	12,87	74,23	98 (3/1)	0,70	1034,35	367 (2/3)	17,00	73,24
26	554 (3/4)	1,03	16,29	355 (2/3)	12,77	74,16	418 (3/3)	0,69	1034,32	361 (2/3)	16,91	73,19
27	399 (3/3)	1,03	16,29	231 (2/2)	12,67	74,09	98 (3/1)	0,69	1034,29	346 (2/3)	16,83	73,14
28	412 (3/3)	1,02	16,29	198 (2/2)	12,57	74,03	253 (3/2)	0,69	1034,26	67 (2/1)	16,75	73,09
29	388 (3/3)	1,02	16,29	194 (2/2)	12,48	73,96	407 (3/3)	0,68	1034,23	193 (2/2)	16,66	73,03
30	389 (3/3)	1,02	16,29	200 (2/2)	12,38	73,90	248 (3/2)	0,68	1034,20	201 (2/2)	16,58	72,98

Cont. Tabela 3

Ord.	Progênie (FIC/B)	Massa de polpa (g)		Progênie (FIC/B)	Espessura de Casca (mm)		Progênie (FIC/B)	Teor de sólidos solúveis totais (°brix)		Progênie (FIC/B)	Número de semente	
		Ganho	Nova		Ganho	Nova		Ganho	Nova		Ganho	Nova
		(%)	média		(%)	média		(%)	média		(%)	média
1	223 (2/2)	10,08	26,05	435 (4/3)	1,26	7,91	149 (5/1)	0,07	13,35	384 (2/3)	0,75	83,47
2	384 (2/3)	9,68	25,95	276 (4/2)	1,30	7,91	293 (5/2)	0,07	13,35	223 (2/2)	0,74	83,46
3	200 (2/2)	9,27	25,86	430 (4/3)	1,34	7,91	142 (5/1)	0,07	13,35	206 (2/2)	0,72	83,44
4	51 (2/1)	8,99	25,79	437 (4/3)	1,38	7,92	294 (5/2)	0,07	13,35	52 (2/1)	0,70	83,43
5	52 (2/1)	8,79	25,74	584 (4/4)	1,42	7,92	448 (5/3)	0,07	13,35	532 (2/4)	0,69	83,41
6	530 (2/4)	8,62	25,70	125 (4/1)	1,46	7,92	600 (5/4)	0,07	13,35	377 (2/3)	0,68	83,41
7	206 (2/2)	8,50	25,67	440 (4/3)	1,50	7,93	145 (5/1)	0,07	13,35	354 (2/3)	0,67	83,40
8	377 (2/3)	8,41	25,65	283 (4/2)	1,54	7,93	143 (5/1)	0,07	13,35	218 (2/2)	0,66	83,39
9	506 (2/4)	8,33	25,63	427 (4/3)	1,58	7,93	291 (5/2)	0,06	13,35	529 (2/4)	0,66	83,39
10	359 (2/3)	8,25	25,61	289 (4/2)	1,61	7,94	292 (5/2)	0,06	13,35	65 (2/1)	0,65	83,39
11	529 (2/4)	8,17	25,60	126 (4/1)	1,65	7,94	597 (5/4)	0,06	13,35	200 (2/2)	0,65	83,38
12	194 (2/2)	8,11	25,58	589 (4/4)	1,69	7,94	147 (5/1)	0,06	13,35	531 (2/4)	0,64	83,38
13	218 (2/2)	8,05	25,57	135 (4/1)	1,72	7,94	141 (5/1)	0,06	13,35	530 (2/4)	0,64	83,38
14	520 (2/4)	8,00	25,55	432 (4/3)	1,76	7,95	594 (4/4)	0,06	13,35	372 (2/3)	0,64	83,37
15	372 (2/3)	7,95	25,54	134 (4/1)	1,80	7,95	587 (4/4)	0,06	13,35	506 (2/4)	0,63	83,37
16	65 (2/1)	7,91	25,53	137 (4/1)	1,83	7,95	290 (4/2)	0,06	13,35	520 (2/4)	0,63	83,37
17	521 (2/4)	7,86	25,52	436 (4/3)	1,87	7,96	606 (5/4)	0,06	13,35	521 (2/4)	0,63	83,36
18	354 (2/3)	7,81	25,51	593 (4/4)	1,91	7,96	595 (4/4)	0,06	13,35	64 (2/1)	0,62	83,36
19	199 (2/2)	7,76	25,50	444 (4/3)	1,94	7,96	132 (4/1)	0,06	13,35	51 (2/1)	0,62	83,36

Cont. Tabela 3

Ord.	Progênie (FIC/B)	Massa de polpa (g)		Progênie (FIC/B)	Espessura de Casca (mm)		Progênie (FIC/B)	Teor de sólidos solúveis totais (°brix)		Progênie (FIC/B)	Número de semente	
		Ganho	Nova		Ganho	Nova		Ganho	Nova		Ganho	Nova
		(%)	média		(%)	média		(%)	média		(%)	média
20	70 (2/1)	7,71	25,49	587 (4/4)	1,97	7,96	436 (4/3)	0,06	13,35	70 (2/1)	0,62	83,36
21	231 (2/2)	7,67	25,48	124 (4/1)	2,01	7,97	586 (4/4)	0,05	13,35	359 (2/3)	0,62	83,36
22	77 (2/1)	7,62	25,46	290 (4/2)	2,04	7,97	124 (4/1)	0,05	13,35	194 (2/2)	0,61	83,35
23	64 (2/1)	7,58	25,45	590 (4/4)	2,08	7,97	444 (4/3)	0,05	13,35	231 (2/2)	0,61	83,35
24	53 1(2/4)	7,54	25,44	594 (4/4)	2,11	7,97	283 (4/2)	0,05	13,35	516 (2/4)	0,61	83,35
25	361 (2/3)	7,50	25,44	431 (4/3)	2,15	7,98	591 (4/4)	0,05	13,35	361 (2/3)	0,60	83,35
26	516 (2/4)	7,46	25,43	591 (4/4)	2,18	7,98	435 (4/3)	0,05	13,35	47 (2/1)	0,60	83,34
27	193 (2/2)	7,43	25,42	595 (4/4)	2,22	7,98	281 (4/2)	0,05	13,35	193 (2/2)	0,60	83,34
28	355 (2/3)	7,40	25,41	277 (4/2)	2,25	7,99	439 (4/3)	0,05	13,35	67 (2/1)	0,60	83,34
29	532 (2/4)	7,37	25,40	5 (1/1)	2,28	7,99	126 (4/1)	0,05	13,35	381 (2/3)	0,59	83,34
30	538 (2/4)	7,34	25,40	181 (4/2)	2,32	7,99	135 (4/1)	0,05	13,35	225 (2/2)	0,59	83,33

Os maiores ganhos foram obtidos para as variáveis CF, MMF e MP (19,50 a 12,38%; 22,93 a 16,58% e 10,08 a 7,34%, respectivamente), o que mostra sucesso com a seleção para essas características. Estas características estão diretamente relacionadas à produção, principalmente ao tamanho do fruto. Confirmando estes resultados, Silva et al. (2017), avaliando uma população de maracujazeiro-azedo no terceiro ciclo de seleção recorrente, observaram ganhos bem próximos ao obtido neste estudo para essas características.

Os ganhos preditos para EC foram consideráveis, apesar de ter sido verificado baixo valor de variabilidade genética. Para essa característica, o objetivo é diminuir sua média. Esses resultados sugerem possibilidade de melhoria dessa característica. Em muitos estudos, foram observadas estimativas de ganhos menores com a seleção para essa característica (Krause et al., 2012; Assunção et al., 2015; Santos et al., 2015b; Silva et al., 2017). A espessura da casca é uma característica importante, tanto para a indústria de suco concentrado, quanto para o mercado da fruta *in natura*, por ser inversamente proporcional ao rendimento do suco (Vianna-Silva et al., 2010).

Para as características de produção MTF e NF, foram obtidos ganhos baixos com a seleção, 1,17% e 1,33%, respectivamente. Santos et al. (2015b), avaliando uma população de híbridos interespecíficos (*P. edulis* x *P. setacea*), obtiveram ganhos de 319,15% para NF. Freitas et al. (2016) também avaliaram a mesma população de híbridos interespecíficos, em duas safras, e relataram ganhos altos para as características NF (305,97 %) e MTF (167,18%). Estas estimativas foram muito superiores às obtidas neste estudo. A estrutura genética da população de retrocruzamentos (RC₁) pode ter contribuído para ganhos mais baixos, pois os genótipos são mais homogêneos, havendo, portanto, menor variabilidade genética.

Em programas de melhoramento envolvendo hibridação interespecífica e sucessivas gerações de retrocruzamentos, os melhoristas enfrentam vários problemas, como a incongruidade (esterilidade total ou parcial), pleiotropia, baixa produção, baixo vigor, entre outros (Pereira et al., 2010), o que justifica a baixa produção da maioria dos genótipos, além do fato de contar com a polinização natural. No entanto, alguns genótipos apresentaram boa produtividade.

No que se refere à seleção dos 30 melhores genótipos para qualidade de fruto, o mais bem ranqueado foi o genótipo 223 para CF, MMF, MP e NS, ou seja, este genótipo apresenta boa qualidade de fruto, mas sua produção é baixa. Os

ganhos preditos com a seleção deste genótipo foram de 19,50 % para CF, de 22,93% para MMF, de 10,08% para MP e de 0,74% para NS. Para as características de produção NF e MTF, os genótipos mais bem ranqueados foram os 553, 391, 387 e 81. Os ganhos variaram entre 1,33 a 1,24% para a NF e de 1,17 a 0,83% para MTF.

Em relação às famílias de irmãos completos (FIC), a FIC 3 e a FIC 2 contribuíram com a maioria dos genótipos selecionados para as características avaliadas, indicando grande potencial dessas famílias em gerar genótipos produtivos. Somente para as características EC e TSS, os genótipos dessas famílias não foram selecionados.

3.2.4.3. Média populacional dos genótipos RC₁ em relação à média populacional dos genitores e progenitores

Por se tratar de uma população oriunda da primeira geração de retrocruzamento, as características agrônômicas ainda precisam ser recuperadas, embora alguns genótipos tenham apresentado características morfoagronômicas próximas ao do genitor recorrente *P. edulis* (Figura 3).

Comparando a população da primeira geração de retrocruzamento com o genitor recorrente, Figura 4, nota-se que, para a maioria das características, a média do genitor é bem superior à do RC₁, exceto para espessura de casca e teor de sólidos solúveis totais. Um maior TSS em relação ao genitor é vantajoso, pois tanto para a indústria quanto para o mercado de frutos *in natura*, o teor de sólidos solúveis deve ser elevado (Figura 4). Para a indústria, por exemplo, são necessários 11kg de frutos com TSS, entre 11% a 12%, para obtenção de 1kg de suco concentrado a 50 ° Brix. Assim, quanto mais alto o valor de TSS, menor será a quantidade de frutos necessária para a concentração do suco (Nascimento et al., 2003). Por outro lado, genótipos com maior espessura de casca não são desejados.



Figura 3. Fruto do genitor recorrente *P. edulis* (A), progenitor *P. setacea* (B), genitor doador híbrido interespecífico (C) e comparação dos genitores com a população RC1.

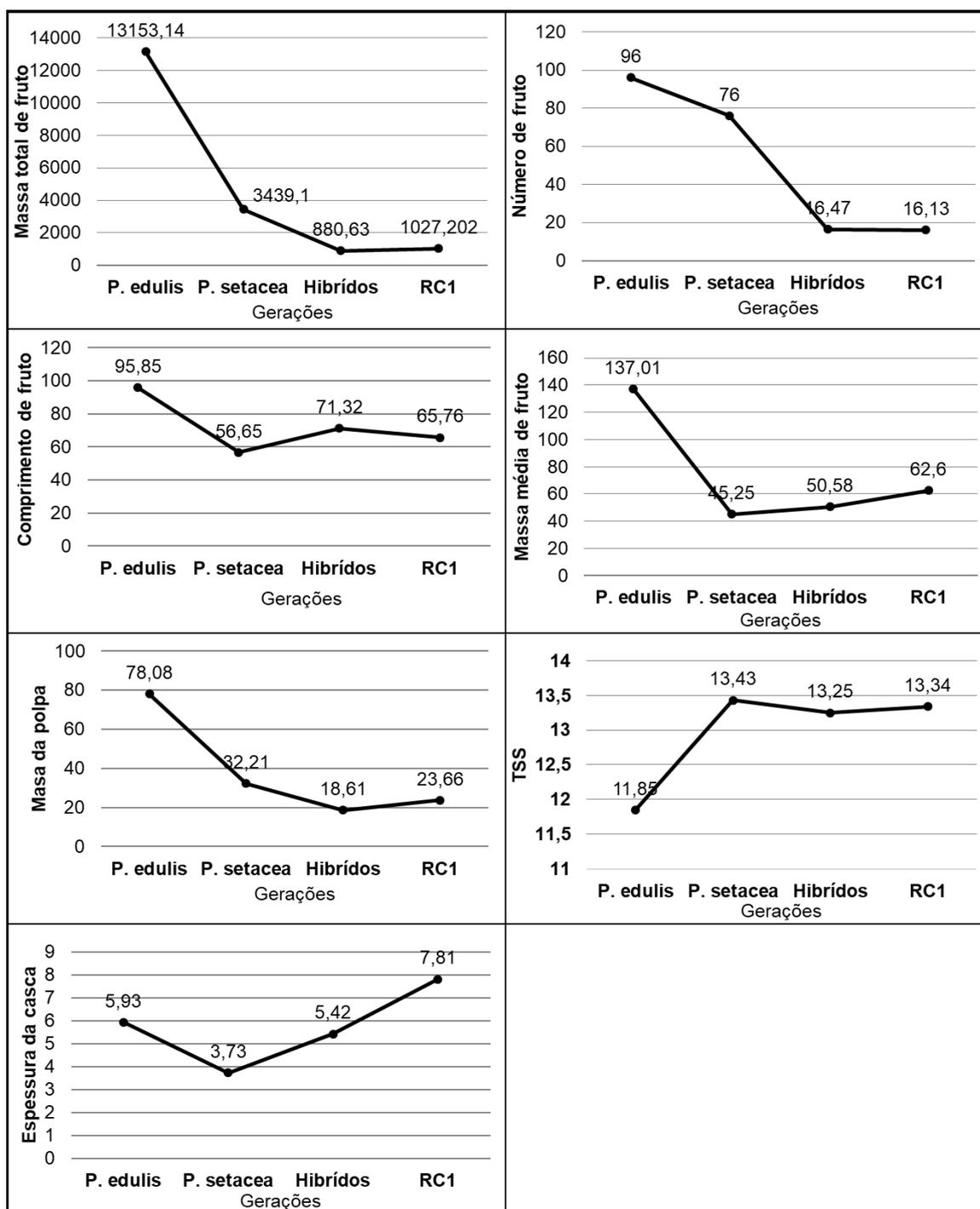


Figura 4. Comparação das médias experimentais das características da população RC1 com os genitores e progenitores. Médias dos híbridos interespecíficos (genitor doador de gene de resistência) foram retiradas dos trabalhos de Santos et al. (2015b) e Freitas et al. (2016). Médias das características do progenitor *P. setacea* (doador de gene de resistência) e do genitor *P. edulis* (genitor recorrente) foram obtidas no presente estudo. Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

No que se refere à comparação da população de estudo com os híbridos (genitor doador), houve aumento na média da população melhorada para as

características MTF, MMF, MP e EC de 16,64%, 23,73%, 27,13% e 44,09%, respectivamente. Somente para a característica CF houve diminuição em relação à geração anterior. Já para as características NF e TSS, foi mantida a mesma média populacional. Vale ressaltar que o objetivo principal desse programa de melhoramento é a característica de resistência à virose do endurecimento dos frutos, sendo os genótipos selecionados para tal característica, mas foi possível obter melhoria para quase todas as variáveis de interesse agrônomo, havendo necessidade de mais gerações de retrocruzamento para recuperar as características agrônomicas do genitor recorrente.

3.2.5 CONCLUSÕES

Observou-se baixa herdabilidade para todas as características, mas foi possível obter ganhos com a seleção por meio da estimação dos BLUps individuais. As características comprimento de fruto, espessura da casca e massa média de fruto foram as que apresentaram maiores valores de herdabilidade, tanto individualmente quanto com base na média da família. A seleção de genótipos com base nessas características possibilita maiores ganhos. O genótipo 223 foi o mais bem ranqueado para qualidade de fruto. As melhores famílias de irmãos completos foram a 2 e a 3, por contribuírem com a maioria dos genótipos selecionados para as características avaliadas, indicando grande potencial dessas famílias em gerar genótipos produtivos, podendo ser utilizadas para dar continuidade ao programa de melhoramento do maracujazeiro-azedo da UENF.

3.3 DIVERSIDADE MOLECULAR, AGRONÔMICA E DE RESISTÊNCIA GENÉTICA AO VÍRUS DO ENDURECIMENTO DOS FRUTOS EM POPULAÇÕES SEGREGANTES DE MARACUJAZEIRO

3.3.1. INTRODUÇÃO

O maracujazeiro-azedo pertence ao gênero *Passiflora*, maior e mais importante da família Passifloraceae, sendo originário da América Tropical e Subtropical (Vanderplank, 2000). No entanto, há relatos de que os ancestrais de *Passiflora* são originários da África (Muschner et al., 2012). No Brasil, são conhecidas 153 espécies da família Passifloraceae, das quais, 87 são endêmicas (Bernacci et al., 2015). Apesar dessa ampla variabilidade, o maracujá-azedo (*Passiflora edulis* Sims) é o mais conhecido e cultivado, representando aproximadamente 90% dos pomares brasileiros, principalmente pela sua qualidade, produtividade, vigor e rendimento em suco (Meletti e Bruckner, 2001; Meletti, 2011; Oliveira et al., 2013a; Silva et al., 2014; Viana et al., 2016).

Por ser a espécie mais cultivada, *P. edulis* é acometida por várias doenças. Sabe-se que a base genética do maracujazeiro-azedo para resistência a doenças é muito estreita, dessa forma, as espécies silvestres, por apresentar grande diversidade genética, podem contribuir para aumentar o grau de resistência das cultivares comerciais às doenças por meio de hibridações interespecíficas (Fonseca et al., 2009; Freitas et al., 2015; Santos et al., 2015a), sendo essa uma

das alternativas adotadas pelos programas de melhoramento para controlar as doenças.

Conhecer a variabilidade genética existentes na população de estudo traz avanços significativos para o progresso genético na seleção de genótipos e o avanço de gerações em um programa de melhoramento. A caracterização pode ser morfoagronômica, reprodutiva, bioquímica, citogenética ou molecular (Valois et al., 2001). Neste contexto, as análises morfoagronômicas e moleculares estão entre as ferramentas mais utilizadas para estimar a diversidade genética (Máric et al., 2004).

Para a análise de diversidade genética via características morfoagronômicas, são utilizados os métodos multivariados, em que diversos caracteres podem ser avaliados simultaneamente. Existem vários métodos disponíveis para estimar a diversidade genética. A escolha do método depende do tipo de variável a ser analisada, como, por exemplo, se os dados são oriundos de experimentos com repetição, se as características avaliadas são qualitativas, quantitativa ou ambas, etc. Com o uso destes dados, pode-se gerar uma grande quantidade de informações fenotípicas, que permitem o agrupamento de genótipos e possibilitam um melhor planejamento dos cruzamentos (Spooner et al., 2005).

Outra técnica muito empregada para a avaliação da diversidade genética é o uso de marcadores moleculares genéticos, pois, quando comparados com outros tipos de marcadores, apresentam maior número de locos polimórficos, permitindo a distinção entre acessos, mesmo com morfologia similar (Borém e Caixeta, 2009). Algumas complicações, como o efeito ambiental, tempo necessário para avaliações, entre outras, podem ser evitadas pelo uso da análise direta do genótipo por meio de marcadores moleculares de DNA (Lefebvre et al., 2001; Máric et al., 2004). No entanto, a análise dessas duas categorias de informações separadamente pode resultar em inferências fragmentadas, muitas vezes imprecisas, dificultando a compreensão das relações genéticas entre o germoplasma estudado.

Em programas de melhoramento genético, é importante lançar mão do uso destas duas categorias de informações, molecular e morfoagronômica, visto ajudarem na compreensão das relações genéticas entre o germoplasma estudado (Ramos et al., 2012). O objetivo deste trabalho foi: I) estimar a distância genética entre genótipos derivados de retrocruzamento e seus genitores, utilizando informações morfoagronômicas, de resistência ao CABMV e moleculares; II)

analisar a eficiência de tais metodologias em acessar a diversidade e distinguir os genótipos avaliados neste estudo; III) caracterização genética buscando estimar índices genotípicos para quantificação e estruturação da variabilidade genética; IV) fazer a análise conjunta das informações morfoagronômicas e moleculares; V) fazer a seleção de genótipos superiores para avanço de gerações no programa de melhoramento genético do maracujazeiro visando à resistência à doença.

3.3.2. REVISÃO

3.3.2.1. Diversidade genética de *Passiflora* com uso de informações morfoagronômicas e moleculares

A maioria das espécies de *Passiflora* descrita é originária da América Tropical. No entanto, há relatos de que os ancestrais de *Passiflora* são originários da África, dispersaram-se para a Europa e Ásia, até chegarem ao continente Americano (Muschner et al., 2012). Embora sejam encontradas desde a região Amazônica até o Paraguai e nordeste da Argentina, é o Brasil um dos principais centros de diversidade genética dessa família (Silva et al., 2004). Atualmente, estão descritos no Brasil quatro gêneros e 153 espécies, 87 endêmicas (Bernacci et al., 2015). As espécies ocorrem em todas as regiões do País.

As principais espécies do gênero são diploides ($2n=2x=18$ cromossomos), alógamas e autoincompatíveis (Martin e Nakasone, 1970), mas algumas espécies de *Passiflora* silvestre são autocompatíveis, segundo Meletti et al. (2005) e Junqueira et al. (2005). O fenômeno da autoincompatibilidade tem implicações importantes nas metodologias de melhoramento por induzir a alogamia e o alto grau de heterozigose, além de ter influências na compatibilidade entre cruzamentos (Allard, 1971).

Apesar da ampla variabilidade genética existentes no gênero *Passiflora*, os cultivos comerciais do Brasil se baseiam numa única espécie, o maracujá-azedo (*Passiflora edulis*), que representa mais de 90% dos pomares (Meletti e Bruckner, 2001; Meletti, 2011; Oliveira et al., 2013a; Viana et al., 2016). As pesquisas com maracujazeiro estão sendo amplamente dirigidas às espécies cultivadas,

principalmente à espécie *P. edulis*, mas se sabe que algumas espécies não cultivadas podem contribuir com o melhoramento genético, por apresentarem resistência a doenças ou a pragas, longevidade, maior adaptação a condições climáticas adversas, período de florescimento ampliado, maior concentração de componentes químicos interessantes para a indústria farmacêutica e outras potencialidades, quase todas ainda inexploradas (Meletti, 2011) ou com ações de pesquisa e desenvolvimento ainda incipientes (Faleiro et al., 2011).

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 genes que podem conferir melhores características de produção, qualidades organolépticas e de adaptação a diferentes estresses abióticos e bióticos (Gepts, 2006; Gonçalves et al., 2008; Faleiro et al., 2011). Em programa de melhoramento, um dos primeiros passos é caracterizar o germoplasma de modo a obter informações básicas sobre os genótipos. A caracterização morfológica é a forma mais acessível e mais utilizada para quantificar a diversidade genética do germoplasma disponível. A detecção da variabilidade intra e interespecífica é de fundamental importância, pois possibilita o uso mais eficiente dos recursos genéticos pelo melhorista (Santos et al., 2014). 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 quantificação da variabilidade genética feita pelas características morfológicas pode ser estimada pelas análises multivariadas, que se baseiam nas diferenças entre os acessos, permitindo analisar múltiplas informações de um conjunto de caracteres, extraídas das unidades experimentais (Fonseca et al., 2004). A utilização da estatística multivariada assume importância relevante, sobretudo quando o objetivo é obter informações sobre a distância genética entre populações ou genótipos.

Na predição da divergência genética, vários métodos multivariados podem ser aplicados, entre os quais, citam-se análise por componentes principais, variáveis canônicas e os métodos aglomerativos. Os métodos aglomerativos diferem dos demais por dependerem de medidas de dissimilaridade estimadas previamente. Para tal, podem ser utilizadas a distância generalizada de *Mahalanobis*, distância euclidiana, entre outras. A escolha do método mais

apropriado tem sido determinada pela precisão desejada pelo pesquisador, pela facilidade de análise e pela forma como são obtidas as informações (Cruz et al., 2012).

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 (Cruz et al., 2012). Sabe-se que experimento 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).

Estudos sobre a diversidade genética utilizando informações morfoagronômicas em espécies de maracujazeiro podem ser observados em trabalhos de Viana et al. (2003), Paiva et al. (2014), Santos et al. (2014), Silva et al. (2014) e Jesus et al. (2016).

Para complementar as informações e aumentar a base de conhecimento genético sobre a população em estudo, os marcadores moleculares têm sido de grande valia, pois o uso somente de métodos clássicos em programas de melhoramento leva muito tempo para chegar a algum resultado prático, especialmente quando se trata de uma espécie semiperene, caso do maracujazeiro, além de demandar grandes espaços experimentais. Os marcadores revelam diferenças genéticas em um maior nível de detalhamento e sem as interferências causadas pelo efeito ambiental, oferecendo vantagens em termos de discriminação e rapidez (Binneck et al., 2002), além da sua neutralidade seletiva (Gonçalves et al., 2008).

As técnicas moleculares podem ser utilizadas em programas de melhoramento em diferentes situações, como em *fingerprinting* de genótipos, estudos de diversidade genética, mapeamento, avaliação de estrutura populacional e na seleção de genótipos desejáveis para o melhoramento de plantas (Rauscher e Simko, 2013).

Existem vários marcadores moleculares disponíveis para os mais diversos tipos de culturas. A escolha de um marcador molecular depende de vários fatores, como a disponibilidade do marcador para a espécie em estudo, nível de polimorfismo apresentado pelo marcador, disponibilidade de informação do

genoma da espécie alvo, habilidades técnicas, custo da análise, disponibilidade de equipamentos, entre outros (Souza et al., 2008). Entre os marcadores, os microssatélites se destacam pelo seu alto poder informativo (Oliveira et al., 2006) e ampla distribuição pelo genoma (Rallo et al., 2000), permitindo uma boa amostragem em estudos genéticos.

O genoma dos eucariotos tem sequências simples repetidas, que consistem de um a seis nucleotídeos repetidos em *tandem*, sendo denominadas microssatélite ou SSR (*Simple Sequence Repeats*). As sequências de DNA que flanqueiam os microssatélites são, geralmente, conservadas entre os indivíduos de uma mesma espécie, permitindo a seleção de iniciadores específicos que amplificam, via PCR, fragmentos contendo o DNA repetitivo em todos os genótipos (Borém e Caixeta, 2009).

Os microssatélites têm herança codominante, são altamente polimórficos, muito abundantes por todo o genoma, têm alta reprodutibilidade, potencial para automação e a análise não requer grandes quantidades de DNA (Kumar et al., 2009; Ince et al., 2010). Por isso, são considerados marcadores genéticos ideais para mapeamento genético e de alta eficiência para estudos de ligação, proteção de variedades, seleção assistida, estudos de diversidade, entre outros (Song et al., 2004, Borém e Caixeta, 2009).

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; Penha et al., 2013; Oliveira et al., 2013b; Santos et al., 2014b, Cequeira-Silva et al., 2014a), inserção de marcas em mapas genéticos previamente construídos (Oliveira et al., 2008; Pereira et al., 2013) e na diversidade genética (Oliveira et al., 2013b; Paiva et al., 2014; Cequeira-Silva et al., 2014b).

3.3.3. MATERIAL E MÉTODOS

3.3.3.1. Material Vegetal

O material utilizado na extração de DNA e na caracterização morfoagronômica foi coletado na área experimental localizada na Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo, no município de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, com latitude sul de 21° 45', longitude 41° 20' W e 11 m de altitude.

Foram selecionados para extração de DNA 91 genótipos de uma família de irmãos completos, um genótipo do híbrido interespecífico (genótipo doador de resistência), um do genitor *P. edulis* e um do progenitor *P. setacea* (Tabela 1). A escolha desses 91 genótipos da primeira geração de retrocruzamento dentro da família foi com base na diversidade dos sintomas de virose que os genótipos apresentavam no momento da coleta de material genético.

As informações obtidas com a genotipagem dos 94 genótipos (Tabela 1) foram utilizados para obter a estrutura genética da população e para estimar os parâmetros de diversidade genética entre os genótipos.

Tabela 1. Origem e identificação das populações de estudo compostas por uma família de irmãos completos (FIC), híbrido interespecífico (HI), *P. setacea* e *P. edulis* e pelo total dos genótipos na área experimental. Campos dos Goytacazes, RJ, 2017

Descrição	Cruzamentos	Número total de genótipos	Número de genótipos selecionados
FIC1*	HI5-14 x <i>P. edulis</i>	160	91
Genitor HI5-14**	Ps 367 x Pe 139 (40)	12	1
Genitor <i>P. edulis</i>	***PMGMA-UENF	12	1
Progenitor <i>P. setacea</i>	BAG da UENF	12	1
Total			94

*Famílias de irmãos completos - primeira geração de retrocruzamento.

** híbridos interespecíficos selecionados (Santos et al., 2015). Pe= *P. edulis*; Ps= *P. setacea*.

*** Programa de melhoramento genético do maracujazeiro (PMGMA-UENF).

Dos 94 genótipos identificados na Tabela 1, a caracterização morfoagronômica foi feita e realiza em apenas 77, incluindo os genitores e progenitores, pois foram os que produziram frutos. As populações foram caracterizadas em relação a três características de produção e uma de resistência

ao vírus do endurecimento do fruto para observar se genótipos produtivos agrupam com genótipos resistentes. Estes 77 genótipos também foram genotipados, e a distância genética foi obtida pelo método de Rogers.

3.3.3.2. Caracterização morfoagronômica

Os 77 genótipos foram caracterizados pelas características de produção e resistência à doença, tendo sido avaliadas as seguintes características quantitativas:

- Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD_M): as populações foram conduzidas em uma área com histórico da doença, sendo avaliadas sobre a ocorrência natural do CABMV. Após os primeiros sintomas de virose, as plantas foram avaliadas quinzenalmente por 14 meses. As avaliações dos sintomas foram feitas visualmente em folhas jovens: a partir da terceira folha mais jovem nos ramos novos e planta inteira: distribuição dos sintomas da virose em toda a área ocupada pela planta. Utilizou-se uma escala de notas variando de 1, sem sintomas, a 4, com sintomas mais severos, com modificações para todas estas avaliações, propostas por Novaes e Rezende (1999) e modificadas por Oliveira et al. (2013a). Por meio de uma escala de notas, foram estimadas a área abaixo da curva de progresso (AACPD) da doença para folhas jovens e a área total da planta. Após estimadas, foram obtidas uma média com as AACPDs (AACPD_M);
- Número de frutos por plantas (NF): foram feitas duas colheitas por semana durante nove meses e, ao final do período de avaliação, o número total de frutos foi contabilizado para cada genótipo;
- Massa total de frutos (MTF): os frutos foram pesados em balança digital semianalítica e a massa, expressa em gramas, todos os frutos eram maduros e foram coletados ao longo do período de avaliação;
- Massa Média de Frutos (MMF): determinada pela média aritmética de uma amostragem de no mínimo um e máximo de 15 frutos de cada genótipo. Os frutos foram pesados individualmente em balança digital semianalítica, e a massa, expressa em gramas.

Com as informações das características agronômicas, foi obtida a matriz de distância, com base na Distância euclidiana.

$$d_{ii} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_j (x_{ij} - x_{i'j})^2}$$

Com a matriz de distância, foi feita a construção do dendrograma pelo método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages). Todas as análises foram feitas com o auxílio do programa R (<http://www.r-project.org>).

3.3.3.3. Caracterização Molecular

3.3.3.3.1. Extração e quantificação do DNA genômico

A extração do DNA genômico total foi feita em folhas jovens coletadas individualmente de cada genótipo, utilizando o método CTAB padrão com modificações (Doyle e Doyle, 1990).

Em seguida, o DNA foi quantificado por análise em gel de agarose a 1 % com tampão TAE 1X (Tris, Acetato de Sódio, EDTA, pH 8,0), utilizando o marcador Lambda (λ) de 100 pb ($100 \text{ ng}/\mu\text{L}^{-1}$) (Invitrogen, USA) pela comparação das bandas. Para esse procedimento, as amostras foram coradas utilizando a mistura de Gel Red™ e Blue Juice (1:1) e a imagem, capturada pelo sistema de fotodocumentação Mini Bis Pro (Bio-Imaging Systems). Posteriormente, as amostras de DNA foram diluídas para a concentração de trabalho de $10 \text{ ng}/\mu\text{L}^{-1}$.

3.3.3.3.2. Triagem dos *Primers*

O DNA dos genótipos parentais foi utilizado inicialmente para uma triagem de 63 iniciadores microssatélites, desenvolvidos para *P. edulis* (Oliveira et al., 2008; Cerqueira-Silva et al., 2014b), com a finalidade de identificar locos SSR capazes de diferenciar os genitores. Após rastreio, um conjunto de 14 iniciadores polimórficos foi selecionado para as reações de amplificação (Tabela 2).

Tabela 2. Sequência dos 14 *primers* de microssatélites desenvolvidos para *Passiflora*, utilizados na análise de diversidade genética de populações segregantes de maracujazeiro. Campos dos Goytacazes, RJ, 2017

Primer	Sequência (5' 3')	Motivo	T (°c)
PE 96	F: GGTTTTGCTTGATTACTTTTC R: GGATCTTCCCAAATGACTC	(CA) ₁₀	56
Pad-2	F: CACATTTGCCGTCCTGG R: CGGCATACGATAAATCTCCTG	-	58
Ps-16	F: GAGAAAGCGAGTCAGCGAGA R: GACTCCAATATCGGCACTTCA	(GAG) ₆ (CAA) ₄	58
Ps-9	F: GGGCCGTTGTCAAAGTAGT R: GAGGTTAAGGCAAGCACTG	(AC) ₄	60
Ps-2	F: TAGCTTAACACAATGCAACAGA R: CAACGGAGAACGATGTCAG	(TG) ₅ (TG) ₅	56
PE 43	F: GGAATCACTCTTGCGCTTCT R: TCTGTCTTATGCCACTGTTGG	(TG) ₁₃	60
PE 32	F: GGCCAACCATTCAACCAATA R: CAAGCACATGAATCAAATCG	(GA) ₁₉	60
PE 21	F: CCCGGAAGATTGGTCGTA R: ATCCAATGGCAGGAAGGTC	(GT) ₁₅	60
PE 34	F: ACTTGCGTGTGATTGTTGT R: GAAGATTGCCTACTCGTCC	(TG) ₉	58
PE 40	F: ACAACAAAGACTGCGGGAAC R: CTTCTTTTGGGTTGCTCTCTG	(GAAA) ₅	58
PE 25	F: TAGAGAAAAGCACACACACA R: CGAGGTCGAGTTTACAGAAA	(CA) ₉	62
PE 74	F: CCCTCTTATCAATAGCGTTGG R: GCACGAGCACGAGTATTTATT	(ATCACA) ₅	64
PE 7	F: TGCTCATTGATGGTGCTTG R: TCGTCTCTTCTCCTCCTTCA	(GA) ₂₃	58
PE 76	F: ACTGCTTCTTGATTCCGATAA R: CTACTIONACCGCTGACACAC	(TG) ₈	58

3.3.3.3.3. Reação em cadeia da polimerase (PCR)

As reações de PCR foram feitas em termocicladores da Applied Biosystems/Veriti 96 well, em um programa de 35 ciclos, obedecendo às seguintes temperaturas e tempo: 94 °C durante 4 minutos (desnaturação inicial); 94 °C por 2 minutos (desnaturação cíclica); temperatura específica de cada iniciador, em °C, por 1 minuto (anelamento); 72 °C por 2 minutos (extensão cíclica); 72 °C por 10 minutos (extensão final); e 4° C forever. O volume final foi de 13 µL de cada amostra, sendo 2µL de DNA (5 ng/µL), 1.50 µL de Tampão 10X (NH₄SO₄), 1.5 µL de MgCl₂ (25 mM), 1.5 µL de dNTPs (2 mM), 1 µL de iniciador (R+F) (5 µM) e 0.12 µL de Taq-DNA polimerase (5 U/µL) (Invitrogen, Carlsbad, Califórnia, EUA).

Os produtos da PCR foram diluídos numa relação de 4µl de amostra para 20 µl de Buffer E do kit DNF 900 e dis e submetidos a um sistema de eletroforese capilar (Fragment Analyzer - AATI), no qual fragmentos amplificados de 35 a 500pb são separados com uma resolução de aproximadamente 2bp. Cada corrida teve duração de 2h e 20min sob uma voltagem de 8 kw.

3.3.3.3.4. Análise estatística das variáveis moleculares

Os dados obtidos pela amplificação dos 14 iniciadores SSR foram convertidos em código numérico para cada alelo por loco. Tal matriz numérica foi desenvolvida atribuindo-se valores de 1 até o número máximo de alelos no loco, 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). Tendo como referência essa matriz numérica, foi calculada a distância genética de Rogers para 77 genótipos da população segregante. 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>).

Considerando as variáveis moleculares, estimou-se a diversidade genética entre os 94 genótipos, com o auxílio do programa Genalex 6.3 (Peakall e Smouse, 2009). Foram estimados os seguintes parâmetros: número de alelos por loco polimórfico (NA), heterozigosidade observada (H_o), heterozigosidade esperada (H_e), índice de informação (I) e índice de fixação (f).

3.3.3.3.5. Análise da estrutura genética da população

Para acessar a estrutura genética dos três genitores e de 91 genótipos da população segregante, foi utilizado um método heurístico com base em algoritmos de agrupamento bayesiano, com o uso do software STRUCTURE versão 2.3.4 (Pritchard et al., 2000). Para tanto, 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 o número de subpopulações (*k*) variando de 1 a 10. Um limite de probabilidade de 0,75 foi usado como a máxima probabilidade de adesão entre os grupos. Pelo fato de a distribuição da verossimilhança $L(k)$, muitas vezes, não mostrar um verdadeiro valor para *K*, foi utilizada a proposta de Evanno et al. (2005) para inferir o verdadeiro valor de *K* para a presente população, utilizando marcadores SSR.

3.3.3.4. Análise conjunta das variáveis morfoagronômicas e moleculares

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

3.3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.4.1. Diversidade genética via características morfoagronômicas

O agrupamento dos genótipos representado pelo dendrograma, Figura 1, permitiu a distinção de seis grupos com um ponto de corte de aproximadamente 0,2. Mesmo utilizando poucas variáveis morfoagronômicas, foi possível observar diversidade genética e formação dos grupos. Outros trabalhos utilizaram poucas variáveis, como o de Silva et al. (2013), que utilizaram somente uma característica de resistência ao fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* para estimar diversidade genética em maracujazeiro, e de Assmann et al. (2010), que utilizaram três características de resistência à ferrugem-da-folha para distinguir genótipos de

pessegueiro. Neste trabalho, além do uso de uma variável de resistência ao CABMV, foram utilizadas mais três características de produção para distinção dos genótipos.

Por meio da matriz de distância obtida utilizando a distância euclidiana, observa-se que os genótipos mais distantes em relação aos caracteres agrônomicos são o *P. edulis* e o RC₁ 176 (0,962). Isso se deve ao genótipo RC₁ produzir apenas dois frutos com massa média de 27,88g. Para a característica resistência à doença, ele obteve AACPD_M de 502,5, não sendo considerado resistente. No entanto, a AACPD_M foi bem menor do que a estimada para *P. edulis* (1241,25).

Os genótipos que apresentaram maiores similaridades foram os RC₁ 188 com o RC₁ 487 (0,0106). Estes genótipos são suscetíveis à virose (AACPD_M 825) e apresentaram baixa produção, ambos com dois frutos com peso médio entre 39,68 e 42,01 gramas. Plantas com essas características não servem para compor a próxima etapa do programa de melhoramento visando à resistência do maracujazeiro.

O genótipo que apresentou maior similaridade com o genitor recorrente, *P. edulis*, foi o 38 (0,539). Este genótipo apresentou boas características produtivas, mas é suscetível à doença. O genótipo mais similar à espécie resistente (*P. setacea*) foi o RC₁ 484. Este genótipo apresentou bom desempenho agrônomico, como elevado número de frutos (86 frutos), próximo ao genitor recorrente (96), mas apresentou massa média de fruto relativamente baixa (53,86). Trata-se de um genótipo resistente ao CABMV, pois apresentou baixo valor para AACPD_M (450), próximo ao valor da espécie resistente (401,25), sendo indicado para compor a próxima etapa do programa de melhoramento.

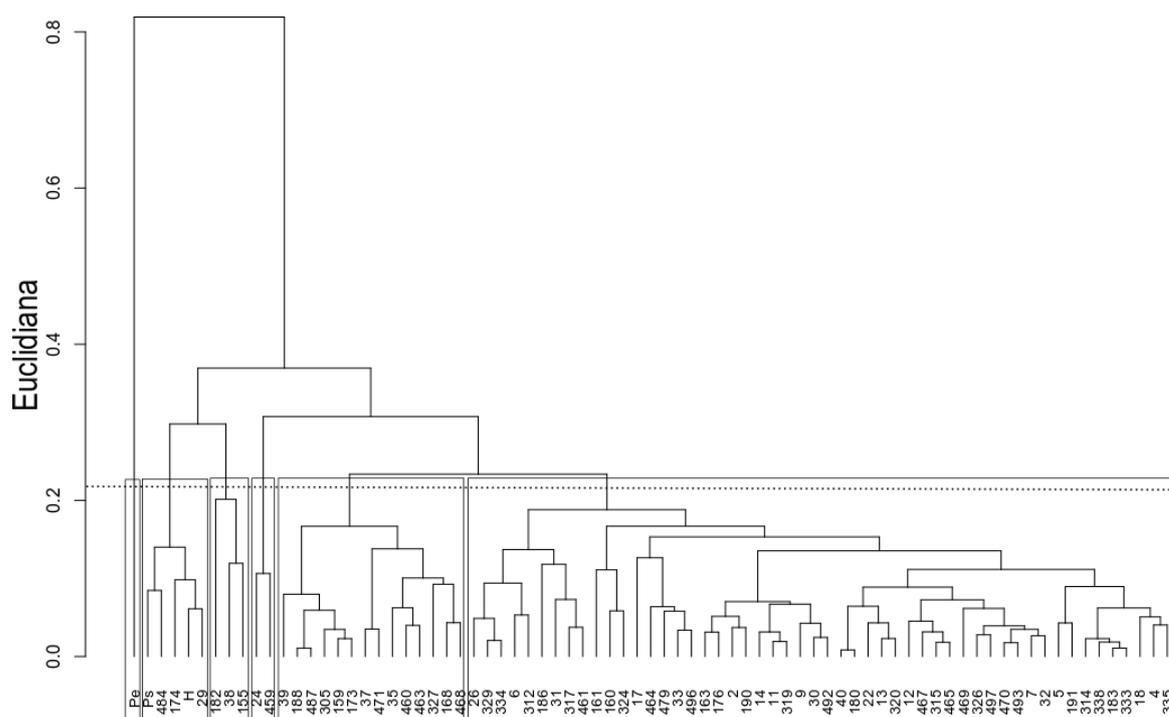


Figura 1. Dendrograma de dissimilaridade genética entre genótipos de uma família de irmãos completos oriunda da primeira geração de retrocruzamento e de seus genitores e progenitores, obtido pelo método UPGMA, com base nas variáveis agrônômicas e de resistência à doença. UENF, Campos dos Goytacazes, 2017.

O grupo I é formado por um genótipo, o genitor recorrente *P. edulis*, que é o padrão de produtividade que o programa de melhoramento do maracujazeiro-azedo almeja alcançar, porém, com genes de resistência ao CABMV. O genótipo deste grupo ficou isolado dos demais indivíduos pela alta produção, mas é altamente suscetível ao CABMV.

O grupo II reuniu cinco genótipos. Nesse grupo estão a espécie resistente ao CABMV, o híbrido interespecífico e três genótipos da primeira geração de retrocruzamento. Eles têm em comum a massa média de fruto, que variou de 34,97 a 53,86g, valores baixos se comparados com o genitor recorrente (137,01g), e número de fruto, que teve variação entre 56 a 83 frutos, valores próximos ao do genitor recorrente (96 frutos). Em relação à característica de resistência à doença, houve maior variação no valor de AACPD_M entre os genótipos desse grupo (401,25 a 570). Os genótipos RC₁ que compõem esse grupo são indicados para genitores na próxima geração de retrocruzamentos, exceto o genótipo 29, que teve o maior valor de AACPD_M (570), pois apresentaram desempenho agrônômico razoável e são resistentes ao CABMV.

O grupo três reuniu três genótipos da primeira geração de retrocruzamento. São genótipos suscetíveis ao CABMV, pois a AACPDm variou de 750 a 1076, 25. Por outro lado, apresentaram bom desempenho agrônômico, com massa média de fruto variando entre 62, 69 a 66,81g e número de frutos entre 45 e 69.

No grupo quatro, foram alocados dois genótipos da primeira geração de retrocruzamento. Estes genótipos são similares por serem suscetíveis ao CABMV, com AACPDm de 926,25 e 1095, por produzirem poucos frutos, de 2 e 5, e por terem frutos mais pesados, 94,24 e 101,45g.

O grupo cinco reuniu 14 genótipos da primeira geração de retrocruzamento. Neste grupo, o desempenho agrônômico dos genótipos foi baixo, com a massa de frutos variando de 25, 74 a 69,84g e o número de frutos variando entre 1 a 23. Em relação à resistência ao CABMV, todos os genótipos são suscetíveis, pois apresentaram valores elevados de AACPDm, que variaram de 825 a 1113,75.

No grupo seis, foi alocada a maioria dos genótipos da primeira geração de retrocruzamento, tendo sido reunidos 52 genótipos nesse grupo. Houve grande variação para resistência ao CABMV dentro do grupo, e os valores de AACPDm variaram de 442,5 a 783,75, tendo esse grupo alocado genótipos resistentes e suscetíveis. Para a característica agrônômica número de frutos, os valores variaram de 1 a 29 frutos e para massa de fruto, variaram de 25,5 a 101,68 g. A maioria dos genótipos desse grupo apresentou baixo desempenho agrônômico e resistência mediana ao CABMV.

3.3.4.2. Diversidade genética via marcadores microssatélites

Em relação à diversidade genética entre os genótipos avaliados, o número de alelos por loco variou de 2 a 3, com média igual a 2,214, obtendo-se um total de 31 alelos para os 14 locos avaliados (Tabela 3). O resultado observado se aproxima do esperado (média de aproximadamente 2,75) para essa estrutura populacional, que é diploide, com genótipos aparentados.

Varição alélica semelhante foi encontrada por Silva et al. (2015), ao caracterizarem locos de SSR desenvolvidos para *P. edulis*, cujo número de alelo por loco variou de 2 a 6, com média igual a 2,9. Paiva et al. (2014) verificaram poucos alelos por locos, avaliando espécies de *Passiflora*, variando de 3 a 5 alelos, com média de 3,42. Embora alguns autores (Oliveira et al., 2013b; Cequeira-Silva

et al., 2014b) tenham encontrado variação alélica de 18 a 20, o número de alelos por loco no gênero *Passiflora* é considerado baixo e também a existência de poucos marcadores microssatélites polimórficos (Cerqueira-Silva et al., 2012; Cerqueira-Silva et al., 2014c), o que pode sugerir que estes locos se concentram em regiões conservadas, com pequena taxa de mutação (Paiva et al., 2014). Vale ressaltar que os trabalhos citados são referentes a estudo de diversidade entre espécies de *Passiflora*, ou seja, base genética ampla.

Tabela 3. Parâmetros genéticos para os 14 marcadores microssatélite nos 94 genótipos analisados. Sendo NA: número de alelos; I: índice de informação; He: heterozigosidade esperada; Ho: heterozigosidade observada; e F: índice de fixação. Campos dos Goytacazes, RJ, 2017

Lócus	NA	I	He	Ho	F
PE96	2,000	0,082	0,031	0,011	0,661
Pad-2	2,000	0,666	0,473	0,745	-0,576
Ps-16	2,000	0,686	0,493	0,309	0,374
Ps-9	2,000	0,033	0,011	0,011	-0,005
Ps-2	2,000	0,544	0,359	0,468	-0,306
PE 43	3,000	0,676	0,432	0,585	-0,355
PE 32	2,000	0,033	0,011	0,011	-0,005
PE 21	3,000	1,027	0,618	0,967	-0,565
PE 34	3,000	0,721	0,504	0,957	-0,899
PE 40	2,000	0,607	0,417	0,570	-0,368
PE 25	2,000	0,670	0,477	0,763	-0,601
PE 74	2,000	0,034	0,011	0,011	-0,005
PE 7	2,000	0,568	0,380	0,489	-0,287
PE 76	2,000	0,082	0,031	0,011	0,661
Média	2,214	0,459	0,303	0,421	-0,163

A utilização do Índice de Shannon como medida de diversidade populacional é bastante interessante, especialmente quando se trabalha com dados de marcadores dominantes, pois seu uso possibilita contornar o problema da não detecção dos genótipos heterozigotos, já que este índice não se baseia na

heterozigosidade da população, mas na frequência fenotípica da banda na população (Moura et al., 2005). Tal índice define que a diversidade será tanto maior quanto mais próximos da unidade forem os valores estimados. Considerando todos os genótipos analisados, os valores desse índice variaram de 0,033 a 1,027. O valor médio de 0,459 revelou existência de moderada variabilidade nesta população, mas suficiente para a continuidade deste programa de melhoramento.

Os valores de heterozigosidade esperada (H_e) variaram de 0,011 (Ps-9, PE 32 e PE 74) a 0,618 (PE 21), apresentando média de 0,303. A heterozigosidade observada (H_o) variou de 0,011 (PE 96, Ps-9, PE 32, PE 74 e PE 76) a 0,967 (PE 21), com uma média de 0,422. Apenas para os locos PE 96, PS-16 e PE 76 a heterozigosidade observada foi inferior à esperada. Os valores de H_e e H_o apresentaram médias próximas, porém a heterozigosidade observada foi maior que a esperada, indicando um elevado número de indivíduos heterozigotos, o que já era esperado, pois se trata de plantas alógamas, autoincompatíveis, oriundas de cruzamentos contrastantes.

Paiva et al. (2014), avaliando diversidade genética entre espécies de *Passiflora*, observaram valor 0,52 para a H_o média, valor próximo ao obtido neste estudo. Cerqueira-Silva et al. (2015), estudando diversidade genética em genótipos de *P. edulis*, encontraram o mesmo valor médio de H_o (0,42), no entanto, o valor médio de H_e (0,49) foi maior que H_o . Já nesse estudo, foi observado valor médio de -0,163 para F e valores mais elevados para H_o do que para H_e . Esse valor do índice de fixação negativo na média indica um leve excesso de heterozigoto.

Foi utilizada a análise bayesiana para verificar a estrutura genética da população de retrocruzamento em relação aos genitores. Dessa forma, o maior valor de ΔK , Figura 2, foi obtido quando quatro *clusters* foram formados, indicando que a estrutura genética é mais provável dividindo todos os genótipos em quatro grupos (Figura 3).

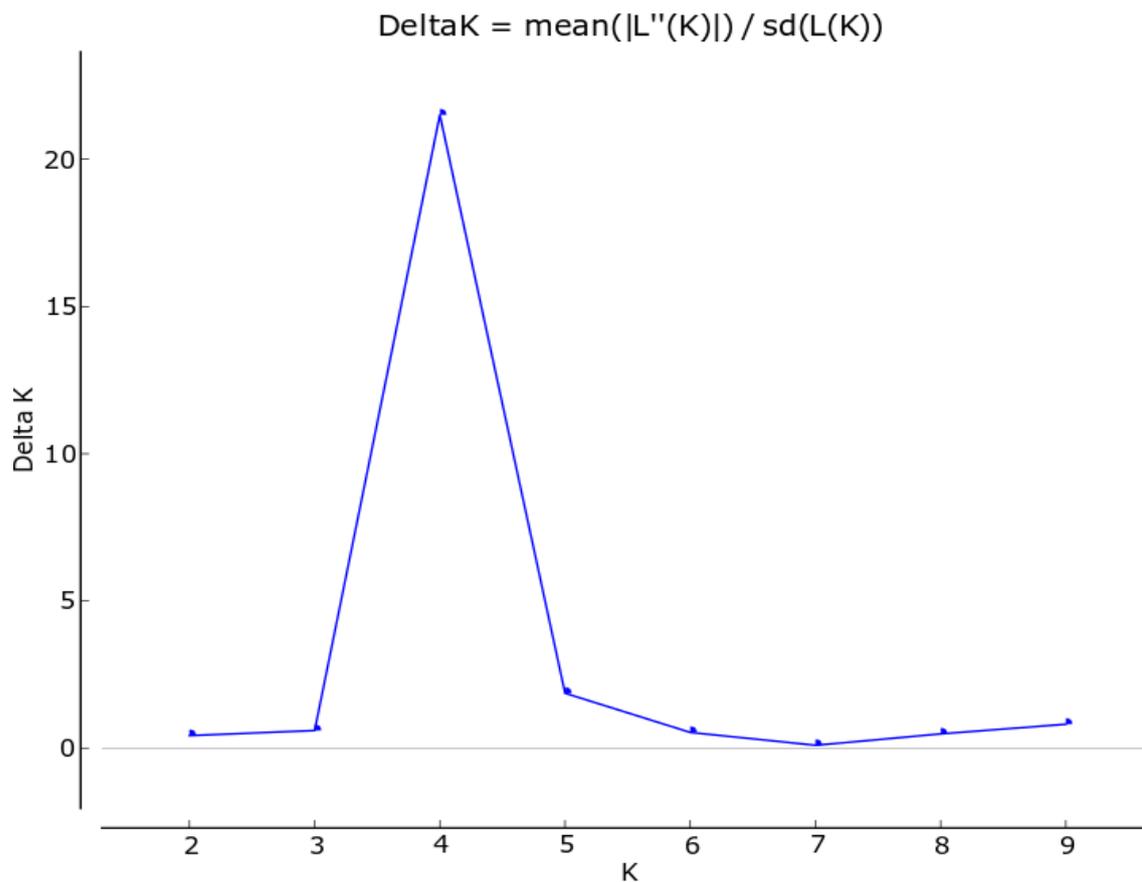


Figura 2. Gráfico de pico do ΔK indicando o número ótimo de *clusters* genéticos para a análise bayesiana obtida pelo programa *Structure* 2.3.4. UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

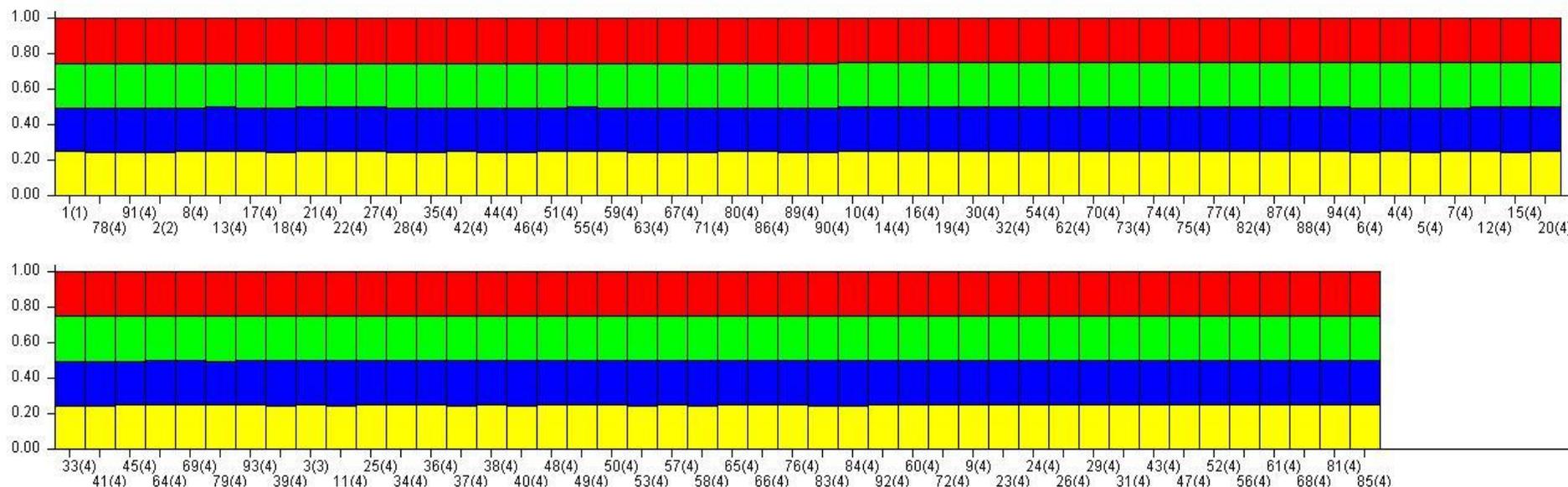


Figura 3. Agrupamentos pela inferência bayesiana de 91 genótipos da primeira geração de retrocruzamentos, dos genitores e progenitor ($k=4$). Os genótipos são representados na linha horizontal, e cada grupo genético é representado por uma cor. UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

Os resultados mostram a estruturação genética dos acessos estudados com base no compartilhamento de alelos. O agrupamento bayesiano indicou que os 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 (Figura 3). Verifica-se que todos os grupos formados compartilham os mesmos alelos. Tais resultados indicam 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.

Pela matriz de distância obtida pelo método de Rogers, a distância genética entre os acessos variou de 0 a 13,65. Essa variação indica diversidade genética entre os genótipos analisados, mesmo a população compartilhando os mesmos alelos. A maior distância foi observada entre os genótipos 333, 335 e 463 com o *P. setacea* (13,65). Os genótipos mais próximos são os 7 e 12; 17 e o 24, 40 e 183; 26 com 155, 173 e 326; 29 e o 191; 31 e o 459; 32 e o 37 e 460; 35 e 469, 161 e 180; 315 e 493; 333, 335 e 463; 334 e 468; 467 e 479, todos com valor 0, ou seja, iguais (Figura 4). Os mais próximos do progenitor (espécie doadora de genes de resistência) *P. setacea* são os híbridos RC₁ 11, 35 e 469. Os mais próximos do genitor recorrente *P. edulis* são os RC₁ 7, 12 e 319. Nenhum desses genótipos apresentou bom desempenho agronômico, sendo suscetíveis à virose.

A diversidade pôde ser constatada pela formação de grupos contendo acessos similares nas análises de agrupamento pelo método hierárquico UPGMA (Figura 4). Definindo como ponto de corte a região onde ocorreu a maior coerência na formação dos grupos, foram formados quatro grupos maiores, que reuniram a maior parte dos genótipos, além de outros três grupos contendo um genótipo, mostrando a variabilidade genética presente entre os genótipos analisados.

Os grupos I, II e o V reuniram somente um genótipo em cada grupo, Figura 4, com os genótipos geneticamente mais divergentes, sendo eles *P. setacea*, o híbrido e o RC₁ 168, respectivamente. Fonseca et al. (2009), avaliando a recuperação do genoma recorrente em plantas RC₄ e RC₅ [(*P. edulis* x *P. setacea*) x *P. edulis*] com base em marcadores RAPD, verificaram, assim como neste estudo, o isolamento de *P. setacea* em relação às demais plantas avaliadas.

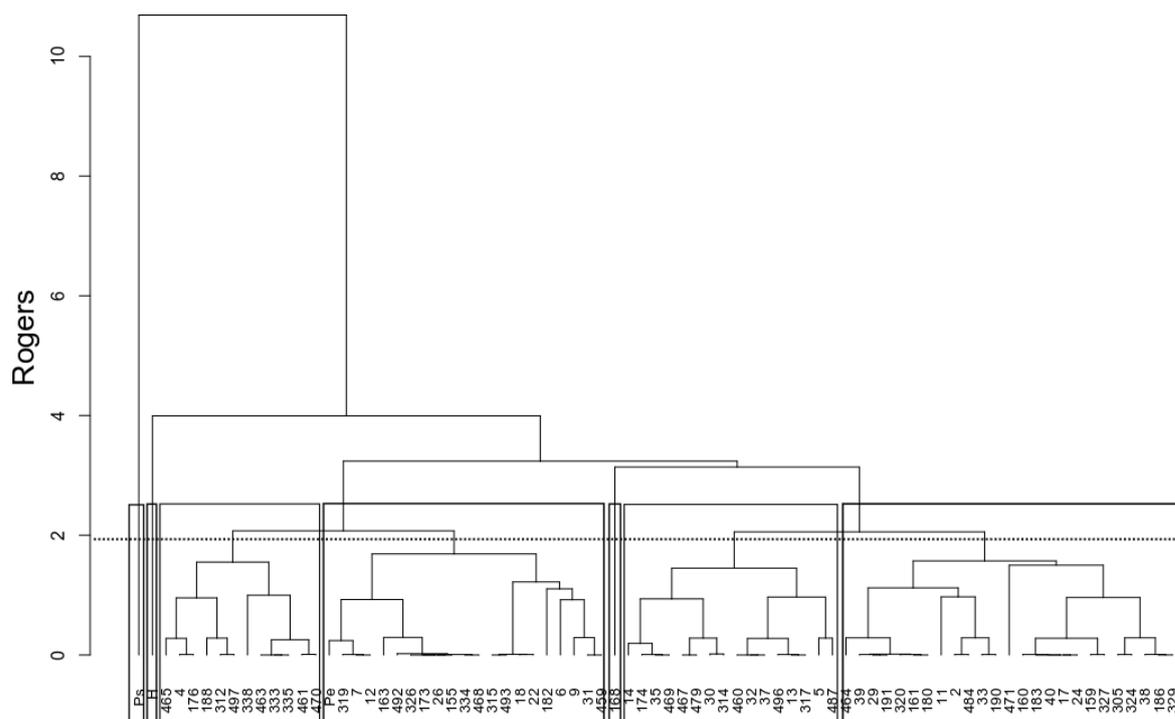


Figura 4. Dendrograma de dissimilaridade genética entre genótipos de uma família de irmãos completos oriunda da primeira geração de retrocruzamento e de seus genitores e progenitores, obtido pelo método UPGMA, com base em 14 marcadores microssatélites. UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

Os grupos IV e VII reuniram o maior conjunto de genótipos, totalizando 46 indivíduos, 21 no grupo IV e 25 no VII, um percentual de 59,74% dos genótipos estudados. O genitor recorrente foi alocado no grupo IV. Neste grupo, apenas os genótipos 155, 182 e 22 apresentaram bom desempenho agrônômico, e o genótipo 163 apresentou resistência a doença, porém não apresentou boas qualidades agrônômicas. Nota-se uma grande quantidade de genótipos RC₁ alocados no mesmo grupo de *P. edulis*, o que já era esperado, pois em RC₁, teoricamente, espera-se uma recuperação média de 75% do genoma recorrente, considerando a utilização do mesmo genitor recorrente. Fonseca et al. (2009) constataram média de 84,4% em plantas RC₄ e de 92,19% em plantas RC₅ de recuperação do genoma do genitor recorrente. Os grupos III e VI alocaram 12 e 16 genótipos, respectivamente. Estes grupos foram formados apenas por genótipos da primeira geração de retrocruzamento.

3.3.4.3. Análise conjunta das variáveis morfoagronômicas e moleculares

Para os dados agrônômicos, foi utilizado o método da distância euclidiana média para obter a matriz e, para os dados moleculares, a distância de Rogers. O método de agrupamento UPGMA foi utilizado na formação dos grupos. Foram formados sete grupos distintos para dados moleculares e seis para os agrônômicos, porém o arranjo entre os acessos nas análises não se manteve igual (Figura 5).

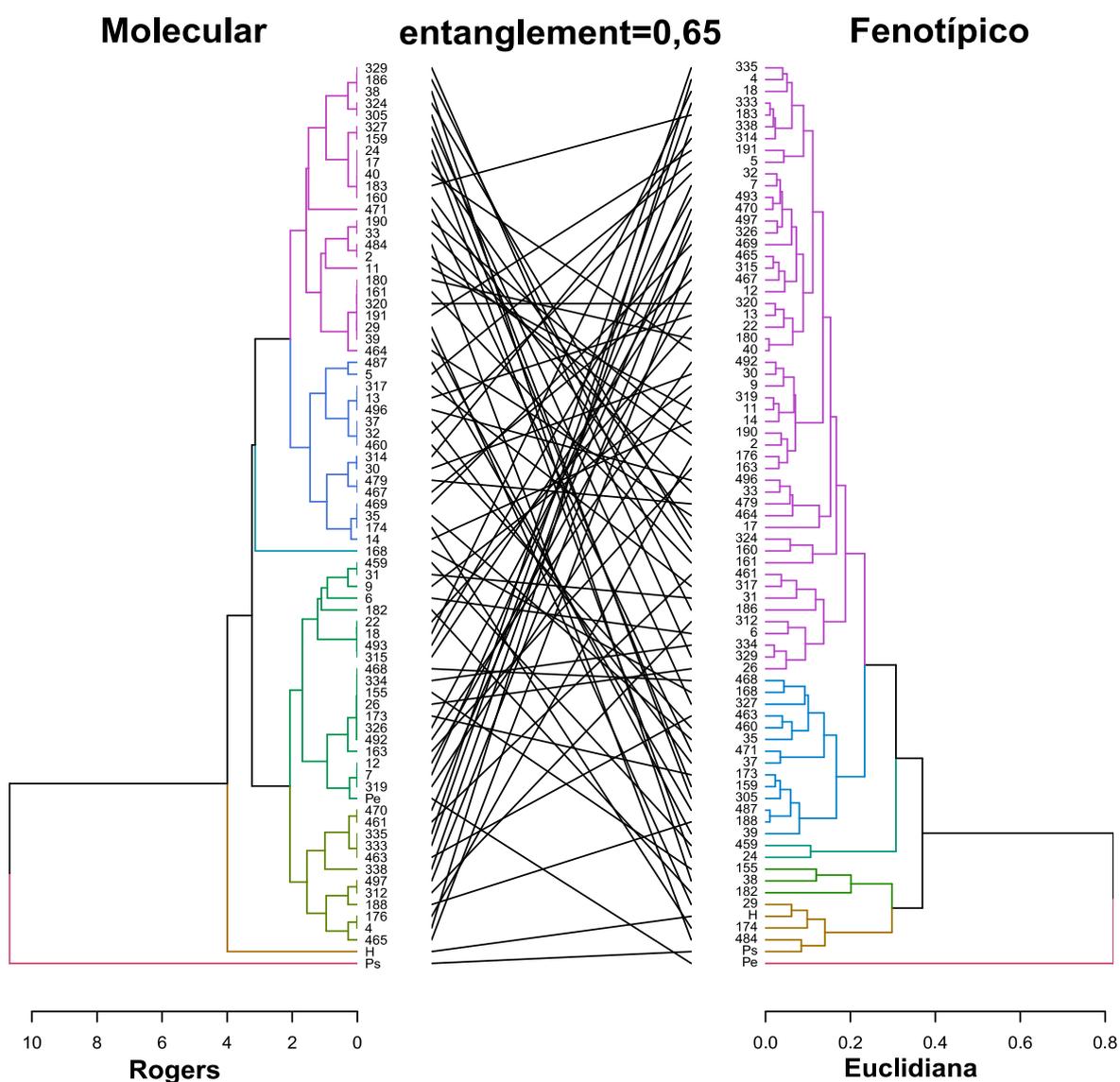


Figura 5. Emaranhamento entre 77 genótipos, obtido pelo pacote Dendextend, com base na Distância de Rogers e Euclidiana, considerando as variáveis agrônômicas e moleculares, respectivamente. UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

O entanglement mede o emaranhamento entre dois dendrogramas. Os valores de entanglement variam de 1 (emaranhamento completo) a 0 (sem emaranhamento). O entanglement obtido foi de 0,65, evidenciando divergência na distribuição dos acessos em ambos os dendrogramas. Em geral, o arranjo dos genótipos foi distinto para os dois agrupamentos. Uma explicação para essa distinção de arranjos entre genótipos nos dendrogramas pode ser o uso de técnicas diferentes para obter as matrizes de distância, além do número de variáveis fenotípicas utilizadas nas análises. Bianchi (2017), avaliando o emaranhamento entre 55 acessos de *Capsicum chinense* por meio de dados moleculares e morfoagronômicos, embora utilizando o mesmo método para obter a matriz de distância genética, obteve um entanglement de 0,58, próximo do observado neste estudo. Outra explicação, a mais provável, é 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.

Os agrupamentos indicaram grupos com potencial a serem utilizados em futuras etapas do programa de melhoramento genético. Genótipos da primeira geração de retrocruzamento, como o 484 e o 312, que têm bom desempenho agrônômico, são resistentes à virose e alocaram em grupos diferentes, tanto para informações moleculares quanto para morfoagronômicos, podem ser inter cruzados, possibilitando o surgimento de uma nova vertente dentro do programa de melhoramento e a geração novos conhecimentos. Esses genótipos são também indicados para genitores na próxima geração de retrocruzamento do programa de melhoramento genético do maracujazeiro visando à resistência ao CABMV.

3.3.5 CONCLUSÕES

O uso de informações morfoagronômicas e moleculares mostrou variabilidade genética entre os genitores e a população e dentro da população segregante de maracujazeiro.

O número médio de alelos de 2,214 aproxima-se do esperado para a população. Resultados obtidos para o valor médio da heterozigosidade observada, heterozigosidade esperada e do índice fixação indicam um leve excesso de heterozigotos. A análise bayesiana permitiu a distinção do progenitor *P. setacea*, o genitor híbrido interespecífico, genitor *P. edulis* e os genótipos RC1, alocando-os em diferentes grupos.

Na análise conjunta das informações morfoagronômicas e moleculares, constatou-se divergência na distribuição dos genótipos nos agrupamentos.

Os genótipos 484 e o 312, por terem bom desempenho agrônômico, serem resistentes à virose do endurecimento dos frutos e serem distintos genotípica e fenotipicamente, são indicados para compor futuras etapas do programa de melhoramento genético do maracujazeiro visando à resistência ao CABMV.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, P.P., Souza, M.M., Santos, E.S., Pires, M.V., Pires, M.M.; Almeida, A.F. (2009) Passion flower hybrids and their use in the ornamental plant market: perspectives for sustainable development with emphasis on Brazil. *Euphytica*. 166: 307-315.
- Aguiar, A.V.M., Silva, R.M., Cardoso, E.A., Maracajá, P. B., Pires, H. G. (2010) Utilização de espécies de *Passiflora spp.* como porta-enxertos no controle de doenças do maracujazeiro. *ACSA*. 6: 17–22.
- Akamine, E.K., Girolami, G. (1959) *Pollination and fruit set in the yellow passion fruit*. Honolulu: University of Hawaii, 44p. (Technical Bulletin, 39).
- Allard, R.W. (1971) *Princípios do melhoramento genético das plantas*. São Paulo: Edgard Blüchner, 381 p.
- 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. *Rev. Bras. Frutic.* 30:696-701.

- Antonio, R.P., Santos, J. B., Alves, F.C., Gonçalves, P.R. C., Lara, L. A.C. (2012) Seleção assistida por marcadores de DNA em retrocruzamento visando à resistência ao mofo branco em feijoeiro. *Rev. Caatinga*. 25: 61-67.
- Araújo, B.C. (1978) Maracujá em Sergipe – situação atual e perspectivas. *Anais do Encontro estadual da cultura do maracujá*, 1, Aracaju, p. 67-76.
- Assmann, A. P., Citadin, I., dos Santos, I., Júnior, A. W. (2010) Reação de genótipos de pessegueiro à ferrugem-da-folha. *Pesq. Agropec. Bras.* 45: 32-40.
- Assunção, M. P., Krause, W., Dallacort, R., dos Santos, P. R. J., Neves, L. G. (2015) Seleção individual de plantas de maracujazeiro azedo quanto à qualidade de frutos via REML/BLUP. *Rev. Caatinga*. 28: 57-63.
- Ataíde, E. M., Oliveira, J. C., Ruggiero, C. (2012) Florescimento e frutificação do maracujazeiro silvestre *Passiflora setacea* D. C. cultivado em Jaboticabal, SP. *Rev. Bras. Frutic.* 34: 377-381.
- Barros, D.R., Alfenas, Z.P., Beserra, J.E.A, Antunes, T.F.S., Zerbini, F.M. (2011) Comparative analysis of the genomes of two isolates of cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV), obtained from different hosts. *Arch. Virol.* 156:1085–91.
- 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 6 de setembro).
- Beserra Júnior, J. E., Maluf, W. R., Figueira, A. R., Barguil, B. M. (2006) Herança da Resistência ao Watermelon mosaic virus em Melancia (*Citrullus lanatus* L.). *Fitopatol. Bras.* 31: 1–4.
- Bianchi, P.A. (2017) *Variabilidade intraespecífica para caracteres morfológicos, agrônômicos e moleculares entre acessos de Capsicum chinense*. Dissertação

(Mestrado em Genética e Melhoramento de Planta), - Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, 92p.

- Binneck, E., Nedel, J.L., Dellagostin, O.A. (2002) Análise de RAPD na identificação de cultivares: uma metodologia útil? *Rev. Bras. Sementes*. 24: 183-196.
- Borém, A., Miranda, G. V., Fritsche-Neto, R. (2017) *Melhoramento de Plantas*. 7. ed. Viçosa: Editora UFV, 543p.
- Bruckner, C.H., Casali, V.W.D., Moraes, C.F., Regazzi, A.J., SILVA, E.A.M. (1995) Self-incompatibility in passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). *Acta Hortic.* 370: 45- 57.
- Bueno, C. J., Fischer, I. H., Parisi, M. C. M., Furtado, E. L. (2010) Comportamento do maracujazeiro amarelo, variedade Afruvec, ante uma população de *Fusarium solani*, agente causal da Podridão do colo. *Arq. Inst. Biol.* 77: 533-537.
- Campbell, C.D., Madden, L.V. (1990) *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. 1. ed. New York: Willey, 532p.
- Carias, C.M.O., Gravina., G.A., Ferrão, M.A.G., Fonseca, A.F.A., Ferrão, R.G., Vivas, M., Viana, A. P. (2016) Predição de ganhos genéticos via modelos mistos em progênies de café conilon. *Coffee Science*. 11:39-45.
- Cavalcante, N. R., Krause, W., Viana, A. P., Silva, C. A., Porto, K. K. X., Martinez, R. A. S. (2017) Anticipated selection for intrapopulation breeding of passion fruit. *Acta Sci. Agron.* 39: 143-148.
- 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.M., Moreira, C.N., Figueira, A.R., Correa, R.X. (2008) Detection of a resistance gradient to *Passion fruit woodiness virus* and selection of 'yellow' passion fruit plants under field conditions. *Genet. Mol. Res.*7: 1209-1216.
- Cerqueira-Silva, C.B.M., Cardoso-Silva, C.B., Nonato, J.V.A., Corrêa, R.X., Oliveira, A.C. (2009) Genetic dissimilarity of "yellow" and "sleep" passion fruit accessions based on the fruits physical-chemical characteristics. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 9: 210–218.
- Cerqueira-Silva, C. B., Santos, E. S., Souza, A. M., Mori, G. M., Oliveira, E. J., Corrêa, R. X., Souza, A. P. (2012) Development and characterization of microsatellite markers for the wild South American *Passiflora cincinnata* (Passifloraceae). *Am. J. Bot.* 99: 170-172.
- Cerqueira-Silva, C. B. M., Conceição, L. D. H. C. S., Souza, A. P., Corrêa, R. X. (2014a) A history of passion fruit woodiness disease with emphasis on the current situation in Brazil and prospects for Brazilian passion fruit cultivation. *Eur. J. Plant Pathol.* 139:261–270.
- Cerqueira-Silva, C. B., Santos, E. S., Vieira, J. G., Mori, G. M., Jesus, O. N., Corrêa, R.X., Souza, A.P. (2014b) 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., Santos, E.S., Jesus, O.N., Vieira, J.G., Mori, G.M., Corrêa, R.X., Souza, A.P. (2014c) Molecular genetic variability of commercial and wild accessions of passion fruit (*Passiflora* spp.) targeting ex situ conservation and breeding. *Int. J. Mol. Sci.* 15: 22933-22959.
- Cerqueira-Silva, C.B.M., Jesus, ON., Oliveira, E. J., Santos, E.S.L., Souza, A.P. (2015) Characterization and selection of passion fruit (yellow and purple) accessions based on molecular markers and disease reactions for use in breeding programs. *Euphytica.* 202: 345-359.

- Chagas, C.M., Rezende, J.A.M., Colariccio, A., Piza Junior, C. T., Lopes, S.R.G., Ferrari, J.T., Belluzi, B.M. (1992) Ocorrência do vírus do endurecimento do fruto do maracujazeiro (VEFM) no Estado de São Paulo. *Rev. Bras. Frutic.* 14: 187–190.
- Chaves, R.C., Junqueira, N.T.V., Manica, I., Peixoto, J.R., Pereira, A.V., Fialho, J.F. (2004) Enxertia de maracujazeiro-azedo em estacas herbáceas enraizadas de espécies de passifloras nativas. *Rev. Bras. Frut.* 26:120-123.
- Colariccio, A., Peruch, L.A.M., Galletti, S.R., Lombardi, R., Chagas, C.M. (2008) O endurecimento dos frutos do maracujazeiro associado a severas perdas no litoral norte de Santa Catarina. *Anais do 41º Congresso Brasileiro de Fitopatologia*, Belo Horizonte - MG, v.33 (suplemento), p.300.
- Conceição, L. D. H. C. S., Souza, M. M., Belo, G. D. O., Santos, S. F. D., Freitas, J. C. O. D. (2011) Hybridization among wild passionflower species. *Braz. J. Bot.* 34: 237-240.
- Correa, M. F., Pinto, A. P. C., Rezende, J. A. M., Harakava, R., Mendes, B. M. J. (2015) Genetic transformation of sweet passion fruit (*Passiflora alata*) and reactions of the transgenic plants to Cowpea aphid borne mosaic virus. *Eur. J. Plant. Pathol.* 143: 813-821.
- Costa, J. L., Jesus, O. N. D., Oliveira, G. A. F., Oliveira, E. J. D. (2012) Effect of selection on genetic variability in yellow passion fruit. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 12: 253-260.
- Costa, A.M., Lima, H.C., Cardoso, E.R., Silva, J.R., Padua, J.G., Faleiro, F.G., Pereira, R.C.A., Campos, G.A. (2015). Produção de Mudas de Maracujazeiro Silvestre (*Passiflora setacea*). *Embrapa Cerrados*. 1ªed, 6p (Comunicado técnico).
- Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S. (2006) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 585p.

- Cruz, C.D., Regazzi, A.J., Carneiro, P.C.S. (2012) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 4. ed. Viçosa: Editora UFV, 514p.
- Cruz Neto, A. J. D., Rosa, R. C. C., Oliveira, E. J. D., Sampaio, S. R., Santos, I. S. D., Souza, P. U., Passos, A.R., Jesus, O. N. D. (2016) Genetic parameters, adaptability and stability to selection of yellow passion fruit hybrids. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 16: 321-329.
- Cunha, M.A.P., Barbosa, L.V., Junqueira, N. T. V. (2004) Aspectos botânicos. In: Lima, A. A. (ed.) *Maracujá produção: aspectos técnicos*. Embrapa mandioca e Fruticultura Cruz das Almas. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, p.69-93.
- Di Piero, R.M., Rezende, J.A.M., Yuki, V.A., Pascholati, S.F. Delfino M.A. (2006) Transmissão do *Passion fruit woodiness virus* por *Aphis gossypii* (Glover) (Hemiptera: Aphididae) e colonização de maracujazeiro pelo vetor. *Neotrop. Entomol.* 35: 139-140.
- Di Piero, R.M., Novaes, Q. S., Pascholati, S.F. (2010) Effect of *Agaricus brasiliensis* and *Lentinula edodes* Mushrooms on the Infection of Passionflower with *Cowpea aphid-borne mosaic virus*. *Braz. Arch. biol. technol.* 53, 269-278.
- Doyle, J.J, Doyle, J.L. (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus.* 12: 13-15.
- 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 (2017) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *Lançamento da cultivar de maracujazeiro silvestre BRS Pérola do Cerrado*. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2015. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/1492806/embrapa-lanca-cultivar-de-maracuja-silvestre-brs-perola-do-cerrado>. (Acesso em 08 de agosto 2017).

- 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.
- Falconer, D.S. (1987) *Introdução à genética quantitativa*. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 279p.
- 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.
- Ferreira, F. M., Neves, L. G., Bruckner, C. H., Viana, A. P., Cruz, C. D., Barelli, M. A. A. (2010) Formação de supercaracteres para seleção de famílias de maracujazeiro amarelo. *Acta Sci. Agron.* 32: 247-254.
- Ferreira, J. B., Libano, A. M., Alves, R. U. (2016a) Determinação do polinizador efetivo de *Passiflora setacea* DC. (Passifloraceae). *Anais 67º Congresso Nacional de Botânica*, 32, Vitória: Anais 67º Congresso Nacional de Botânica.
- Ferreira, R. T., Viana, A. P., Silva, F. H. D. L. E., Santos, E. A., Santos, J. O. (2016b) Seleção recorrente intrapopulacional em maracujazeiro-azedo via modelos mistos. *Rev. Bras. Frutic.* 38: 158-166.
- Flora do Brasil 2020 em construção. *Passifloraceae*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB182>. (Acesso em 06 setembro de 2017).
- Fonseca, A.F.A., Sedyama, T., Cruz, C.D., Sakiyama, N.S., Ferrão, R.G., Ferrão, M.A.G., Bragança, S.M. (2004) Discriminant analysis for the classification and clustering of robusta coffee genotypes. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 4: 285-288.

- Fonseca, K.G., Faleiro, F.G., Peixoto, J.R., Junqueira, N.T.V., Silva, M.S., Bellon, G., Junqueira, K.P., Vaz, C.F. (2009) Análise da recuperação do genitor recorrente em maracujazeiro-azedo por meio de marcadores RAPD. *Rev. Bras. Frutic.* 31: 145–153.
- Freitas, J. C.O., Viana, A. P., Santos, E. A., Silva, F. H.L, Paiva, C. L., Rodrigues, R., Souza, M.M., Eiras, M. (2015) Genetic basis of the resistance of a passion fruit segregant population to *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). *Trop. Plant. Pathol.* 40: 291-297.
- Freitas, J. C.O., Viana, A. P., Santos, E. A., Paiva, C. L., Silva, F. H. L., Souza, M. M. (2016) Sour passion fruit breeding: Strategy applied to individual selection in segregating population of *Passiflora* resistant to *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). *Sci. Hortic.* 211: 241-247.
- Fuhrmann, E., Junqueira, N.T.V., Blum, L.E.B., Braga, M.W., Bellon, G., Junqueira, K.P. (2014) Reação de híbridos interespecíficos de *Passiflora* spp. a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. *Cienc. Rural.* 44: 1404-1410.
- Gepts, P. (2006) Plant genetic resources conservation and utilization: the accomplishments and future of a societal insurance policy. *Crop Sci.* 46: 2278-2292.
- Gibbs, A., Ohshima, K. (2010) Potyviruses and the digital revolution. *Annu. Rev. Phytopathol.* 48: 205–223.
- Gioria, R., Bosquê, G. G., Rezende, J. A. M., Amorim, L., Kitajima, E. W. (2000) Incidência de viroses de maracujazeiro na Alta Paulista-SP e danos causados pelo *Passion fruit woodiness virus*. *Fitopatol. Bras.* 25: 182-189.
- Gomes, V. M., Ribeiro, R. M., Viana, A. P., Souza, R. M., Santos, E. A., Rodrigues, D. L., Almeida, O. F. (2017) Inheritance of resistance to *Meloidogyne enterolobii* and individual selection in segregating populations of *Psidium* spp. *Eur. J. Plant. Pathol.* 148(3), 699-708.

- Gonçalves, G.M., Viana, A.P., Barros Neto, F.V., Pereira, M.G., Pereira, T.N.S. (2007) Seleção e herdabilidade na predição de ganhos genéticos em maracujá-amarelo. *Pesq. Agropec. Bras.* 42: 235-240.
- 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.
- Gonçalves, G. M., Viana, A.P., Amaral Junior, A.T.D., Resende, M.D.V.D. (2014) Breeding new sugarcane clones by mixed models under genotype by environmental interaction. *Sci. Agric.* 71: 66-71.
- Gonçalves, Z.S., Lima, L.K.S., Soares, T.L., Abreu, E F.M., Jesus Barbosa, C., Cerqueira-Silva, C.B.M., Jesus, O.N., Oliveira, E.J. (2018) Identification of *Passiflora* spp. genotypes resistant to *Cowpea aphid-borne mosaic virus* and leaf anatomical response under controlled conditions. *Sci. Hortic.* 231:166-178.
- Guimarães, T.G., Dianese, A.C., Oliveira, C.M., Madalena, J.M., Faleiro, F. G., Junqueira, N. T. V., Lima, H. C., Campos, G. A. 2013. *Comunicado Técnico: Recomendações Técnicas para o Cultivo de Passiflora setaceae cv. BRS Pérola do Cerrado.* Disponível em: <http://www.cpac.embrapa.br/publico/usuarios/uploads/lancamentoperola/comunicadorecomendacoes.pdf>. (Acesso em 15 outubro de 2017).
- IBGE (2017) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Produção agrícola municipal: culturas temporárias e permanentes.* Rio de Janeiro. Disponível em:<http://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/bibliotecacatalogo?view=detalhes&id=766> (acesso em 28 agosto 2017).
- Ince, A.G.; Karaca, M.; Onus, A.N. (2010) Polymorphic Microsatellite Markers Transferable Across *Capsicum* Species Genetic. *Plant Mol. Biol. Rep.* 28:285-291.

- INMET (2017) Instituto Nacional de Meteorologia. *Série Histórica - Dados Mensais*. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep> (acesso em 28 agosto 2017).
- Jesus, O.N., Soares, T.L., Oliveira, E.J., Santos, T.C.P., Farias, D.H., Bruckner, C.H., Novaes, Q.S. (2016) Dissimilarity based on morphological characterization and evaluation of pollen viability and in vitro germination in *Passiflora* hybrids and backcrosses. *Acta Hortic.* 29: 401-408.
- Jung, M.S., Vieira, E.A., Brancker, A., Nodari, R.O. (2008) Herdabilidade e ganho genético em caracteres do fruto do maracujazeiro-doce. *Rev. Bras. Frutic.* 30: 209-214.
- Junqueira, N.T. V., Braga, M.F., Faleiro, F.G., Peixoto, J.R., Bernaccl, 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.80-108.
- Junqueira, K.P., Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Bellon, G., Ramos, J.D., Braga, M.F., Souza, L.S. (2008) Confirmação de híbridos interespecíficos artificiais no gênero *Passiflora* por meio de marcadores RAPD. *Rev. Bras. Frutic.* 30: 191-196.
- Kitajima, E.W., Chagas, C.W., Crestani, O.A. (1986) Enfermidades de etiologia viral e associadas a organismos do tipo micoplasma em maracujazeiro no Brasil. *Fitopatol. Bras.* 11: 409-432.
- Krause, W., Neves, L. G., Viana, A. P., Araújo, C. A. T., Faleiro, F. G. (2012) Produtividade e qualidade de frutos de cultivares de maracujazeiro-amarelo com ou sem polinização artificial. *Pesq. Agropec. Bras.* 47: 1737-1742.
- Kumar, P., Gupta, V.K., Misra, A.K., Modi, D.R., Pandey, B.K. (2009) Potential of Molecular Markers in Plant Biotechnology, *Plant Omics.* 2:141-162.

- Lefebvre, V., Goffinet, B., Chauvet, J. C., Caromel, B., Signoret, P., Brand, R., Palloix, A. (2001) Evaluation of genetic distance between pepper inbred lines for cultivar protection purposes: comparison of AFLP, RAPD and phenotypic data. *Theor. Appl. Genet.* 103: 741-750.
- Lorencetti, C., Carvalho, F. I. F., Oliveira, A. C., Valério, I. P., Hartwig, I., Marchioro, V. S., Vieira, E. A. (2006) Retrocruzamento como uma estratégia de identificar genótipos e desenvolver populações segregantes promissoras em aveia. *Cienc. Rural.* 36:1118-1125.
- Macdougall, J.M., Feillet, C. (2004). Systematics. *In: Ulmer, T., Macdougall, J. M. (eds) Passiflora: Passionflowers of the Word.* Portland: Timber Press. 430 p.
- Maciel, S. C., Nakano, D. H., Rezende, J. A. M., Vieira, M. L. C. (2009) Screening of *Passiflora* species for reaction to *Cowpea aphid-borne mosaic virus* reveals an immune wild species. *Sci. Agric.* 66: 414–418.
- Máric, S., Bolaric, S., Martincic, J., Pejic, I., Kozumplik, V. (2004) Genetic diversity of hexaploid wheat cultivars estimated by RAPD markers, morphological traits and coefficients of parentage. *Plant Breed.* 123: 366-369.
- Martin, F.W., Nakasone, Y. (1970) The edible species of *Passiflora*. *Econ. Bot.* 24: 333-343.
- Meletti, L. M. M., Bruckner, C. H. (2001) Melhoramento genético. *In: Bruckner, C. H., Picanço, M. C. (ed.). Maracujá tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado.* Porto Alegre: Cinco Continentes, p. 345-385.
- Meletti, L.M.M., Soares-ScotT, M.D., Bernacci, L.C., Passos, I.R.S. (2005) Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. *In: Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Braga, M.F. (ed.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético.* Planaltina: EMBRAPA Cerrados, p.55-78.

- Meletti, L.M.M. (2011) Avanços na cultura do maracujá no Brasil. *Rev. Bras. Frutic.* Volume Especial: 83-091.
- Melo, G.A.R., Varassin, I.G., Vieira, A.O.S., Júnior, A.O.M., Neto, P.L., Bressan, D.F., Elbi, P.M., Moreira, P.A., Oliveira, P.C., Zanon, M.M.F., Androcioli, H.G., Ximenes, P.M.S., Alves, D.S.M., Cervigne, N.S., Prado, J., Ide, A.K. (2014) Polinização e polinizadores de maracujá no Paraná. In: Yamamoto, M., Oliveira, P.E., Gaglianone, M.C. (eds.). *Uso sustentável e restauração da diversidade dos polinizadores autóctones na agricultura e nos ecossistemas relacionados: planos de manejo*. Rio de Janeiro: Funbio, p. 207-254.
- Menezes Júnior, J. Â. N., Ramalho, M. A. P., Barbosa Abreu, Â.D.F. (2008) Seleção recorrente para três caracteres do feijoeiro. *Bragantia*, 67: 833-838.
- Monteiro-Hara, A., Jadão, A.S., Mendes, B.M.J., Rezende, J.A.M., Trevisan, F., Mello, A.P.O.A., Vieira, M.L.C., Meletti, L.M.M., Piedade, S.M.S. (2011) Genetic Transformation of Passion flower and Evaluation of R 1 and R 2 Generations for Resistance to *Cowpea aphid borne mosaic virus*. *Plant Dis.* 95: 1021–1025.
- Morais Silva, M. G., Viana, A. P. (2012) Alternativas de seleção em população de maracujazeiro-azedo sob seleção recorrente intrapopulacional. *Rev. Bras. Frutic.* 34:525-531.
- Moura, E. F., Pinto, J. E. B. P., Santos, J. D., Lameira, O. A. (2005) Genetic diversity in a jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf.) germplasm bank assessed by RAPD markers. *Rev. Bras. Plantas Med.* 7:1-8, 2005.
- 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.
- Nascimento, A.V.S., Souza, A.R.R., Alfenas, P.S., Andrade, G.P., Carvalho, M.G., Pio-Ribeiro, G., Zerbini, F.M. (2004) Análise filogenética de potyvírus causando

endurecimento dos frutos do maracujazeiro no Nordeste do Brasil. *Fitopatol. Bras.* 29:378-383.

Nascimento, W.M.O., Tomé, A.T., Oliveira, M.D.S.P., Müller, C.H. (2003) Seleção de progênes de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) quanto à qualidade de frutos. *Rev. Bras. Frutic.* 25: 186–188.

Neves, L. G., Bruckner, C. H., Cruz, C. D., Duarte, L. P., Krause, W. (2011) Predição de ganhos genéticos utilizando o Delineamento I em população de maracujazeiro. *Rev. Ciênc. Agron.* 42: 495-501.

Novaes, Q.S., Rezende, J.A.M. (1999) Possível aplicação do DAS-ELISA indireto na seleção de maracujazeiro tolerante ao 'Passionfruit Woodiness Virus'. *Fitopatol. Bras.* 24:76-79.

Nunes, T.S., Queiroz, L.P. (2006) Flora da Bahia: Passifloraceae. Sitientibus. *Ser. Ci. Biol*, 6:194-226.

Oliveira, E. J., Pádua, J. G., Zucchi, M. I., Vencovsky, R., Vieira, M. L. C. (2006) Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genet. Mol. Biol.* 29: 294-307.

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, E. J., Soares, T. L., Barbosa, C. J., Santos-Filho, H. P., Jesus, O. N. (2013a) Severidade de doenças em maracujazeiro para identificação de fontes de resistência em condições de campo. *Revi. Bras. Frutic.* 35: 485–492.

Oliveira, G. A. F., Pádua, J. G., Costa, J. L., Jesus, O. N. D., Carvalho, F. M. D., Oliveira, E. J. D. (2013b) Cross-species amplification of microsatellite loci

developed for *Passiflora edulis* Sims. in related *Passiflora* Species. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 56: 785-792.

Ortiz, D. C., Bohórquez, A., Duque, M. C., Tohme, J., Cuéllar, D., Vásquez, T. M. (2012) Evaluating purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims *f. edulis*) genetic variability in individuals from commercial plantations in Colombia. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 59:1089-1099.

Otoni, W.C., Casali, V.W.D., Power, J.B., Davey, M.R. (1996) Isolamento de protoplastos de mesófilo de *P. suberosa* L.: influência da idade das plantas matrizes. *Rev. Ceres.* 43:157-164.

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.

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.

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.

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.

Penha, H. A., Pereira, G. D. S., Zucchi, M. I., Diniz, A. L., Vieira, M. L. C. (2013) Development of microsatellite markers in sweet passion fruit, and identification of length and conformation polymorphisms within repeat sequences. *Plant Breed.* 132: 731-735.

- 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 do melhoramento*. 1. ed. Viçosa: Arca, p.177-204.
- 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. *Ann. Appl. Biol.* 162: 347-361.
- Pio-Ribeiro, G., Mariano, L.R. (1997) Doenças do maracujazeiro (*Passiflora* spp). In: Kitajima, H., Amorim, L., Bergamin Filho, A., Camargo, L. E. A., Rezende, J. A. M. Manual de Fitopatologia, volume 2: Doenças das plantas cultivadas. 3. ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, p.528-533.
- Pires, M. V., Almeida, A. A. F., Figueiredo, A. L., Gomes, F. P., Souza, M. M. (2012) Germination and seedling growth of ornamental species of *Passiflora* under artificial shade. *Acta Sci. Agron.* 34: 67-75.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics.* 155: 945-959.
- Preisigke, S.C., Martini, F.V., Rossi, A.A.B., Serafim, M.E., Barelli, M.A.A., Luz, P.B., Araújo, K.L., Neves, L.G. (2015) Genetic variability of *Passiflora* spp. against collar rot disease. *Aust J Crop Sci.* 9: 69-74.
- Rallo, P., Dorado, G., Martín, A. (2000) Development of simple sequence repeats (SSRs) in olive tree (*Olea europaea* L.). *Theor. Appl. Genet.* 101: 984-989.
- Ramos, H. C. C., Pereira, M. G., Silva, F. F., Viana, A. P. (2011) Seasonal and genetic influences on sexual expression in segregating papaya population derived from back cross. *Crop Breed. Appl.* 11: 97-105, 2011.

- Ramos, H. C. C., Pereira, M. G., Gonçalves, L. S. A., Berilli, A. P. C. G., Pinto, F. O., Ribeiro, E. H. (2012) Multivariate analysis to determine the genetic distance among backcross papaya (*Carica papaya*) progenies. *Genet. Mol. Res.* 11: 1280-1295.
- 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.
- Reis, R. V. D., Viana, A. P., Oliveira, E. J. D., Silva, M. G. D. M. (2012) Phenotypic and molecular selection of yellow passion fruit progenies in the second cycle of recurrent selection. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 12:17-24.
- Resende, M.D.V., Furlani-Júnior, E., Moraes, M.LT., Fazuoli, L.C. (2001) Estimativas de parâmetros genéticos e predição de valores genotípicos no melhoramento do cafeeiro pelo procedimento REML/BLUP. *Bragantia.* 60: 185-193.
- Resende, M.D.V. (2002). Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 975p.
- Rezende, J.A.M. (2006) Práticas culturais para prevenção e convivência com as viroses do maracujazeiro. In: Sampaio, A.C., Fumis, T.F., Rossi, A.D., Almeida, A.M., Garcia, M.J.M. (Eds.). *Manejo no controle do vírus do endurecimento dos frutos (PWV) do maracujazeiro*. Jaboticabal: Multipress, p.47-58.
- Resende, M.D.V., 2007. Matemática e Estatística na Análise de Experimentos e no Melhoramento Genético. Embrapa Florestas: Editora Colombo, Curitiba, 561p.
- Resende, M.D.V., (2016). Software Selegen-REML/BLUP: a useful tool for plant breeding. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 16: 330-339.
- Ribeiro, D. P., São José, A.R., Bomfim, M.P., Jesus, J.S., Jesus, J.S. (2014). Teor de carotenoides e características pós-colheita de frutos de *Passiflora setacea* D. C. *Rev. Iber. Tecnología Postcosecha.* 15: 145-152.

- Rizzi, L.C., Rabello, L. A., Morozini Filho, W., Savasaki, E.T., Kavati, R. (1998) *Cultura do maracujá-azedo*. Campinas: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, SAA, 23 p. (Boletim Técnico, 235).
- Rodrigues, D. L., Viana, A. P., Vieira, H. D., Santos, E. A., Silva, F. H. L., Santos, C. L. (2017) Contribution of production and seed variables to the genetic divergence in passion fruit under different nutrient availabilities. *Pesq. Agropec. Bras.* 52: 607-614.
- Santos, A. A., Penha, H. A., Bellec, A., de Freitas Munhoz, C., Pedrosa-Harand, A., Bergès, H., Vieira, M.L.C. (2014b) Begin at the beginning: A BAC-end view of the passion fruit (*Passiflora*) genome. *BMC genomics*, 15: 816-832
- Santos, E.A., Viana, A.P., Freitas, J.C.O., Souza, M.M., Paiva, C.L., Rodrigues, D.L., Tavares, R.F. (2014a) Phenotyping of *Passiflora edulis*, *P. setacea*, and their hybrids by a multivariate approach. *Genet. Mol. Res.*13: 9828-9845.
- Santos, E.A., Viana, A.P., Freitas, J.C.O., Silva, F.H.L., Rodrigues, R., Eiras, M. (2015a) 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. *Eur. J. Plant Pathol.* 143: 85-98.
- Santos, E.A., Viana, A.P., Freitas, J.C.O., Rodrigues, D.L., Tavares, R.F., Paiva, C.L., Souza, M.M. (2015b) Genotype selection by REML/BLUP methodology in a segregating population from an interspecific *Passiflora* spp. crossing. *Euphytica*. 204: 1-11.
- Santos, C.H.B., Cruz Neto, A. J., Junghans, T.G., Jesus, O.N., Girardi, E. A. (2016) Estádio de maturação de frutos e influência de ácido giberélico na emergência e crescimento de *Passiflora* spp. *Rev. Ciênc. Agron.* 47: 481-490.
- Shukla, D.D., Ward, C.W. (1988) Amino acid sequence homology of coat protein as a basis for identification and classification of the potyvirus group. *J. Gen. Virol.* 69:2703-2710.

- Silva, A.C, Lucena, C.C., Vasconcellos, A.S., Busquet, R.N.B. (2004) Avaliação das fenofases em espécies do gênero *Passiflora*. *Agronomia*. 38: 69-74.
- Silva, A.S., Oliveira, E.J., Haddad, F., Laranjeira, F. F., Jesus, O.N., Oliveira, S. A. S., Costa, M.A.P.C., Freitas, J.P.X. (2013). Identification of passion fruit genotypes resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*. *Trop. plant pathol.* 38:236-242.
- Silva, F.H.L., Viana, A.P., Ferreira, R.T., Freitas, J.C.O., Santos J.O., Rodrigues, D.L. (2014) Measurement of genetic diversity in progenies of sour passion fruit by Ward-MLM methodology: a strategy for heterotic group formation. *Ciênc. Agrotec.* 38:1234-1239.
- 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, 86p.
- 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.H.L., Viana, A.P., Santos, E.A., Freitas, J.C.O., Rodrigues, D. L., Amaral Júnior, A. T. (2017) Prediction of genetic gains by selection indexes and REML/BLUP methodology in a population of sour passion fruit under recurrent selection. *Acta Sci. Agron.* 39: 183-190.
- Soares-Scott, M.D., Meletti L.M., Recco-Pimentel S.M. (2003) Meiotic behaviour and pollen fertility in sexual and somatic hybrids of *Passiflora* species. *Caryologia*. 56:129-138.
- Song, Q.J., Marek, L.F., Shoemaker, R.C., Lark, K.G., Concibido, V.C., Delannay, X., Specht, J.E. (2004) A new integrated genetic linkage map of the soybean. *Theor. Appl. Genet.* 109: 122-128.

- Souza, J.S.I., Meletti, L.M.M. (1997) *Maracujá: espécies, variedades, cultivo*. Piracicaba: FEALQ, 179p.
- Souza, G.A., Carvalho, M.R.O., Martins, E.R., Guedes, R.N.C., Oliveira, L.O. (2008) Diversidade genética estimada com marcadores ISSR em populações brasileiras de *Zabrotes subfasciatus*. *Pesq. agropec. bras.* 43(7):843-849.
- Spooner, D., Van Treuren, R., Vicente, M.C. (2005). Molecular markers for genebank management. IPGRI. *Technical Bulletin nº 10*. International Plant Genetic Resources Institute. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 126p.
- Stangarlin, O.S., Spadotti, D.M.A., Rezende, J.A.M., Cezar, A.M.A. (2017) Detecção do Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) e seis cultivares de maracujá amarelo na região de Campo Grande e Três Lagoas, Mato Grosso do Sul. *50 Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Uberlândia / MG. Tropical Plant Pathology*. Brasilia/DF: Associação Brasileira de Editores Científicos.
- Taylor, R. H., Greber, R. S. (1973) *Passion fruit woodiness vírus*. Fainhani Royal: Commonwealth Mycological Institute.
- Ulmer, T., MacDougal, J.M. (2004) *Passiflora: Passionflowers of the World*. 276p.
- 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*. 3. ed. Cambridge: The MIT Press, 224p.
- Viana, A.P., Pereira, T.N.S., Pereira, M.G., Souza, M.M., Maldonado, J.F. M., Amaral Júnior, A.T. (2003) Simple and canonic correlation between agronomical and fruit quality traits in yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) populations. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 3: 133-140.
- 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. (eds.) *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina: Embrapa Cerrados, p.243-274.
- Viana, A.P., Resende, M.D.V. (2014) *Genética Quantitativa no Melhoramento de Fruteiras*. 1. ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 282p.
- Viana, A.P., Silva, F.H.L., Gonçalves, G.M., Silva, M.G.M., Ferreira, R. T., Pereira, T.N.S., Pereira, M.G., Amaral Júnior, A.T., Carvalho, G.F. (2016) UENF Rio Dourado: a new passion fruit cultivar with high yield potential. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 16: 250-253.
- Viana, A.P., e Silva, F.H.L., Glória, L.S., Ribeiro, R.M., Krause, W., Boechat, M.S.B. (2017) Implementing genomic selection in sour passion fruit population. *Euphytica*. 213:228.
- Vianna-Silva, T., Lima, R.V., Azevedo, I.G., Rosa, R.C.C., Souza, M.S., Oliveira, J.G. (2010) Determinação da maturidade fisiológica de frutos de maracujazeiro-amarelo colhidos na região Norte do Estado do Rio de Janeiro. *Rev. Bras. Frutic.* 32:57–66.
- Vieira, L.M., Pereira, W.V.S., Oliveira, T.G.S., Aquino, F.F., Ribeiro, L.M., Mercadante-Simões, M.O. (2008). Análise Biométrica de Frutos e Sementes de *Passiflora setacea*. *IX Simpósio Nacional do Cerrado: Desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais*, 9, Brasília: Simpósio Nacional do Cerrado, 6 p.
- Vivas, M., Silveira, S. F., Viana, A. P., Amaral Junior, A. T., Cardoso, D. L., Pereira, M. G. (2014) Efficiency of circulant diallels via mixed models in the selection of papaya genotypes resistant to foliar fungal diseases. *Genet. Mol. Res.*13: 4797-4804.
- Wetzel, M.M.V.S., Gimenes, M.A., Pádua, J.G., José, S.C.B.R., Neto, L.G.P. Conservação de espécies silvestres com potencial de utilização em programas de pré-melhoramento na coleção base da Embrapa. Lopes, M. A., Fávero A.

P., Ferreira, M.A.J.F., Faleiro, F.G., Folle, F.M., Guimarães, E.P. (Eds.) *Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso*. Brasília: Embrapa Informações tecnológicas, p. 102-122.

Yuki, V.A., Mizote, F.A., Narita, N., Hojo, H., Hojo, H., Delfino, M.A., Oliveira, D.A. (2006) Epidemiologia do vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro na região produtora da Alta Paulista, SP. *Summa Phytopathol.* 32:19, suplemento.

Yamashiro, T., Chagas, C. M. (1979). Ocorrência de grave virose em maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.), no Estado da Bahia. *Congresso Brasileiro de Fruticultura*, 5, Pelotas: SBF, p.915–917.

Zeraik, M.L., Pereira, C.A.M., Zuin, V.G., Yariware, J.H. (2010) Maracujá: um alimento funcional? *Rev. Bras. Farmacogn.* 20: 459-471.

Zerbini, F.M., Alfenas, P.F., Andrade, E.C. (2005) O silenciamento de RNA como um mecanismo de defesa de plantas a vírus. *RAPP.* 13:191-244.