

PROSPECÇÃO DENTRO DE FAMÍLIAS DE RETROCRUZAMENTO  
EM *Passiflora*: IMPLICAÇÕES PARA O MELHORAMENTO  
VISANDO RESISTÊNCIA AO CABMV

**DEURIMAR HERÊNIO GONÇALVES JÚNIOR**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
JULHO – 2019

PROSPECÇÃO DENTRO DE FAMÍLIAS DE RETROCRUZAMENTO  
EM *Passiflora*: IMPLICAÇÕES PARA O MELHORAMENTO  
VISANDO RESISTÊNCIA AO CABMV

**DEURIMAR HERÊNIO GONÇALVES JÚNIOR**

“Dissertação 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 Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas.”

Orientador: Prof. Alexandre Pio Viana

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
JULHO – 2019

### FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

G635

Gonçalves Júnior, Deurimar Herênio.

PROSPECÇÃO DENTRO DE FAMÍLIAS DE RETROCRUZAMENTO EM *Passiflora* : IMPLICAÇÕES PARA O MELHORAMENTO VISANDO RESISTÊNCIA AO CABMV / Deurimar Herênio Gonçalves Júnior. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

79 f. : il.

Bibliografia: 53 - 66.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2019.  
Orientador: Alexandre Pio Viana.

1. Melhoramento genético do maracujazeiro azedo. 2. Melhoramento de *Passiflora Edulis*. 3. Resistência ao CABMV. 4. Virose do endurecimento dos frutos. 5. Modelos mistros REML/BLUP. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 631.5233

PROSPECÇÃO DENTRO DE FAMÍLIAS DE RETROCRUZAMENTO  
EM *Passiflora*: IMPLICAÇÕES PARA O MELHORAMENTO  
VISANDO RESISTÊNCIA AO CABMV

**DEURIMAR HERÊNIO GONÇALVES JÚNIOR**

“Dissertação 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 Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas”

Aprovada em 25 de julho de 2019.

Comissão Examinadora:



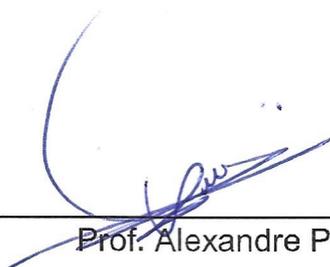
Prof.<sup>a</sup> Rosana Rodrigues (D.Sc., Produção Vegetal) - UENF



Prof. Geraldo de Amaral Graviña (D.Sc., Fitotecnia) - UENF



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



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

É chegado ao fim um ciclo de muito aprendizado, felicidades e frustrações. Sendo assim, dedico este trabalho a todos que fizeram parte desta etapa da minha vida. Em especial minha família que de longe me apoiou incondicionalmente durante esta fase. Dedico a Deus por ter iluminado o meu caminho, aos meus professores por todo o ensinamento e a todos os meus amigos que me apoiaram nos momentos mais difíceis

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente ao criador de tudo, por ter iluminado o meu caminho, me fortalecido, concedido sabedoria e coragem para seguir em frente sempre.

À minha família que sempre me apoiou durante essa jornada.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela formação acadêmica que me fará ultrapassar inúmeras fronteiras no campo profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pela concessão da bolsa e auxílio financeiro durante o curso, e para a execução do projeto de pesquisa.

Ao meu orientador professor Alexandre Pio Viana, pelo empenho dedicado ao projeto de pesquisa, pelo suporte no pouco tempo que lhe coube, pelas suas correções, incentivos e, principalmente, pela confiança depositada em mim.

Às professoras conselheiras Dra. Rosana Rodrigues e Ph.D. Telma Nair Santana Pereira, pelo tempo, motivação, conselhos e esforço dedicados a este projeto, cujos conhecimentos transmitidos e total disponibilidade foram notáveis. As suas disponibilidades irrestritas, as suas formas exigentes, críticas e criativas de arguir, bem como as ideias apresentadas, facilitaram o alcance dos objetivos propostos nesta dissertação.

Sobretudo um agradecimento especial aos meus amigos Natan, Moisés e Sandra pelo apoio e paciência em sempre tirar minhas dúvidas.

À Dra. Eileen e Dra. Sandra, por me orientarem na pesquisa e por todo conhecimento passado e pelos aconselhamentos.

Gostaria também de deixar o meu profundo agradecimento aos professores da UENF por me proporcionarem além do conhecimento racional, aprendizados sobre manifestação do caráter, e afetividade e da educação no processo de formação acadêmica e profissional, por sua dedicação, não somente por terem me ensinado, mas por terem me feito aprender.

A todos os colegas e amigos que fiz no LMGV (P8) que sempre me ajudaram no experimento, pela amizade e pelos inúmeros momentos de descontração.

Ao Sr. Geraldo, José, Istenio e Durval, por toda a colaboração e incansável ajuda no experimento.

Ao secretário Daniel, pela indiscutível eficiência, pelos aconselhamentos, por estar sempre disponível em nos ajudar e também pelos 'puxões de orelha'.

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

A todos que contribuíram direta ou indiretamente, muito obrigado!

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vii
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
2.1. Geral.....	4
2.2. Específicos:.....	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1. Aspectos gerais do gênero <i>Passiflora</i> .....	5
3.2. Autoincompatibilidade no maracujazeiro-azedo.....	7
3.3. Importância econômica e social do maracujazeiro-azedo.....	9
3.4. Virose do endurecimento dos frutos.....	10
3.5. Melhoramento de maracujazeiro-azedo visando resistência ao CABMV.....	12
3.6. Componentes de variância e parâmetros genéticos.....	13
3.7. Modelos mistos e Método REML/BLUP.....	16
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.1. Descrição das famílias avaliadas.....	19
4.2. Caracterização do ambiente e execução experimental.....	22
4.3. Avaliação experimental.....	24
4.3.1. Resistência ao CABMV.....	24
4.3.2. Características produtivas avaliadas.....	27

4.4. Análise dos dados.....	28
4.5. Seleção simultânea de características.....	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5.1. Componentes de variância e parâmetros genéticos.....	30
5.2. Seleção de genótipos e estimativa de ganho genético por BLUP.....	36
5.3. Seleção simultânea de características via índice de seleção aditivo, multiplicativo e soma de rank adaptado de Mulamba e Mock.....	48
6. CONCLUSÃO.....	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53

## RESUMO

GONÇALVES JÚNIOR, Deurimar Herênio; M.Sc. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; julho de 2019; PROSPECÇÃO DENTRO DE FAMÍLIAS DE RETROCRUZAMENTO EM *Passiflora*: IMPLICAÇÕES PARA O MELHORAMENTO VISANDO RESISTÊNCIA AO CABMV; Orientador: Prof. Alexandre Pio Viana; Conselheiras: Prof.<sup>a</sup>. Rosana Rodrigues e Prof.<sup>a</sup>. Telma Nair Santana Pereira.

A virose do endurecimento dos frutos é hoje a doença viral mais prejudicial à cultura do maracujazeiro-azedo. Considerando sua importância econômica no Brasil, tanto para a produção de suco industrializado quanto para o consumo da fruta fresca, é indiscutível que os programas de melhoramento do maracujazeiro-azedo invistam no desenvolvimento de cultivares resistentes ao *cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV), e produtivas. Para atender essa necessidade, está em progresso na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) o programa de melhoramento que visa obter cultivares resistentes a essa doença. Os objetivos deste estudo foram: a) avaliar famílias de irmãos completos de maracujazeiro quanto à resistência ao CABMV e às características agrônomicas; b) estimar parâmetros genéticos e valores genotípicos pelo procedimento da máxima verossimilhança restrita e melhor predição linear não-viesada (REML/BLUP) nessas famílias. Aplicar índices de seleção para as características simultaneamente e selecionar genótipos resistentes e com características agrônomicas desejáveis para o avanço no programa de melhoramento genético do maracujazeiro-azedo. O ensaio foi realizado na

unidade experimental localizada na Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo, município de Campos dos Goytacazes – RJ. Foram avaliadas três famílias de irmãos completos provenientes da recombinação dos genitores RC<sub>1</sub> 293, 355, 501 e 516. As plantas foram conduzidas em espaldeira vertical, com quatro repetições, em cada parcela contendo 20 plantas por família, seus genitores, progenitores e os genótipos *Passiflora edulis* e *Passiflora setacea*. A resistência foi avaliada, quinzenalmente, através dos sintomas visuais do CABMV, durante 16 meses por meio de escala descritiva de notas. Com os dados de severidade foi realizada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Foram avaliadas também as características produtivas e de qualidade de fruto: número de frutos por plantas, produção total (g.planta<sup>-1</sup>); diâmetro longitudinal do fruto (mm); diâmetro transversal do fruto (mm), massa média do fruto (g), massa média de polpa (g), rendimento de polpa (%), espessura da casca (mm) e teor de sólidos solúveis totais (°Brix). Com os dados coletados foi estimado os componentes de variância, os parâmetros genéticos, os valores genéticos, ganhos e nova média predita, via metodologia de modelos mistos REML/BLUP. A seleção dos genótipos para compor a recombinação para o próximo ciclo de seleção recorrente também foi apoiada através da utilização de três metodologias de índice de seleção simultânea de características: os índices Multiplicativo, Aditivo e o rank médio adaptado de Mulamba e Mock. Os índices de seleção simultânea de características foram feitos individualmente para cada genótipo. Observou-se que a herdabilidade com base na média da família apresentou valores superiores aos encontrados para a herdabilidade individual restrita para AACPD, cujo valor foi 0,63. Da mesma forma, a herdabilidade com base na média das famílias foi maior que a herdabilidade individual restrita para as demais características avaliadas, que variou de 0,017 para teor de sólidos solúveis totais a 0,91 para espessura de casca. Pode-se obter ganhos pela estimação dos BLUPs individuais para todas as características avaliadas. Entre os índices de seleção simultânea de características empregados para a obtenção dos ganhos genéticos, o rank médio adaptado de Mulamba e Mock apresentou ganhos satisfatórios e equilibrados. Do total de 87 genótipos avaliados que produziram frutos, foram selecionados os genótipos 167, 24, 34, 62 e 231. Estes foram os mais promissores para cada variável analisada, não apresentando sintomas do CABMV nos frutos, e apresentando uma arquitetura desejável. Os resultados obtidos com a seleção

dos melhores indivíduos avaliados para as características agronômicas e resistência ao CABMV, possibilitam delinear os rumos do programa de melhoramento genético, visando à resistência ao CABMV na Região Norte Fluminense e prosseguindo com a obtenção da população do próximo ciclo de seleção recorrente.

## ABSTRACT

GONÇALVES JÚNIOR, Deurimar Herênio; M.Sc. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; July 2019; PROSPECTING INSIDE OF BACKCROSS FAMILIES IN *Passiflora*: IMPLICATIONS FOR BREEDING AIMING TO CABMV RESISTANCE; Adviser: Prof. Alexandre Pio Viana; Committee Members: Prof<sup>a</sup>. Rosana Rodrigues e Prof<sup>a</sup>. Telma Nair Santana Pereira.

The passion fruit woodiness disease is now the most harmful viral disease to the passion fruit cultivation. Considering the economic importance in Brazil for both the production of industrial juice and the consumption of fresh fruit, it is undisputed that the passion fruit breeding programs invest in the development of cultivars resistant to *cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) and productive at the same time. To meet this need, the breeding program that aims to obtain cultivars resistant to this disease is in progress at the *Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro*. Thus, the objectives of this study were to evaluate passion fruit full-sibs families regarding resistance to CABMV and agronomic characteristics, to estimate genetic parameters and genotypic values by restricted maximum likelihood/best linear unbiased prediction (REML/BLUP) procedure in these families and to select resistant genotypes with agronomic characteristics desirable for the advancement in the passion fruit genetic breeding program. The experiment was carried out at the experimental unit located at the *Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo*, at the Campos dos Goytacazes city, Rio de Janeiro, Brazil. The three families evaluated are from the recombination of RC<sub>1</sub>

293, 355, 501 and 516 genotypes. The plants were conducted in vertical, with four replications, in each plot containing 20 plants per family, their parents and the genotypes *Passiflora edulis* and *Passiflora setacea*. Resistance was assessed by CABMV visual symptoms fortnightly for 16 months using a descriptive scale. With the severity data, the area under the disease progress curve (AUDPC) was performed. Fruit quality and productive characteristics were also evaluated: number of fruits per plants, total yield (g.plant<sup>-1</sup>); longitudinal diameter of the fruit (mm); (g), average pulp mass (g), pulp yield (%), peel thickness (mm) and total soluble solids content (°Brix). With the collected data, was estimated the variance components, the genetic parameters, the genetic values, the gains and the new predicted average via mixed model methodology REML/BLUP. The selection of genotypes to compose the recombination for the next recurrent selection cycle was also supported through the use of three multiple trait selection index methodologies: the multiplicative, additive, and the adapted average rank from Mulamba and Mock. Simultaneous trait selection indices were made individually for each genotype. Heritability at family mean level were higher than those found for individual heritability in the restricted sense for AUDPC, which was 0.63. Similarly, the Heritability at family mean level was higher than the individual heritability in the restricted sense for the other characteristics evaluated, which ranged from 0.017 for total soluble solids content to 0.91 for peel thickness. Gains could be obtained by estimating individual BLUPs for all characteristics evaluated. Among the multiple trait selection index employed to obtain genetic gains, the adapted average rank from Mulamba and Mock presented satisfactory and balanced gains. From the 87 genotypes evaluated, which produced fruits, genotypes 167, 24, 34, 62 and 231 were selected. These were the most promising for each variable analyzed, showing no symptoms of CABMV in fruits and having a desirable plant architecture. The results obtained with the selection of the best evaluated individuals for agronomic characteristics and resistance to CABMV make it possible to delineate the directions of the genetic breeding program aiming at CABMV resistance in the North Fluminense Region and proceeding to obtain the population of the next recurrent selection cycle.

## 1. INTRODUÇÃO

A família *Passifloraceae*, pertencente à ordem Malpighiales, abriga o gênero *Passiflora* e o tem como o maior representante em número e diversidade de espécies, com cerca de 513 espécies (The Plant List, 2013). O Brasil e a Colômbia, em particular, são centros de diversidade, aproximadamente 60% das espécies de *Passiflora* são encontradas nesses países, sendo cerca de 147 no Brasil e 162 na Colômbia. Todavia, dessas, 85 são endêmicas do Brasil (Pérez, 2007; Ocampo et al., 2010; Flora Brasil, 2019).

Incluída dentro da família *Passifloraceae*, também se encontra a espécie de maior importância econômica, o maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims). O maracujazeiro-azedo é uma frutífera cultivada em diferentes regiões tropicais do mundo. O Brasil é o principal produtor e consumidor da fruta, com produtividade anual por volta de 14 t ha<sup>-1</sup> (IBGE, 2017). Apesar de sua posição de destaque no mercado internacional, a produção brasileira tem variado muito nos últimos anos.

Diversas razões contribuem para essa variação, como a pouca utilização de tecnologia de produção e a falta de cultivares produtivas e resistentes a doenças. Ressalta-se que as doenças estão entre os principais fatores que limitam a expansão das áreas cultivadas, em alguns casos, causando perdas totais nas lavouras (Freitas et al., 2016). Entre essas doenças, pode-se citar: a antracnose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*), morte prematura, associada aos agentes fitopatológicos *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*,

*Fusarium solanii*, *Colletotrichum gloeosporioides*, fungos do gênero *Phytophthora* e nematoides.

Cerca de sete doenças causadas por vírus já foram relatadas no Brasil, incluindo a virose do endurecimento dos frutos, causada pelo agente patogênico *Cowpea aphid-borne mosaic virus* – CABMV, como uma das mais limitantes. Esse é portanto, um dos principais desafios enfrentado pelos programas de melhoramento de maracujá (Gioria et al., 2000; Fisher et al., 2005; Fischer e Rezende, 2008; Cerqueira-Silva et al., 2014).

Os principais sintomas induzidos pelo CABMV são a presença de mosaico acompanhado, em alguns casos, de enrugamento, bolhas e distorção foliar. A doença causa a redução da produção quantitativa e qualitativa, já que os frutos ficam menores, deformados e endurecidos, além de apresentarem endocarpo expandido e redução na produção de polpa. Os frutos são prejudicados por esses sintomas e tornam-se inviáveis para o consumo (Gioria et al., 2000; Fisher et al., 2005). Além da transmissão por afídeos, o CABMV pode ser transmitido por enxertia e durante os tratos culturais de poda de formação e desbaste (Silva et al., 2016b). O controle da virose do endurecimento dos frutos nas áreas produtoras não é eficiente. Isso ocorre principalmente porque sua transmissão é realizada durante as picadas de prova, efetuadas por diversas espécies de afídeos (Aphididae), e não se recomenda o controle químico de vetores para essa virose, uma vez que o vírus é transmitido por meio de uma única picada de prova do vetor (Meletti et al., 2005; Di Piero et al., 2006).

Um método alternativo para minimizar os danos causados pela doença seria o uso de variedades resistentes ao vírus (Santos et al., 2015a). Contudo, apesar dos esforços de pesquisadores em programas de melhoramento genético de maracujá, ainda não existem variedades comerciais resistentes ao CABMV (Correa et al., 2015), não obstante haja relatos de resistência em várias espécies silvestres, por exemplo, *Passiflora suberosa*, *P. malacophylla*, *P. setacea* e *P. cincinnata* (Maciel et al., 2009; Oliveira et al., 2013; Santos et al., 2015a; Freitas et al., 2015; Gonçalves et al., 2018).

O método de retrocruzamento é muito utilizado em programas de melhoramento com o objetivo de transferir um, ou poucos, alelos de interesse para uma cultivar elite, e após sucessivas gerações de retrocruzamento, recuperar o genótipo do genitor recorrente, a cultivar elite, considerada superior

em um grande número de atributos, mas deficiente em uma ou poucas características (Borém et al., 2017). Esta técnica tem sido utilizada em várias culturas para introgridir genes de resistência à doenças e pragas (Fonseca et al., 2009; Ramos et al., 2011; Antonio et al., 2012; Fuhrmann et al., 2014).

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. Nesses estudos foram observados e obtidos alguns híbridos interespecíficos (*P. edulis* x *P. setacea*) resistentes ao CABMV. No entanto, as características agronômicas desejáveis precisavam ser recuperadas, e para isso houve a necessidade de se realizar o retrocruzamento. Neste caso, Preisigke (2017) realizou o estudo da primeira geração de retrocruzamento visando o interesse em melhores características agronômicas, mas mantendo a resistência ao vírus.

Este estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar famílias de irmãos completos, oriundas da recombinação de indivíduos selecionados da população RC<sub>1</sub> (quanto à resistência ao CABMV) e às características morfoagronômicas via metodologia REML/BLUP (máxima verossimilhança restrita/melhor predição linear não-viesada), buscando avançar dentro do programa de melhoramento genético de maracujazeiro da UENF.

## 2. OBJETIVOS

**2.1. Geral:** Investigar a efetividade em recombinar genótipos RC<sub>1</sub> na introgressão e aumento da frequência de alelos para a resistência ao CABMV, e avaliar as características produtivas e de qualidade de fruto.

**2.2. Específicos:**

- i) Avaliar a resistência ao CABMV utilizando uma escala de notas nas folhas jovens, em toda a planta e nos frutos;
- ii) Estimar os parâmetros genéticos e valores genotípicos pelo procedimento REML/BLUP, em nível de planta dentro de progênes de irmãos completos, para o caráter resistência ao CABMV e para as características agronômicas;
- iii) Selecionar genótipos com base na resistência genética ao CABMV e às características agronômicas, simultaneamente, através de índices de seleção;
- iv) Selecionar genótipos com base na resistência genética ao CABMV e às características agronômicas para serem recombinados e dar origem ao ciclo 1 de seleção recorrente.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Aspectos gerais do gênero *Passiflora*

Maior representante da família Passifloraceae, ordem Malpighiales (Judd, 1999), *Passiflora* é um grande e diversificado gênero com cerca de 513 espécies aceitas, 195 ainda não resolvidas, e 477 que são apenas sinônimos, das mais de 1000 espécies descritas (The Plant List, 2013). O gênero é dividido em quatro subgêneros: *Astrophea* (DC.) Mast., *Deidamioides* (Harms) Killip, *Decaloba* (DC.) Rchb. e *Passiflora* L. Todavia, resultados de análises filogenéticas indicam a existência de um quinto subgênero: *Thyphostemmatoides* (Feuillet e MacDougal, 2004; Freitas, 2011; Muschner et al., 2012).

A distribuição das espécies do gênero *Passiflora* ocorre principalmente por toda a América Central e do Sul, mas algumas espécies são endêmicas da América do Norte, Sudeste Asiático, Pacífico e da Austrália, sendo o Brasil e a Colômbia, com cerca de 147 e 162 espécies, respectivamente, os países com maior número de espécies nativas e os principais centros de diversidade do gênero (Bernacci, 2003; Dhawan et al., 2004; Ocampo et al., 2010; 2013; Krosnick et al., 2013; The Plant List, 2013; Bernacci et al., 2015). Segundo Muschner et al. (2012), ancestrais de *Passiflora* originários da África dispersaram-se para a Europa e Ásia, e assim chegaram ao continente Americano.

As plantas do gênero *Passiflora* são em sua maioria plantas lianas herbáceas, lenhosas ou raramente arbustivas. Possuem gavinhas que se

desenvolvem nas axilas das folhas decorrentes de pedicelos estéreis e são ausentes em espécies lenhosas. Suas folhas são, na maioria das vezes, alternadas, geralmente simples: inteiras, lobadas ou digitadas. Estípulas estão comumente presentes na base dos pecíolos (Cunha et al., 2002; Pérez, 2007). As plantas do gênero *Passiflora*, via de regra, possuem caule cilíndrico ou quadrangular, ramificado, liso, pouco achatado, anguloso, suberificado, glabro ou piloso, apresentando hábito trepador, e por esse motivo são delgados, pouco lenhosos e necessitam de um suporte para manterem-se eretas, pois sempre crescerem em direção à luz. O sistema radicular é superficial, do tipo axial, podendo desenvolver raízes adventícias quando as plantas são propagadas por estacas (Ulmer e MacDougal, 2004; Faleiro e Junqueira, 2016). Os representantes do gênero possuem estípulas membranáceas ou subcoriáceas, às vezes decíduas; pedicelo articulado abaixo da base do hipanto. A corona é a característica mais marcante do gênero *Passiflora* (Bernacci, 2003) (Figura 1).



**Figura 1:** (A) *Passiflora edulis* Sims. Fonte: West African Plants, 2010. (B) *Passiflora setacea*. Fonte: EMBRAPA Cerrados, 2003.

Os frutos são usualmente bagas indeiscentes, ou cápsula carnosa 3-4-valvar, globosos ou ovoides, raramente fusiforme, possuem coloração variada, podendo ser amarela, vermelha, verde e roxa (Bernacci, 2003), exceto a espécie *P. capsularis* que possui frutos deiscentes (Bernacci, 2003) (Figura 1B). As sementes são comprimidas, reticuladas, pontuadas ou transversalmente alveoladas, envolvidas por um arilo mucilaginoso, endosperma oleaginoso, nuclear. São do tipo ortodoxas ou ortodoxas intermediárias (Bernacci, 2003).

Sendo plantas hermafroditas ou andromonóicas, as flores das espécies de *Passiflora* surgem isoladamente nas axilas das folhas, na região terminal dos ramos novos. Após o surgimento das primeiras flores o processo continua indefinidamente, seguido do crescimento dos ramos. Na axila das folhas onde já houve formação de flores, não surgirão novas (Kavati, 1998; Vasconcellos e Duarte Filho, 2000). Os estigmas das flores das espécies de *Passiflora* são situados no ápice do androginóforo, as anteras são basalmente localizadas (Suassuna et al., 2003). Por serem grandes, coloridas, apresentarem odores fortes e possuírem néctar em abundância na base da coroa, as flores das plantas do gênero *Passiflora* são atrativas para vetores de pólen (abelhas, lepdópteros, morcegos e outros), o que confirma dependência da polinização cruzada (Hoffmann et al., 2000; Ulmer e MacDougal, 2004). Entretanto, existem algumas espécies autógamas, como é o caso da *P. capsularis* (Faria e Stehmann, 2010).



**Figura 2:** (A) *Passiflora capsularis*. Fonte: Colecionador de Frutos, 2019. (B) *Passiflora alata*. Fonte: Mercado Livre, 2010.

### 3.2. Autoincompatibilidade no maracujazeiro-azedo

Considerando a grande diversidade de espécies de *Passiflora* no Brasil e sua importância econômica, é necessário maior conhecimento da biologia floral e reprodutiva para conservação de germoplasma e obtenção de novas combinações híbridas em programas de melhoramento para fins agrônômicos e/ou ornamentais (Das et al., 2013; Madureira et al., 2014). A maioria das

espécies de *Passiflora* apresenta autoincompatibilidade (SI) e, portanto, depende da polinização cruzada para a produção de frutos (Soares et al., 2018). A autoincompatibilidade é um mecanismo genético nas angiospermas que impede a autofecundação (Tsuchimatsu e Shimizu, 2013; Madureira et al., 2014), e é um dos mecanismos mais importantes para promover a fecundação cruzada nas angiospermas. No melhoramento de plantas, a SI representa um obstáculo para a criação de linhagens puras, pois impede a autopolinização, além disso, os cruzamentos entre genótipos com o mesmo alelo S também não ocorrem (Chen et al., 2012).

No caso do maracujazeiro-azedo, o sistema da autoincompatibilidade é classificado de acordo como o nível de controle do fenótipo da incompatibilidade, como homomórfico, onde não apresenta barreira física para evitar a autopolinização, mas o tubo polínico incompatível deixa de crescer antes de fertilizar o óvulo. Este tipo de SI é, em muitos casos, controlado geneticamente por um único *locus* multialélico, o *locus-S*, denominado como o subgrupo SI esporofítica (de Nettancourt, 1997; Takayama et al., 2000; Bruckner et al., 2015). No entanto, foi proposto que, no caso do maracujazeiro-azedo, exista também a presença de um *locus* gametofítico associado ao sistema esporofítico (Suassuna et al., 2003).

Apesar dos detalhes conhecidos em alguns casos específicos, como em *Brassica*, ainda existe uma grande lacuna entre o conhecimento teórico e a aplicação prática da SI nos programas de melhoramento de plantas. Sabe-se ainda muito pouco, principalmente, sobre os mecanismos celulares e genéticos pelos quais os órgãos femininos reconhecem genótipos de pólen específicos no maracujá (Madureira et al., 2014).

No que diz respeito às plantas alógamas, uma das técnicas mais adequadas é a produção de híbridos a partir de linhas puras, o que permite explorar a heterose. No entanto, devido à presença da SI no maracujá, este método é complexo, uma vez que o mecanismo da SI é caracterizado pela rejeição do pólen da mesma planta (Madureira et al., 2014).

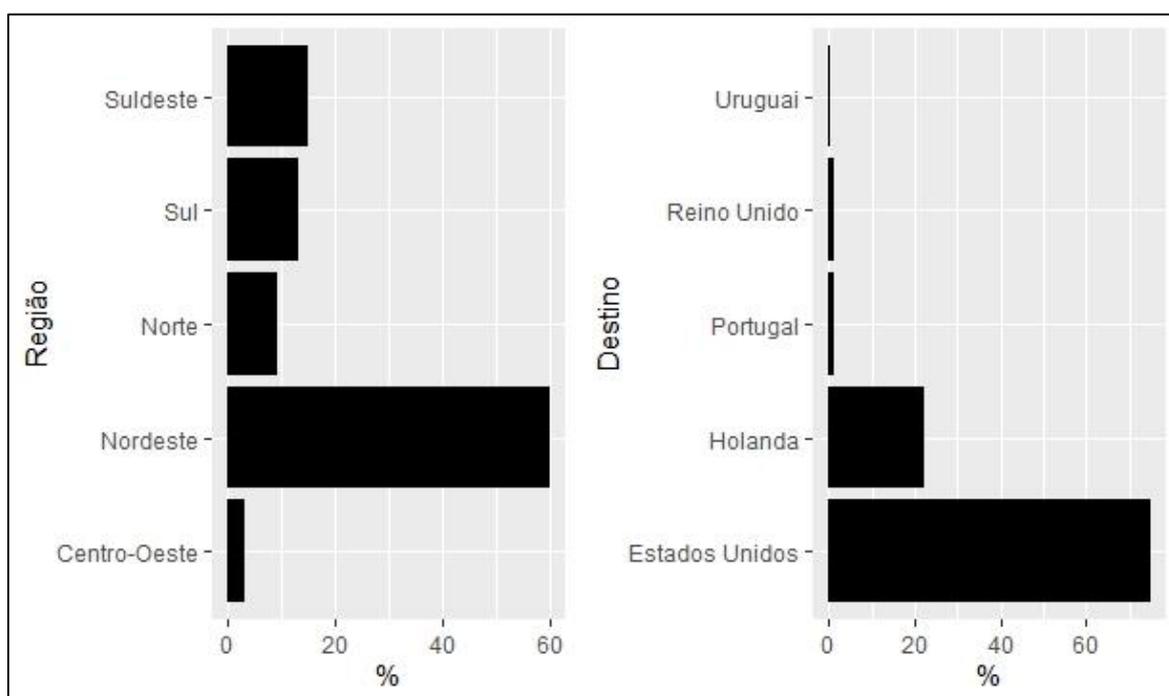
Em razão da SI presente no maracujazeiro-azedo e da complexidade envolvida no mecanismo, o melhoramento dessa espécie é realizado por métodos que aumentam a frequência de alelos favoráveis por meio de procedimentos de

seleção, como seleção recorrente e seleção com testes de progênies (Bruckner et al., 2005).

### 3.3. Importância econômica e social do maracujazeiro-azedo

Os frutos e derivados das espécies do gênero *Passiflora* são comumente usados como plantas ornamentais e medicinais (Pacheco et al., 2016). Nas duas últimas décadas, o maracujazeiro-azedo assumiu grande relevância devido sua importância social e econômica no país, através da crescente demanda da fruta fresca e com apoio da agroindústria (Paiva et al., 2014).

No Brasil, a produção da fruta destaca-se na região Nordeste, representando cerca de 60% da produção nacional, seguida das regiões Sudeste, Norte, Sul e Centro-Oeste, com 15%, 9%, 13% e 3% da produção nacional, respectivamente (Figura 3) (IBGE, 2017). Na região Sudeste, o maracujazeiro é uma das oito espécies frutíferas mais cultivadas no sistema extensivo, sendo precedido apenas pelas culturas da laranja, banana, limão, manga, tangerina, abacaxi e uva (Sousa et al., 2008).



**Figura 3:** Participação na da produção de maracujá em percentual, distribuído nas cinco regiões brasileiras no ano de 2017 e destino das exportações brasileiras por volume de suco de maracujá com adição de açúcar e outros edulcorantes ou não em 2017. Fonte: IBGE - Produção Agrícola Municipal, 2017; Comex Stat, 2017.

Em relação à exportação de maracujá, o Brasil ainda apresenta uma posição incipiente nesse aspecto, pois a maior parte do maracujá produzido abastece o mercado interno, dividido em duas frentes: a agroindústria, que usa o maracujá para a extração de polpa; e as feiras e centrais de abastecimento, que utilizam a fruta *in natura*. Ainda assim, o país apresenta dados significantes de exportação em comparação aos demais países produtores de maracujá. Os principais destinos para o suco de maracujá produzido no Brasil são os Estados Unidos e Holanda com 75% e 22,2%, respectivamente, segundo o Comex Stat (2017) (Figura 3).

As qualidades da polpa, sementes e casca do fruto do maracujazeiro-azedo são os fatores de maior importância em sua cultura (Manica, 1981; Oliveira et al., 2002). Do fruto do maracujazeiro se extrai um dos mais estimados sucos de fruta, que na forma concentrada, resulta na maior importância econômica desta planta. Os frutos do maracujazeiro-azedo são comercializados sob as formas de produtos elaborados e *in natura*, apreciados especialmente pelo seu aroma e sabor (Manica, 1981; Lorenzi e Matos, 2002).

Alguns dos principais produtos produzidos pelo fruto são: doces, geleias e licores (Lorenzi e Matos, 2002). A pectina, que se encontra na parte branca da casca, é outro produto que pode ser obtido a partir do maracujazeiro-azedo, usada na indústria alimentícia como geleificante e estabilizante de produtos alimentícios, principalmente em geleias, doces, sucos de frutas concentrados, produtos lácteos geleificados e produtos de confeitaria (Souza e Sandi, 2001; Dias et al., 2011). Além disso, o maracujá constitui uma importante fonte de carboidratos, de vitaminas do grupo A, C e do complexo B e de sais minerais como cálcio, fósforo e ferro. Outra importância desta fruteira se relaciona às propriedades farmacológicas (analgésicos, anti-inflamatórios, depurativos, sedativos e vermífugos) e ao valor decorativo de suas flores (Ferreira e Oliveira, 1991).

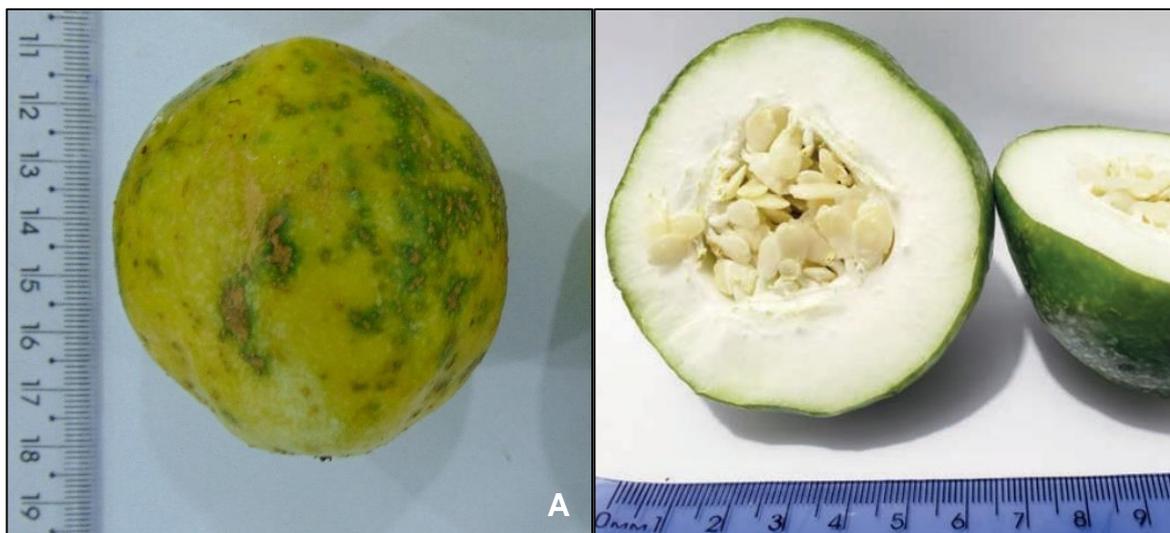
### **3.4. Virose do endurecimento dos frutos**

A doença do endurecimento dos frutos é a mais importante doença viral do maracujazeiro-azedo em todo o mundo (Nascimento et al., 2006). Foi relatada pela primeira vez no mundo na Austrália por Cobb, em 1901 (citado por Shukla e

Ward, 1988). No Brasil, o seu primeiro relato foi em Feira de Santana, BA, em 1979. Anteriormente acreditava-se que a doença do endurecimento dos frutos era causada pelo *passion fruit woodiness virus* (PWV), todavia, estudos baseados na sequência de nucleotídeos da região codificadora da capa proteica do vírus, indicaram que a doença é causada por uma estirpe do *cowpea aphid-borne mosaic* (CABMV). Tanto o CABMV quanto o PWV pertencem ao gênero *Potyvirus*, da família Potyviridae, e suas partículas são do tipo filamento flexuoso com 690-760 nm de comprimento, 11-16 nm de diâmetro e possuem o genoma composto por uma única molécula de RNA senso positiva, com aproximadamente 10.000 nt (Fauquet, 2005; Barros et al., 2011).

Dados revelam que o CABMV não é transmitido por sementes, assim não é esta a via de introdução em áreas indenidas. A transmissão ocorre através de afídeos vetores, principalmente pelo pulgão *Aphis gossypii*, no momento da picada de prova do inseto, o que caracteriza a relação vírus-vetor como sendo do tipo não-persistente (Di Piero et al., 2006; Narita et al., 2011). Os principais sintomas do CABMV são caracterizados pela presença de mosaico comum (Figura 4), acompanhados em alguns casos de enrugamento e distorção foliar, além disso, as plantas infectadas têm sua produção reduzida, quantitativa e qualitativamente, já que os frutos ficam menores, deformados e endurecidos (Sampaio, 2006). Frutos colhidos de plantas com virose apresentam suas características internas e externas, como sabor (teor de açúcares e acidez), conteúdo de suco (rendimento), forma e tamanho, indesejáveis à comercialização (Sampaio, 2006).

O controle da virose do endurecimento dos frutos nos pomares é difícil, pois todas as cultivares são suscetíveis à infecção e o controle químico do vetor é geralmente ineficiente devido à forma não persistente de transmissão. Algumas medidas têm sido recomendadas, tais como: utilização de mudas saudáveis e do tipo mudão (cerca de 2m de altura), obtidas em viveiros telados; erradicação sistemática das plantas com sintomas nas folhas até o florescimento (*roguing*); eliminação de pomares velhos ou abandonados antes do início da nova plantação; cuidados nas operações de poda e desbrota para evitar a transmissão mecânica do vírus; aumento da densidade de plantio; uso de irrigação localizada; e, se possível, plantios em locais isolados (Di Piero et al., 2006; Sampaio et al., 2008; Cavichioli et al., 2011).



**Figura 4:** (A) e (B) Sintomas de virose no fruto e folha de maracujazeiro. Fonte: Autor próprio, 2018; IAPAR, 2019.

### 3.5. Melhoramento do maracujazeiro-azedo visando resistência ao CABMV

O melhoramento genético deve visar um melhor desempenho na produção e produtividade do maracujá, com a obtenção de frutos com alto padrão de qualidade quanto ao sabor, acidez, tamanho dos frutos, vigor e rendimento de suco, como também, a resistência a doenças (Faleiro et al., 2005). Considerando a diversidade de espécies silvestres presentes no gênero *Passiflora* (Meletti et al., 2005), muitas espécies não cultivadas, como *P. cincinnata*, *P. caerulea*, *P. incarnata*, *P. maliformis*, *P. foetida*, *P. nitida*, *P. quadrangularis* e *P. setacea*, são fontes de resistência a doenças e, portanto, interessantes para os programas de melhoramento genético do maracujazeiro (Junqueira et al., 2005).

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

O programa de melhoramento do maracujazeiro visando à resistência genética ao CABMV da UENF teve seu início em 2010, com a obtenção de híbridos interespecíficos entre *P. setacea* (resistente ao CABMV) e *P. edulis* (espécie comercial suscetível ao CABMV) e sua fenotipagem (Santos et al., 2014). Em seguida, os híbridos foram avaliados quanto à resistência ao CABMV (Santos et al., 2015a) e às características agronômicas (Santos et al., 2015b; Freitas et al., 2016).

Os híbridos com os melhores desempenhos agronômicos e maior resistência foram retrocruzados com o genitor recorrente *P. edulis*, dando origem à primeira geração de retrocruzamento. As plantas RC<sub>1</sub> foram avaliadas quanto à sua resistência ao CABMV e às características agromorfológicas (Preisigke, 2017). Além disso, foi realizado um estudo de herança da resistência, tendo sido constatado que a herança genética que controla a resistência ao CABMV não é monogênica (Freitas et al., 2015).

As plantas com os melhores resultados foram selecionadas para serem cruzadas com o genitor recorrente e posterior obtenção da população RC<sub>2</sub>, e as quatro melhores plantas ainda foram selecionadas e recombinadas entre si (Preisigke, 2017). Os próximos passos dentro do programa de melhoramento do maracujazeiro, visando à resistência genética ao CABMV, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), é a avaliação da população RC<sub>2</sub> quanto à resistência ao CABMV e às características agronômicas, e a avaliação da população proveniente da recombinação dos melhores genótipos RC<sub>1</sub>, o qual foi o objetivo do presente trabalho.

### **3.6. Componentes de variância e parâmetros genéticos**

O sucesso do melhoramento genético de qualquer caráter requer, obrigatoriamente, que ele seja herdável e que haja variação na população em que se pratica a seleção. As características qualitativas apresentam um padrão simples de herança, que se baseia nas proporções das classes fenotípicas, avaliadas nas descendências de cruzamentos. Já as características quantitativas apresentam herança complexa, uma vez que, em contraposição às características qualitativas, são, em sua maioria, condicionadas por muitos genes com efeitos individuais pequenos e muito influenciados pelo ambiente (Cruz et al., 2014).

Segundo Cruz et al. (2014), para o estudo de herança e variação das características quantitativas, adota-se o modelo básico  $F = G + A$ , que define o valor fenotípico (F), estimado a partir dos dados diretamente mensurados nos indivíduos, como resultado da ação do genótipo (G), ou valor genotípico, sob influência do meio (A).

Analogamente, a variância fenotípica ( $\sigma_F^2$ ) é composta pela variância genotípica ( $\sigma_G^2$ ), e pela variância atribuída aos desvios causados pelo ambiente ( $\sigma_E^2$ ), admitindo-se que a covariância entre o genótipo e o ambiente seja nula. A variância genotípica, por sua vez, é estabelecida por três outros componentes, conforme descrito abaixo:

$$\sigma_G^2 = \sigma_A^2 + \sigma_D^2 + \sigma_I^2$$

Em que:

$\sigma_A^2$ : variância aditiva;

$\sigma_D^2$ : variância atribuída aos desvios de dominância ou proporcionada pelas interações intra-alélicas;

$\sigma_I^2$ : variância atribuída aos efeitos epistáticos resultantes de interações interalélicas.

Como o efeito do ambiente pode tanto aumentar quanto diminuir o valor fenotípico, a média de um conjunto de indivíduos torna-se uma medida confiável do valor genotípico, pois os efeitos casuais do ambiente tendem a se cancelar. Assim, os estudos genéticos das características quantitativas são apropriadamente feitos a partir das informações de uma série de indivíduos que, em conjunto, formam a população (Cruz et al., 2014).

A estimativa da variação genotípica  $VG$  é simples na teoria, embora não tão fácil na prática. Nem os componentes genotípicos nem os ambientais de variância,  $VG$  e  $VA$ , podem ser estimados diretamente de observações em uma única população, entretanto, em certas circunstâncias eles podem ser estimados em populações experimentais. Se um ou outro componente puder ser completamente eliminado, a variação fenotípica restante fornecerá uma estimativa do componente restante. A variância ambiental não pode ser removida porque

inclui, por definição, toda a variação não genética, e muito disso está além do controle experimental (Falconer e Mackay, 1996).

O particionamento da variância em seus componentes permite estimar a importância relativa dos vários determinantes do fenótipo, em particular o papel da hereditariedade *versus* o ambiente ou natureza, e manejo. A questão da 'importância relativa' só pode ser respondida se for expressa em termos da variância atribuível às diferentes fontes de variação. A importância relativa de uma fonte de variação é a variação devida à essa fonte, como uma proporção da variância fenotípica total. A importância relativa da hereditariedade na determinação dos valores fenotípicos é chamada de herdabilidade da característica. Há, no entanto, dois significados distintamente diferentes de 'hereditariedade' e herdabilidade, conforme se referem a valores genotípicos ou a valores genéticos (Falconer e Mackay, 1996).

Um caráter pode ser 'hereditário' no sentido de ser determinado pelo genótipo ou no sentido de ser transmitido dos pais para os filhos, e o grau em que é hereditário nos dois sentidos pode não ser o mesmo. A razão  $VG/VF$  expressa a extensão em que os fenótipos dos indivíduos são determinados pelos genótipos. Isso é chamado de herdabilidade no sentido amplo, ou o grau de determinação genético. A razão  $VA/VF$  expressa a extensão em que os fenótipos são determinados por genes transmitidos pelos pais. Isso é chamado de herdabilidade no sentido restrito, ou simplesmente a herdabilidade. A herdabilidade  $VA/VF$  determina o grau de semelhança entre parentes e é, portanto, de maior importância em programas de melhoramento (Falconer e Mackay, 1996).

Resumidamente, o coeficiente de herdabilidade mede o grau de correspondência entre fenótipo e valor genético que é, em última instância, aquilo que influencia a próxima geração. A mais importante função da herdabilidade no estudo genético refere-se ao seu papel preditivo, expressando a confiança do valor fenotípico como um guia para o valor genético ou o grau de correspondência entre o valor fenotípico e o valor genético. Dessa forma, ela infere a confiabilidade do valor fenotípico como indicador do verdadeiro valor genotípico (Falconer e Mackay, 1996).

### 3.7. Modelos mistos e Método REML/BLUP

O melhoramento de plantas é a arte, ciência e negócio de alteração genética das plantas que busca fornecer variedades melhoradas, para o benefício dos seres humanos. Entretanto, dependendo do objetivo, diversas ciências são fundamentais, o que demanda dos programas de melhoramento equipes multidisciplinares (Bernardo, 2002; Borém et al., 2017). A estatística tem sido uma ferramenta importante para o melhoramento de plantas, melhorias no arranjo experimental aumentaram a eficiência da seleção. Quando os experimentos são bem planejados e executados, análises estatísticas relativamente simples podem frequentemente remover grande parte da influência dos efeitos macro e microambientais externos dos valores médios dos genótipos (Holland, 2014).

Modelos estatísticos que envolvem efeitos aleatórios são amplamente utilizados para explicar a variabilidade, devido aos diferentes fatores que influenciam uma variável de resposta. A inferência em relação aos parâmetros de efeitos fixos, bem como aqueles referentes às variâncias de efeitos aleatórios, são componentes importantes na análise de dados com base em um modelo de efeitos mistos ou de efeitos aleatórios. Outra classe de problemas que tem considerável interesse e relevância prática consiste em problemas de previsão, especialmente a previsão de efeitos aleatórios (Gamage et al., 2013).

O uso de modelos mistos já é uma técnica bastante difundida nos programas de melhoramento animal e também de espécies vegetais perenes, como o maracujá (Nascimento et al., 2003; Farias Neto et al., 2012; Assunção et al., 2015; Ferreira et al., 2016). Os principais fatores que melhor explicam a adoção de modelos mistos, nos programas de melhoramento são: as situações de desbalanceamento causadas por limitações econômicas, a redução do número de ambientes e recursos para avaliação de genótipos, as perdas de indivíduos por parcela, as diferenças nas quantidades de sementes utilizadas, o número de repetições e os diversos tipos de delineamentos experimentais.

O BLUP constitui-se na metodologia de modelos mistos que foi derivada por Henderson (1975). Trata-se do procedimento que contempla o ajustamento dos dados para os efeitos ambientais identificáveis (tais quais os efeitos de blocos, do ano de medição, do local de plantio, dentre outros) e, simultaneamente, prediz os valores genéticos dos indivíduos. Onde os problemas

de interesse incluem o cálculo de um preditor de ponto, bem como a derivação de intervalos de previsão. O melhor preditor linear não-viesado (BLUP) é bem conhecido neste contexto (Robinson, 1991).

O principal interesse do melhorista é baseado no valor genotípico do indivíduo, e não no fenotípico, uma vez que o fenótipo não é repetível. Nesse contexto, o uso do BLUP é o mais indicado, pois maximiza a precisão da seleção, minimiza a diferença entre o valor genético previsto e verdadeiro, maximiza a probabilidade de seleção de indivíduos superiores e maximiza o ganho genético esperado do indivíduo (Resende, 2002).

Além disso, o BLUP permite o uso simultâneo de diversas fontes de informação, como aquelas de experimentos em um ou vários locais, e avaliados em uma ou várias culturas. Também utiliza todos os efeitos de um modelo, usa o parentesco genético entre os indivíduos sob avaliação, e considera a coincidência entre a unidade de seleção e a unidade de recombinação (Resende e Duarte, 2007a; Piepho et al., 2008; Silva et al., 2017a; Cavalcante et al., 2018).

Outras vantagens que o método BLUP apresenta para o melhoramento vegetal são: a estimação e predição não-viesada em único método, consideração dos efeitos da seleção e endogamia ao longo das gerações quando conhecidos os parentescos dos indivíduos, predição dos valores genéticos dos indivíduos com base ou não em observações, e redução de variâncias e erros em relação a outros métodos (White e Hodge, 1989).

Todavia, para uma boa eficácia, é necessário ter conhecimentos dos valores de variância e covariância dos efeitos aleatórios. Mas estes valores são, na prática, desconhecidos. Assim, na tentativa de sanar essa dificuldade o método REML (*Restricted Maximum Likelihood* - máxima verossimilhança restrita) estima os componentes da variância, considerados pelo BLUP, de forma fiel e sendo o mais recomendado para situações de desbalanceamento (Bernardo, 2010). O uso de REML/BLUP passa a apresentar vantagens como melhor estimação e predição dos parâmetros genéticos e maior poder de discriminação entre genótipos (Resende, 2002).

O REML foi baseado no método de verossimilhança, mantendo as características de não ser viesado e de impor restrições de não negatividade, mas houve alterações realizadas com o intuito de utilizá-lo em qualquer tipo de análise de variância, fornecendo estimativas separadas para os efeitos fixos e aleatórios,

o que possibilitou bons resultados em trabalhos com dados desbalanceados (Bernardo, 2010).

Algumas das vantagens do método REML é a realização da estimação dos parâmetros genéticos de maneira não tendenciosa, consideração da covariância genética entre as observações e ponderação dos genótipos com desigual número de informações, na mesma ou em diferentes gerações. Devido as suas qualidades, o REML é considerado mais eficaz que os métodos dos mínimos quadrados para a seleção de genitores, clones e famílias, com uso de informação do indivíduo e sua genealogia (Patterson e Thompson, 1971).

Vale ressaltar que, além do exposto, uma das principais vantagens do REML ou REML/BLUP é que ele permite bons resultados em trabalhos que apresentam heterogeneidade da variância, o que ocorre com frequência quando se utilizam dados desbalanceados (Preisigke, 2017). O REML/BLUP caracterizam modelos de alta precisão para diversas aplicações, sendo uma alternativa para substituição do método ANOVA, pois permitem trabalhos tanto em situação de dados balanceados como em desbalanceamento, auxiliando os estudos no melhoramento de culturas perenes (Assunção et al., 2015; Cavalcante et al., 2017, 2018; Silva et al., 2017a).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Descrição das famílias avaliadas

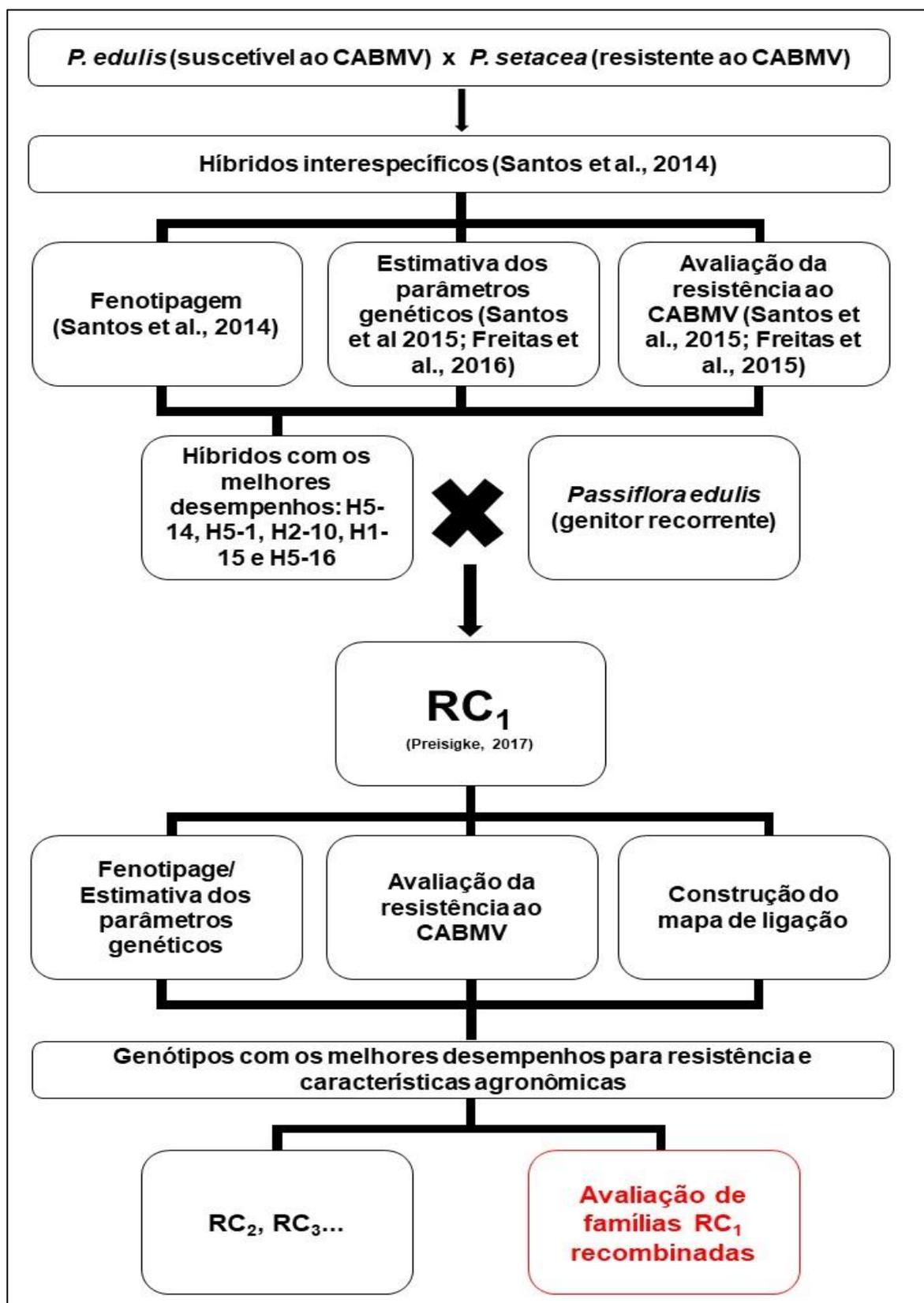
O material avaliado incluiu três famílias de irmãos completos, oriundas da recombinação entre indivíduos da primeira geração de retrocruzamento do programa de melhoramento do maracujazeiro, visando à resistência genética ao CABMV da UENF (Preisigke, 2017) (Figura 4). Eles foram selecionados com base na resistência ao CABMV, no desempenho agrônômico e na viabilidade polínica. Além das três famílias de irmãos completos, os genitores RC<sub>1</sub> 293, 501, 516 e 355, o qual apresentou viabilidade polínica (Preisigke, 2017), os híbridos intraespecíficos obtidos do cruzamento entre as espécies *P. edulis* x *P. setácea* (Figura 4), as espécies *Passiflora edulis* e *Passiflora setacea*, também foram conduzidas em campo (Tabela 1).

**Tabela 1:** Origem e identificação da população 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, 2018.

Descrição	Cruzamentos	Identificação no campo	Total de Genótipos
FIC <sub>1</sub> *	293 (HI2-10 x <i>P. edulis</i> ) x 355 (HI1-15 x <i>P. edulis</i> )	Bloco 1: 1-20 Bloco 2: 81-100 Bloco 3: 121-140 Bloco 4: 221-240	80
FIC <sub>2</sub>	501 (HI1-15 x <i>P. edulis</i> ) x 355 (HI1-15 x <i>P. edulis</i> )	Bloco 1: 21-40 Bloco 2: 61-80 Bloco 3: 161-180 Bloco 4: 201-220	80
FIC <sub>3</sub>	516 (HI1-15 x <i>P. edulis</i> ) x 355 (HI1-15 x <i>P. edulis</i> )	Bloco 1: 41-60 Bloco 2: 101-120 Bloco 3: 141-160 Bloco 4: 181-200	80
Genitor HI1-15**	Pe 139 (40) x Ps 367	G1	8
Genitor HI2-10	Pe 139 (38) x Ps 367	G2	8
<i>P. edulis</i>	PMGMA-UENF***	G3	8
<i>P. setacea</i>	BAG da UENF	G4	8

\* Famílias de irmãos completos – oriundas da recombinação de genótipos selecionados do RC<sub>1</sub>.

\*\* Híbridos interespecíficos selecionados (Santos et al., 2015). Pe = *P. edulis*; Ps= *P. setacea*. \*\*\* Programa de melhoramento genético do maracujazeiro (PMGMA-UENF).



**Figura 4:** Fluxograma 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, 2019.

As sementes obtidas das famílias de irmãos completos de RC<sub>1</sub> 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, as sementes permaneceram por 3 horas em temperatura ambiente para secarem. A semeadura foi feita em bandejas de poliestireno de 128 células contendo substrato comercial. As bandejas foram mantidas em estufa com nebulização automática, com acionamento de 15 em 15 minutos, até o estágio de plântula. Em seguida, as plântulas foram transplantadas para sacos de polietileno preto, com capacidade de 1L, contendo substrato comercial e transferidas para casa de vegetação, permanecendo duas mudas por saco.

Após trinta dias do transplante das mudas foi realizado o desbaste, mantendo-se uma planta por saco. Durante a permanência das mudas em casa de vegetação foram realizadas mensalmente adubações foliares complementares, utilizando o fertilizante Biofert Plus Universal<sup>®</sup>, na concentração de 2,5 mL por litro de água. Ainda em casa de vegetação ocorreu a necessidade da aplicação de fungicida e acaricida como medida fitossanitária. As mudas foram transplantadas para o campo 120 dias após a semeadura.

#### **4.2. Caracterização do ambiente e execução experimental**

O ensaio foi conduzido na área experimental localizada na Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo, município de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro (latitude sul de 21° 72', longitude 41° 34' W e 20 m de altitude). Segundo Koppen-Geiger, a região tem como clima o tipo *Aw*, Cerrado ou Savana tropical, do tipo mesotérmico, com chuvas de verão e inverno seco (Peel et al., 2007), com precipitação total anual de 1.007,5 mm, e temperatura média anual de 22,7 °C (INMET, 2019).

A região norte fluminense se encontra 100% em área do Bioma Mata Atlântica, englobando a floresta propriamente dita (floresta ombrófila e estacional), e ecossistemas associados como: manguezais, restingas e campos de altitude. Na cidade de Campos dos Goytacazes, o percentual de área de Mata Atlântica remanescente é de 7%, possuindo muitas marcas deixadas pelas atividades econômicas nela desenvolvidas (S.O.S Mata Atlântica/INPE, 2009).

A área utilizada para a instalação do experimento foi anteriormente empregada para a condução da primeira geração de retrocruzamentos do programa (Preisigke, 2017). Antes disso, a área era usada para implantação de experimentos com milho. A modificação dos experimentos com milho para experimentos com maracujá foi devido à grande incidência de fusariose na área utilizada anteriormente para os experimentos com maracujá.

O preparo do solo foi realizado três meses antes do plantio das mudas, foi feita a limpeza da área, aração e gradagem. A adubação de plantio foi realizada de acordo com a análise do solo da área, utilizando 300 g de calcário e 500 g de Superfosfato simples por cova. O plantio das mudas na área experimental foi concretizado em março de 2018. Foram feitas adubações complementares mensalmente, utilizando 100 g de ureia e 80 g de cloreto de potássio por planta.

O sistema utilizado para a condução das plantas em campo foi em espaldeira vertical, com mourões de 2,5 m de altura, espaçados 4 m, com um fio de arame número 12, a 1,90 m do solo. A distância entre linhas de plantio foi de 3,5 m, e 2 m entre covas. A necessidade hídrica das plantas foi complementada com irrigação usando o sistema de gotejamento, aplicando a água de forma suplementar nos períodos de estiagem.

Durante o período experimental, ocorreram ataques de Lagartas-preta-do-maracujá (*Dione juno juno*), e das doenças antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*), verrugose (*Cladosporium herbarum*) e fusariose (*Fusarium oxysporum*) (Figura 5). O controle dessas pragas e doenças, quando disponível, foi realizado com produtos fitossanitários recomendados para a cultura pelo Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). O delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso com quatro repetições. Cada família foi composta inicialmente por 80 plantas no total, com 20 plantas por bloco, também contendo em cada bloco os genitores, progenitores e as espécies *P. edulis* e *P. setácea* (Tabela 1).



**Figura 5:** (A) e (B) sinais da fusariose na raiz e sintomas na planta. Fonte: Autor próprio, 2019.

### **4.3. Avaliação experimental**

#### **4.3.1. Resistência ao CABMV**

Não houve a necessidade de inoculação do vírus nas plantas em estudo, pois estas foram conduzidas em uma área com histórico da doença, sendo avaliadas sob a ocorrência natural do CABMV. As avaliações tiveram início aos 50 dias após a implantação do experimento em campo, quando os primeiros sintomas foram constatados, e permaneceram sob avaliação quinzenalmente durante 16 meses (março de 2018 a junho de 2019). 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 6). Foi utilizado uma escala de notas (Novaes e Rezende, 1999) com modificações (Oliveira et al., 2013) para todas estas avaliações (Tabela 2).



**Figura 6:** 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. Fonte: Preisigke, 2017.

**Tabela 2:** Escala de notas utilizada para avaliação dos sintomas induzidos pelo CABMV nos frutos, folhas jovens e plantas de maracujazeiro, com adaptações de Novaes e Rezende (1999) e Oliveira et al. (2013). Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Notas	Sintomatologia visual		
	Folhas jovens	Frutos	Plantas
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

Com os dados da escala de notas, foi estimada a área abaixo da curva de progresso da doença (Campbell e Madden, 1990) para cada genótipo, tanto para folhas jovens, como para a área total da planta e o fruto, utilizando a expressão:

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

Em que que  $Y_i$  = nota atribuída à severidade da doença na  $i$ -ésima observação;  $T_i$  = tempo em dias da  $i$ -ésima observação; e  $n$  = número de observações. Posteriormente, foi estimada uma média com os valores de AACPD obtidos para folhas jovens e área total ocupada pela planta. Após a realização das estimativas foi obtida uma média com as AACPDs (AACPDM).

#### 4.3.2. Características produtivas avaliadas:

O período de colheita e de avaliação dos frutos ocorreu nos meses de agosto de 2018 (quando as primeiras plantas produziram) a junho de 2019. Foram avaliados 87 genótipos, visto que houve produção de pelo menos um fruto por planta. As características avaliadas foram:

- Número de frutos por plantas (NF): número de frutos totais contabilizado para cada genótipo coletados durante o período de avaliação;
- Produção total (PT): todos os frutos maduros coletados ao longo do período de avaliação foram pesados em balança digital semianalítica, e a massa, expressa em gramas por planta ( $\text{g.planta}^{-1}$ );
- Diâmetro longitudinal do fruto (DL): determinado na região longitudinal dos frutos com o auxílio de um paquímetro e expresso em milímetros (mm);
- Diâmetro transversal do fruto (DT): determinado na região equatorial dos frutos com o uso de um paquímetro e expresso em milímetros (mm);
- Massa do fruto (MMF): determinada pela média aritmética de uma amostragem de no mínimo de dois e no máximo de 15 frutos de cada genótipo. Os frutos foram pesados individualmente em balança digital semianalítica, e a massa, expressa em gramas (g);
- Massa da polpa (MMP): determinada pela média aritmética de uma amostragem de no mínimo dois 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 (g);
- Rendimento de polpa (RP): obtida a partir da relação entre a massa da polpa bruta (sementes com arilo) e massa total dos frutos multiplicado por 100, expressa em porcentagem (%);
- Espessura da casca (EC): determinada pela média aritmética das medidas de quatro pontos da casca externa, com a utilização de paquímetro digital, expressa em milímetros (mm);
- Teor de sólidos solúveis totais (SST): realizado mediante refratometria, utilizando-se refratômetro digital (modelo RTD-45), com leitura na faixa de 0 a 95°, expresso em °Brix.

#### 4.4. Análise dos dados

As análises genético-estatísticas foram realizadas via metodologia REML/BLUP, onde o REML permite estimar os componentes de variâncias e os parâmetros genéticos, e o BLUP permite prever os valores genético aditivos individual e genotípicos para as progênes. Foram realizadas para o caráter resistência ao CABMV, utilizando a AACPDM, e para as demais características relacionadas às qualidades produtivas de cada genótipo, para as três FICs, oferecendo a seleção de genitores potenciais no experimento, explorando a variação genética aditiva entre e dentro de progênes.

As análises foram realizadas no programa Selegen-REML/BLUP (Resende e Resende, 2016), utilizando o modelo estatístico 147, que possibilita avaliação de indivíduos em progênes de irmãos completos com várias observações por parcela. Sendo a avaliação em um local e uma safra, em delineamento de blocos ao acaso com várias plantas por parcela, conforme modelo estatístico abaixo:

$$Y = Xr + Zg + Wp + e$$

Em que: Y é o vetor de observações fenotípicas para um caráter, 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, 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 e parâmetros genéticos (REML):

$\hat{\sigma}_g^2$ : variância genotípica entre progênes 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 progênes, assumindo sobrevivência completa;

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

#### 4.5. Seleção simultânea de características

Os índices de seleção simultânea visando ganho individual de cada genótipo em um agregado genotípico formado por várias características foram realizados no software Microsoft Excel®, por meio de três abordagens alternativas: (a) índice aditivo em que são fornecidas as importâncias econômicas relativas ou pesos das características; (b) índice multiplicativo, em que o agregado genotípico refere-se ao produto das características; (c) índice de rank médio, adaptado de Mulamba e Mock, em que os valores genotípicos são classificados para cada caráter e a média dos rankings de cada genótipo para todas as características são apresentados como resultado final.

A partir dos valores genotípicos preditos, foram aplicados os índices aditivos (IA), multiplicativo (IM) e rank médio adaptado de Mulamba e Mock (RM) e os mesmo construídos a partir da metodologia REML/BLUP e são sucintamente apresentados a seguir:

$$IA = (p * C1) * (VG * C1) + \dots$$

$$IM = (VG * C1) + \dots$$

$$RM = (r * VG * C1) + \dots$$

Em que: \* é o sinal de multiplicação;  $p$  é o peso econômico estabelecido para o caráter;  $VG$  é o valor genotípico predito;  $r$  é o posto do genótipo;  $C1$  é a característica de interesse, podendo ser acrescentadas quantas forem necessárias na equação (Viana e Resende, 2014).

No índice aditivo as análises foram realizadas com pesos econômicos aleatórios de diferentes grandezas para as principais AACPD, NF, PT, MMF, MMP e RP: Peso arbitrário (-1, 0,5, 0,5, 0,4, 0,3 e 0,4). Para as demais características: DL, DT, EC e SST, o peso foi estabelecido 0,2, 0,2, -0,1 e 0,1, respectivamente.

Para aplicação do índice rank médio adaptado de Mulamba e Mock, as tendências de acréscimo e decréscimo aplicadas para o índice aditivo foram mantidas, mas sem a atribuição de pesos econômicos.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Componentes de variância e parâmetros genéticos

Os valores estimados para variância genotípica ( $\hat{\sigma}_g^2$ ) variaram de 0,002 a 19475,2 para o teor de sólidos solúveis totais (SST) e número de frutos por plantas (NF), respectivamente (Tabela 3). Analisando-se a variância genotípica ( $\hat{\sigma}_g^2$ ) em relação à variância fenotípica ( $\hat{\sigma}_f^2$ ), observou-se que, via de regra, para as características avaliadas em famílias de irmãos completos oriundas da recombinação dos melhores genótipos RC<sub>1</sub>, houve baixa contribuição da variância genotípica ( $\hat{\sigma}_g^2$ ) para a alta variabilidade fenotípica apresentada. Esse resultado foi confirmado pelas estimativas das herdabilidades individuais no sentido restrito ( $h_a^2$ ) (Tabela 3).

Todavia, para as características rendimento de polpa (RP) e espessura da casca (EC), os valores de variância genotípica ( $\hat{\sigma}_g^2$ ) foram moderados, apresentando 6,55 e 0,63, respectivamente. Tais valores são esperados, tendo em vista que estão sendo avaliadas características de herança complexa em uma população segregante, uma vez que, em contra partida às características qualitativas, as características quantitativas são, em sua maioria, condicionadas por muitos genes com efeitos individuais pequenos e muito afetados por fatores ambientais (Cruz, 2014).

A importância das estimativas de parâmetros genéticos em uma determinada população consiste em obter subsídios para nortear as estratégias

de melhoramento que devem ser empregadas visando obter êxito com a seleção. As estimativas da variância genotípica e do coeficiente de herdabilidade são os parâmetros mais importantes para a quantificação do potencial de melhoramento da população (Resende, 2002).

A herdabilidade no sentido restrito é útil nos programas de melhoramento genético, pois quantifica a proporção da variância genética que será transmitida à próxima geração. Os valores de herdabilidade individual no sentido restrito ( $h_a^2$ ) variaram de 0,0001 para SST a 0,3691 para espessura da casca. De modo geral, as estimativas de herdabilidade ( $h_a^2$ ) para as características avaliadas podem ser consideradas de baixa magnitude de acordo com a classificação descrita por Resende (2002), onde a herdabilidade é descrita como de baixa magnitude quando  $h_a^2 < 0,15$ , média magnitude entre 0,15 e 0,50 e alta magnitude com  $h_a^2 > 0,50$ .

Entretanto, não se pode concluir que os ganhos genéticos obtidos por seleção serão menores, pois a herdabilidade não é uma característica imutável e é uma propriedade não só da característica, mas também da população e das condições ambientais a que a população se submete (Silva et al., 2017a). Vale ressaltar que para as características espessura de casca e rendimento de polpa, os valores de herdabilidade apresentados foram 0,1606 e 0,3691, apontando para uma média magnitude, sugerindo que, ainda assim, o valor fenotípico para essas características pode ser utilizado como estimador do valor genético aditivo direto.

A avaliação da produtividade é essencial no melhoramento genético de plantas. Entretanto, nas espécies frutíferas, além da produtividade, a qualidade dos frutos é também de grande importância, por determinar a aceitação do produto e ter grande influência no preço obtido (Bruckner et al., 2002). Essa qualidade do fruto é um termo amplo que engloba diversas características. A espessura da casca, por exemplo, é utilizada como critério de qualidade, frutos destinados tanto à indústria quanto ao consumo *in natura*, necessitam ter casca fina e cavidade interna totalmente preenchida, desta maneira conferindo alto rendimento de suco, além de ser um parâmetro que influencia diretamente na integridade do fruto durante o transporte (Bruckner et al., 2002; Negreiros et al., 2007).

Assunção et al. (2015) empregando a metodologia REML/BLUP para realizar a estimativa dos componentes de variância e de ganho de seleção de

plantas individuais de maracujazeiro azedo quanto à qualidade de frutos, do mesmo modo, encontraram valores baixos de herdabilidade individual no sentido restrito para as características: massa média de polpa e teor de sólidos solúveis totais (SST).

Do mesmo modo, Cavalcante et al. (2018), ao estudar os efeitos diretos e indiretos de características de produção de frutos de maracujazeiro-azedo sobre características de interesse agrônomo, após a realização de três ciclos de seleção recorrente, observaram uma herdabilidade baixa apenas para a característica SST, concluindo que para esta variável, existe pouca variabilidade genética disponível nas famílias avaliadas.

Silva et al. (2016a), em um estudo cujo objetivo era fornecer informações genéticas úteis para os programas de melhoramento do maracujazeiro-azedo em todo o mundo, obtiveram valores baixos para a herdabilidade, ao estimarem os parâmetros genéticos e os componentes de variância via REML para características economicamente importantes, em particular, para as características massa média de fruto e rendimento de polpa.

**Tabela 3:** Estimativa dos componentes de variância e parâmetros genéticos, para a Área abaixo da curva de progresso da doença média (AACPDM); Número de frutos por plantas (NF); Produção total (PT); Diâmetro longitudinal do fruto (DL); Diâmetro transversal do fruto (DT); Massa média do fruto (MMF); Massa média de polpa (MMP); Rendimento de polpa (RP); Espessura da casca (EC); Teor de sólidos solúveis totais (SST), em 3 famílias de irmãos completos de maracujazeiro. Município de Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Parâmetros Genéticos	AACPDM	NF	PT	DL	DT	MMF	MMP	RP	EC	SST
$\hat{\sigma}_g^2$	188,89	4,60	19475,21	3,25	1,58	27,81	0,05	6,55	0,63	0,002
$\hat{\sigma}_{parc}^2$	52,49	0,44	4092,10	0,89	6,22	1,64	0,26	4,1	0,06	0,16
$\hat{\sigma}_{dentro}^2$	6338,33	115,68	1080185,20	62,71	51,61	595,07	139,75	70,87	2,73	5,23
$\hat{\sigma}_f^2$	6579,71	120,72	1103752,52	66,85	59,41	624,52	140,06	81,54	3,42	5,39
$h_a^2$	0,0574	0,0762	0,0353	0,0972	0,0532	0,0891	0,0007	0,1606	0,3691	0,0001
$h_{mp}^2$	0,6398	0,6929	0,5058	0,7192	0,3956	0,7292	0,0215	0,7476	0,9125	0,017
$h_{ad}^2$	0,0298	0,0398	0,0180	0,0512	0,0306	0,0467	0,0004	0,0924	0,2313	0,0004
$c^2$	0,008	0,0037	0,0037	0,0133	0,1048	0,0026	0,0019	0,0505	0,0176	0,0299
$AC_{prog}$	0,7999	0,832	0,7112	0,8480	0,6290	0,8539	0,1466	0,8646	0,9552	0,1305
Média geral	815,22	9,45	768,96	70,39	58,1	76,54	27,08	34,11	7,93	13,86

$\hat{\sigma}_g^2$ : Variância genotípica entre famílias de maracujazeiro;  $\hat{\sigma}_{parc}^2$ : variância ambiental entre parcelas;  $\hat{\sigma}_{dentro}^2$ : variância residual dentro de parcela;  $\hat{\sigma}_f^2$ : variância fenotípica individual;  $h_a^2$ : herdabilidade individual no sentido restrito;  $h_{mp}^2$ : herdabilidade com base na média de família;  $h_{ad}^2$ : herdabilidade aditiva dentro de parcela;  $c^2$ : coeficiente de determinação dos efeitos de parcela;  $AC_{prog}$ : acurácia da seleção de famílias.

No que se refere à variável AACPDM, a qual tem-se o maior interesse em explorar, pois é o alvo principal dentro do programa de melhoramento visando resistência ao CABMV da UENF, a estimativa da herdabilidade individual no sentido restrito ( $h_a^2$ ) foi igual a 0,0574. Este resultado indica que a  $h_a^2$  para esta característica pode ser considerada de baixa magnitude (Resende, 2002). O valor observado da  $h_a^2$  para AACPDM aponta que 94,26% da variância fenotípica observada não é de natureza diretamente genética, desfavorecendo a seleção individual para atenuação do impacto do CABMV, conduzindo o programa para a seleção entre famílias e ao emprego de métodos mais robustos de melhoramento, como a seleção recorrente.

Tal valor observado para  $h_a^2$  também condiz com a expressiva influência do ambiente na variância fenotípica. Valores baixos deste parâmetro indicam que a característica é fortemente influenciada pelos efeitos do ambiente. Além do ambiente, as estimativas de herdabilidade também são influenciadas pela natureza da característica avaliada. Conforme já apontado por Freitas et al. (2015), ao concluírem que a herança genética que determina a resistência ao CABMV não é monogênica, ratificando o resultado observado da  $h_a^2$  para AACPDM.

Levando em consideração o contexto apresentado, a abordagem utilizada pelo programa de melhoramento da UENF, visando resistência ao CABMV, sempre é o uso de grandes populações nas gerações de retrocruzamentos. Também são utilizados métodos de seleção mais elaborados, como seleção recorrente, a fim de potencializar os ganhos para esta característica, buscando aumentar a concentração de alelos responsáveis pela expressão da característica.

Segundo Haynes et al. (1998), o ambiente desempenha um papel fundamental no desenvolvimento de condições favoráveis ou não, tanto para o patógeno quanto para a planta. Variações ambientais, tais como a temperatura diária, precipitação, tipos de solo, tempo de plantio, idade e qualidade do genético podem influenciar a expressão da severidade da doença. São numerosos os trabalhos onde a herdabilidade individual, no sentido restrito, para a característica resistência à diversas doenças apresentam valores de magnitude baixos.

Utilizando também modelos mistos para estimar parâmetros genéticos associados à resistência à podridão radicular, e avaliar a estabilidade da

resistência em acessos de mandioca, Boas et al. (2016) observaram estimativas baixas de  $h_a^2$ , tal como outros autores em outros trabalhos (Pereira et al., 2013; Mattos et al., 2013; Silva et al., 2013; Boas et al., 2016). A existência de baixa herdabilidade individual é típica de características quantitativas, e indica que a seleção baseada em plantas individuais e em poucos ambientes, pode não ser uma estratégia efetiva para o melhoramento do maracujazeiro-azedo quanto à resistência à virose do endurecimento dos frutos.

Em contraste, a herdabilidade com base na média da família ( $h_{mp}^2$ ) apresentou valores evidentemente mais elevados, variando entre 0,017 para SST e 0,91 para EC. As características NF (0,69), PT (0,50), DL (71), MMF (0,71), RP (0,74) e EC (0,91) apresentaram valores de magnitude alta para  $h_{mp}^2$ ; DT (0,39) apresentou valor de magnitude média; e, por fim, MMP (0,02) e SST (0,01) apresentaram valores de  $h_{mp}^2$  considerados de magnitude baixa.

A herdabilidade com base na média das famílias ( $h_{mp}^2$ ), para AACPD, foi consideravelmente maior do que a herdabilidade individual no sentido restrito ( $h_a^2$ ) (Tabela 3). Isso tende a acontecer quando se minimizam os efeitos ambientais pelo número de repetições e de plantas por parcela (Vencovsky e Barriga, 1992). Portanto, a seleção pode ser mais eficiente com base nas médias de progênies do que em plantas individuais.

A herdabilidade para a seleção dentro de famílias ( $h_{ad}^2$ ), em geral, exibiu valores de magnitude inferiores à herdabilidade individual, variando de 0,0004 a 0,23, para as características teor de sólidos solúveis totais e espessura da casca, respectivamente. Cavalcante et al. (2019), de maneira semelhante, também observaram valores  $h_{ad}^2$  inferiores aos valores de  $h_a^2$  para todas as características. Em contra partida, Ferreira et al. (2016), ao avaliar o segundo ciclo de seleção recorrente do maracujazeiro-azedo da UENF, verificou estimativas de herdabilidade de alta magnitude dentro das famílias, para todas as famílias avaliadas. Neste caso, pode-se fazer seleção entre e dentro de famílias para explorar a variabilidade e aumentar o ganho genético.

O coeficiente de determinação dos efeitos de parcela ( $c^2$ ) quantifica a variabilidade das parcelas dentro dos blocos, sendo que estimativas de até 10% não chegam a interferir na estimativa dos parâmetros genéticos (Resende, 2002). O  $c^2$  variou de 0,19% para MMP a 10,14% para DT, considerando, assim, todos os coeficientes de determinação dos efeitos de parcela como de baixa magnitude

(Tabela 3). Cavalcante et al. (2019) também encontraram coeficientes de determinação dos efeitos de parcela considerados de baixa magnitudes para as mesmas características relacionadas à qualidade de fruto, as quais foram avaliadas pelo presente trabalho, com exceção das características de espessura e sólidos solúveis totais.

A acurácia reflete a qualidade das informações e dos procedimentos utilizados na predição dos valores genéticos. Essa medida está associada à precisão da seleção e refere-se à correlação entre valores genéticos preditos e valores genéticos verdadeiros dos indivíduos. Quanto maior a acurácia seletiva na avaliação de um indivíduo, maior é a confiança na avaliação e no valor genético predito para o indivíduo (Pimentel et al., 2014). Sendo assim, a acurácia é o parâmetro mais importante na avaliação da precisão no acesso à variação genética verdadeira (Resende, 2002).

Resende e Duarte (2007) classificam este parâmetro como muito alto quando acima de 0,90, alta entre 0,89 e 0,70, moderado quando entre 0,69 e 0,50, e por fim, baixo quando o valor apresentado para acurácia está abaixo de 0,49. Pertinente aos valores encontrados para acurácia, a EC apresentou magnitude muito alta (0,95), enquanto foi observado para as características NF (0,83), PT (0,71), DL (0,84), MMF (0,85) e RP (0,86), uma acurácia considera de alta magnitude, assim como para AACPD (0,79) (Tabela 3). Esses altos valores da acurácia indicam alta precisão no acesso à variação genética verdadeira, a partir da variação fenotípica, observada em cada uma das características.

A característica diâmetro transversal do fruto apresentou magnitude considerada moderada (0,62), enquanto as características MMP (0,14) e SST (0,13) apresentaram valores considerados de baixa magnitude. A baixa acurácia para essas características indica que não se tem confiabilidade dos dados, possivelmente pelas características serem altamente influenciadas pelo ambiente. A literatura segue os mesmos padrões de resultados que foram encontrados na presente pesquisa, à guisa de exemplificação, podem ser citados Assunção et al. (2015), Freitas et al. (2016), Cavalcante et al. (2017 e 2019) e Silva et al. (2017b).

## **5.2. Seleção de genótipos e estimativa de ganho via BLUP**

Em relação à AACPD, por se tratar de uma característica que corresponde à integrações numéricas da proporção de doença *versus* tempo (Campbell e Madden, 1990), onde a doença é aferida utilizando uma escala descritiva de severidade, detalhada na metodologia, espera-se que quanto menor o valor observado, mais resistente foi o indivíduo durante o tempo de avaliação. Portanto, para essa característica em especial, quanto menor o valor de ganho, melhor foi a performance individual, apontando para uma seleção negativa. Os ganhos para AACPD variam entre -0,07% e 0,28%, para os genótipos 13 e 231 (Tabela 4). Dentre os 30 genótipos apresentados, oito apresentaram o ganho negativo (13, 130, 124, 167, 23, 100, 99, e 98), ou seja, houve ganho predito para resistência ao CABMV, com média predita inferior à média geral para a característica.

Comparando os resultados de ganhos (%) apresentados para a resistência ao CABMV (AACPD), e os resultados obtidos na primeira geração de RC, cujo indivíduos deram origem à população de estudo do presente trabalho, percebeu-se que houve um incremento em relação ao ganho observado no RC<sub>1</sub>, 0,0017%, e apenas cinco dos genótipos selecionados apresentaram ganho negativo, havendo assim, perda na média geral da população (Preisigke, 2017).

Visando identificar genótipos promissores para NF, ou seja, genótipos mais produtivos, o melhor ranqueado foi o indivíduo 167 dentro da progênie 2. O ganho predito com a seleção deste indivíduo foi de 28,33%, permitindo um acréscimo de 2,68 na média. O ranqueado na 30<sup>a</sup> colocação foi o indivíduo 178 na progênie 2, com um ganho de 2,92% (Tabela 4). Os ganhos apresentados aqui são superiores aos obtidos na primeira geração de retrocruzamento visando resistência ao CAMBV, onde o ganho máximo observado para número total de frutos por planta foi de 1,33% (Preisigke, 2017).

A característica NF pode ser utilizada como indicador do potencial produtivo das progênies, já que a produção total é de difícil mensuração, tendo em vista que o período de colheita é longo, e várias avaliações são necessárias para se obter estimativas mais precisas (Silva et al., 2009). Cavalcante et al. (2018) verificaram correlação alta e positiva entre NF e produção de frutos, possibilitando a sua utilização na seleção indireta da produção de frutos.

Com relação a produção total (PT), os ganhos para os 30 genótipos ranqueados variaram entre 22,90% para o indivíduo 167 da família 2, e 8,36%

para o indivíduo 222 pertencente à família 1 (Tabela 4). Observou-se o maior ganho no genótipo 167, que apresentou nova média predita igual a 945,04 g.planta<sup>-1</sup>, isso significa um acréscimo de 176,08 g.planta<sup>-1</sup> na média original da população.

No programa de seleção recorrente do maracujazeiro-azedo da UENF, Cavalcante et al. (2019), avaliando a existência de variabilidade genética dentro das famílias para determinar se há um aumento no ganho genético com o uso das melhores plantas dentro de cada família, observaram ganhos para produção total por planta, tanto para seleção dentro como entre famílias, os quais foram inferiores ao constatados no presente estudo.

**Tabela 4:** Ranqueamento dos 30 genótipos com as melhores estimativas de ganho (%) e a nova média predita, estimados via REML/BLUP, em genótipos de maracujazeiro oriundos da recombinação de indivíduos selecionados da primeira geração de retrocruzamentos, para área abaixo da curva de progresso da doença média (AACPDM), número total de frutos (NF) e produção total por planta (PT). Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Ordem	Genótipo (FIC/Bloco)	AACPDM		Genótipo (FIC/Bloco)	NF		Genótipo (FIC/Bloco)	PT	
		Ganho (%)	Nova Média		Ganho %	Nova Média		Ganho (%)	Nova Média
1	<b>13 (1/1)</b>	-0,07	814,64	<b>167 (2/4)</b>	28,33	12,13	<b>167 (2/3)</b>	22,90	945,04
2	<b>130 (1/3)</b>	-0,06	814,71	<b>70 (2/2)</b>	26,31	11,94	<b>70 (2/2)</b>	18,99	914,96
3	<b>124 (3/1)</b>	-0,05	814,78	<b>95 (1/2)</b>	22,88	11,62	<b>24 (2/1)</b>	16,81	898,22
4	<b>167 (2/3)</b>	-0,05	814,84	<b>13 (1/1)</b>	21,02	11,44	<b>34 (2/1)</b>	15,45	887,74
5	<b>23 (2/1)</b>	-0,04	814,91	<b>18 (1/1)</b>	19,90	11,34	<b>32 (2/1)</b>	14,47	880,20
6	<b>100 (1/2)</b>	-0,03	814,98	<b>24 (2/1)</b>	19,08	11,26	<b>62 (2/2)</b>	13,81	875,15
7	<b>99 (1/2)</b>	-0,02	815,05	<b>34 (2/1)</b>	18,49	11,20	<b>172 (2/3)</b>	13,30	871,27
8	<b>98 (1/2)</b>	-0,01	815,12	<b>76 (2/2)</b>	17,95	11,15	<b>201 (2/4)</b>	12,93	868,35
9	<b>131 (1/3)</b>	0,00	815,19	<b>4 (1/1)</b>	17,53	11,11	<b>76 (2/2)</b>	12,58	865,70
10	<b>24 (2/1)</b>	0,00	815,26	<b>131 (1/3)</b>	17,19	11,08	<b>210 (2/4)</b>	12,28	863,38
11	<b>17 (1/1)</b>	0,01	815,34	<b>88 (1/2)</b>	16,89	11,05	<b>29 (2/1)</b>	12,03	861,43
12	<b>2 (1/1)</b>	0,02	815,41	<b>32 (2/1)</b>	16,59	11,02	<b>209 (2/4)</b>	11,81	859,74
13	<b>89 (1/2)</b>	0,03	815,48	<b>172 (2/3)</b>	16,30	10,99	<b>175 (2/3)</b>	11,62	858,29
14	<b>82 (1/2)</b>	0,04	815,56	<b>23 (2/1)</b>	16,02	10,97	<b>212 (2/4)</b>	11,45	857,03
15	<b>138 (1/3)</b>	0,05	815,64	<b>162 (2/3)</b>	15,78	10,95	<b>204 (2/4)</b>	11,31	855,92
16	<b>34 (2/1)</b>	0,06	815,72	<b>201 (2/4)</b>	15,54	10,92	<b>162 (2/3)</b>	11,18	854,91
17	<b>29 (2/1)</b>	0,07	815,80	<b>94 (1/2)</b>	15,32	10,90	<b>22 (2/1)</b>	11,05	853,94
18	<b>11 (1/1)</b>	0,08	815,88	<b>210 (2/4)</b>	15,09	10,88	<b>178 (2/3)</b>	10,91	852,89
19	<b>9 (1/1)</b>	0,09	815,96	<b>62 (2/2)</b>	14,86	10,86	<b>161 (2/3)</b>	10,79	851,90
20	<b>84 (1/2)</b>	0,10	816,04	<b>204 (2/4)</b>	14,63	10,84	<b>23 (2/1)</b>	10,67	850,99

**Tabela 4:** Cont.

Ordem	Genótipo (FIC/Bloco)	AACPDM		Genótipo (FIC/Bloco)	NF		Genótipo (FIC/Bloco)	PT	
		Ganho (%)	Nova Média		Ganho %	Nova Média		Ganho (%)	Nova Média
21	<b>81 (1/2)</b>	0,12	816,21	<b>209 (2/4)</b>	14,43	10,82	<b>13 (1/1)</b>	10,53	849,93
22	<b>175 (2/3)</b>	0,13	816,30	<b>212 (2/4)</b>	14,24	10,80	<b>177 (2/3)</b>	10,40	848,91
23	<b>237 (1/4)</b>	0,14	816,39	<b>128 (1/3)</b>	14,05	10,78	<b>95 (1/2)</b>	10,14	846,94
24	<b>236 (4/1)</b>	0,15	816,47	<b>157 (2/3)</b>	13,88	10,77	<b>88 (1/2)</b>	9,89	845,01
25	<b>233 (1/4)</b>	0,16	816,56	<b>89 (1/2)</b>	13,69	10,75	<b>131 (1/3)</b>	9,65	843,13
26	<b>149 (2/3)</b>	0,19	816,74	<b>222 (1/4)</b>	13,52	10,73	<b>18 (1/1)</b>	9,38	841,13
27	<b>96 (1/2)</b>	0,20	816,83	<b>223 (1/4)</b>	13,35	10,72	<b>4 (1/1)</b>	9,13	839,19
28	<b>224 (1/4)</b>	0,24	817,22	<b>22 (2/1)</b>	13,20	10,70	<b>94 (1/2)</b>	8,87	837,18
29	<b>222 (1/4)</b>	0,27	817,42	<b>161 (2/3)</b>	13,05	10,69	<b>223 (1/4)</b>	8,61	835,15
30	<b>231 (1/4)</b>	0,28	817,53	<b>178 (2/3)</b>	12,92	10,67	<b>222 (1/4)</b>	8,36	833,26
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
87	<b>55 (3/1)</b>	0,22	817,99	<b>115 (3/2)</b>	2,22	9,66	<b>157 (3/3)</b>	0,25	770,88

Para DL e DT, os melhores ranqueados foram os indivíduos 22 e 204, ambos oriundos da família 2, permitindo um acréscimo de 2,29 mm e 0,92 mm na média, e ganhos de 3,25% e 1,52%, respectivamente (Tabela 5). No entanto, o ganho predito para esse indivíduo não é confiável, uma vez que este produziu apenas um fruto. Observando-se a Tabela 5, percebe-se que não houve uma diferença muito grande entre os ganhos e as novas médias preditas dos 10 primeiros genótipos ranqueados.

Assunção et al. (2015) observaram valores de ganho para DL e DT similares aos encontrados no presente estudo, avaliando frutos de maracujazeiro azedo destinados à indústria e ao consumo *in natura*. Todavia, Gonçalves et al. (2007) estudando a proporção de ganho em diferentes índices de seleção para uma população de maracujá-azedo, baseada em diferentes médias, observaram ganhos para DL e DT inferiores aos encontrados no presente trabalho em todos os índices de seleção e nas diferentes médias.

Para massa média do fruto (MMF), o ganho variou de 12,78% a 5,44% para os indivíduos 167 da progênie 2, e 192 da progênie 3, respectivamente (Tabela 5). É importante salientar que apesar de haver dentro dos 30 genótipos ranqueados alguns pertencentes à família 3, não é indicada a seleção destes, visto que a progênie 3 apresentou os resultados mais desfavoráveis para a redução do impacto do CABMV. Assim, a seleção de progênies com maior MMF é interessante, pois pode representar ganhos a mais para os produtores, já que, normalmente, o peso tem correlação direta e positiva com tamanho de fruto e, com isso, podem atingir preços mais atrativos se destinados ao mercado *in natura* (Meletti, 2011).

Na população RC<sub>1</sub>, do programa de melhoramento visando resistência ao CABMV, dos 4 genitores selecionados para a composição dos cruzamentos que deram origem à população de estudo, somente dois ficaram entre os 30 potenciais genitores ranqueados para a característica massa média do fruto (MMF). Os genitores que se destacaram na população RC<sub>1</sub> para MMF foram o 355 e 516, com 17,27% e 17,85% de ganho, respectivamente (Preisigke, 2017). Contudo, a seleção dos genitores RC<sub>1</sub> para a recombinação foi feita não somente com base em uma característica isolada, mas com suporte na observação da resistência ao CABMV, nas características agrônômicas e na viabilidade polínica dos indivíduos.

**Tabela 5:** Ranqueamento dos 30 genótipos com as melhores estimativas de ganho (%) e a nova média predita, estimados via REML/BLUP, em genótipos de maracujazeiro oriundos da recombinação de indivíduos selecionados da primeira geração de retrocruzamentos, para diâmetro longitudinal (DL), diâmetro transversal (DT) e massa média do fruto (MMF). Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Ordem	Genótipo (FIC/Bloco)	Diâmetro Longitudinal		Genótipo (FIC/Bloco)	Diâmetro Transversal		Genótipo (FIC/Bloco)	Massa Média do Fruto	
		Ganho (%)	Nova Média		Ganho (%)	Nova Média		Ganho (%)	Nova Média
1	<b>22 (2/1)</b>	3,25	72,68	<b>204 (2/4)</b>	1,52	59,02	<b>167 (2/3)</b>	12,78	83,97
2	<b>167 (2/3)</b>	3,23	72,67	<b>22 (2/1)</b>	1,51	59,01	<b>209 (2/4)</b>	11,50	83,23
3	<b>209 (2/4)</b>	3,06	72,55	<b>167 (2/3)</b>	1,50	59,01	<b>22 (2/1)</b>	11,07	82,98
4	<b>157 (2/3)</b>	2,95	72,47	<b>209 (2/4)</b>	1,49	59,00	<b>62 (2/2)</b>	10,77	82,80
5	<b>32 (2/1)</b>	2,85	72,40	<b>175 (2/3)</b>	1,48	59,00	<b>24 (2/1)</b>	10,44	82,61
6	<b>62 (2/2)</b>	2,79	72,36	<b>62 (2/2)</b>	1,46	58,98	<b>201 (2/4)</b>	10,17	82,46
7	<b>212 (2/4)</b>	2,73	72,31	<b>24 (2/1)</b>	1,42	58,96	<b>70 (2/2)</b>	9,91	82,31
8	<b>70 (2/2)</b>	2,66	72,27	<b>178 (2/3)</b>	1,39	58,94	<b>175 (2/3)</b>	9,70	82,18
9	<b>161 (2/3)</b>	2,60	72,23	<b>161 (2/3)</b>	1,37	58,93	<b>178 (2/3)</b>	9,49	82,06
10	<b>201 (2/4)</b>	2,53	72,18	<b>32 (2/1)</b>	1,35	58,92	<b>212 (2/4)</b>	9,31	81,95
11	<b>178 (2/3)</b>	2,48	72,14	<b>154 (3/3)</b>	1,32	58,90	<b>172 (2/3)</b>	9,12	81,85
12	<b>29 (2/1)</b>	2,43	72,10	<b>212 (2/4)</b>	1,30	58,89	<b>34 (2/1)</b>	8,96	81,75
13	<b>34 (2/1)</b>	2,38	72,07	<b>70 (2/2)</b>	1,28	58,88	<b>32 (2/1)</b>	8,80	81,66
14	<b>24 (2/1)</b>	2,35	72,05	<b>34 (2/1)</b>	1,26	58,87	<b>161 (2/3)</b>	8,66	81,58
15	<b>172 (2/3)</b>	2,31	72,02	<b>172 (2/3)</b>	1,25	58,86	<b>23 (2/1)</b>	8,52	81,50
16	<b>23 (2/1)</b>	2,27	71,99	<b>201 (2/4)</b>	1,24	58,85	<b>204 (2/4)</b>	8,39	81,42
17	<b>204 (2/4)</b>	2,23	71,97	<b>181 (3/4)</b>	1,22	58,84	<b>210 (2/4)</b>	8,25	81,34
18	<b>76 (2/2)</b>	2,20	71,94	<b>118 (3/2)</b>	1,20	58,83	<b>29 (2/1)</b>	8,07	81,23

**Tabela 5: Cont.**

Ordem	Genótipo (FIC/Bloco)	Diâmetro Longitudinal		Genótipo (FIC/Bloco)	Diâmetro Transversal		Genótipo (FIC/Bloco)	Massa Média do Fruto	
		Ganho (%)	Nova Média		Ganho (%)	Nova Média		Ganho (%)	Nova Média
19	<b>210 (2/3)</b>	2,16	71,91	<b>23 (2/1)</b>	1,18	58,82	<b>162 (2/3)</b>	7,90	81,13
20	<b>162 (2/3)</b>	2,12	71,88	<b>55 (3/1)</b>	1,16	58,81	<b>76 (2/2)</b>	7,75	81,05
21	<b>177 (2/3)</b>	2,07	71,85	<b>210 (2/4)</b>	1,14	58,80	<b>177 (2/3)</b>	7,53	80,92
22	<b>13 (1/1)</b>	2,02	71,82	<b>76 (2/2)</b>	1,12	58,78	<b>181 (3/4)</b>	7,30	80,79
23	<b>81 (1/2)</b>	1,97	71,78	<b>149 (3/3)</b>	1,09	58,77	<b>154 (3/3)</b>	7,07	80,65
24	<b>97 (1/2)</b>	1,91	71,74	<b>115 (3/2)</b>	1,07	58,76	<b>55 (3/1)</b>	6,86	80,53
25	<b>130 (1/3)</b>	1,85	71,69	<b>101 (3/2)</b>	1,05	58,75	<b>13 (1/1)</b>	6,61	80,38
26	<b>128 (1/2)</b>	1,79	71,65	<b>162 (2/3)</b>	1,04	58,74	<b>149 (3/3)</b>	6,35	80,24
27	<b>17 (1/1)</b>	1,73	71,61	<b>43 (3/1)</b>	1,02	58,73	<b>115 (3/2)</b>	6,11	80,09
28	<b>221 (1/4)</b>	1,67	71,57	<b>29 (2/1)</b>	1,00	58,71	<b>150 (3/3)</b>	5,88	79,96
29	<b>131 (1/3)</b>	1,62	71,54	<b>189 (3/4)</b>	0,98	58,70	<b>101 (3/2)</b>	5,66	79,83
30	<b>88 (1/2)</b>	1,57	71,50	<b>150 (3/3)</b>	0,96	58,69	<b>192 (3/4)</b>	5,44	79,71
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
87	<b>103 (3/2)</b>	-0,02	70,38	<b>12 (1/1)</b>	-0,40	57,90	<b>12 (1/1)</b>	-1,74	75,54

Os baixos valores de variabilidade genética e de herdabilidade verificados para massa média da polpa (MMP) (Tabela 3), contribuíram para os baixos valores de ganho observados (Tabela 6), os quais variaram de 0,09% a 0,04% para os genótipos 13, pertencente à família 1, e 70, à família 2, respectivamente. Esses resultados sugerem que as possibilidades para a melhoria dessa variável são pequenas e, conseqüentemente, um discreto progresso genético é esperado. Assim, recomenda-se, por mais importante que seja a presente característica, a seleção de qualquer indivíduo dentro das progênies 1 e 2, uma vez que estas obtiveram o maior número de indivíduos selecionados com os menores ganhos para essa variável (Tabela 6).

Para rendimento de polpa (RP), que é definitivamente umas das características mais relevantes na avaliação da qualidade dos frutos de maracujazeiro-azedo (Assunção et al., 2015; Silva et al., 2017a), os 30 melhores genótipos que apresentaram os maiores ganhos foram os pertencentes à família 1 (Tabela 6). Os valores de ganho variaram entre 10,93% para o indivíduo 83, e 7,86% para o genótipo 97 (Tabela 6). Isso significa um ganho máximo na média de 3,73% de rendimento de polpa.

Comparando os resultados observados no presente estudo aos obtidos dentro do programa de seleção recorrente do maracujazeiro-azedo da UENF, Cavalcante et al. (2019) avaliando se houve um aumento no ganho genético com o uso das melhores plantas dentro de cada família de meios-irmãos para a geração de famílias de irmãos completos, constataram ganhos inferiores aos apresentados aqui para RP (%), tanto para a seleção dentro, quanto para a seleção entre famílias.

No que concerne à espessura de casca, que 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), observou-se um ganho negativo máximo, ou perda, de 3,28% na média original para o genótipo 94, da família 1 (Tabela 6). É importante salientar que todos os 30 indivíduos ranqueados para a EC pertencem à família 1, e que somente 21 genótipos apresentaram ganhos negativos (Tabela 6). O ganho negativo para essa característica e a obtenção de ganhos para o rendimento de polpa é, sem dúvidas, bastante pertinente, dado que existe uma correlação

negativa entre a espessura de casca e o percentual de polpa (Cavalcante et al., 2018).

A espessura da casca é utilizada como critério de qualidade quando se deseja aumentar o espaço na câmara interna do maracujá (câmara ovariana), os maracujás são preferidos quando têm uma casca mais fina, pois haverá mais polpa (Fortaleza et al., 2005). Segundo Bruckner et al. (2002), os frutos destinados tanto à indústria quanto ao consumo *in natura* devem ter uma casca fina e uma cavidade interna totalmente preenchida, proporcionando altos rendimentos de suco. Todavia, as cascas não podem ser muito finas para não danificar os frutos durante o transporte.

Dentro dos resultados apresentados de variância genotípica, herdabilidade e ganhos, a espessura da casca, associada à outras características, pode ser utilizada como critério de seleção, concluindo-se, assim, que as chances para a melhoria dessa variável são grandes, conseqüentemente, algum progresso genético é esperado.

Ressalta-se que, tanto para a indústria quanto para o mercado de frutos *in natura*, é importante que o teor de sólido solúveis totais (SST) seja elevado. Para a indústria, por exemplo, são necessários 11kg de frutos com SST, entre 11% e 12%, para obtenção de 1kg de suco concentrado a 50 °Brix. Portanto, quanto mais alto o valor de SST, menor será a quantidade de frutos necessários para a concentração do suco (Nascimento et al., 2003), nesse aspecto os ganhos variaram entre 0,03% e 0,02% para os genótipos 86 e 128, ambos da família 1.

Observou-se que todos os indivíduos presentes no ranque dos 30 melhores para a característica SST pertencem a família 1. Dessa forma, aliado à pouca amplitude do ganho apresentado, pode-se selecionar qualquer um dos indivíduos dentro da família 1. O incremento máximo no teor de sólidos solúveis totais foi baixo, quase insignificante, porém isso era esperado, já que a variabilidade genotípica e a herdabilidade para essa característica são baixas na grande maioria estudos realizados em maracujazeiro-azedo (Assunção et al., 2015; Freitas et al., 2016; Cavalcante et al., 2018, 2019).

**Tabela 6:** Ranqueamento dos 30 genótipos com as melhores estimativas de ganho (%) e a nova média predita, estimados via REML/BLUP, em genótipos de maracujazeiro oriundos da recombinação de indivíduos selecionados da primeira geração de retrocruzamentos, para massa média da polpa (MMP), rendimento de polpa (RP), espessura da casca (EC) e teor de sólidos solúveis totais (SST). Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

Ordem	Genótipo (FIC/Bloco)	Massa Média da Polpa		Genótipo (FIC/Bloco)	Rendimento de Polpa		Genótipo (FIC/Bloco)	Espessura da Casca		Genótipo (FIC/Bloco)	SST	
		Ganho (%)	Nova Média		Ganho	Nova Média		Ganho	Nova Média		Ganho	Nova Média
1	13 (1/1)	0,09	27,10	83 (1/2)	10,93	37,84	94 (1/2)	-3,28	7,67	86 (1/2)	0,03	13,86
2	140 (1/3)	0,07	27,10	13 (1/1)	10,39	37,65	128 (1/3)	-3,11	7,69	97 (1/2)	0,03	13,86
3	88 (1/2)	0,06	27,10	235 (1/4)	10,19	37,58	96 (1/2)	-2,95	7,70	83 (1/2)	0,03	13,86
4	95 (1/2)	0,06	27,09	140 (1/3)	10,04	37,53	140 (1/3)	-2,80	7,71	3 (1/1)	0,03	13,86
5	235 (1/4)	0,06	27,09	222 (1/4)	9,89	37,48	11 (1/1)	-2,65	7,72	88 (1/2)	0,03	13,86
6	131 (1/3)	0,05	27,09	94 (1/2)	9,80	37,45	130 (1/3)	-2,50	7,74	9 (1/1)	0,03	13,86
7	167 (2/3)	0,05	27,09	122 (1/3)	9,64	37,39	15 (1/1)	-2,34	7,75	18 (1/1)	0,03	13,86
8	97 (1/2)	0,05	27,09	131 (1/3)	9,50	37,35	95 (1/2)	-2,18	7,76	122 (1/3)	0,02	13,86
9	136 (1/3)	0,05	27,09	18 (1/1)	9,38	37,31	133 (1/3)	-2,04	7,77	136 (1/3)	0,02	13,86
10	209 (2/4)	0,05	27,09	95 (1/2)	9,28	37,27	86 (1/2)	-1,89	7,78	4 (1/1)	0,02	13,86
11	83 (1/2)	0,05	27,09	133 (1/3)	9,18	37,24	9 (1/1)	-1,74	7,80	135 (1/3)	0,02	13,86
12	10 (1/1)	0,05	27,09	223 (1/4)	9,10	37,21	122 (1/3)	-1,58	7,81	138 (1/3)	0,02	13,86
13	94 (1/2)	0,05	27,09	231 (1/4)	9,02	37,18	131 (1/3)	-1,43	7,82	235 (1/4)	0,02	13,86
14	222 (1/4)	0,05	27,09	10 (1/1)	8,96	37,16	2 (1/1)	-1,27	7,83	10 (1/1)	0,02	13,86
15	18 (1/1)	0,05	27,09	136 (1/3)	8,89	37,14	12 (1/1)	-1,10	7,85	82 (1/2)	0,02	13,86
16	221 (1/4)	0,05	27,09	221 (1/4)	8,82	37,12	221 (1/4)	-0,94	7,86	2 (1/1)	0,02	13,86
17	132 (1/3)	0,05	27,09	124 (1/3)	8,75	37,09	237 (1/4)	-0,77	7,87	223 (1/4)	0,02	13,86
18	133 (1/3)	0,04	27,09	9 (1/1)	8,66	37,06	136 (1/3)	-0,61	7,89	231 (1/4)	0,02	13,86
19	122 (1/3)	0,04	27,09	237 (1/4)	8,58	37,03	90 (1/2)	-0,43	7,90	13 (1/1)	0,02	13,86
20	223 (1/4)	0,04	27,09	100 (1/2)	8,50	37,01	222 (1/4)	-0,25	7,91	17 (1/1)	0,02	13,86

**Tabela 6: Cont.**

Ordem	Genótipo (FIC/Bloco)	Massa Média da Polpa		Genótipo (FIC/Bloco)	Rendimento de Polpa		Genótipo (FIC/Bloco)	Espessura da Casca		Genótipo (FIC/Bloco)	SST	
		Ganho (%)	Nova Média		Ganho	Nova Média		Ganho	Nova Média		Ganho	Nova Média
21	<b>231 (1/4)</b>	0,04	27,09	<b>236 (1/4)</b>	8,43	36,98	<b>124 (1/3)</b>	-0,07	7,93	<b>96 (1/2)</b>	0,02	13,86
22	<b>96 (1/2)</b>	0,04	27,09	<b>12 (1/1)</b>	8,36	36,96	<b>236 (1/4)</b>	0,11	7,94	<b>134 (1/3)</b>	0,02	13,86
23	<b>81 (1/2)</b>	0,04	27,09	<b>4 (1/1)</b>	8,29	36,93	<b>233 (1/4)</b>	0,29	7,96	<b>237 (1/4)</b>	0,02	13,86
24	<b>9 (1/1)</b>	0,04	27,09	<b>90 (1/2)</b>	8,22	36,91	<b>17 (1/1)</b>	0,47	7,97	<b>81 (1/2)</b>	0,02	13,86
25	<b>130 (1/3)</b>	0,04	27,09	<b>2 (1/1)</b>	8,15	36,89	<b>138 (1/3)</b>	0,66	7,99	<b>132 (1/3)</b>	0,02	13,86
26	<b>4 (1/1)</b>	0,04	27,09	<b>96 (1/2)</b>	8,09	36,87	<b>231 (1/4)</b>	0,86	8,00	<b>11 (1/1)</b>	0,02	13,86
27	<b>2 (1/1)</b>	0,04	27,09	<b>88 (1/2)</b>	8,03	36,85	<b>223 (1/4)</b>	1,05	8,02	<b>131 (1/3)</b>	0,02	13,86
28	<b>82 (1/2)</b>	0,04	27,09	<b>135 (1/3)</b>	7,97	36,83	<b>82 (1/2)</b>	1,26	8,03	<b>95 (1/2)</b>	0,02	13,86
29	<b>233 (1/4)</b>	0,04	27,09	<b>132 (1/3)</b>	7,92	36,81	<b>89 (1/2)</b>	1,46	8,05	<b>100 (1/2)</b>	0,02	13,86
30	<b>70 (2/2)</b>	0,04	27,09	<b>97 (1/2)</b>	7,86	36,79	<b>232 (1/4)</b>	1,67	8,07	<b>128 (1/3)</b>	0,02	13,86
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
87	<b>185 (3/4)</b>	0,01	27,08	<b>177 (2/3)</b>	1,98	34,78	<b>94 (1/2)</b>	-3,30	7,67	<b>204 (2/4)</b>	0,00	13,86

### **5.3. Seleção simultânea de características via índice de seleção aditivo, multiplicativo e soma de rank adaptado de Mulamba e Mock**

Os índices de seleção são geralmente utilizados com o propósito de escolher materiais superiores, com base em um complexo de variáveis que reúna atributos de interesse do melhorista, de modo a resultar em melhores ganhos simultâneos (Cruz et al. (2014). Deste modo, em termos de estimativa de ganho genético pode-se observar que para todos os índices, os indivíduos da família 3 foram os que apresentaram os menores ganhos. Dentre os três índices de seleção utilizados, o que possibilitou maiores ganhos por seleção foi índice de Mulamba e Mock adaptado, com uma média de 27,37%, seguido do índice Multiplicativo (3,87%), e do índice aditivo (1,18%) (Tabela 7).

Todos os índices apresentados mostraram coincidência da presença dos indivíduos das famílias selecionadas, via estimativas dos BLUPs individuais para as todas as características avaliadas. Dos 30 genótipos selecionados pelo BLUPs para estas características, a grande maioria dos genótipos pertencem às famílias 1 e 2, selecionadas pelos índices multiplicativo, aditivo e de Mulamba e Mock adaptado (Tabela 7).

Ao comparar a eficiência de três índices de seleção, construídos a partir de componentes de variância estimados e valores genotípicos preditos pela metodologia REML/BLUP, em três populações (A, B e C) de primeira geração clonal de cana-de-açúcar, Pedrozo et al. (2009) concluíram que o índice multiplicativo foi o que mostrou maior eficiência de seleção. De acordo com Pedrozo et al. (2009) o índice multiplicativo apresentou maior coeficiente de coincidência de genótipos selecionados com a estratégia de seleção para o caráter toneladas de sólidos solúveis por hectare (TBH), maiores ganhos diretos de seleção e maiores ganhos indiretos para TBH.

O índice aditivo, mesmo obtendo a média de ganho genético inferior em relação aos demais índices, selecionou os genótipos 167 e 13, assim como os índices multiplicativo e de Mulamba e Mock adaptado, na mesma ordem. Ribeiro et al. (2018) estimaram a divergência genética entre acessos de algodoeiro e classificaram os melhores com base no índice de seleção de rank médio adaptado de Mulamba e Mock. Esses autores afirmaram que o índice de Mulamba e Mock proporcionou ganhos mais satisfatórios, sendo o método mais

adequado para a seleção de genótipos, visando ganhos simultâneos de produtividade e componentes tecnológicos de fibra do algodão de terras altas.

Resultados similares foram observados por Dalbosco et al. (2018), ao comparar diferentes índices de seleção paramétricos e não-paramétricos para seleção de progênies de maracujá. Assim, identificando os melhores genótipos para as características de importância econômica concluíram que o índice de Mulamba e Mock apresentou ganhos genéticos satisfatórios.

O índice aditivo foi o que possibilitou menores ganhos genéticos quando comparados aos demais índices. Porém, a maioria dos genótipos selecionados como superiores pertencem às famílias 2 e 1, o que coincide com os índices multiplicativo e de Mulamba e Mock adaptado. Deste modo, o uso do índice clássico permitiu, após várias tentativas atribuindo pesos variados, obter ganhos percentuais favoráveis (Tabela 7).

Considerando-se a eficiência de um índice de seleção para aplicação em programa de melhoramento, é importante considerar o ganho obtido pela aplicação do índice e o potencial que o mesmo tem em selecionar indivíduos com base em características de interesse, sem se permitir inflacionar ou atribuir peso demasiado a uma das características que compõem o índice. Neste contexto, dentre os índices utilizados no experimento para seleção de famílias superiores, o índice multiplicativo foi o mais eficiente, pois apresentou maior magnitude de ganhos e possibilitou selecionar as melhores famílias em qualidade e produção do experimento.

Do ponto de vista do melhoramento genético de plantas, não é inabitual a aplicação de cruzamentos interespecíficos, seguidos de retrocruzamentos, quando se almeja a introgressão de características controladas por um ou poucos alelos em cultivares elite, tal como resistência às doenças. A ousadia do programa de melhoramento do maracujazeiro-azedo, visando resistência ao CABMV, da UENF é o uso da técnica aplicada à uma característica de herança complexa (Freitas et al., 2015).

**Tabela 7:** Ranqueamento dos 30 genótipos com as melhores estimativas de ganho de maracujazeiro oriundos da recombinação de indivíduos selecionados da primeira geração de retrocruzamentos com base nos ganhos esperados, utilizando os índices aditivo, multiplicativo e rank médio adaptado de Mulamba e Mock para as 10 características avaliadas (Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, 2019).

Ordem	Índice de Seleção					
	Aditivo		Multiplicativo		Rank*	
	Genótipo	GS	Genótipo	GS	Genótipo	GS
1	167	87,50	167	50,18	167	398,52
2	13	22,73	13	25,50	13	210,93
3	70	15,62	185	16,14	209	106,75
4	177	8,13	70	14,23	22	106,36
5	22	7,24	209	13,34	70	88,91
6	95	6,96	22	13,20	95	60,59
7	209	6,13	177	12,93	94	57,96
8	131	4,57	95	10,02	175	53,66
9	88	4,05	204	9,63	140	53,62
10	18	3,92	131	8,45	24	52,46
11	83	3,64	94	8,34	131	50,89
12	24	3,57	194	8,09	3	45,90
13	94	3,37	24	7,42	18	45,62
14	175	3,24	18	7,34	62	44,28
15	4	2,50	51	6,60	154	42,73
16	235	2,45	212	6,58	83	42,02
17	140	2,41	140	6,57	9	41,54
18	222	2,14	29	6,13	235	34,73
19	62	2,08	201	6,07	32	34,61
20	29	1,54	88	5,86	204	34,14
21	212	1,35	175	5,71	88	32,86
22	76	1,32	53	5,33	181	31,05
23	201	1,23	3	5,27	4	26,69
24	204	1,23	62	5,15	10	26,38
25	23	1,22	4	5,08	15	24,66
26	3	1,20	83	5,03	11	24,11
27	9	0,81	222	4,91	23	23,73
28	232	0,73	9	4,80	128	23,56
29	100	0,72	76	4,70	201	23,37
30	98	1,02	181	4,70	130	23,29
...	...	...	...	...	...	...
87	103	-30,11	103	-23,15	233	-7,98
<b>Média Geral</b>		1,18		3,87		27,37

\*rank médio adaptado de Mulamba e Mock.

Não obstante, sabendo-se que em um programa de retrocruzamento comum, após um número suficiente de retrocruzamentos, se obtém a recuperação do genótipo do genitor recorrente, exceto para a característica considerada insatisfatória, que seria controlada por um ou poucos genes, transferida do genitor doador, e o *linkage drag*, o que não seria o caso da resistência ao CAMBV. O programa de melhoramento do maracujazeiro visando resistência ao CABMV da UENF, insere uma nova abordagem de melhoramento, selecionando e recombinao indivíduos das populações de retrocruzamento, resultando na maior probabilidade de concentrar a frequência de alelos favoráveis para a resistência na população.

## 6. CONCLUSÃO

A análise via modelos mistos possibilitou a estimação de parâmetros, predição de ganhos e seleção de genótipos promissores. Foi possível observar altas magnitudes de herdabilidade com base na média da família para as características área abaixo da curva de progresso da doença média, número de frutos, peso total de frutos, diâmetro longitudinal, diâmetro transversal, massa média do fruto, rendimento de polpa e espessura de casca. Também foi possível obter ganhos com a seleção por meio da estimação dos BLUps individuais para todas as características.

As melhores famílias de irmãos completos foram a 1 e 2, por contribuírem com a maioria dos genótipos selecionados para as características avaliadas. Os resultados indicam grande potencial dessas famílias em gerar genótipos resistentes e produtivos dentro da população de estudo, podendo ser utilizadas para dar continuidade ao programa de melhoramento do maracujazeiro da UENF, visando resistência ao CABMV.

Entre os 30 genótipos ranqueados para resistência ao CABMV e as demais características produtivas, foram selecionados para compor a recombinação os genótipos que apresentaram menores valores de AACPD, juntamente com as melhores características produtivas, também associando características como frutos assintomáticos e arquitetura da planta. Sendo os genótipos selecionados 167, 24, 34, 62 e 231.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antonio, R.P., dos Santos, J.B., Alves, F.C., Gonçalves, P.R.C., Lara. Letícia Aparecida de Castro. (2012) Seleção assistida por marcadores de DNA em retrocruzamento visando resistência ao mofo branco em feijoeiro. *Rev Caatinga* 25: 61–67.
- Assunção, M.P., Krause, W., Dallacort, R., Santos, P.R.J., Neves, L.G. (2015) Seleção individual de plantas de maracujazeiro azedo quanto à qualidade de frutos via REML/BLUP. *Rev Caatinga* 28: 57–63.
- Barros, D.R., Alfenas-Zerbini, 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: 1085–1091.
- Bernacci, L.C. (2003) Passifloraceae. *In: Wanderley, M.G.L., Shepherd, G.J., Melhem, T.S., et al. (ed) Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*, 3.ed. São Paulo: Instituto de Botânica, p. 247–274
- Bernacci, L.C., Cervi, A.C., Milward-de-Azevedo, M.A., Nunes, T.S., Imig, D.C., Mezzonato, A.. (2015) Passifloraceae. *In: Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro,
- Bernardo, R.N. (2002) *Breeding for quantitative traits in plants*. Stemma Press,

369p.

- Bernardo, R.N. (2010) *Breeding for quantitative traits in plants*. Stemma Press, 390p.
- Boas, S.A.V., Hohenfeld, C.S., de Oliveira, S.A.S., da Silva Santos, V., de Oliveira, E.J. (2016) Sources of resistance to cassava root rot caused by *Fusarium* spp.: a genotypic approach. *Euphytica* 209: 237–251.
- 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., de Moraes, C.F., Regazzi, A.J., da Silva, E.A.M. (2015) Self-incompatibility in passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). *Acta Horti* 45–58.
- Bruckner, C.H., Meletti, L.M.M., Otoni, W.C., Zerbini Junior, F.M. (2002) Maracujazeiro. In: Bruckner, C.H. (ed) *Melhoramento de fruteiras tropicais*. Viçosa: Editora UFV, p. 373–409
- Bruckner, C.H., Suassuna, T.M.F., Rêgo, M.M., Nunes, E.. (2005) Autoincompatibilidade de do maracujá – implicações no melhoramento genético. In: Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Braga, M.F. (ed) *Maracujá: Germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina: Embrapa, p. 317–338
- Bueno, C.J., Fischer, I.H., Parisi, M.C.M., Furtado, E.L. (2010) Comportamento do maracujazeiro amarelo, variedade afruveç, ante uma população de *Fusarium solani*, agente causal da podridão do colo. *Arq Inst Biol (Sao Paulo)* 77: 533–537.
- Campbell, C.L., Madden, L. V. (1990) *Introduction to plant disease epidemiology*. Wiley, 532p.
- Cavalcante, N.R., Krause, W., Viana, A.P., Silva, C.A., Porto, K.K.X., Martinez, R.A.S., 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.
- Cavalcante, N.R., Viana, A.P., Almeida Filho, J.E., Pereira, M.G., Ambrósio, M.,

- Santos, E.A., Ribeiro, R.M., Rodrigues, D.L., Sousa, C.M.B. (2019) Novel selection strategy for half-sib families of sour passion fruit *Passiflora edulis* (Passifloraceae) under recurrent selection. *Genet Mol Res* 18: 1–12.
- Cavalcante, N.R., Viana, A.P., dos Santos, P.R., Preisigke, S. da C., Ribeiro, R.M., Tofanelli, E.J. (2018) Associations among production and physicochemical-quality fruit traits in Passion fruit populations subjected to three cycles of intrapopulation recurrent selection. *Rev Bras Frutic.* doi: 10.1590/0100-29452018013
- Cavichioli, J.C., De, L., Corrêa, S., Narita, N., Kasai, F.S. (2011) Incidência e severidade do vírus do endurecimento dos frutos em maracujazeiros enxertados em pé-franco. *Rev Bras Frutic* 411–414.
- Cerqueira-Silva, C.B.M., Conceição, L.D.H.C.S., Souza, A.P., Corrêa, R.X. (2014) 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.
- Chen, X., Hao, S., Wang, L., Fang, W., Wang, Y., Li, X. (2012) Late-acting self-incompatibility in tea plant (*Camellia sinensis*). *Biologia (Bratisl)* 67: 347–351.
- 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.
- Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S., Regazzi, A.J. (2014) *Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético*. 3.ed. Viçosa: Editora UFV, 668p.
- Cunha, M.A.P., Barbosa, L.V., Junqueira, N.T.V. (2002) Espécies de maracujazeiro. In: Lima, A.A. (ed) *Maracujá Produção: Aspectos Técnicos*. Brasília: EMBRAPA, p. 104 104
- Dalbosco, E.Z., Krause, W., Neves, L.G., Vieira De Araújo, D., Mara, K., Hiega, R., Graciele Da Silva, C., Dalbosco, E.Z. (2018) Parametric and non-parametric indexes applied in the selection of sour passion fruit progenies. *Rev Bras Frutic.* doi: 10.1590/0100-29452018282

- Das, M.R., Hossain, T., Mia, M.A.B., Ahmed, J.U., Kariman, A.J.M.S., Hossain, M.M. (2013) Fruit Setting Behaviour of Passion Fruit. *Am J Plant Sci* 04: 1066–1073.
- de Nettancourt, D. (1997) Incompatibility in angiosperms. *Sex Plant Reprod* 10: 185–199.
- Dhawan, K., Dhawan, S., Sharma, A. (2004) Passiflora: a review update. *J Ethnopharmacol* 94: 1–23.
- 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.
- Dias, M.V., Figueiredo, L.P., Valente, W.A., Ferrua, F.Q., Pereira, P.A.P., Pereira, A.G.T., Borges, S.V., Clemente, P.R. (2011) Estudo de variáveis de processamento para produção de doce em massa da casca do maracujá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *Ciência e Tecnol Aliment* 31: 65–71.
- Falconer, D.S. (Douglas S., Mackay, T.F.C. (1996) *Introduction to quantitative genetics*. Longman, 464p.
- Faleiro, F., Junqueira, N.T. V., Braga, M. (2005) Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro: Desafios da pesquisa. *Maracujá Germoplasma e Melhor genético* 187–210.
- Faleiro, F.G., Junqueira, N.T. V. (2016) *Maracujá: o produtor pergunta, a Embrapa responde*. Brasília: Embrapa, 341p.
- Faria, F.S., Stehmann, J.R. (2010) Biologia reprodutiva de *Passiflora capsularis* L. e *P. pohlii* Mast. (Decaloba, Passifloraceae). *Acta Bot Brasilica* 24: 262–269.
- Farias Neto, J.T. de., Oliveira, M. do S.P. de., Resende, M.D.V. de., Rodrigues, J.C. (2012) Genetic parameters and selection gains for *Euterpe oleracea* in juvenile phase. *CERNE* 18: 515–521.
- Fauquet, C., International Committee on Taxonomy of Viruses. (2005) *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses; 8th report of the*

- International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier/Academic Press, 1259p.
- Ferreira, F.R., Oliveira, J.C. (1991) Germoplasma de Passiflora. *In*: São José, A.R., Ferreira, F., Vaz, R.L.. (ed) *A cultura do maracujá no Brasil*. Jaboticabal: FUNEP, p. 187–200
- Ferreira, R.T., Viana, A.P., Silva, F.H.D.L.E., Santos, E.A., Santos, J.O. (2016) Seleção recorrente intrapopulacional em maracujazeiro-azedo via modelos mistos. *Rev Bras Frutic* 38: 158–166.
- Feuillet, C., MacDougal, J.M. (2004) A New Infrageneric Classification of *Passiflora* L. (Passifloraceae). *Passiflora* 13: 34–38.
- Fischer, I.H., Rezende, J.A.. (2008) Diseases of passion flower (*Passiflora* spp.). *Pest Technol* 2: 1–19.
- Fisher, I.H., Kimati, H., Rezende, J.A.. (2005) *Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. Viçosa: Agronômica Ceres, 467–474p.
- Flora Brasil. (2019) *Passiflora* in Flora do Brasil. *In*: Jard. Botânico do Rio Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB12506>. Accessed 31 Jul 2019
- Fonseca, K.G. da., Faleiro, F.G., Peixoto, J.R., Junqueira, N.T.V., Silva, M.S., Bellon, G., Junqueira, K.P., Vaz, C. de F. (2009) Análise da recuperação do genitor recorrente em maracujazeiro-azedo por meio de marcadores RAPD. *Rev Bras Frutic* 31: 145–153.
- Fortaleza, J.M., Peixoto, J.R., Junqueira, N.T.V., Oliveira, A.T. de., Rangel, L.E.P. (2005) Características físicas e químicas em nove genótipos de maracujá-azedo cultivado sob três níveis de adubação potássica. *Rev Bras Frutic* 27: 124–127.
- Freitas, J.C. de O., Pio Viana, A., Santos, E.A., Paiva, C.L., Silva, F.H. de L. e., Souza, M.M. (2016) Sour passion fruit breeding: Strategy applied to individual selection in segregating population of *Passiflora* resistant to Cowpea aphid-born mosaic virus (CABMV). *Sci Hortic (Amsterdam)* 211: 241–247.

- 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, L.B. (2011) História evolutiva das espécies de Passiflora L. de ocorrência no Rio Grande do Sul: aspectos genéticos, estrutura populacional e filogenia. *Rev Bras Biociências* 9: 41–47.
- Fuhrmann, E., Junqueira, N.T.V., Blum, L.E.B., Braga, M.W., Bellon, G., Junqueira, K.P., 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. à Xanthomonas axonopodis pv. passiflorae. *Ciência Rural* 44: 1404–1410.
- Gamage, J., Mathew, T., Weerahandi, S. (2013) Generalized prediction intervals for BLUPs in mixed models. *J Multivar Anal* 120: 226–233.
- 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 "Passionfruit woodiness virus." *Fitopatol Bras* 25: 182–189.
- Gonçalves, G.M., Viana, A.P., Bezerra Neto, F.V., Pereira, M.G., Pereira, T.N.S. (2007) Seleção e herdabilidade na predição de ganhos genéticos em maracujá-amarelo. *Pesqui Agropecuária Bras* 42: 193–198.
- Gonçalves, Z.S., Lima, L.K.S., Soares, T.L., Abreu, E.F.M., Barbosa, C. de J., Cerqueira-Silva, C.B.M., Jesus, O.N. de., Oliveira, E.J. de. (2018) Identification of Passiflora spp. genotypes resistant to Cowpea aphid-borne mosaic virus and leaf anatomical response under controlled conditions. *Sci Hortic (Amsterdam)* 231: 166–178.
- Haynes, K.G., Lambert, D.H., Christ, B.J., Weingartner, D.P., Douches, D.S., Backlund, J.E., Secor, G., Fry, W., Stevenson, W. (1998) Phenotypic stability of resistance to late blight in potato clones evaluated at eight sites in the United States. *Am J Potato Res* 75: 211–217.
- Henderson, C.R. (1975) Best Linear Unbiased Estimation and Prediction under a

Selection Model. *Biometrics* 31: 423.

Hoffmann, M., Pereira, T.N.S., Mercadante, M.B., Gomes, A.R. (2000) Polinização de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (Passiflorales, Passifloraceae), por abelhas (Hymenoptera, Anthophoridae) em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro. *Iheringia Série Zool* 149–152.

Holland, J.B. (2014) Breeding: Plants, Modern. *In: Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*. Elsevier, p. 187–200

IBGE. (2017) Banco de dados agregados. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. <http://www.ibge.gov.br/>. Accessed 20 Nov 2017

INMET. (2019) Dados climatológicos. <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=home2/index>.

Judd, W.S. (1999) *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, 464p.

Junqueira, N.T. V., Braga, M., Faleiro, F., Peixoto, J.R., Bernacci, L. (2005) *Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças*. 81–108p.

Kavati, R. (1998) Florescimento e frutificação do maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *In: Ruggiero, C. (ed) Maracujá do plantio à colheita*. Jaboticabal: FUNEP, p. 107–129

Krosnick, S.E., Porter-Utley, K.E., Macdougall, J.M., Jørgensen, P.M., Mcdade, L.A. (2013) New Insights into the Evolution of *Passiflora* subgenus *Decaloba* (Passifloraceae): Phylogenetic Relationships and Morphological Synapomorphies. *Syst Bot* 38: 692–713.

Lorenzi, H., Matos, F.J.. (2002) Passifloraceae. *In: Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. p. 371–374

Maciel, S. da 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.

- Madureira, H., Pereira, T., Cunha, M., Klein, D., Oliveira, M., Mattos, L., Souza Filho, G. (2014) Self-incompatibility in passion fruit: cellular responses in incompatible pollinations. *Biologia (Bratisl)* 69: 574–584.
- Manica, I. (1981) *Fruticultura tropical. 1. Maracujá*. São Paulo: Agronômica Ceres, 160p.
- Mattos, P.H.C. de., Oliveira, R.A. de., Bessalho Filho, J.C., Daros, E., Veríssimo, M.A.A. (2013) Evaluation of sugarcane genotypes and production environments in Paraná by GGE biplot and AMMI analysis. *Crop Breed Appl Biotechnol* 13: 83–90.
- Meletti, L.M.M. (2011) Avanços na cultura do maracujá no Brasil. *Rev Bras Frutic* 33: 83–91.
- 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 55–78
- 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: 1036–1043.
- Narita, N., Yuki, V.A., Pavan, M.A. (2011) Não transmissibilidade do CABMV do maracujazeiro por sementes. *Summa Phytopathol* 37: 221–221.
- Nascimento, A.V.S., Santana, E.N., Braz, A.S.K., Alfenas, P.F., Pio-Ribeiro, G., Andrade, G.P., de Carvalho, M.G., Murilo Zerbini, F. (2006) Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) is widespread in passionfruit in Brazil and causes passionfruit woodiness disease. *Arch Virol* 151: 1797–1809.
- Nascimento, W.M.O. do., Tomé, A.T., Oliveira, M. do S.P. de., Müller, C.H., Carvalho, J.E.U. de. (2003) Seleção de progênies de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) quanto à qualidade de frutos. *Rev Bras Frutic* 25: 186–188.
- Negreiros, J.R. da S., Álvares, V. de S., Bruckner, C.H., Morgado, M.A.D., Cruz,

- C.D. (2007) Relação entre características físicas e o rendimento de polpa de maracujá-amarelo. *Rev Bras Frutic* 29: 546–549.
- Neves, L.G., Brucner, C.H., Cruz, C.D., Duarte, L.P., Krause, W. (2011) *Revista Ciência agrônômica*. 495–501p.
- 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* 6: 194–226.
- Ocampo, J., Coppens D’Eeckenbrugge, G., Jarvis, A., Ocampo, J., Coppens D’Eeckenbrugge, G., Jarvis, A. (2010) Distribution of the Genus *Passiflora* L. Diversity in Colombia and Its Potential as an Indicator for Biodiversity Management in the Coffee Growing Zone. *Diversity* 2: 1158–1180.
- Oliveira, E.J. de., Soares, T.L., Barbosa, C. de J., Santos-Filho, H.P., Jesus, O.N. de. (2013) Severidade de doenças em maracujazeiro para identificação de fontes de resistência em condições de campo. *Rev Bras Frutic* 35: 485–492.
- Oliveira, L.F. de., Nascimento, M.R.F., Borges, S.V., Ribeiro, P.C. do N., Ruback, V.R. (2002) Aproveitamento alternativo da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* F. *Flavicarpa*) para produção de doce em calda. *Ciência e Tecnol Aliment* 22: 259–262.
- Pacheco, G., Simão, M.J., Vianna, M.G., Garcia, R.O., Vieira, M.L.C., Mansur, E. (2016) In vitro conservation of *Passiflora*—A review. *Sci Hortic (Amsterdam)* 211: 305–311.
- Paiva, C.L., Viana, A.P., Santos, E.A., Silva, R.N.O., Oliveira, E.D.J. (2014) Genetic diversity of the genus *Passiflora* using the WARD-MLM strategy. *Rev Bras Frutic* 36: 381–390.
- Patterson, H.D., Thompson, R. (1971) Recovery of Inter-Block Information when Block Sizes are Unequal. *Biometrika* 58: 545.
- Pedrozo, C.A., Benites, F.R.G., Barbosa, M.H.P., Resende, M.D. V., Silva, F.L.

- (2009) Eficiência de índices de seleção utilizando a metodologia reml/blup no melhoramento da cana-de-açúcar. *Sci Agrária* 10: 31–36.
- Peel, M.C., Finlayson, B.L., McMahon, T.A. (2007) Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrol Earth Syst Sci* 11: 1633–1644.
- Pereira, T.B., Carvalho, J.P.F., Botelho, C.E., Resende, M.D.V. de., Rezende, J.C. de., Mendes, A.N.G. (2013) Eficiência da seleção de progênies de café F4 pela metodologia de modelos mistos (REML/BLUP). *Bragantia* 72: 230–236.
- Pérez, J.O. (2007) Study of the genetic diversity of genus *Passiflora* L. (Passifloraceae) and its distribution in Colombia. ESCOLA AGRONÔMICA SUPERIOR NACIONAL DE MONTPELLIER 268p.
- Piepho, H.P., Möhring, J., Melchinger, A.E., Büchse, A. (2008) BLUP for phenotypic selection in plant breeding and variety testing. *Euphytica* 161: 209–228.
- Pimentel, A.J.B., Guimarães, J.F.R., Souza, M.A. de., Resende, M.D.V. de., Moura, L.M., Rocha, J.R. do A.S. de C., Ribeiro, G., Pimentel, A.J.B., Guimarães, J.F.R., Souza, M.A. de., Resende, M.D.V. de., Moura, L.M., Rocha, J.R. do A.S. de C., Ribeiro, G. (2014) Estimação de parâmetros genéticos e predição de valor genético aditivo de trigo utilizando modelos mistos. *Pesqui Agropecuária Bras* 49: 882–890.
- Preisigke, S. da C. (2017) Retrocruzamento em maracujazeiro visando à resistência genética ao cowpea aphid-borne mosaic virus assistida por técnicas clássicas e moleculares. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro 115p.
- Ramos, H.C.C., Pereira, M.G., Silva, F.F. da., Viana, A.P., Ferregueti, G.A. (2011) Seasonal and genetic influences on sex expression in a backcrossed segregating papaya population. *Crop Breed Appl Biotechnol* 11: 97–105.
- Resende, M.D.V. de., Resende, M.D.V. de. (2016) Software Selegen-REML/BLUP: a useful tool for plant breeding. *Crop Breed Appl Biotechnol* 16: 330–339.

- Resende, M.D., Duarte, J. (2007a) Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. *Pesqui Agropecuária Trop (Agricultural Res Trop* 37: 182–194.
- Resende, M.D.V. de. (2002) *Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes*. Emprapa Informação Tecnológica,
- Resende, M.D. V., Duarte, J.B. (2007b) Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. *Pesqui Agropecuária Trop* 37: 182–192.
- Ribeiro, L.P., Carvalho, L.P. de., Farias, F.J.C., Rodrigues, J.I. da S., Teodoro, P.E., Bhering, L.L. (2018) Genetic gains in agronomic and technological traits of elite cotton genotypes. *Bragantia* 77: 466–475.
- Robinson, G.K. (1991) That BLUP is a Good Thing: The Estimation of Random Effects. *Stat Sci* 6: 15–32.
- S.O.S Mata Atlântica/INPE. (2009) Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica - período 2000-2005. São Paulo 1p.
- Sampaio, A.C. (2006) *Manejo no controle do vírus do endurecimento dos frutos (PWV) do maracujazeiro*. Jaboticabal: Gráfica Multipress, 76p.
- Sampaio, A.C., Scudeller, N., Fumis, T. de F., Almeida, A.M. de., Pinotti, R.N., Garcia, M.J. de M., Pallamin, M.L. (2008) Manejo cultural do maracujazeiro-amarelo em ciclo anual visando à convivência com o vírus do endurecimento dos frutos: um estudo de caso. *Rev Bras Frutic* 30: 343–347.
- Santos, E.A., Viana, A.P., de Oliveira Freitas, J.C., de Lima e Silva, F.H., 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., de Oliveira Freitas, J.C., 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, E.A., Viana, A.P., Freitas, J.C.O., Souza, M.M., Paiva, C.L., Rodrigues, D.L., Tavares, R.F. (2014) Phenotyping of *Passiflora edulis*, *P. setacea*, and their hybrids by a multivariate approach. *Genet Mol Res* 13: 9828–9845.
- Shukla, D.D., Ward, C.W. (1988) Amino Acid Sequence Homology of Coat Proteins as a Basis for Identification and Classification of the Potyvirus Group. *J Gen Virol* 69: 2703–2710.
- Silva, F.H. de L. e., Viana, A.P., Freitas, J.C.D.O., Santos, E.A., Rodrigues, D.L., Amaral Junior, A.T. do., Silva, F.H. de L. e., Viana, A.P., Santos, E.A., Freitas, J.C. de O., Rodrigues, D.L., Amaral Júnior, A.T. do. (2017a) 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.
- Silva, F.H. de L. e., Viana, A.P., Freitas, J.C.D.O., Santos, E.A., Rodrigues, D.L., Amaral Junior, A.T. do. (2017b) 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.
- Silva, F.H.L., Muñoz, P.R., Vincent, C.I., Viana, A.P. (2016a) Generating relevant information for breeding *Passiflora edulis*: genetic parameters and population structure. *Euphytica* 208: 609–619.
- Silva, M. dos S., Silva, R.P. da., Souza, A.V.L. de., Xavier, Y.P.M., Oliveira, A.C. de., Coqueiro, D.S.O., Silva, M. dos S., Silva, R.P. da., Souza, A.V.L. de., Xavier, Y.P.M., Oliveira, A.C. de., Coqueiro, D.S.O. (2016b) Aplicação exógena do ácido salicílico em maracujazeiro-amarelo para o controle do vírus do endurecimento dos frutos. *Arq Inst Biol (Sao Paulo)*. doi: 10.1590/1808-1657000082015
- Silva, M.G. de M., Viana, A.P., Gonçalves, G.M., Amaral Júnior, A.T. do., Pereira, M.G. (2009) Seleção recorrente intrapopulacional no maracujazeiro amarelo: alternativa de capitalização de ganhos genéticos. *Ciência e Agrotecnologia* 33: 170–176.
- Silva, P.H.M., Miranda, A.C., Moraes, M.L.T., Furtado, E.L., Stape, J.L., Alvares,

- C.A., Sentelhas, P.C., Mori, E.S., Sebbenn, A.M. (2013) Selecting for rust (*Puccinia psidii*) resistance in *Eucalyptus grandis* in São Paulo State, Brazil. *For Ecol Manage* 303: 91–97.
- Soares, T.L., Jesus, O.N. de., Souza, E.H. de., Oliveira, E.J. de. (2018) Floral development stage and its implications for the reproductive success of *Passiflora* L. *Sci Hortic (Amsterdam)* 238: 333–342.
- Souza, A.G. de., Sandi, D. (2001) Industrialização. In: Bruckner, C.H., Picanço, M.C. (ed) *Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado*. Porto Alegre: Cinco Continentes, p. 305–343 305–343
- Suassuna, T. de M.F., Bruckner, C., de Carvalho, C., Borém, A. (2003) Self-incompatibility in passionfruit: evidence of gametophytic-sporophytic control. *Theor Appl Genet* 106: 298–302.
- Takayama, S., Shiba, H., Iwano, M., Shimosato, H., Che, F.S., Kai, N., Watanabe, M., Suzuki, G., Hinata, K., Isogai, A. (2000) The pollen determinant of self-incompatibility in *Brassica campestris*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 1920–5.
- Tsuchimatsu, T., Shimizu, K.K. (2013) Effects of pollen availability and the mutation bias on the fixation of mutations disabling the male specificity of self-incompatibility. *J Evol Biol* 26: 2221–2232.
- Ulmer, T., MacDougal, J.M. (2004) *Passiflora: Passionflowers of the world*. Portlan: Timber Press, 27p.
- Vasconcellos, M.A.S., Duarte Filho, J. (2000) A Cultura do Maracujazeiro: Ecofisiologia do maracujazeiro. *Inf Agropecuário* 21: 25–28.
- Vencovsky, R., Barriga, P. (1992) *Genética biométrica no fitomelhoramento*. 1.ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 496p.
- Vianna-Silva, T., Lima, R.V., Azevedo, I.G. de., Rosa, R.C.C., Souza, M.S. de., Oliveira, J.G. de. (2010) Determinação da maturidade fisiológica de frutos de maracujazeiro amarelo colhidos na região norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Frutic* 32: 057–066.
- White, T.L., Hodge, G.R. (1989) *Predicting breeding values with applications in*

*forest tree improvement*. Kluwer Academic Publishers, 367p.

(2013) The Plant List.

<http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Passifloraceae/Passiflora/#statistics>.

Accessed 31 Jul 2019