CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE FAMÍLIAS S_1 e S_2 DE GOIABEIRA (*Psidium guajava* L.)

NATÁLIA VERAS REIS

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
MARÇO – 2023

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE FAMÍLIAS S_1 e S_2 DE GOIABEIRA (*Psidium guajava* L.)

NATÁLIA VERAS REIS

“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 Mestra em Genética e Melhoramento de Plantas”

Orientador: Prof. Alexandre Pio Viana

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO – 2023

FICHA CATALOGRÁFICA
UENF - Bibliotecas
Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

R375 Reis, Natália Veras.

Caracterização molecular de famílias S_1 e S_2 de goiabeira (*Psidium guajava* L.) / Natália Veras Reis. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2023.

63 f.
Bibliografia: 33 - 41.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2023.
Orientador: Alexandre Pio Viana.

1. Marcadores SSR. 2. Diversidade genética. 3. Endogamia. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 631.5233

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE FAMÍLIAS S_1 e S_2 DE GOIABEIRA (*Psidium guajava* L.)

NATÁLIA VERAS REIS

"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."

Aprovado em 29 de março de 2023

Comissão Examinadora:

Eileen Azevedo Santos

Prof.ª Eileen Azevedo Santos (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - UNEMAT

Prof.ª Helaine Christine Cancela Ramos (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - UENF

Flavia Alves

Dr.ª Flavia Alves da Silva (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - UENF

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

Se te mostrares fraco no dia da angústia,
a tua força será pequena
Provérbios 24:10

DEDICATÓRIA

:A Deus, por sua infinita bondade e misericórdia;
Aos meus pais Maria Natividade e José Mario, meu irmão Luis Felipe por todo incentivo e apoio.

Dedico esta conquista!!!

AGRADECIMENTOS

A Deus por toda bondade e proteção. Por iluminar meu caminho, dando-me sabedoria e saúde durante toda esta jornada;

A mim mesma por todo esforço e por não ter desistido diante das dificuldades enfrentadas nesta jornada;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) e ao programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas pela oportunidade de realização do curso;

Aos meus pais e irmão que são meu porto seguro e base desta conquista, pelo amor e apoio, pelo exemplo de vida, por me ensinarem a lutar sempre independente das adversidades da vida;

Ao meu orientador, professor doutor Alexandre Pio Viana pela confiança e atenção na condução do desenvolvimento deste trabalho;

Aos professores do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LMGV), em especial, aos meus conselheiros Dr. Antônio Teixeira do Amaral Júnior e Dra. Helaine Christine Cancela Ramos pelas valiosas contribuições;

Agradeço à Dra. Eileen Azevedo por todo auxílio na condução da primeira parte deste trabalho e por ter aceitado o convite para participar na banca de defesa;

À Dra. Flavia Alves por todo suporte dado na fase de experimento, e pelas sugestões na dissertação;

Aos meus amigos Alex e Julie Anne, que foram fundamentais na minha vida e nesta pesquisa, obrigada pela amizade, pelas longas e descontraídas conversas, pelos conselhos, e pelo apoio nos longos dias e noites no laboratório;

Ao meu noivo e amigo Edgar por cada palavra de incentivo, pelo amor, carinho e pela paciência;

Aos amigos de laboratório pela amizade e pela agradável convivência durante o período de mestrado, em especial à Débora, Thays, Joameson, Flavia e Natan;

À técnica do LMGV, Marcela, pela atenção nos trabalhos realizados no laboratório;

Ao secretário do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas (PPGMP), Daniel, pela atenção, pela dedicação, pelo auxílio nos momentos burocráticos;

A todos que deram a sua contribuição para que este trabalho fosse concluído.

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

SUMÁRIO

RESUMO x
ABSTRACT xii
1.INTRODUÇÃO 1
2. OBJETIVOS 4
2.1 Geral 4
2.2 Específicos 4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 5
3.1 Aspectos gerais da goiabeira 5
3.2 Importância da cultura 6
3.3 Melhoramento genético da goiabeira 7
3.4 Melhoramento genético da goiabeira na UENF 8
3.5 Marcadores moleculares 12
4. MATERIAL E MÉTODOS 14
4.1 Localização experimental 14
4.2 Origem e seleção do material genético 14
4.3 Extração do material genômico 15
4.4 Triagem dos *primers* 15
4.5 Reação em cadeia da polimerase (PCR) 17
4.6 Análise estatística 17
4.6.1 Análise da estrutura da população 19
5. RESULTADOS 20

5.1 Famílias endogâmicas de goiabeiras população S_1 20
5.2 Famílias endogâmicas de goiabeiras população S_2 25
6. DISCUSSÃO 29
7. CONCLUSÕES 32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma do histórico do programa de melhoramento genético da goiabeira na UENF. 11

Figura 2. Dendrograma de dissimilaridade genética entre 94 genótipos de goiabeira advindos da população S_1, obtido pelo método UPGMA, via marcadores SSR. UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 2023. 22

Figura 3.a) Gráfico de pico do ΔK indicando o número ótimo de clusters genéticos e **b)** Agrupamento obtido pela inferência bayesiana de 91 genótipos da população S_1 e três cultivares: Paluma (92), Pedro Sato (93) e Cortibel 1 (94). Os genótipos são representados na linha horizontal, e cada grupo genético é representado por uma cor. 24

Figura 4. Dendrograma de dissimilaridade genética entre 98 genótipos de goiabeira advindos da população S_2, obtido pelo método UPGMA, via marcadores SSR. UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 2023. 27

Figura 5. a) Gráfico de pico do ΔK indicando o número ótimo de clusters genéticos e **b)** Agrupamento obtido pela inferência bayesiana de 94 genótipos da população S_2 e três cultivares: Paluma (96), Pedro Sato (97) e Cortibel 1 (98). Os genótipos são representados na linha horizontal, e cada grupo genético é representado por uma cor. 28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sequência dos 21 pares de *primers* SSR utilizados na análise dos 94 genótipos da população S_1 e 98 genótipos da população S_2 de goiabeiras. 16

Tabela 2. Estimativa de diversidade para os 21 marcadores microssatélite nos 94 genótipos analisados. Sendo NA: número de alelos; He: heterozigosidade esperada; Ho: heterozigosidade observada; e PIC: índice de conteúdo polimórfico. UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 2023. 21

Tabela 3. Medidas de diversidade para os 21 marcadores microssatélite nos 98 genótipos analisados na população S_2. Sendo NA: número de alelos; He: heterozigosidade esperada; Ho: heterozigosidade observada; e PIC: índice de conteúdo polimórfico. UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 2023 25

Tabela 4. Medidas de diversidade para os 94 genótipos caracterizados na população S_1. Sendo NA: número de alelos; He: heterozigosidade esperada; Ho: heterozigosidade observada; e F: endogamia. UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 2023. 43

Tabela 5. Medidas de diversidade para os 95 genótipos caracterizados na população S_2. Sendo NA: número de alelos; He: heterozigosidade esperada; Ho: heterozigosidade observada; e F: endogamia. UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 2023. 46

RESUMO

REIS, Natália Veras; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Março de 2023; CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE FAMILÍAS S_1 E S_2 DE GOIABEIRA (*Psidium guajava* L.); Orientador: DSc. Alexandre Pio Viana; Conselheiros: DSc. Helaine Christine Cancela Ramos; DSc. Antônio Teixeira do Amaral Júnior.

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) é uma espécie frutífera com elevado potencial econômico cultivada em diversas regiões do Brasil. Considerando que um dos obstáculos enfrentado pelos produtores brasileiros é o baixo número de cultivares disponíveis e adaptadas para as regiões produtoras, a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) vem desenvolvendo um programa com a finalidade de selecionar genótipos promissores, visando agregar ao produtor e ao consumidor novas opções de cultivares com qualidade comercial na região do Norte e Noroeste fluminense. Este trabalho teve por objetivo estimar a diversidade e estruturação genética entre os genótipos de famílias endogâmicas S_1 e S_2 de goiabeira (*Psidium guajava* L.) por meio de marcadores microssatélites, indicando os genótipos mais divergentes para futuros cruzamentos. Para isso, foram selecionados 94 genótipos na população S_1 e 98 genótipos na população S_2 distribuídos em 10 famílias endogâmicas de goiabeiras baseado em características morfoagronômicas. A caracterização molecular foi realizada utilizando 21 marcadores microssatélites polimórficos. Com essas informações, foram estimados os parâmetros de diversidade genética, a distância genética, o agrupamento dos genótipos e a estrutura genética para cada uma das populações. Na população S_1

o valor médio de alelos por *loco* foi de 2,57. O valor médio de heterozigosidade esperada (He) foi de 0,403, já a heterozigosidade observada (Ho) foi de 0,227. O valor médio da He foi superior a Ho, sugerindo maior número de alelos em homozigose na população S_1. Com base no agrupamento pelo método hierárquico UPGMA, foi constatada a formação de cinco grupos, indicando a presença de variabilidade genética entres os genótipos. A análise Bayesiana permitiu a distinção dos genótipos em apenas dois grupos, sugerindo que há compartilhamento de alelos entre os genótipos estudados. Para a população S_2 o número médio de alelos por *loco* foi 2,23. O valor médio de He foi de 0,420 e Ho foi de 0,185. Com base no agrupamento pelo método hierárquico UPGMA, foi constatada a formação de quatro grupos e a partir análise bayesiana observou-se a mesma estrutura representada no dendrograma. Esse resultado evidencia que o compartilhamento de alelos está mais restrito na população S_2. Comparando as duas populações pode-se notar que houve uma diminuição da variabilidade genética na população S_2. Os marcadores SSR foram eficientes em discriminar a variabilidade genética entre os genótipos estudados, que poderá auxiliar nas próximas etapas do programa de melhoramento genético da goiabeira. Pela inferência bayesiana foi possível observar uma estruturação definida entre os genótipos em ambas as populações.

Palavras-Chave: marcadores SSR; diversidade genética; endogamia.

ABSTRACT

REIS, Natália Veras; M.Sc.; State University of Northern Fluminense Darcy Ribeiro; March 2023; MOLECULAR CHARACTERIZATION OF S_1 AND S_2 FAMILIES OF GUAVA TREE (*Psidium guajava* L.); Advisor: DSc. Alexandre Pio Viana; Committe members: DSc. Helaine Christine Cancela Ramos; DSc. Antônio Teixeira do Amaral Júnior.

The guava tree (*Psidium guajava* L.) is a fruit species with high economic potential grown in various regions of Brazil. Considering that one of the obstacles faced by Brazilian producers is the limited number of available and adapted cultivars for the producing regions, the State University of Northern Rio de Janeiro Darcy Ribeiro (UENF) has been developing a program with the purpose of selecting promising genotypes, aiming to provide both producers and consumers with new commercial quality cultivar options in the North and Northwest regions of Rio de Janeiro. This work aims to estimate the genetic diversity and structuring among the genotypes of inbred families S_1 and S_2 of guava (*Psidium guajava* L.) using microsatellite markers, indicating the most divergent genotypes for future crosses. For this purpose, 94 genotypes were selected in the S_1 population and 98 genotypes in the S_2 population distributed in 10 inbred families of guava trees, based on morpho-agronomic characteristics. Molecular characterization was carried out using 21 polymorphic microsatellite markers. With this information, genetic diversity parameters, genetic distance, genotype clustering, and genetic structure were estimated for each of the populations. In the S_1 population, the average number of alleles per locus was 2.57. The mean expected heterozygosity (He) was 0.403,

while observed heterozygosity (Ho) was 0.227. The average He was higher than Ho, suggesting a higher number of homozygous alleles in the S_1 population. Based on clustering using the UPGMA hierarchical method, the formation of five groups was observed, indicating the presence of genetic variability among the genotypes. Bayesian analysis allowed the distinction of genotypes into just two groups, suggesting allele sharing among the studied genotypes. For the S_2 population, the average number of alleles per locus was 2.23. The mean He was 0.420, and Ho was 0.185. Based on clustering using the UPGMA hierarchical method, the formation of four groups was observed, and the same structure was observed in the Bayesian analysis. This result indicates that allele sharing is more restricted in the S_2 population. Comparing the two populations, it can be noted that there was a decrease in genetic variability in the S_2 population. SSR markers were efficient in discriminating genetic variability among the studied genotypes, which may assist in the next stages of the guava tree breeding program. Through Bayesian inference, it was possible to observe a defined structure among the genotypes in both populations.

Keywords: SSR markers; genetic diversity; inbreeding.

1. INTRODUÇÃO

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) é uma fruteira nativa da América do Sul, amplamente distribuída em todas as regiões brasileiras (Flora do Brasil, 2020). No Brasil, devido às condições favoráveis do clima, a goiabeira é cultivada e comercializada em todas as regiões, expondo alto potencial da produção agrícola e desenvolvimento da atividade industrial (Couto, 2003). Apesar de ser produzida em todo o território nacional, apresenta 70% da área composta pela cultivar Paluma, em razão do enraizamento de suas estacas serem mais eficientes se comparada às outras cultivares, e por possuir alto vigor e alta apreciação pelo mercado consumidor (Pereira e Kavati, 2011).

Dados do IBGE (2021) apontam que sua produção aumentou nos últimos anos, passando de 297.400 t em 2009 a 525.393 t em 2021. Neste sentido vale ressaltar que o Brasil é o 5º maior produtor de goiaba a nível mundial, sendo o maior produtor de goiaba de polpa vermelha. Apesar disso, a importação ainda é pequena devido a fruta ser altamente perecível, contudo, produtos processados como geleias, sucos, polpas, e doces tem grande aceitação no mercado internacional (IBRAF, 2016; Castro e Ribeiro, 2020).

No estado do Rio de Janeiro, o cultivo da goiabeira é favorecido pelas condições edafoclimáticas, solos favoráveis e proximidade às instalações portuárias (Ambrósio, 2020). Vale ressaltar, que este estado se destaca como o terceiro maior produtor de goiaba nacional, com produção estadual média estimada em 23,8 t, apresentando um aumento de 9,3 t em relação ao ano de 2018. Apesar

do aumento da produção, um dos problemas enfrentados pelos produtores brasileiros é o baixo número de cultivares, havendo apenas 18 registradas no RNC (Registro Nacional de Cultivares) sendo que para o Rio de Janeiro ainda não há cultivar de goiaba desenvolvida e testada. Diante disso, é essencial desenvolver novas cultivares que auxiliem às condições do mercado consumidor e do produtor, com o objetivo de possibilitar a diversificação de cultivares de goiaba no campo com diferentes alelos, especificamente para diferentes tipos de frutos, peso, tamanho, cor da polpa, rendimento da polpa sólidos solúveis totais, pH e resistência a pragas e doenças.

Neste sentido, a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) estabeleceu em 2008 um programa de melhoramento para a goiabeira, cujo objetivo é de selecionar genótipos promissores visando desenvolver cultivares resistentes a pragas e doenças, superiores ou melhores adaptados à região Norte e Noroeste Fluminense, e durante este tempo de desenvolvimento alcançou resultados positivos como a obtenção das famílias endogâmicas de goiabeira caracterizadas neste estudo. (Pessanha et al., 2011; Campos et al., 2013; Oliveira et al., 2014; Campos et al., 2016; Quintal et al., 2017a, b; Gomes et al., 2017; Silva et al., 2020; Santos et al., 2020; Souza et al., 2020; Ambrósio et al., 2021; Silva et al., 2021).

Neste âmbito, o estudo da divergência genética, permite conhecer a variabilidade das populações, realizando o monitoramento de cruzamentos, autofecundações e utilização de informações viáveis que estão relacionadas à preservação e ao uso dos recursos vegetais (Cruz et al., 2014). Desse modo, é de extrema importância estimar a divergência genética e o nível de endogamia dos genótipos nas famílias endogâmicas de goiabeira, pois é uma maneira mais eficaz para a obtenção de genótipos superiores com alelos fixados. A condução de famílias endogâmicas em goiabeira só é possível dado ou ausência de depressão endogâmicas.

Algumas peculiaridades dificultam o melhoramento da cultura da goiabeira, entre elas o fato de ser uma espécie perene, exigindo extensa área experimental, ciclo reprodutivo longo, acentuada oscilação anual de produção e sobreposição de geração (Viana e Resende, 2014). Os programas de melhoramento, utilizam marcadores moleculares, que auxiliam na escolha de genótipos superiores e fornecem informações para estimar e interpretar a divergência genética. Diversas

técnicas baseadas em marcadores genéticos são acessíveis para a identificação e caracterização da variação genética. Dentre estes, o marcador molecular é o mais aceito por superar muitas das restrições dos marcadores morfológicos e bioquímicos, pois não é influenciado pelo ambiente e pelas fases de crescimento da planta (Ismail et al., 2019). Estes marcadores possibilitam reduzir o tempo de condução de experimento em campo, tornando-se vantajoso o uso de marcadores microssatélites em estudos de variabilidade genética para espécie.

Os SSRs (Sequências Simples Repetidas) são marcadores moleculares do tipo microssatélites baseado na amplificação por PCR de regiões específicas do genoma, utilizando um par de *primers* específicos para a espécie. Os microssatélites são abundantes, codominantes, multialélicos, robustos e reprodutíveis. Os padrões de polimorfismo apresentados pelos SSRs são maiores do que qualquer outro sistema de marcador contemporâneo e são muito utilizados em estudos genéticos de população (Zanella et al., 2017).

Nesse contexto, o uso dos marcadores microssatélites é fundamental na caracterização das famílias endogâmicas S_1 e S_2 permitindo a seleção dos genótipos, monitoramento da variabilidade genética e investigação da estrutura populacional. A Caracterização molecular aliada a dados morfoagronômicos auxiliam diretamente na seleção dos genótipos, com o propósito de dar suporte ao desenvolvimento de cultivares com características adequadas para o consumo *in natura* e para a industrialização.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Estimar a variabilidade e estruturação genética entre os genótipos de famílias endogâmicas S_1 e S_2 de goiabeira (*Psidium guajava* L.) por meio de marcadores microssatélites SSR, indicando os genótipos mais divergentes para futuros cruzamentos, de forma a dar continuidade ao programa de melhoramento genético de goiabeira da UENF.

2.2 Específicos

I. Estimar os parâmetros de diversidade para os marcadores utilizados na população e a nível individual;

II. Realizar inferências a respeito da estrutura populacional com base na inferência bayesiana;

III. Indicar os genótipos promissores para o avanço de geração via autofecundação.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Aspectos gerais da goiabeira

A goiabeira (*P. guajava* L.) foi classificada por Lineu em 1753 (Ellshoff et al.,1995). É uma fruteira pertencente à família Myrtaceae, gênero *Psidium*. Compreende cerca de 132 gêneros e 3000 mil espécies entre árvores e arbustos, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais (Sobral et al., 2015). O gênero *Psidium* abrange cerca de 100 espécies das quais destacam-se *P. guajava* L., *P. cattleyanum* Sabine, *P. guineense* Swartz ou *P. araça* Raddali, sendo a espécie *Psidium guajava* L. a que apresenta maior potencial para a exploração econômica. (Pommer et al., 2012).

De acordo com Gonzaga Neto (2007) a goiabeira é originária da região tropical do continente americano, com centro de origem na região compreendida entre o Sul do México e América do Sul e foi amplamente distribuída por todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo. A propagação da espécie ocorreu através dos primeiros colonizadores espanhóis e portugueses quando levaram sementes paras as demais colônias no velho mundo, onde se tem naturalizado com auxílio de pássaros e outros animais (Morton,1987). A goiabeira é considerada uma planta arbórea de pequeno porte, (Koller, 1979) podendo atingir de três a seis metros de altura (Piedade Neto, 2003). As folhas são simples e opostas com venação broquidódroma. O cálice apresenta variações entre cupuliforme, caliptrato e às vezes apendiculado. Suas flores são brancas e hermafroditas, possuem em média

350 estames, as flores aparecem isoladas ou em grupo de duas ou três, sempre nas axilas das folhas (Gonzaga Neto, 2007). O cálice é formado por quatro a cinco sépalas brancas na face superior e verdes inferior com pontuações translúcidas e concrescentes desde a prefloração. A corola é constituída por quatro a cinco pétalas alvas com pontuações translúcidas ligeiramente pubescentes, imbricadas com a base larga, dialipétalas, galeatiformes e caducas.

A espécie apresenta variações para a característica peso de fruto, podendo encontrar frutos de 42 a 280 gramas. A coloração da polpa pode ser amarela, vermelha ou branca, além de possuir um aroma agradável (Pommer e Murakami, 2009). Em seu desenvolvimento apresentam muitas sementes, com embrião coclear, cotilédones apicais e testa óssea (Soares-Silva e Proença, 2008).

Em relação a ploidia, a maioria das espécies da família Myrtaceae é x=11. Entretanto o número somático pode ter variações de 2n=2x=22 a 2n=4x=44, sendo *P. guajava* L. 2n=22 (Costa e Forni-Martins, 2006). A respeito do seu sistema reprodutivo, a espécie apresenta um sistema de reprodução misto, podendo ser considerada autógama e alógama (Medina, 1988).

Segundo Dasarathy (1951) e Balasubrahmanyan (1959), a polinização cruzada em *P. guajava* L. é a forma mais frequente de polinização, isso ocorre por essa espécie apresentar algumas características como: Morfologia da flor, que aponta para uma tendência a melitofilia em que as flores por serem de cor branca, sem profundidade, terem antese durante o dia, anteras com muito pólen e por apresentarem odores adocicados, são visitadas frequentemente por abelhas solitárias e sociais, como encontrado nos estudos de Heard (1999), Alves (2000) e Boti (2001). Neste caso, Alves e Freitas (2007) recomendam a presença de agentes polinizadores nos pomares, especificamente abelhas, pois seus comportamentos de forrageamento promovem a polinização cruzada.

3.2 Importância da cultura

A goiaba é popularmente conhecida como a “maçã dos trópicos” (Nakasone et al.,1998), além de ser referida como uma superfruta, devido ao seu alto valor nutritivo (Sanda et al., 2011). É uma das frutas tropicais que mais se destaca pelas suas excelentes qualidades, como elevado teor nutritivo e polpa de elevada qualidade industrial (Francisco et al., 2005). Também é uma fruta que contém

fibras, açúcares totais, vitamina A, vitamina do complexo B, vitamina C (ácido ascórbico) (Choudhury et al., 2001). A fruta é abundantemente rica em vitamina C, superior ao que é encontrado em sucos cítricos (Pommer e Murakami, 2009). Além disso, a goiaba vermelha é uma fonte de licopeno, um nutriente que possui propriedades antioxidante, dessa forma, seu consumo auxilia no combate a doenças degenerativas (Shami e Moreira, 2004).

A importância socioeconômica da goiabeira advém do desenvolvimento de cultivares mais produtivas e frutos de dupla finalidade: mesa e indústria (Souza et al., 2011). Os principais produtores da goiaba no mundo são: Índia, China, Indonésia, Paquistão, México e Brasil (FAO, 2021). No Brasil, as primeiras goiabeiras introduzidas vieram da Austrália, Estados Unidos da América e Índia (Oliveira et al., 2012). Esses países ajudaram na melhoria genética das variedades encontradas em nosso país (Pereira; Ryosuke, 2011).

Oliveira et al (2012) afirmam que essa cultura ocupa importante espaço no agronegócio do Brasil, que é um dos maiores produtores mundiais de goiaba. Segundo o levantamento efetuado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística- IBGE, no ano de 2021, o Brasil atingiu uma produção de aproximadamente 552.300 t de uma área plantada de 22,0 mil ha, com um rendimento médio de 24,9 t ha^{-1}, por ano, o que representa um retorno estimado de R$ 973.137 milhões (IBGE, 2021). Das regiões produtoras destacam-se o estado do Pernambuco (206,2 t), seguido dos estados de São Paulo (182,2 t), Rio de Janeiro (23,8 t), Ceará (21,2 t), Minas Gerais (16,8 t).

Por apresentar características apreciáveis como o sabor, aspecto, riqueza em nutrientes e elementos funcionais, a goiaba pode ser consumida processada ou *in natura* (Corrêa et al., 2011). Além disso, a fruta é usada na fabricação de doces, geleias e compotas, utilizada como ingrediente na indústria de sorvetes e outras sobremesas. Seu curto tempo de conservação requer uma rápida comercialização ou processamento depois da colheita (Durigan, 1997).

3.3 Melhoramento genético da goiabeira

O melhoramento genético da goiabeira tem como objetivo produzir cultivares adaptadas às condições ambientais de uma determinada região, aumento da produtividade, resistência às pragas, qualidade do fruto, acréscimo de tempo de

prateleira, e resistência mecânica ao transporte dos frutos. Tais objetivos podem ser alcançados de acordo com as exigências comerciais, onde o melhorista pode elaborar estratégias para sua obtenção (Gomes Filho et al., 2010).

Os primeiros trabalhos científicos que surgiram sobre o melhoramento genético, foram realizados na metade do século XX, nos países como Estados Unidos, Índia, Egito e Porto Rico (Pereira e Nachtigal, 2003). No Brasil, o melhoramento genético da goiabeira se iniciou em 1951 com trabalhos de doutorado realizados por Soubihe Sobrinho, na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, da Universidade de São Paulo. Em relação aos estudos desenvolvidos com as principais variedades de frutos atribuídos ao consumo *in natura*, os primeiros trabalhos foram realizados nas instituições de pesquisas por produtores japoneses do estado de São Paulo, onde foram desenvolvidas cultivares que continham frutos com características adequadas para comercialização, como Ogawa, Kumagai, Pedro Sato e Sassaoka (Pereira e Nachtigal, 2003).

Os programas de melhoramento em instituições públicas realizam diversos trabalhos para lançar cultivares ao mercado consumidor. Dentre eles se destacam-se o programa de melhoramento genético da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista (UNESP), onde foi desenvolvida cultivares como Paluma, Século XXI e Rica (Pereira et al., 2003); a Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), em parceria com a empresa Frucafé, onde foi desenvolvida cultivar Cortibel, oriundas pela seleção em pomar de polinização aberta de origem seminal de genótipos produtivos (Coser et al., 2014); a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, onde iniciou em 2008 um programa de melhoramento genético da goiabeira, com o objetivo de obter genótipos superiores. Ao longo desses anos obteve resultados positivos na seleção e condução de novos genótipos (Pessanha et al., 2011; Campos et al., 2013; Paiva et al., 2016; Quintal et al., 2017; Sousa et al., 2020; Ambrósio et al., 2021; Walter, 2021).

3.4 Melhoramento genético da goiabeira na UENF

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro- UENF iniciou há 15 anos um Programa de Melhoramento Genético da Goiabeira, com trabalhos de pré-melhoramento de Pessanha et al. (2011) utilizando marcadores RAPD, foi

observado que estes foram eficazes em revelar a diversidade genética entre os acessos, com isso, os 7 genótipos mais divergentes foram selecionados para cruzamentos, que deram origem a 17 famílias segregantes.

Em continuidade, Campos et al. (2013), avaliaram 138 genótipos de goiabeira provenientes de cruzamentos controlados. Os parentais escolhidos foram selecionados a partir do trabalho de Pessanha et al. (2011). Foram utilizados 13 descritores quantitativos e qualitativos, propostos pela International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV), na caracterização e avaliação dos acessos. Os descritores revelaram uma ampla variabilidade entre os acessos, formando oito grupos.

Em 2016, Campos et al. (2016) analisaram os 138 acessos novamente, porém com oito características quantitativas através da técnica de Redes Neurais Artificiais, sendo possível detectar a divergência genética entre os acessos, para cruzamentos posteriores entre os mais promissores.

Dando continuidade aos estudos, Quintal et al. (2017a) analisaram as mesmas 17 famílias por meio do procedimento REML/BLUP e observaram um destaque para as famílias provenientes dos 18 cruzamentos: UENF 1835 x UENF 1834; UENF 1831 x UENF 1832; UENF 1831 x UENF 3739, que ocuparam as primeiras posições para a maioria das características avaliadas. No mesmo ano, Quintal et al. (2017b) avaliaram as 17 famílias obtidas por Pessanha et al. (2011) com o objetivo de analisar a estrutura de covariância e estimativas de repetibilidade das variáveis relacionadas à produtividade da goiabeira.

Silva et al. (2020) avaliaram os parâmetros genéticos das 17 famílias obtidas por Pessanha et al. (2011), fazendo uma comparação da abordagem bayesiana com a metodologia frequentista. A inferência bayesiana forneceu o melhor ajuste do modelo para o conjunto de dados analisados, proporcionando um resultado mais completo e confiável. Com isso, foram selecionadas as melhores famílias para dar continuidade ao programa, sendo: 8, 10 e 17. As famílias apresentaram baixa variabilidade entre si, mas possuem grande capacidade de produção, sendo indicadas para seleção.

Paiva et al. (2016), também selecionaram 96 melhores genótipos via modelos mistos baseada nos estimadores REML/BLUP, provenientes das 17 famílias de irmãos-completos obtidas por Pessanha et al. (2011). A população autofecundada foi conduzida por Ambrósio et al. (2021), que conta com 18 famílias endogâmicas.

Foi utilizado o procedimento estatístico REML/BLUP, que foi eficiente em estimar os parâmetros genéticos e selecionar os genótipos superiores. Foram utilizados, também, índices de seleção via modelos mistos. O índice multiplicativo apresentou maior ganho de seleção em comparação com o índice aditivo.

Sousa et al. (2020) avaliaram 11 famílias de irmãos-completos provenientes da população obtida por cruzamentos biparentais, os melhores genótipos foram selecionados com base no procedimento estatístico REML/ BLUP, e a divergência genética foi estimada com base na distância euclidiana média entre os indivíduos selecionados via BLUP.

Walter (2021) realizou o monitoramento da variabilidade genética e estruturação de 97 genótipos, sendo três destes genótipos as cultivares Paluma, Pedro Sato e Cortibel. Os genótipos selecionados foram com base na produção vista em safras anteriores, por meio do estudo de Sousa et al. (2020). Foram obtidos dois grupos, suficientes para direcionar os próximos cruzamentos entre as famílias de irmãos-completos de grupos diferentes. Além disso, foi realizada a estimação de parâmetros genéticos e predição de valores genéticos nas 11 famílias *de Psidium guajava* L. por meio da metodologia de modelos mistos.

Maitan (2020) determinou melhor temperatura e substrato para condução de testes laboratoriais em sementes de goiaba de famílias de irmãos-completos sob controle genético, visando maior qualidade fisiológica e alto vigor. Os resultados obtidos deste estudo mostraram que as temperaturas alternadas de 20-30 e 25-35°C e os substratos rolo de papel, sobre papel e entre areia são condições apropriadas para condução de testes de germinação com sementes de goiaba.

Foi construído um Fluxograma do melhoramento genético da goiabeira da UENF, para melhor visualização da condução do programa e origem dos genótipos avaliados neste estudo (Figura 1).

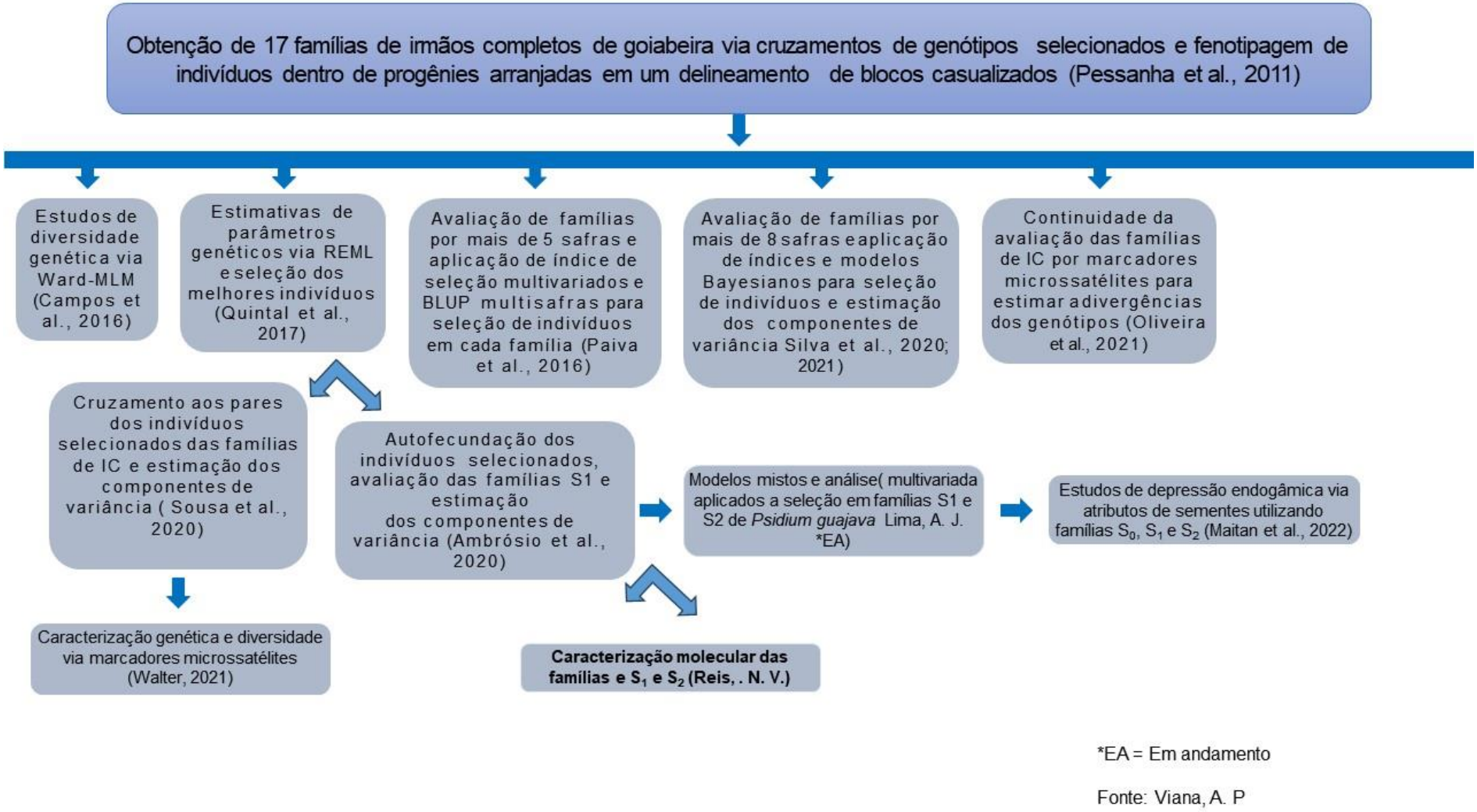

Figura 1. Fluxograma do histórico do programa de melhoramento genético da goiabeira na UENF.

3.5 Marcadores moleculares em goiabeira

Os marcadores moleculares são caracteres com mecanismo de herança simples que podem ser utilizados nas caracterizações das diferenças entre dois ou mais indivíduos (Bered et al., 1997). Um dos desafios do melhoramento de plantas, é a influência do ambiente sobre vários caracteres relativos à planta, podendo reduzir o avanço genético e o desenvolvimento de novas cultivares. Este desafio começou nos últimos tempos a ser superado com a chegada e a utilização de estratégias biotecnológicas (Borém, 2009).

Com início das técnicas moleculares, a partir da década de 80, os estudos relacionados à avaliação, caracterização e mapeamento genético foram realizados com maior eficiência e rapidez, tornando-se uma importante ferramenta para ser utilizado nos programas de melhoramento genético. A utilização de marcadores moleculares nas análises de germoplasma vem crescendo principalmente pelo fato de não sofrerem influência ambiental. (Carvalho et al., 2001; Elias et al., 2001; Zaccarias et al., 2004). Diante disso, permitem estimar a diversidade genética em espécies vegetais, podendo ser utilizados em estudos relacionados à variabilidade genética intra e interpopulacional (Souza et al., 2008).

Os marcadores moleculares do tipo SSR são constituídos por sequências de DNA simples repetidas em *tandem*, com variações de 2 a 6 pares de bases por unidades de repetição (Turchetto-Zolet et al., 2017). São utilizados pelos programas de melhoramento devido a sua natureza multialélica e, que os fazem muito eficientes na detecção da variabilidade entre e dentro de populações, além de estarem amplamente distribuídos no genoma (Chen et al., 2007; Sujii, 2013; Gois et al., 2014; Borém e Caixeta, 2016).

Há vários anos, a equipe de melhoramento de goiabeira da UENF vem empregando os marcadores moleculares SSR, com objetivo de detectar polimorfismo entre pais e híbridos de goiabeira, através da caracterização genética buscando estimar índices genotípicos para estruturação da variabilidade genética e estimar o nível de endogamia nas plantas estudadas (Pessanha, 2011). Entre as aplicações em goiabeira, estão a caracterização genética, estimando índices genotípicos para a quantificação e estruturação da variabilidade genética das populações segregantes de algumas espécies de *Psidium* (Santos, 2018);

avaliação de modelos com uso de diferentes métodos bayesianos para seleção de melhor modelo para predizer valores genéticos genômicos via marcadores moleculares (Silva, 2020); e, estudo da variabilidade genética e análise da estrutura populacional de famílias de irmãos-completos a partir do uso de marcadores microssatélites (Walter, 2021).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Localização experimental

O experimento foi conduzido na estação experimental da Ilha Barra do Pomba, pertencente à Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro em Itaocara-RJ. O município de Itaocara está localizado na região Noroeste do estado do Rio de Janeiro, com as seguintes coordenadas geográficas: latitude 21°38’40.5” S; longitude 42°06’’26.4 O e altitude de 145 m. Apresenta característica climática do tipo Aw, com temperatura média anual em torno de 22°C e precipitação média anual de 1297 mm, fazendo parte da Bacia do Rio Paraíba do Sul (Alvares et al., 2013).

4.2 Origem e seleção do material genético

Foram originadas 18 famílias S_1 de goiabeira, obtidas por autofecundações de progênies resultantes de cruzamentos controlados biparentais realizados por Quintal et al. (2017) em setembro e outubro de 2008, no município de Bom Jesus do Itabapoana, localizado na região Noroeste Fluminense. Posteriormente essas famílias foram avaliadas por Ambrósio et al. (2021) e dessas famílias foram selecionados os genótipos mais promissores para autofecundação e obtenção das 10 famílias S_2 avaliadas por Antunes et al. (2023) em andamento.

Para a análise de DNA foram selecionados os genótipos mais produtivos nas populações S_1, com isso, foram selecionados oito genótipos na família 11, nove genótipos selecionados para cada uma das seguintes famílias 1, 4, 6, 7, 8, 9, 10, e 17, e onze genótipos selecionados na família 12 e as cultivares Paluma, Pedro Sato e Cortibel foram usadas como testemunhas totalizando 94 genótipos selecionados na população S_1. Na geração seguinte, seguindo o mesmo critério anterior, foram selecionados para a população S_2, seis genótipos na família 1, um genótipo na família 2, dezesseis genótipos na família 3, onze genótipos na família 4, dezenove genótipos na família 5, dezessete genótipos na família 6, seis genótipos na família 7, cinco genótipos na família 8, 4 genótipos na família 9, dez genótipos na família 10 e as cultivares Paluma, Pedro Sato e Cortibel usadas como testemunhas totalizado 98 genótipos selecionados na S_2.

4.3 Extração do material genômico

As etapas laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LMGV) no Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

Foi extraído o DNA genômico de 188 genótipos das três testemunhas Paluma, Pedro Sato e Cortibel. A extração seguiu o protocolo descrito por Doyle e Doyle (1990) com modificações. O DNA extraído foi quantificado por análise em gel de agarose a 1% com tampão TAE 1X (Tris, Acetato de Sódio, EDTA, pH 8,0), utilizando o marcador Lambda de 100 pb (100 ng/μL^{-1}) (Invitrogen, USA) e foram coradas utilizando a mistura de Gel RedTM e Blue Juice (1:1).

As imagens foram fotodocumentadas pelo sistema Mini Bis Pro (Bio-Imaging Systems). Com base nas imagens obtidas foram estimadas as concentrações de DNA nas amostras em comparação com o marcador lambda de 100 pb. As amostras foram diluídas para a concentração de trabalho de 10 ng/μL^{-1}.

4.4 Triagem dos *primers*

Foram testados um total de 47 pares de *primers* microssatélites SSR descritos especificamente para a espécie em estudo *P. guajava* (GuavaMap, 2008). Os *primers* foram testados para a indicação da melhor temperatura de anelamento

por Walter (2021) com a temperatura variando de 48°C a 60°C. A partir dessa pesquisa foi selecionado os 21 *primers* polimórficos para a realização deste estudo (Tabela 1).

Tabela 1. Sequência dos 21 pares de *primers* SSR utilizados na análise dos 94 genótipos da população S_1 e 98 genótipos da população S_2 de goiabeiras

Locus	**Sequência do iniciador (5' 3')**	**T.A.**
mPgCIR030	F: CTCAAAGCACTATCATGTCG R: CCTTGTGGGTTCTCTTTTG	55°C
mPgCIR034	F: CGCCTTTCGTAAAAGAAGT R: TCATATACTCGGACAAAACG	54°C
mPgCIR035	F: CTTTTAAGCACGTTTGACCT R: GCGTATTAACAGCTTGGAGA	55°C
mPgCIR039	F: TTGACCTGGCATTAACAGA R: CATTGGGAAAGGGAAGAA	52°C
mPgCIR040	F: ATGACTTTGGAAGAGGATGA R: AGCAGTTACAGTTGCTCGTT	52°C
mPgCIR044	F: TGAATCTCCAGTGTCTTATCG R: TGATTTCAACTGCGTATGTC	56°C
mPgCIR090	F: TTCCAGGTCTATTGGATGTC R: GGGGACACAAAACTTCATTA	56°C
mPgCIR091	F: GCGGTGGATTTGAATTTAG R: CCAAGTAACCCACAACAATA	52°C
mPgCIR096	F: ACGCTGCAAACGATACTAAT R: AACTCACACGAGCACAGAG	56°C
mPgCIR097	F: GACCTCAGTAGTTCAGCATGT R: TAGAGTGGACGGGAGGAG	52°C
mPgCIR 133	F: CGATCTTGGAATGTAAGAGG R: TGGATTTGCAGGTTCTATCT	54°C
mPgCIR 135	F: CAGATAGCAAAACTGCCTCT R: ATATCCCTCTCGCCTTCTT	56°C
mPgCIR 140	F: GTGGTGAAGGAGTAAAGCTG R: GCAGTATAAAGCAACAGATGG	56°C
mPgCIR 148	F: CATACAGAGTCGGATGGTTT R: GCTGCTGGTCTTAAAGCTAA	56°C
mPgCIR 166	F: CTTTCCCATCAAAACGTAAG R: CCAATTCATGCACTTAGACA	56°C
mPgCIR174	F: GCCACTGTGTAAGAGGATTG R: ATTGTGGGAGATTGGAGAC	56°C
mPgCIR200	F: ATGAAGGCATTACCTAAGAC R: ACCCTATTAACCCTTAGCAA	54°C
mPgCIR203	F: ACCTCTCCAGCTCTACACG R: GAGGTTGTCGAAGGTTGAT	50°C
mPgCIR 220	F: AGAGCAGTGGTTGCTATTTT R: CCCATCTCTTACTTTTCTTGTG	56°C
mPgCIR230	F: TCTTCTGGACAACAAATTCC R: GATTTAAGGCAAAGGATCG	52°C
mPgCIR 235	F: CGAATGTCCAAGATTCAGTT R: CCTTCTTCATCTCAGCCTTT	55°C

4.5 Reação em cadeia da polimerase (PCR)

O mix de reagentes da PCR teve um volume final de 13 µL para cada amostra, sendo composto de 2µL de DNA (10 ng/µL), 1.50 µL de Tampão 10X (NH_4SO_4), 1.5 µL de $MgCl_2$ (25 mM), 1.5 µL de dNTPs (2 mM), 1 µL de iniciador (R+F) (5 µM) e 0.12 µL de Taq-DNA polimerase (5 U/µL) (Invitrogen, Carlsbad, Califórnia, EUA). As reações de PCR foram realizadas em termocicladores da Applied Biosystems/Veriti 96 well, em um programa de 35 ciclos, obedecendo as seguintes temperaturas e tempo: 94ºC durante 4 minutos (desnaturação inicial); 94ºC por 2 minutos (desnaturação cíclica); temperatura específica de cada iniciador, em ºC, por 1 minuto (anelamento); 72ºC por 2 minutos (extensão cíclica); 72ºC por 10 minutos (extensão final); e 4ºC *forever*.

Os produtos da PCR foram diluídos numa relação de 6 µl de amostra para 18 µl de Buffer E do kit DNF 900 e submetido a um sistema de eletroforese capilar (Fragment Analyzer - AATI), no qual fragmentos amplificados de 35 a 500pb foram separados com uma resolução de aproximadamente 2bp. Cada corrida teve em média uma duração de 3h e 30 minutos sob uma voltagem de 8 kw.

4.6 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas tanto para a população S_1 quanto para a S_2.

Os dados obtidos pela amplificação dos iniciadores SSR foram convertidos em uma matriz numérica para cada alelo por *loco*. A matriz numérica foi desenvolvida atribuindo valores de 1 até o número máximo de alelos, como descrito a seguir: 11, 22, 33 para as formas homozigotas e 12, 13, 23 para as formas heterozigotas. Foram testadas as matrizes de dissimilaridade genética através dos índices não-ponderado, ponderado e o índice de Smouse Peakall (Peakall and Smouse, 2012) obtidas pelo programa GENES (Cruz, 2013). Após a obtenção da matriz de dissimilaridade genética foi construído um dendrograma com base no método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Average) com auxílio do software R. A descrição dos grupos foi realizado a partir dos dados morfoagronômicos obtidos por Ambrósio et al. (2020) para população S_1 e Antunes et al. (2023) para a população S_2.

A matriz numérica foi submetida ao programa Powermarker 3.5 (Liu e Muse, 2005), em que foram estimadas as seguintes medidas de diversidade: número de alelos por *loco* (NA), heterozigosidade esperada (HE), heterozigosidade observada (HO), índice de conteúdo polimórfico (PIC) e índice de fixação (F) apenas a nível individual.

A heterozigosidade esperada foi determinada pela seguinte expressão:

$$HE = 1 - \sum_{i=1}^{k} X_i^2$$

em que:

X_i: frequência do alelo i;

K: número de alelos.

A heterozigosidade observada foi estimada pela expressão:

$$Ho = \frac{\sum_{j=1, j\neq 1}^{a} nij}{n}$$

em que:

Nij: número de heterozigotos em cada *loco*;

N: total de indivíduos estudados.

O PIC foi calculado pela seguinte expressão:

$PIC = 1 - \sum_{i=1}^{a} pi^2 - \sum_{i,j=1}^{a} \sum_{(i\neq j)}^{a} pi^2 pj^2$em que:

$\Sigma i\ pi^2$: informatividade do *primer*;

$\Sigma\Sigma\ pi^2\ pj^2$: frequência do alelo p no *primer* j.

O índice de fixação estima o coeficiente médio de endogamia e pode ser determinado pela seguinte expressão:

$$F = 1 - \frac{HE}{HO}$$

em que:

H_O: frequência de indivíduos homozigotos;

H_E: frequência de heterozigotos.

4.6.1 Análise da estrutura da população

Para análise da estrutura populacional dos materiais genéticos, foi utilizado um método baseado em algoritmos de agrupamento bayesiano, com o uso do software STRUCTURE versão 2.3.4 (Pritchard et al., 2000). Para tanto, empregou-se o modelo “no admixture model” e frequências alélicas independentes, usando-se um “Burning Period” de 250.000, seguido de uma extensão (Markov Chain Monte Carlo) de 750.000 repetições. Foram efetuadas 10 simulações com k variando de 1 a 10 para melhor estabilidade do número de clusters.

Para a realização do teste estatístico Δk foi usado aplicativo “Structure Harvester” baseado no critério de Evanno et al. (2005). Este critério baseia-se na média e no desvio-padrão do LnP(D) estimado em cada uma das 10 interações por k. Os valores de Δki foram estimados através da fórmula:

$$\Delta ki = ABS\ (ki+1 - (2*ki) + ki1)\ /\text{desvio-padrão de Ki.}$$

Onde:

i: corresponde ao número de grupos simulados, indo de i = 1 até i = 10. ABS = corresponde ao módulo.

Esse valor de Δk é estimado para cada k, sendo selecionado o que apresentar maior valor. Após escolhido o Δk ótimo, escolhe-se a simulação de menor valor de LnP(D), dentre as 10 simulações feitas para a obtenção do mesmo. Cada cor do gráfico gerado representa um possível grupo de indivíduos estruturados.

5. RESULTADOS

5.1 Famílias endogâmicas de goiabeiras população S_1

Foram utilizados 21 *locos* polimórficos na caracterização dos 94 genótipos pertencentes a 10 famílias endogâmicas S_1. A partir das estimativas de variabilidade genética (tabela 2) foi detectado um total de 54 alelos, com variação de 2 a 4 alelos e média de 2,57 por *loco.* A heterozigosidade esperada em sua maioria foi superior à heterozigosidade observada, com exceção do *loco* (mPgCIR039). As médias para a heterozigosidade foram de 0,403 He e 0,227 Ho. Em relação ao índice de Conteúdo Polimórfico (PIC) foi utilizado para indicar o poder discriminatório dos *locos* e variou de 0,287 (mPgCIR240) a 0,459 (mPgCIR030) com média de 0,303 indicando uma boa variabilidade genética e apontando que os *primers* mPgCIR030 e mPgCIR174 foram os mais eficientes em discriminar a variabilidade genética.

Em relação à análise da variabilidade genética para cada genótipo (tabela 4, em anexo) obteve-se os valores do índice de endogamia, onde pode-se observar uma grande variação de valores que vão do mínimo 0,1619 ao valor máximo do índice, ou seja, 1. Os genótipos que apresentaram maior índice de endogamia foram os 47, 48, 79 e 81 ambos com nível de endogamia 1.

Tabela 2. Estimativa de diversidade para os 21 marcadores microssatélite nos 94 genótipos analisados. Sendo NA: número de alelos; He: heterozigosidade esperada; Ho: heterozigosidade observada; e PIC: índice de conteúdo polimórfico. UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 2023

Locus	**População**	**Na**	**He**	**Ho**	**PIC**	**F**
mPgClR030	93	4	0,505	0,323	0,459	0,459
mPgClR034	94	3	0,264	0,138	0,234	0,234
mPgClR035	93	3	0,261	0,000	0,237	0,237
mPgClR039	94	2	0,495	0,734	0,373	0,373
mPgClR040	94	2	0,493	0,330	0,372	0,372
mPgClR044	91	3	0,482	0,253	0,371	0,371
mPgClR090	93	2	0,372	0,151	0,303	0,303
mPgClR091	93	2	0,425	0,183	0,335	0,335
mPgClR096	94	2	0,427	0,255	0,336	0,336
mPgClR097	94	2	0,414	0,287	0,328	0,328
mPgClR133	91	3	0,406	0,275	0,328	0,328
mPgClR135	87	2	0,185	0,023	0,168	0,168
mPgClR140	89	2	0,494	0,416	0,372	0,372
mPgClR148	85	2	0,493	0,459	0,372	0,372
mPgClR166	93	4	0,475	0,172	0,377	0,377
mPgClR174	92	3	0,493	0,130	0,438	0,438
mPgClR203	93	2	0,312	0,258	0,263	0,263
mPgClR220	90	3	0,307	0,178	0,284	0,284
mPgClR230	94	3	0,475	0,053	0,392	0,392
mPgClR235	94	3	0,327	0,128	0,303	0,303
mPgClR240	94	2	0,347	0,021	0,287	0,287
Médias	92	2,57	0,403	0,227	0,330	0,330

O dendrograma foi obtido a partir da matriz de dissimilaridade genética através do Índice Ponderado, o qual apresentou melhor valor do coeficiente de correlação cofenético (0,82) (figura 2). Neste agrupamento foi observado a formação de cinco grupos seguindo os critérios sugeridos por Mojena (1977).

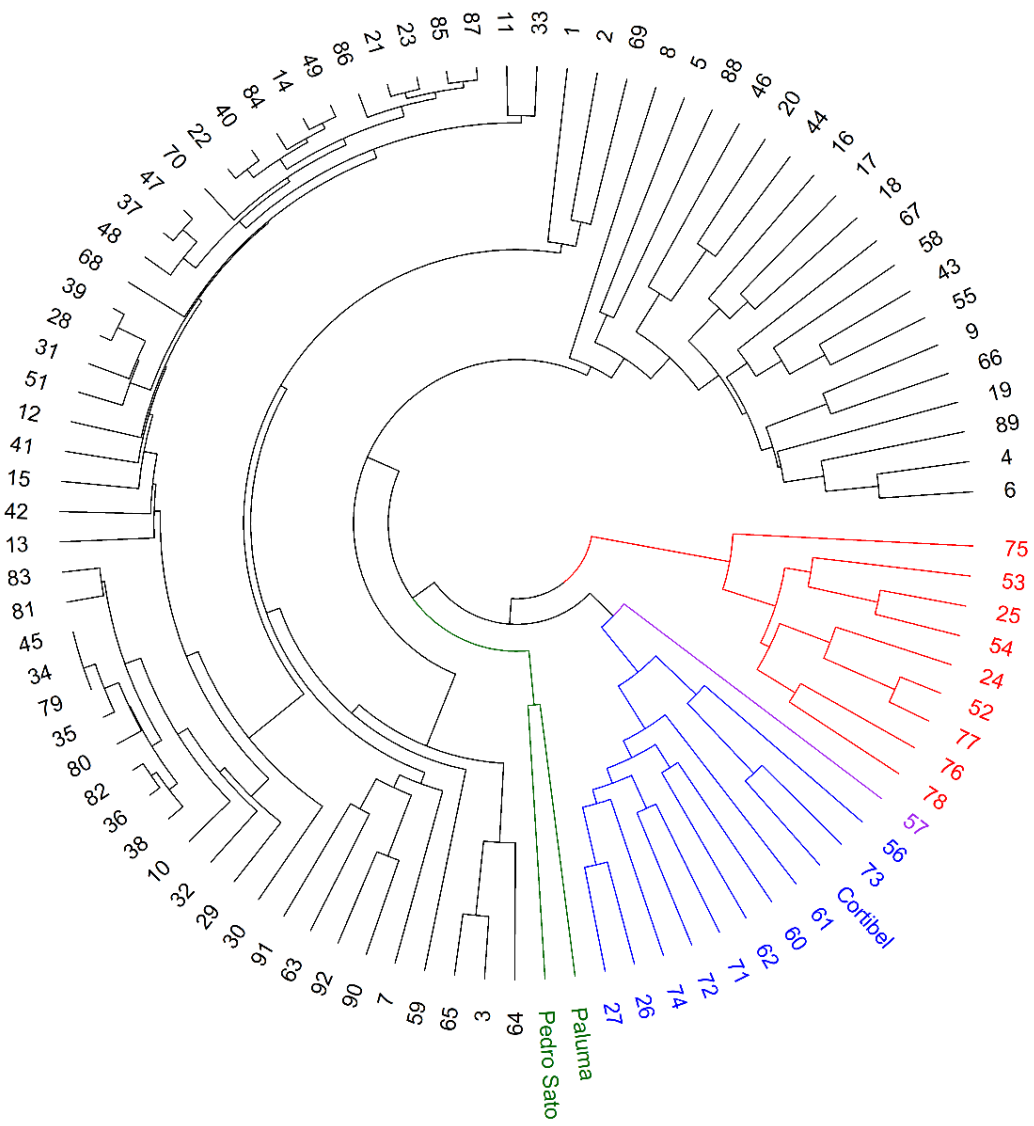

Figura 2. Dendrograma de dissimilaridade genética entre 94 genótipos de goiabeira advindos da população S_1, obtido pelo método UPGMA, via marcadores SSR. UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 2023.

O primeiro grupo formado agrupou a maior parte dos genótipos estudados 75,53%, com 71 genótipos. Este grupo é composto por genótipos com boas características morfoagronômicas relacionados à massa de fruto, comprimento do fruto, diâmetro do fruto, espessura da casca, espessura do mesocarpo, espessura do endocarpo, massa da polpa, rendimento e brix.

O segundo grupo alocou 9,57% (11) genótipos, os quais apresentaram características morfoagronômicas superiores aos demais grupos, apresentando maiores médias para todas as características citadas para o primeiro grupo. O

terceiro grupo foi formado por apenas 1,06% (1) genótipo. O genótipo 57 apresentou maior dissimilaridade genética em relação aos demais.

O quarto grupo com 11,70% agrupou 10 genótipos mais a testemunha Cortibel indicando que esses genótipos têm maior similaridade genética com essa testemunha. Este grupo apresentou genótipos com maior desempenho para o rendimento por planta. O quinto grupo com 2,13% foi formador por duas testemunhas Pedro Sato e Paluma.

A estrutura da população foi analisada pela abordagem bayesiana conforme o critério de Evanno et al. (2005) usando o software Structure. A matriz de alelos foi utilizada para realizar as inferências sobre a estrutura populacional dos 94 genótipos estudados. O valor de delta K indicou a duas populações (figura 3), sendo estas bem estruturadas. No agrupamento obtido a partir da análise bayesiana (figura 3) alocou-se no grupo I 43 genótipos mais as cultivares testemunhas Paluma, Pedro Sato e Cortibel. Já no grupo II, 51 genótipos.

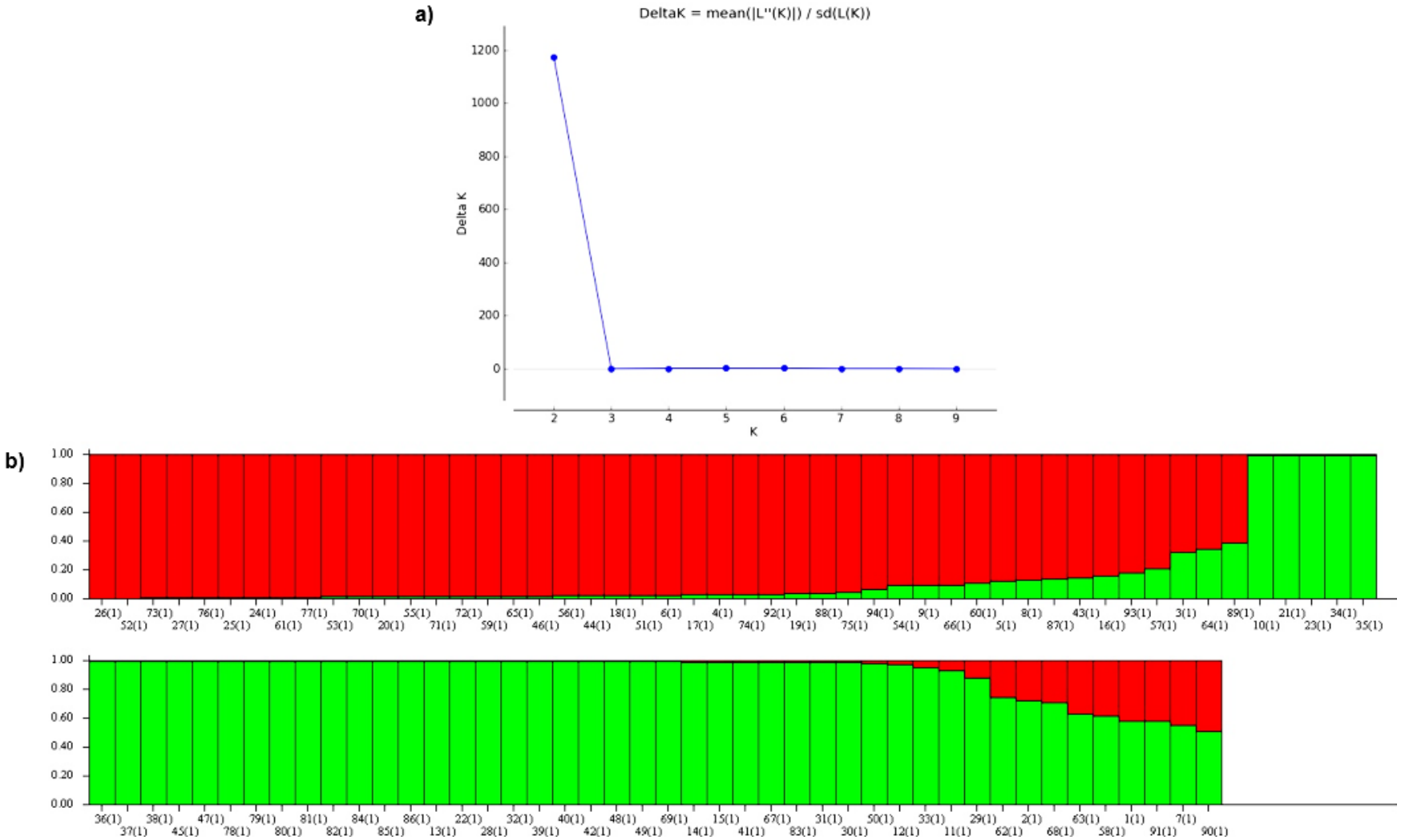

Figura 3.a) Gráfico de pico do ΔK indicando o número ótimo de clusters genéticos e **b)** Agrupamento obtido pela inferência bayesiana de 91 genótipos da população S_1 e três cultivares: Paluma (92), Pedro Sato (93) e Cortibel 1 (94). Os genótipos são representados na linha horizontal, e cada grupo genético é representado por uma cor.

5.2 Famílias endogâmicas de goiabeiras população S_2

Foram utilizados 21 *locos* polimórficos na caracterização dos 98 genótipos pertencentes a 10 famílias endogâmicas S_2. Para as análises de variabilidade genética (tabela 3) foi detectado um total de 47 alelos, com variação de 2 a 3 alelos e média de 2,23 alelos por *loco*. A heterozigosidade esperada apresentou valores superiores à heterozigosidade observada, com médias de 0,420 para He e 0,185 para Ho. O PIC apresentou uma variação de 0,170 (mPgCIR203) a 0,474 (mPgCIR174) com média de 0,333 indicando uma moderada discriminação dos *locos* analisados.

Tabela 3. Medidas de diversidade para os 21 marcadores microssatélite nos 98 genótipos analisados na população S_2. Sendo NA: número de alelos; He: heterozigosidade esperada; Ho: heterozigosidade observada; e PIC: índice de conteúdo polimórfico. UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 2023

Locus	**População**	**Na**	**He**	**Ho**	**PIC**	**F**
mPgCIR030	95	4	0,522	0,347	0,471	0,328
mPgCIR034	94	3	0,479	0,181	0,383	0,639
mPgCIR035	95	3	0,442	0,368	0,353	0,098
mPgCIR039	97	2	0,469	0,052	0,359	0,955
mPgCIR040	97	2	0,282	0,113	0,242	0,607
mPgCIR044	93	3	0,504	0,215	0,382	0,624
mPgCIR090	97	2	0,392	0,165	0,315	0,568
mPgCIR091	97	2	0,494	0,000	0,372	1,00
mPgCIR096	92	2	0,485	0,413	0,367	0,119
mPgCIR097	97	2	0,446	0,216	0,346	0,503
mPgCIR133	98	3	0,434	0,296	0,352	0,346
mPgCIR135	94	2	0,423	0,096	0,333	0,763
mPgCIR140	98	2	0,399	0,184	0,320	0,569
mPgCIR148	96	2	0,489	0,375	0,370	0,240
mPgCIR166	98	4	0,512	0,184	0,396	0,664
mPgCIR174	97	3	0,530	0,144	0,474	0,722
mPgCIR203	94	2	0,190	0,128	0,172	0,358
mPgCIR220	97	3	0,215	0,134	0,203	0,432
mPgCIR230	95	3	0,268	0,147	0,248	0,378
mPgCIR235	98	3	0,445	0,082	0,387	0,838
mPgCIR240	93	2	0,403	0,043	0,322	0,890
Médias	**95,81**	**2,57**	**0,420**	**0,185**	**0,341**	**0,554**

A variabilidade genética foi analisada para os 98 genótipos de goiabeiras pertencentes à população S_2 a partir da matriz de dissimilaridade genética através do Índice Ponderado com Coeficiente de Correlação Cofenético de 0,86. O dendrograma construído pelo método hierárquico UPGMA indicou a presença de quatro grupos a partir do corte sugerido por Mojena (1977). A partir da matriz de dissimilaridade genética foi construído um dendrograma usando um agrupamento UPGMA (figura 4).

O primeiro grupo formado agrupou 89,80% dos genótipos estudados, com 88 genótipos. Este grupo é composto por genótipos que apresentaram maiores médias para as características morfoagronômicas: diâmetro do fruto, espessura da casca, rendimento e brix. O segundo grupo alocou 7,14% dos genótipos analisados, o grupo foi construído com 7 genótipos, os quais apresentaram características morfoagronômicas voltados para a massa do fruto, comprimento do fruto, espessura do mesocarpo, espessura do endocarpo e massa da polpa de acordo.

Os demais grupos foram formados apenas pelas testemunhas usadas no estudo. O terceiro grupo correspondeu com apenas 2,04% e agrupou apenas as testemunhas Paluma e Pedro Sato. E para o quarto grupo com 1,02% e agrupou apenas a testemunha Cortibel a qual apresentou maior variabilidade genética em relação aos demais genótipos estudos.

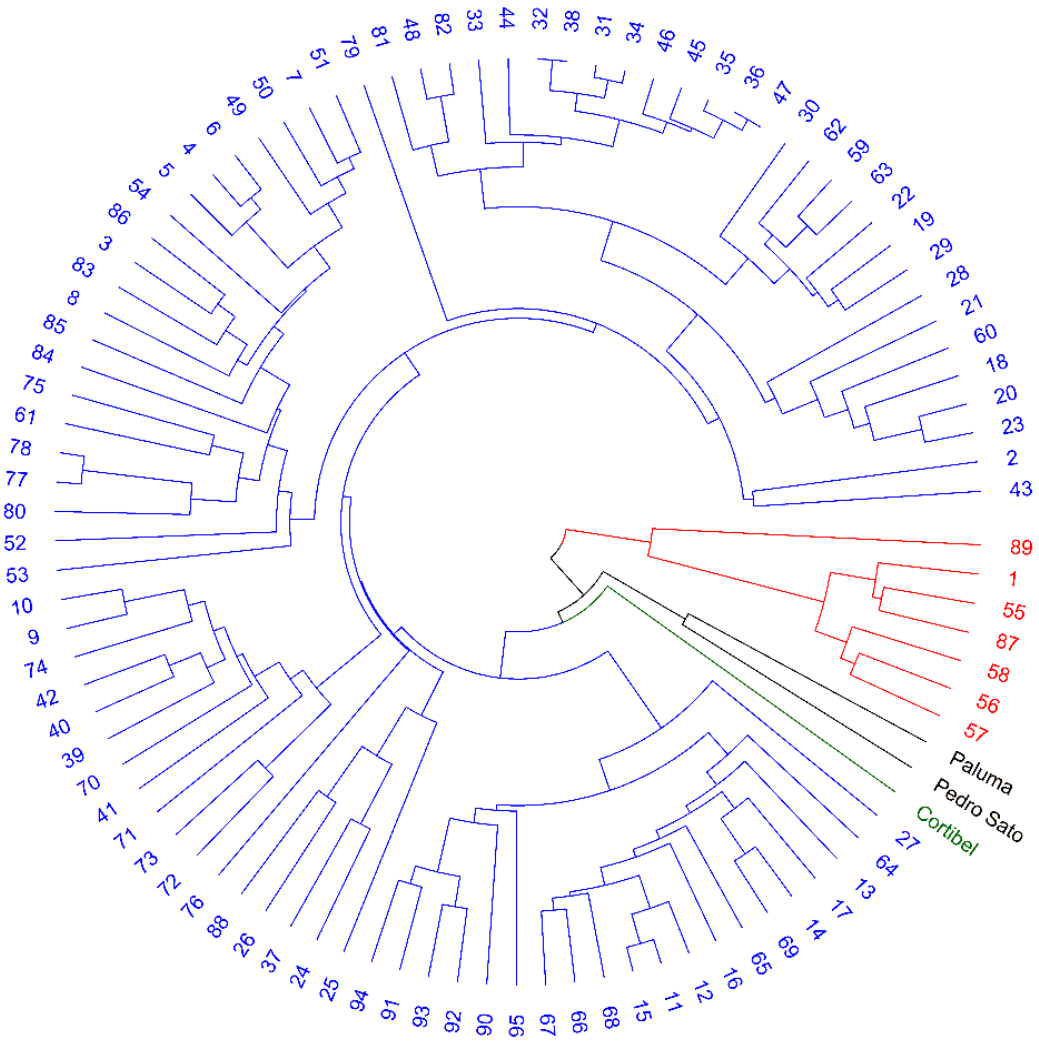

Figura 4. Dendrograma de dissimilaridade genética entre 98 genótipos de goiabeira advindos da população S_2, obtido pelo método UPGMA, via marcadores SSR. UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 2023.

A estrutura da população foi analisada pela abordagem bayesiana conforme o critério de Evanno et al. (2005). O valor de delta K indicou a presença de 4 populações bem definidas. No agrupamento obtido a partir da análise bayesiana (figura 5) alocou- se no grupo I 30 genótipos, no grupo II obtiveram-se 23 genótipos alocados. No grupo III foram 25 genótipos e 20 genótipos no grupo IV. A formação de 4 grupos indica que há uma boa diferenciação alélica para estes genótipos analisados.

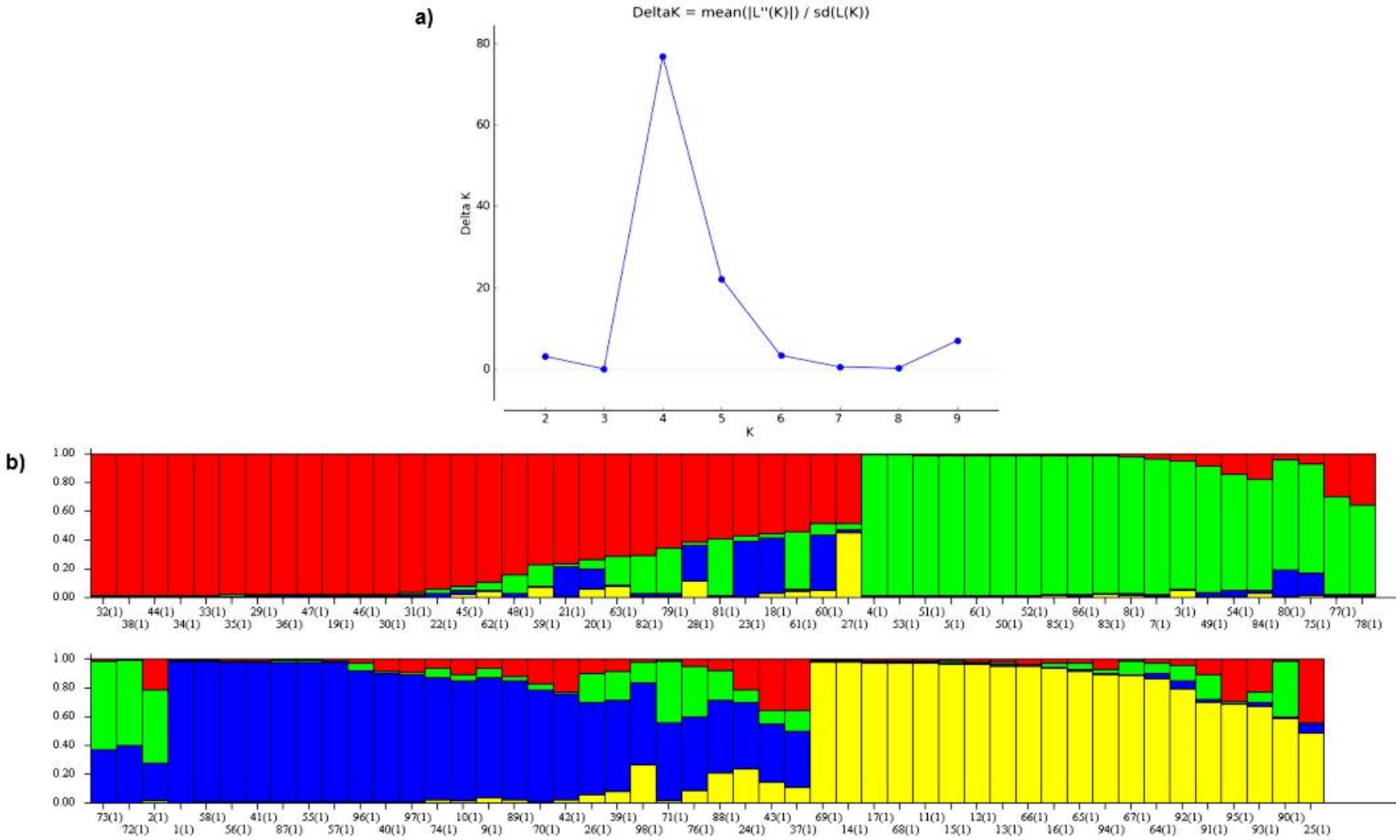

Figura 5. a) Gráfico de pico do ΔK indicando o número ótimo de clusters genéticos e **b)** Agrupamento obtido pela inferência bayesiana de 94 genótipos da população S_2 e três cultivares: Paluma (96), Pedro Sato (97) e Cortibel 1 (98). Os genótipos são representados na linha horizontal, e cada grupo genético é representado por uma cor.

6. DISCUSSÃO

O uso dos marcadores moleculares são ferramentas poderosas nos programas de melhoramento genético, possibilitando a exploração da variabilidade genética e a detecção de alelos superiores na população. No presente estudo, os 21 *locos* microssatélites polimórficos utilizados detectaram 54 alelos na população S_1 e 47 alelos na população S_2 de famílias endogâmicas. No estudo conduzido por Walter et al. (2021) em populações de irmãos-completos foram detectados 112 alelos utilizando 48 *locos* microssatélites e Oliveira et al. (2022) detectou 96 alelos usando 45 *locos* microssatélites em famílias de irmãos-completos de goiabeiras. O número de alelos está relacionado com a taxa de polimorfismo dos *locos* selecionados, aumentando assim a confiabilidade dos resultados obtidos (Cheng-la et al., 2010).

Foram detectados a presença de 4 alelos para os *locos* (mPgCIR030 e mPgCIR166) em ambas as populações com baixas frequências de (0,016 e 0,349) na população S_1 e (0,011 e 0,005) na população S_2, respectivamente. A presença de alelos raros também foi identificada em populações de goiabeiras estudadas por Kumar et al. (2020). Estes alelos nos *locos* SSR são responsáveis por manter um elevado grau de variabilidade genética em condições naturais. Devido à baixa frequência desses alelos existe a possibilidade de serem perdidos durante ao avanço de geração para a obtenção das famílias endogâmicas.

Os valores para a heterozigosidade observada e esperada entre os *locos* estudados, indicam que os *locos* microssatélites foram eficientes em detectar

variabilidade genética entre os genótipos. Os valores médios de Ho (0,227) e He (0,403) na população S_1 e Ho (0,180) e He (0,412) para a população S_2, os valores médios de Ho inferior a He indicam que há um maior número de genótipos em homozigose na população estudada. A diminuição do valor médio de Ho na população S_2 já era esperado e está relacionado aos métodos de condução da população. A obtenção de famílias endogâmicas em goiabeiras é possível, visto que foi observado que a cultura não apresenta depressão endogâmica drástica (Krause et al., 2021).

A respeito da fixação dos *locos* nas populações estudadas, apenas o *loco* (mPgCIR035) apresentou fixação máxima na população S_1 e também o *loco* (mPgCIR091) na população S_2. Os demais *locos* apresentaram diferentes valores em ambas as populações. E o *loco* (mPgCIR039) apresentou um valor negativo (-0,478) indicando que os alelos para esse *loco* não estão sendo fixados na população S_1. Em contrapartida na população S_2 o mesmo *loco* apresentou fixação de (0,955). Uma explicação para essa diferença nos valores de fixação está relacionada aos diferentes genótipos selecionados e caracterizados na população S_1 e S_2. Em relação ao índice de conteúdo polimórfico todos os *locos* apresentaram valores inferiores 0,5 sendo classificados como pouco e modernamente informativos (Botstein et al., 1980).

Na análise da variabilidade genética para os genótipos da população S_1, os diferentes valores de Ho indicam uma boa discriminação dos *locos.* Em relação ao nível de endogamia dos genótipos, com o uso dos 21 *locos* microssatélites observa-se 47 genótipos com valor acima da média. Para a população S_2, 52 genótipos apresentaram valores de endogamia acima do valor médio. Os genótipos com valores acima da média podem ser utilizados no avanço de geração, visto que estão parcialmente ou totalmente com alelos fixados para os *locos* analisados nesse estudo, reduzindo assim o tempo para a obtenção das famílias endogâmicas.

Para a população S_1 as análises de agrupamentos obtidos pelos métodos UPGMA (figura 2) e inferência Bayesiana (figura 3) indicaram a presença de variabilidade genética, confirmando os resultados obtidos na análise descritiva dos *locos* e populacional. No dendrograma pode-se observar a formação de cinco grupos distintos, fato que pode ser utilizado na indicação de genótipos contrastantes geneticamente para futuras etapas de cruzamentos. Em contrapartida, o resultado obtido pela inferência Bayesiana que indicou o valor

ótimo de K igual a 2. A formação de dois grupos está relacionada quando os genótipos compartilham uma grande parte das regiões genômicas analisadas, como observado neste trabalho (Oliveira et al., 2021).

Para a população S_2 obteve-se um resultado mais satisfatório tanto para a análise pelo método UPGMA (Figura 4) quanto para a inferência Bayesiana (Figura 5) em ambos os métodos de agrupamentos houve a formação de quatro grupos distintos indicando uma diferenciação genética mais eficientes entre os genótipos estudados. Comparando com a população S_1 nota-se que houve uma redução de compartilhamento de alelos entre os genótipos aumentando as possibilidades de cruzamentos biparentais entre os genótipos estudados.

Os genótipos foram selecionados na população S_1 e S_2 considerando os seguintes critérios: família endogâmica, variabilidade genética, maior fixação dos alelos, e dados relacionados à produtividade em estudos conduzidos pela equipe de laboratório (Ambrósio et al., 2021; Lima em andamento) os dados podem ser evidenciados nas tabelas 4 e 5, em anexo.

Os genótipos foram selecionados na população S_1 e S_2 considerando os seguintes critérios: famílias endogâmicas e dados da análise descritiva dos genótipos descritos na tabela 4 e 5 em anexo. Com isso foram selecionados para a população S_1 os genótipos: 52, 53, 75, 51 e 74 família (1); 17, 66, 19, 65 e 18 (4); 8, 58, 90, 56 e 7 (6); 45, 4, 87, 46 e 6 (7); 26, 27, 73, 72 e 60 (8); 79, 81,35, 36 e 34 (9); 67, 69, 62, 68 e 2 (10); 38, 37, 29, 32 e 31 (11); 4 7, 48, 21, 49 e 84 (12); 13, 14, 40, 83 e 15 (17).

Para a população S_2 foram selecionados: 58, 87, 57, 56, 55 e 1 família (1); 2 (2); 84, 53, 83, 52 e 86 (3); 41, 40, 73, 42 e 71 (4); 95, 14, 93, 92 e 69 (5); 79, 19, 77, 22 e 78 (6); 89, 25, 26, 88 e 37 (7); 29, 30, 43, 28 e 27 (8); 32, 38, 31 e 33 (9) e 44, 34, 45, 35 e 36 (10).

7. CONCLUSÕES

Os marcadores microssatélites foram eficientes e indicaram a presença de variabilidade genética tanto na população S_1 quanto na população S_2 sendo necessário mais etapas de autofecundação para diminuir a variabilidade genética entre os genótipos da mesma família.

O estudo da estrutura populacional mostrou que há compartilhamento de alelos entre as dez famílias estudadas em ambas as populações, entretanto as etapas de autofecundações estão diminuindo o compartilhamento entre as famílias estudadas.

Os genótipos selecionados para a próxima etapa do Programa de Melhoramento de Goiabeiras da UENF contribuirão com o aumento da endogamia dos genótipos mais satisfatórios e com a presença de alelos de interesses agronômicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alvares, C. A. et al. (2013) Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, v.22, n.6, p.711–728

Alves, J. E, Freitas, B. M. (2007) Requerimento de polinização da goiabeira. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.37, n 5 p. 1281-1286.

Alves, J.E. (2000) *Eficiência de polinização de cinco espécies de abelhas na polinização da goiabeira (Psidium guajava* L*).* 140f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Ceará.

Ambrósio, M. (2020) *Parecência genética e superioridade genotípica de famílias S_1 de Psidium guajava via modelos mistos aplicada a seleção truncada e simultânea* Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de plantas), Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF.

Ambrósio, M., Viana, A.P., Ribeiro, R.M., Preisigke, S.C., Cavalcante, N.R., Silva, F.A., Torres, G.X., Souza, C.M.B. (2021) Genotypic superiority of *Psidium guajava* S^1 families using mixed modeling for truncated and simultaneous selection. *Scientia Agrícola*, 78(1):9.

Balasubrahmanyan, V.R. (1959) Studies on blossom biology of guava. Indian *Journal of Horticulture*, v.16, 69-75p.

Bered, F., Barbosa-Neto, J.F., Carvalho, F.I.F. (1997) Marcadores Moleculares e sua Aplicação no Melhoramento Genético de Genótipos. *Ciência Rural*, 27(3):513-520.

Borém, A., Caixeta, E.T. (2016) *Marcadores Moleculares*. Viçosa: Editora UFV, 384p.

Borém, A.; Caixeta, E. T. (2009) *Marcadores Moleculares*. 2. ed. Viçosa: UFV, 532 9p.

Boti, J.B. *Polinização entomófila da goiabeira (Psidium guajava* L.*, Myrtaceae): Influência da distância de fragmentos florestais em Santa Teresa, Espírito Santo*. 2001. 57f. Dissertação (Mestrado)

Botstein, D.; White, R.I.; Skolnic, M.; Davis, R.W. (1980) Construction of a genetic linkage map in man inusing restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet*., 32:314-331.

Campos, B. M., Viana, A. P., Quintal, S. S. R., Gonçalves, L. S. A., Pessanha, P. G. O. (2013). Quantificação da divergência genética entre acessos de goiabeira por meio da estratégia Ward-MLM. *Revista Brasileira de Fruticultura*, .35:571- 578.

Campos, B.M. Viana, A.P., Quintal, S.S.R., Barbosa, C.D., Daher, R.F. (2016) Heterotic group formation in *Psidium guajava* L. by artificial neural network and discriminant analysis. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 38: 151-157.

Carvalho, L.J.C.B., Achaal, B.A. (2001) Assessinggeneticdiversity in the cassava (ManihotesculentaCrantz) germplasm collection in Brazilusing PCR basedmarkers. *Euphytica*, 120(1):130-140.

Castro, J.M.C, Ribeiro, J.M. (2020) Pesquisa e desenvolvimento para a cultura da goiabeira: a contribuição da Embrapa Semiárido. Embrapa Semiárido. 82p. (Documentos, 297).

Chen, C., Yu, Q., Hou, S., Li, Y., Eustice, M., Skelton, R.L., Veatch, O., Herdes, R. E., Diebold, L., Saw, J., Feng Y., Qian, W., Bynum, L., Wang, L., Moore, P.H., Paull, R.E., Alam, M., Ming, R. (2007) Construction of a sequence-tagged highdensity genetic map of papaya for comparative and evolutionary genomics in Brassicales. *Genetics*, 177:2481–2491.

Choudhury, M.M., Araújo, J.L.P., Gonzaga Neto, L., Resende, J.M., Costa, T.S. da Scaggiante, G. (2001) Goiaba: Pós-colheita. Embrapa Semi-Árido (Petrolina, PE), Brasília: Embrapa Informação Tecnológica (Frutas do Brasil; 19), 45p.

Correa, L. C.; Santos, C. A. F.; Lima, G. P. P.; Rodrigues, M. A.; Costa, T. P. P. (2011) Similaridade genética entre acessos de goiabeiras e araçazeiros baseada em marcadores moleculares AFLP. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 33, n. 3, p. 859–867, set.

Corrêa, L. C.; Santos, C. A. F.; Lima, G. P. P.; Rodrigues, M. A.; Costa, T. P. P. (2011). Similaridade genética entre acessos de goiabeiras e araçazeiros baseada em marcadores moleculares AFLP. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 33, n. 3, p. 859–867.

Coser, S. M., F, M. F. S., Ferreira, A., Saraiva, S. H. (2014) Diversidade genética de seleções de goiabeiras Cortibel. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 36:391-399.

Costa, I.R; Forni-Martins, E. R. (2007) Karyotype analysis in South American species of Myrtaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 155, 571-580p.

Cruz, C.D. (2013) GENES – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum*. 35(3,): 271-276.

Dasarathy, T.B. (1951). The guava. *Madras Agriculture Journal*, v.38, 521-527p.

Doyle, J.J., Doyle, J.L. (1990) Isolationofplant DNA fromfreshtissue. *Focus*, 12: 13-15.

Durigan, J.F. (1997) Colheita, Conservação E Embalagens. In: Simpósio Brasileiro Sobre a Cultura da Goiabeira, 1., Jaboticabal. Anais…Jaboticabal: FUNEP, p.152-154.

Elias, M., Mckey, D., Panaud, O., Anstett, M.C., Robert, T. (2001) Traditional management of cassava morphological and genetic diversity by the Makushi Amerindians (Guyana, South America): Perspectives for on-far conservation of crop genetic resources. *Euphytica*, 120(1):143-157.

Ellshoff, Z.E., Gardner, D.E., Wikle, C., and Smith, C.W. (1995) Annotated bibliography of the genus *Psidium*, with emphasis on *P. cattleyanum* (strawberry guava) and *P. guajava* (common guava), forest weeds in Hawaii. Cooperative National Park Resources Studies Unit, University of Hawai'i at Manoa, Department of Botany. *Technical Report* 95, p. 102.

Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: A simulation study. *Molecular Ecology*, 14: 2611-2620.

Faostat, F. (2021) Agriculture organization of the United Nations. FAO, Retrieved from. Disponível em: http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize. Acesso em: 17 de março de 2023

Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/. Acesso em: 07 fev. 2023

Francisco, V. L. F; S.; Battistella, C. da S.L., Amaro, A.A. (2005) A cultura da goiaba em São Paulo. Disponível em: http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=1902. Acesso em: 22/02/2023

Gois, I.B., Ferreira, R.A., Silva-Mann, R., Blank, M.F.A., Santos-Neto, E.M. (2014) Diversidade genética entre indivíduos de *Spondias lutea* L. procedentes do Baixo São Francisco Sergipano, por meio de marcadores RAPD. *Revista Árvore*, 38(2): 261-269.

Gomes Filho, A., Oliveira, J.G., Viana, A.P., Siqueira, A.P.O., Oliveira, M.G., Pereira, M.G. (2010). Marcadores moleculares RAPD e descritores morfológicos na avaliação da diversidade genética de goiabeiras (*Psidium guajava* L.) *Acta Scientiarum Agronomy*, 32: 627-633.

Gomes, V.M., Ribeiro, R.M., Viana, A.P., Souza. R.M., Santos, E.A., Rodrigues, D.L., Almeida, O.F. (2017) Inheritance of resistance to *Meloidogyne enterolobii* and individual selection in segregating populations of *Psidium* spp. *Journal of Plant Pathology*;148: 699-708.

Gonzaga Neto, L. Produção de goiaba. – Fortaleza: Instituto Frutal, 2007. 64p

Guavamap, Generation and screening of microsatellite markers (SSRs) in Guave. 2008. Disponível em: https://neiker.eus/neiker/guavamap/for1-6a.htm.

Heard, T. A. (1999) The role of stingless bees in crop pollination. *Annual Review of Entomology*, v.44. 83-206p.

IBGE (2021) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal. Rio de Janeiro 2022. Disponível em: Acesso em: 23 janeiro 2023.

Ibraf (2016) Instituto Brasileiro de Frutas. Informações institucionais, técnicas, notícias, projetos, publicações e serviços. São Paulo. Disponível em: http://www.ibraf.org.br/. Acesso em: 09/01/2023

Ismail, N.A., Rafii, M.Y., Mahmud, T.M.M., Hanafi, M.M. (2019) Genetic Diversity of Torch Ginger (*Etlingera elatior*) Germplasm Revealed by ISSR and SSR Markers. *BioMed Research International*: 14pp.

Koller, O.C. (1979) *Cultura da goiabeira*. Porto Alegre: Livraria e Editora Agropecuária Ltda, 44p.

Krause, W., Ramos C, N., Viana, A. P, Ambrósio, M., Azevedo S. E., Duarte V. H. (2021). Genetic variability in inbred guava families mediated by agronomic traits. *Functional Plant Breeding Journal*.

Kumar, C.; Kumar, R.; Singh, S.; Goswami, D. A.; Nagaraja, A.; Paliwal, R.; Singh, R. (2020) Development of novel g-SSR markers in guava (*Psidium guajava* L.) cv. Allahabad Safeda and their application in genetic diversity, population structure and cross species transferability studies. 10.1371/journal.pone.0237538.

Liu, K., Muse, S. V. (2005) PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 21(9):2128-2129.

Maitan, M.Q., Viana, A.P., Vieira, H.D., Silva, C.C.A, Rodrigues, D.L., Leal, L.S.S. (2020) Physiological responses of seeds from full-sib guava families to different substrate temperatures. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 42:1-8

Medina, J.C. (1988) Goiaba I - Cultura. In: Instituto de Tecnologia de alimentos (Campinas, SP). Goiaba: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos

econômicos. 2.ed. rev. ampl. Campinas, 1-120p. (ITAL. Série Frutas Tropicais, 6).

Morton, J. Guava. In: Fruits of warm climates. Julia F. Morton, Miami. p. 356–363.

Nakasone, H. Y.; Paull, R. E. Tropical Fruits. Crop Production Science in Horticulture. New York: Cab International, 1998. 445p.

Oliveira, I. P. de; Oliveira, L. C.; Moura, C. S. F. T. De; Lima Júnior, A. (2012) F. de; Rosa, S. R. A. da. Cultivo da goiaba: do plantio ao manejo. *Revista Faculdade Montes Belos*, v. 5, n.

Oliveira, J. A. V. S., Santos, E. A., Viana, A. P., Walter, F. H. B. and Ribeiro, R. M. (2022). Genetic-molecular characterization in guava full-sib progeny. *Bragantina*, 81, e.3322.

Oliveira, N.N.S., Viana, A.P., Quintal, S.S.R., Paiva, C.L., Marinho, C.S. (2014) Analysis of genetic distance between access of the gender *Psidium* by route markers ISSR. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36: 917-923

Oliveira, S. V. A. J. (2021) *Caracterização genético-molecular em progênies de irmãos-completos de goiabeira (Psidium guajava* L*.)*. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas), Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, p. 54.

Paiva, C. L.; Viana, A. P.; Santos, E. A.; Freitas, J. C. O.; Amaral Junior, A. T. (2016) Genetic gain estimated by different selection criteria in guava progenies. *Bragantia*, v. 75, n. 4, p. 418–427, 29.

Peakall, R., Smouse, P.E. (2012) GenAlex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*, 28(19):2537-2539.

Pereira, F.M., Carvalho, C.A., Nachtigal, J. C. (2003) Século XXI: nova cultivar de goiabeira de dupla finalidade. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25: 498-500.

Pereira, F.M., Kavati, R. (2011) Contribution of brazilian scientific research in developing some of subtropical fruit. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 33(1): 92-108.

Pereira, F.M., Ryosuke, K. (2011) Contribuição da pesquisa científica brasileira no desenvolvimento de algumas frutíferas de clima subtropical. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33:92-108.

Pessanha, P.G.de O.; Viana, A. P; Amaral Júnior, A.T.; Souza, R.M.de.; Teixeira, M.C.; Pereira, M.G. (2011) Avaliação da diversidade genética em acessos de *Psidum* ssp. via marcadores RAPD. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33:129- 136.

Piedade Neto, A., Malagutti, A.M., Dondelli, L.E.R. (2003) Potencialidades e perspectivas da cultura da goiabeira. In: Costa, A.F.S., Costa, A.N.da. (eds.) Tecnologias para produção de goiaba. Vitória, ES: Incaper, p. 11-24.

Pommer, C. V.; Oliveira, O. F.; Santos, C. A. F. (2012). Goiaba: recursos genéticos e melhoramento. Mossoró-RN: EdUfersa, 126 p.

Pommer, C.V., Murakami, K.R.N. (2009) Breeding Guava (*Psidium guajava* L.). In: Jain, S.M., Priyadarshan, P.M., Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species. v.1. New York: Springer, p.83-120.

Pommer, C.V., Murakami, K.R.N. (2009) Breedingguava (*Psidium guajava* L.). In: Jain, S.M., Priyadarshan, P.M., Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species. New York: Springer, 82-120.

Pritchard, J. K.; Stephens, M.; Donnelly, P. (2000) Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*, v. 155, n. 2, p. 945–959.

Quintal, S. S. R. (2013) *Melhoramento da goiabeira P. guajava via metodologia de modelos mistos*. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de plantas), Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, p. 181.

Quintal, S.S.R., Viana, A.P., Campos, B.M., Vivas, M., Amaral Junior, A.T. (2017a) Analysis of structures of covariance and repeatability in guava segregant population. *Revista Caatinga*, 30: 885-891.

Quintal, S.S.R., Viana, A.P., Campos, B.M., Vivas, M., Amaral Junior, A. T. (2017b) Selection via mixed models in segregating guava families based on yield and quality traits. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 39 (2): 859-866.

Santos, R.M. (2018) *Caracterização e estruturação genética de Psidium* spp*. Resistentes ao Meloidogyne enterolobii via marcadores microssatélites*. Dissertação (Mestrado em genética e melhoramento de plantas) Campos dos Goytacazes- RJ. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro- UENF, 52p.

Santos, R.M., Viana, A.P., Santos, E.A., Souza, R.M., Almeida, O.F., Gomes, V.M., Rodrigues, D.L., Santos, P.R. (2020) Genetic structuring of segregating populations of *Psidium* spp resistant to the southern root-knot nematode by Bayesian approach as basis for the guava breeding program. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* (online), 92 (3): 1-18.

Shami, N.J.I.E., Moreira, E.A.M. (2004) Licopeno como agente antioxidante – *Revista de Nutrição*, Campinas, 17 (2): 227-236.

Silva, F. A. (2020) *Métodos frequentistas e bayesiano no melhoramento genético de Psidium guajava* L. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de plantas), Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF.

Silva, F.A., Correa, C.C.G., Carvalho, B.M., Viana, A.P., Preisigke, S.C., Amaral Júnior, A.T. (2021) Novel approach to the selection of *Psidium guajava* genotypes using latent traits to bypass multicollinearity. *Scientia Agricola*, 78 (2): 5-13.

Soares-Silva, L.H., Proença, C.E.B. (2008). A new species of *Psidium* l. (Myrtaceae) from southern Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 158: 51-54

Sobral, M.; Proença, C.; Souza, M.; Mazine, F.; Lucas, E. Myrtaceae (2015) in: Lista de Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: BFG. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. *Rodriguésia*, v.66, n.4, p.1085- 1113.

Soubihe Sobrinho, J. (1951) *Estudos básicos para o melhoramento de goiabeira (Psidium guajava* L*.)*. 166f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – ESALQ.

Soubihe Sobrinho, J.; Gurgel, J.T.A. (1962) Taxa de panmixia na goiabeira (*Psidium guajava* L.). Bragantia, v. 21, n. 2, p. 15-20.

Sousa, C. M. B.; Ribeiro, R. M.; Viana, A. P.; Cavalcante, N. R.; Silva, F. A.; Ambrósio, M.; Amaral Junior, A. T. (2020) Guava breeding via full-sib family

selection: conducting selection cycle and divergence between parents and families. *CropBreedingand Applied Biotechnology*, v. 20, n. 1, p. 1-9.

Souza, C.M.P.; Viana, A.P.; Ferreira, C.F Silva, S.O.; Carvalho, A.J.C; Berbert, P.A.; Sousa, E.F. (2008) Avaliação da dissimilaridade genética em genótipos de bananeira (*Musa* spp.) via marcadores RPAD. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 30 (2): 419-424.

Souza, H. A. de; Rozane, D. E.; Natale, W.; Barbosa, J. C.; Prado, R. M. Permanência de folha de goiabeira durante o período de produção de frutos em pomar comercial. (2011) *Revista de Ciências Agrárias*, Belém, n. 51, p.225-235.

Sujii, P.S., Fernandes, E.T.M.B., Azevedo, V.C.R., Ciampi, A.Y., Martins, K., Wadt, L.H.O. (2013) Morphological and molecular characteristics do not confirm popular classification of the Brazil nuttree in Acre, Brazil. *Genetics and Molecular Research*, 12(3):40018-40027.

Turchetto-Zolet, A.C., Turchetto, C., Zanella, C.M., Passaia, G. (2017) Marcadores Moleculares na Era genômica: Metodologias e Aplicações. (Org). Ribeirão Preto: *Sociedade Brasileira de Genética*, 181p.

Viana, A.P., Resende, M.D.V. (2014) Genética quantitativa no melhoramento de fruteiras. 1a ed. Rio de Janeiro: Interciência, 296p.

Walter, B. H. F. (2021) *Seleção em famílias de irmãos-completos de goiabeira via modelos mistos e marcadores microssatélites*. Dissertação (Mestrado Genética e Melhoramento de Plantas), Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF.

Zacarias, A.M.; Botha, A.M.; Labuschagne, M.T.; Benesi, I.R.M. (2004) Characterization and genetic distance analysis of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germplasm form Mozambique using RAPD fingerprinting. *Euphytica*, 138(1):49-53.

Zanella, C. M. (2017) Marcadores genéticos baseado em DNA, In: Turchetto-Zolete, A. C.; Turchetto, C.; Zanella, C. M.; Passaia, G. Marcadores Moleculares na Era Genômica: Metodologias e Aplicações. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, p. 12-18.

ANEXOS

Tabela 4. Medidas de diversidade para os 94 genótipos caracterizados na população S_1. Sendo NA: número de alelos; He: heterozigosidade esperada; Ho: heterozigosidade observada; e F: endogamia. UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 2023

Genótipos	*Locus*	Na	He	Ho	F
1	21	4	0,6383	0,4286	0,3502
2	19	4	0,6634	0,3158	0,5433
3	20	3	0,6350	0,5000	0,2369
4	20	3	0,6200	0,2500	0,6130
5	19	3	0,6524	0,3158	0,5355
6	20	3	0,6263	0,3000	0,5394
7	19	3	0,6427	0,4211	0,3684
8	19	4	0,5803	0,3158	0,4770
9	21	3	0,6077	0,4286	0,3169
10	20	4	0,6538	0,0500	0,9272
11	21	3	0,5952	0,1429	0,7701
12	20	3	0,6288	0,2500	0,6185
13	20	3	0,6388	0,0500	0,9255
14	21	3	0,6259	0,0952	0,8545
15	20	3	0,6288	0,1500	0,7720
16	21	3	0,6315	0,2857	0,5644
17	21	3	0,6179	0,2857	0,5547
18	21	3	0,6429	0,3810	0,4275
19	21	3	0,6349	0,3333	0,4937
20	21	3	0,6020	0,3810	0,3881
21	21	3	0,6315	0,0476	0,9281
22	21	3	0,6179	0,0476	0,9265
23	21	3	0,6259	0,0952	0,8545
24	21	4	0,6179	0,3810	0,4041
25	21	3	0,6020	0,2857	0,5429
26	21	4	0,6610	0,1429	0,7931
27	20	4	0,6213	0,1500	0,7692
28	21	4	0,6395	0,1905	0,7143
29	21	4	0,6213	0,0952	0,8535
30	20	4	0,6288	0,1500	0,7720
31	21	4	0,6032	0,0952	0,8491
32	20	4	0,6350	0,1000	0,8498
33	21	3	0,6179	0,0476	0,9265
34	21	4	0,6485	0,0952	0,8596
35	21	4	0,6451	0,0476	0,9296
36	21	4	0,6451	0,0476	0,9296
37	21	3	0,6315	0,0476	0,9281

Tabela 4 – Cont.

Genótipos	*Locus*	Na	He	Ho	F
38	21	4	0,6451	0,0476	0,9296
39	21	4	0,6338	0,2381	0,6390
40	21	3	0,6259	0,0952	0,8545
41	20	3	0,6050	0,2000	0,6833
42	20	3	0,6113	0,1500	0,7654
43	21	3	0,6077	0,5238	0,1619
44	21	4	0,6315	0,3810	0,4171
45	21	4	0,6485	0,0952	0,8596
46	19	3	0,5970	0,2105	0,6628
47	21	3	0,6349	0,0000	1,0000
48	21	3	0,6259	0,0000	1,0000
49	21	3	0,6315	0,0476	0,9281
51	21	4	0,6259	0,1905	0,7080
52	21	4	0,5850	0,1905	0,6875
53	21	3	0,5975	0,0952	0,8476
54	21	3	0,5941	0,0952	0,8467
55	21	3	0,6077	0,3810	0,3939
56	21	4	0,6134	0,3810	0,3996
57	20	3	0,6350	0,4000	0,3920
58	21	3	0,6349	0,2381	0,6396
59	20	4	0,6413	0,3500	0,4743
60	19	4	0,6634	0,4211	0,3885
61	20	4	0,6563	0,4000	0,4120
62	21	3	0,6429	0,3810	0,4275
63	21	3	0,6224	0,2857	0,5580
64	21	3	0,6077	0,3810	0,3939
65	21	3	0,6349	0,4762	0,2727
66	20	3	0,5950	0,3500	0,4328
67	21	3	0,6361	0,3333	0,4946
68	20	3	0,6200	0,1000	0,8462
69	19	4	0,6662	0,3158	0,5453
70	20	3	0,6288	0,1500	0,7720
71	20	4	0,6500	0,3000	0,5564
72	20	4	0,6750	0,2000	0,7164
73	21	4	0,6859	0,3333	0,5318
74	21	4	0,6848	0,1905	0,7333
75	21	4	0,6769	0,2857	0,5939
76	21	4	0,6213	0,1905	0,7059
77	21	4	0,5816	0,2381	0,6063

Tabela 4 – Cont.

Genótipos	*Locus*	Na	He	Ho	F
78	21	4	0,6395	0,2857	0,5699
79	21	4	0,6485	0,0952	0,8596
80	21	4	0,6485	0,0000	1,0000
81	20	4	0,6500	0,1000	0,8533
82	21	4	0,6485	0,0000	1,0000
83	20	4	0,6438	0,0500	0,9261
84	21	3	0,6179	0,1429	0,7786
85	21	3	0,6349	0,0952	0,8566
86	21	3	0,6349	0,0952	0,8566
87	21	3	0,6315	0,1429	0,7834
88	19	3	0,5208	0,2105	0,6129
89	20	3	0,6163	0,4000	0,3732
90	21	3	0,6519	0,4762	0,2920
91	21	3	0,6349	0,3810	0,4203
92	21	3	0,6429	0,4286	0,3548
Paluma	21	4	0,6043	0,2857	0,5446
Pedro Sato	21	3	0,5408	0,4286	0,2308
Cortibel	21	4	0,6474	0,3333	0,5035
Médias	**20,5851**	**3,4362**	**0,6287**	**0,2270**	**0,6511**

Tabela 5. Medidas de diversidade para os 95 genótipos caracterizados na população S_2. Sendo NA: número de alelos; He: heterozigosidade esperada; Ho: heterozigosidade observada; e F: endogamia. UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, 2023

Genótipos	*Locus*	Na	He	Ho	F
1	21	3	0,543	0,238	0,578
2	21	2	0,495	0,143	0,724
3	21	3	0,516	0,286	0,465
4	21	3	0,509	0,238	0,550
5	21	2	0.490	0.190	0,626
6	21	2	0,482	0,238	0,524
7	21	2	0,444	0,286	0,378
8	19	3	0,467	0,211	0,568
9	21	3	0,544	0,238	0,579
10	21	3	0,523	0,190	0,650
11	21	3	0,553	0,286	0,502
12	21	3	0,550	0,286	0,499
13	21	3	0,534	0,143	0,744
14	21	3	0,591	0,095	0,846
15	21	3	0,553	0,286	0,502
16	21	3	0,550	0,190	0,667
17	20	3	0,576	0,250	0,583
18	21	3	0,500	0,429	0,167
19	21	2	0,408	0,000	1,000
20	21	2	0,482	0,333	0,330
21	21	3	0,500	0,381	0,261
22	21	2	0,482	0,048	0,906
23	21	2	0,490	0,476	0,052
24	20	3	0,580	0,450	0,248
25	20	3	0,574	0,200	0,666
26	21	3	0,534	0,190	0,657
27	21	3	0,540	0,381	0,316
28	20	3	0,466	0,300	0,379
29	21	2	0,427	0,048	0,894
30	19	2	0,465	0,105	0,784
31	21	2	0,482	0,048	0,906
32	21	2	0,490	0,000	1,000
33	20	2	0,469	0,050	0,898
34	21	2	0,472	0,000	1,000
35	21	2	0,444	0,000	1,000
36	21	2	0,459	0,048	0,901
37	21	3	0,571	0,381	0,355

Tabela 5 – Cont.

Genótipos	*Locus*	Na	He	Ho	F
38	21	2	0,490	0,000	1,000
39	21	3	0,500	0,238	0,541
40	21	3	0,509	0,095	0,821
41	21	3	0,500	0,048	0,909
42	21	3	0,543	0,143	0,748
43	21	3	0,534	0,238	0,571
44	20	2	0,480	0,000	1,000
45	21	2	0,472	0,000	1,000
46	21	2	0,444	0,095	0,795
47	21	2	0,459	0,048	0,901
48	21	2	0,408	0,095	0,777
49	20	2	0,495	0,200	0,612
50	21	2	0,472	0,190	0,612
51	21	2	0,472	0,286	0,415
52	18	2	0,401	0,111	0,736
53	18	2	0,475	0,111	0,778
54	20	3	0,486	0,300	0,405
55	21	2	0,500	0,143	0,726
56	21	3	0,534	0,143	0,744
57	18	2	0,475	0,111	0,778
58	20	3	0,486	0,050	0,902
59	21	2	0,459	0,048	0,901
60	21	2	0,472	0,476	0,015
61	20	3	0,509	0,400	0,238
62	20	2	0,469	0,050	0,898
63	20	2	0,455	0,100	0,790
64	21	3	0,571	0,190	0,680
65	20	3	0,554	0,250	0,566
66	21	3	0,534	0,143	0,744
67	21	3	0,550	0,286	0,499
68	20	3	0,549	0,250	0,562
69	21	3	0,595	0,143	0,770
70	21	3	0,516	0,190	0,645
71	20	3	0,486	0,150	0,705
72	21	2	0,499	0,190	0,633
73	21	2	0,490	0,095	0,814
74	21	3	0,534	0,238	0,571
75	21	3	0,520	0,429	0,200
76	20	3	0,564	0,500	0,138
77	21	2	0,495	0,048	0,908

Tabela 5 – Cont.

Genótipos	*Locus*	Na	He	Ho	F
78	20	2	0,489	0,050	0,903
79	18	2	0,444	0,000	1,000
80	21	3	0,516	0,381	0,284
81	21	2	0,482	0,143	0,716
82	21	2	0,408	0,095	0,777
83	19	3	0,425	0,105	0,764
84	20	2	0,495	0,100	0,807
85	19	2	0,411	0,158	0,633
86	21	3	0,500	0,190	0,634
87	21	3	0,540	0,095	0,831
88	19	3	0,569	0,263	0,557
89	15	2	0,491	0,067	0,873
90	21	3	0,529	0,190	0,654
91	21	3	0,452	0,143	0,697
92	21	3	0,503	0,095	0,819
93	21	3	0,540	0,095	0,831
94	21	3	0,482	0,238	0,524
95	21	3	0,387	0,048	0,882
Paluma	21	4	0,604	0,286	0,545
Pedro Sato	21	3	0,541	0,429	0,231
Cortibel	21	4	0,647	0,333	0,504
Médias	**20,5306**	**2,5816**	**0,502**	**0,184**	**0,655**