



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA MULTICÊNTRICO EM BIOQUÍMICA E
BIOLOGIA MOLECULAR – PMBqBM



MAURÍCIO OLIVEIRA PAIXÃO

CARACTERIZAÇÃO GENÉTICO-MOLECULAR EM
MARACUJAZEIRO-DO-SONO (*Passiflora setacea* DC.) PRESENTE EM
POPULAÇÕES NATURAIS E BANCOS DE GERMOPLASMA

ITAPETINGA-BA
2022

MAURÍCIO OLIVEIRA PAIXÃO

**CARACTERIZAÇÃO GENÉTICO-MOLECULAR EM
MARACUJAZEIRO-DO-SONO (*Passiflora setacea* DC.) PRESENTE EM
POPULAÇÕES NATURAIS E BANCOS DE GERMOPLASMA**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva

ITAPETINGA-BA

2022

634.425
P172c

Paixão, Maurício Oliveira.

Caracterização genético-molecular em maracujazeiro-do-sono (*Passiflora setacea* DC.) presente em populações naturais e bancos de germoplasma. / Maurício Oliveira Paixão. – Itapetinga - BA: UESB, 2022.
57f.

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre. Sob a orientação do Prof. D. Sc. Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva.

1. Maracujazeiro-do-sono – Diversidade genética. 2. Maracujazeiros – Estrutura genética. 3. Maracujazeiros – Conservação. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa Multicêntrico de Mestrado em Bioquímica e Biologia Molecular, *Campus* de Itapetinga. II. Silva, Carlos Bernard Moreno Cerqueira. III. Título.

CDD(21): 634.425

Catálogo na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Maracujazeiros nativos
2. *Passiflora setacea*
3. *Passiflora setacea* - Cerrado brasileiro

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB
Recredenciada pelo Decreto Estadual
Nº 16.825, de 04.07.2016

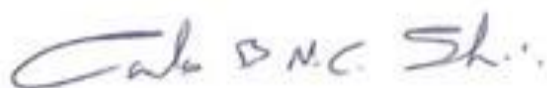
DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: “Caracterização Genético-Molecular em Maracujazeiro-Do-Sono (Passiflora Setacea Dc.) Presente em Bancos de Germoplasma e Populações Naturais”.

Autor (a): **Maurício Oliveira Paixão**

Orientador (a): Prof. Dr. Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR, pela Banca Examinadora:



Prof. Dr. Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva



Profa. Dra. Crislene Viana da Silva



Prof. Dr. Thiago Pereira Souza

Data de realização: 20 de agosto de 2022.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida, consciência, ética, liberdade e esperança.

À minha família, meu pai Aparício (*in memoriam*), minha mãe Telma e minha irmã Lorena por todo o amor, força e união;

Ao Prof. e orientador Dr. Carlos Bernard M. Cerqueira-Silva, por compartilhar o seu conhecimento, pela sua paciência e pela orientação.

Aos colegas e companheiros do Laboratório de Genética Molecular Aplicada (LGMA), pela grande ajuda, em especial à Thalana.

Aos colegas e professores do Programa Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular (PMBqBM) da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), pelos momentos de coleguismo e amizade, em especial à minha colega Bárbara.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), ao Programa Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular (PMBqBM) e a Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) pela concessão da bolsa de estudo.

E à todos os outros que me auxiliaram até essa etapa.

RESUMO

Passiflora setacea DC. é uma espécie vegetal nativa do Cerrado brasileiro, popularmente conhecida como maracujazeiro-do-sono. Em contextos de programas de (pré)melhoramento ela é utilizada tanto com os objetivos da comercialização dos frutos para alimentação, produção de sucos, medicamentos, ornamentação e cosmética, assim como potencial fonte de genes de resistência a fatores de estresse bióticos e abióticos. O principal objetivo com esse trabalho foi estimar a diversidade e estrutura genética de *P. setacea* em seis populações naturais e em nove acessos de bancos ativos de germoplasma da Embrapa Cerrados e da Embrapa Mandioca e Fruticultura a partir do polimorfismo observado com marcadores moleculares *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR). Para isso, foram coletados 149 indivíduos em seis populações naturais e nove acessos em bancos ativos de germoplasma. Após identificação e acondicionamento, as amostras tiveram o DNA extraído pelo método CTAB 1% (m/v) e quantificado pela razão das absorvâncias 260/280 nm. Posteriormente, procedeu-se amplificação por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando 12 iniciadores ISSR. Os produtos de amplificação gerados com a PCR foram separados em eletroforese horizontal em gel de agarose a 2% (m/v) e posteriormente visualizados em transluminador com luz UV e fotodocumentados. Foram observadas 186 marcas, com média de 15.5 marcas por iniciador ISSR. A AMOVA revelou que a maior parte da diversidade ocorre dentro da população (71%) seguido pela diversidade entre as populações (29%). A diversidade genética de Nei (h) e de Shannon (I) foram, respectivamente, 0.206 e 0.309. A porcentagem de loci polimórficos (PLP) encontrada foi de 59,29%. As matrizes de similaridade e dissimilaridade genética de Nei, bem como a análise de coordenadas principais (PCoA) revelaram a distância entre as populações naturais e acessos. A estruturação das populações e a árvore de *Unweighted Neighbor Joining* demonstraram que as populações e acessos podem ser diferenciadas em dois grupos. A *Passiflora setaceae* apresenta alta diversidade e variabilidade genética. A diversificação concentra nos acessos de Caculé e de Encruzilhada, sugerindo a inserção desses no BAG a fim de agregar valor e riqueza aos bancos bem como contribuir com a conservação *ex situ* e futuros estudos de melhoramento genético.

Palavras-chave: maracujazeiro-do-sono; ISSR; diversidade genética; conservação.

ABSTRACT

Passiflora setacea DC. is a species of plant native from Brazilian cerrado, popularly known as sleeping passion fruit. In contexts of (pre) breeding programs, *P. setacea* is used both for the purposes of commercialization of fruits for food, juice production, medicines and ornamentation, as well as a potential source of genes for resistance to biotic and abiotic stress factors. The objective of this work was to estimate the diversity and genetic structure of *P. setacea* in six natural populations and in accessions of active germplasm banks (BAGs) from Embrapa Cerrados and Embrapa Mandioca e Fruticultura. After identification and packaging, the samples had their DNA extracted by the CTAB 1% (w/v) method and quantified by the absorbance ratio 260/280 nm. Subsequently, amplification was carried out using the Polymerase Chain Reaction (PCR) using 12 ISSR primers. The amplification products generated with the PCR were separated in horizontal electrophoresis in agarose gel at 2% (w/v) for 1 h under 90 volts, where they were visualized in a transilluminator with UV light and photodocumented. The amplification product was analyzed from photodocumented images of gels stained with Red gel. 186 marks were observed, with an average of 15.5 mark per ISSR primer. AMOVA revealed that most diversity occurs within (71%) than among populations (29%). The genetic diversity of Nei (h) and Shannon (I) were, respectively, 0.206 and 0.309. The percentage of polymorphic loci (PLP) found was 59.29%. Nei genetic similarity and dissimilarity matrices, such as principal coordinate analysis (PCoA) revealed the distance between natural populations and accessions. The structuring of populations and the unweighted neighbor joining tree demonstrated that populations and accessions can be differentiated into two groups. *Passiflora setacea* has high genetic diversity and variability. This information infers the use of accessions in conservation programs in order to expand the germplasm collection as well as insert them in pre-improvement programs.

Keywords: *passion fruit*; ISSR; genetic diversity, conservation

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
OBJETIVOS	16
OBJETIVO GERAL	16
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
DESENVOLVIMENTO	17
REVISÃO DA LITERATURA	17
MATERIAL E MÉTODOS	29
RESULTADOS	32
DISCUSSÃO	38
CONCLUSÃO	41
REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	43
ANEXOS	57

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Rendimento médio da produção de maracujás no ano de 2020 no Brasil, expresso em Kg.ha⁻¹ (IBGE, 2021).....19
- Figura 2** - *P. setacea*. Créditos: Silva, TSS.....21
- Figura 3** - Linha do tempo indicando os estudos iniciais com os principais marcadores moleculares em *Passiflora*. Informações encontradas nos bancos de dados Web Of Science, Scopus e Scholar Google com uso dos seguintes termos para busca: “*Passiflora*”, “AFLP”, “Isoenzyme”, “ISSR”, “RAPD”, “RFLP”, “RGA”, “SNP” e “SSR Adaptado de Cerqueira-Silva (2014).....24
- Figura 4** - Mapa com os pontos de coleta de *P. setacea* em populações naturais de Vitoria da Conquista (VC), Candido Sales (CS), Divisa Alegre (DA), Caculé (CC), Caetité (CT) e Encruzilhada (EN).....28
- Figura 5** - Análise de coordenadas principais (PCoA) do agrupamento de amostras individuais (a) e agrupadas (b) das populações naturais de *P. setacea* coletadas em populações naturais de Vitoria da Conquista (VC), Candido Sales (CS), Divisa Alegre (DA), Caculé (CC), Caetité (CT), Encruzilhada (EN) e de acessos de Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) baseado nos dados ISSR. Em (b) cada ponto mostra o gráfico em pizza da estruturação genética.....35
- Figura 6** - Determinação do número ótimo de K (grupos genéticos) pelo método Bayesiano em amostras individuais de populações naturais coletadas em Vitoria da Conquista (VC), Candido Sales (CS), Divisa Alegre (DA), Caculé (CC), Caetité (CT), Encruzilhada (EN) e de acessos de Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) de *P. Setacea* baseado nos dados ISSR O ponto de intersecção entre o maior valor no eixo Y com o eixo X indica o número ótimo de K (a). Agrupamento de “unweighted neighbor joining” (UNJ) gerado com a utilização do coeficiente de dissimilaridade de Jaccard no programa DARwin 6 (b). Estrutura genética das populações de *P. setacea* coletadas em Vitória da Conquista (VC), Candido Sales (CS), Divisa Alegre (DA), Caculé (CC), Caetité (CT), Encruzilhada (EN) e de acessos de Bancos Ativos de

Germoplasma (BAGs), conforme a divisão em dois grupos genéticos (K) obtidos pela análise Bayesiana (c).....	36
---	----

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Pontos de coleta das populações de *P. setacea* e suas respectivas coordenadas geográficas.....28
- Tabela 2** - Descrição dos 12 iniciadores ISSR utilizados para caracterização de indivíduos coletados em populações naturais de *P. setacea* localizadas em Caetité, Caculé, Candido Sales, Divisa Alegre, Encruzilhada, Vitoria da Conquista e nove acessos coletados dos Bancos Ativos de Germoplasma.....30
- Tabela 3** - Polimorfismo obtido através de 12 iniciadores ISSR na caracterização de 149 indivíduos coletados em populações naturais de *P. setacea* localizadas em Caetité, Caculé, Candido Sales, Divisa Alegre, Encruzilhada, Vitoria da Conquista e nove acessos coletados dos Bancos Ativos de Germoplasma.....32
- Tabela 4** - Análise da variância molecular (AMOVA) para os 149 indivíduos de populações naturais *P. setacea* localizados em Caetité, Caculé, Candido Sales, Divisa Alegre, Encruzilhada, Vitoria da Conquista e nove acessos coletados de Bancos Ativos de Germoplasma. gl = grau de liberdade; sq = soma dos quadrados; MS = quadrado médio; cv = variância estimada.....32
- Tabela 5** - Diversidade genética de populações naturais de Vitoria da Conquista (VC), Candido Sales (CS), Divisa Alegre (DA), Caculé (CC), Caetité (CT), Encruzilhada (EN) e de acessos de Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) de *P. Setacea* baseado nos dados ISSR. N = número de indivíduos; I = Índice de Shannon; h = diversidade genética de Nei (1972); NLP = número de *loci* polimórficos, NLE = número de *loci* exclusivos, PLP (%) = porcentagem de *loci* polimórficos.....33
- Tabela 6** - Distância (acima da diagonal) e Identidade genética (abaixo da diagonal) de Nei (1978) entre as populações naturais de Vitoria da Conquista (VC), Candido Sales (CS), Divisa Alegre (DA), Caculé (CC), Caetité (CT), Encruzilhada (EN) e dos acessos de Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) de *P. Setacea* baseado nos dados ISSR.....34

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Descrição e identificação de cada acesso utilizado no estudo depositado no Laboratório de Genética Molecular Aplicada (LGMA) da UESB (*campus* Itapetinga), com respectivo código do acesso no BAG, BAG de origem e origem de coleta do acesso..... 56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- IBGE** – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- BAG** – Banco Ativo de Germoplasma
- ISSR** – *Inter-simple sequence repeats*
- PCR** – *Polymerase Chain Reaction*
- DNA** – Ácido Desoxirribonucleico
- EMBRAPA** – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- RAPD** – *Random Amplified Polymorphic DNA*
- RGA** – *Resistance Gene Analogs*
- RFLP** – *Restriction Fragment Length Polymorphism*
- DArT** – *Diversity Arrays Technology*
- AFLP** – *Amplified Fragment Length Polymorphism*
- SNP** – *Single Nucleotide Polymorphism*
- SSR** – *Single Sequence Repeat*
- QTL** – *Quantitative trait locus*
- LGMA** – Laboratório de Genética Molecular Aplicada
- UESB** – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
- CTAB** – Brometo de Cetiltrimetilamônio (*Cetrimonium bromide*)
- dNTP** – Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
- TBE** – Tampão de Tris/Borato/EDTA
- pH** – Potencial hidrogeniônico
- AMOVA** – *Analysis of molecular variance* (Análise da Variância Molecular)
- PCoA** – *Principal Coordinates Analysis* (Análises de Coordenadas Principais)
- UNJ** - Unweighted Neighbor Joining (Associação não ponderada de vizinhos)

INTRODUÇÃO

Passiflora é um gênero de plantas trepadeiras, perenes, popularmente conhecidas como maracujazeiros, com grande diversidade de espécies. Possui aproximadamente 157 espécies distribuídas em todo o território brasileiro, em que dessas, 87 são endêmicas (Bernacci et al., 2020).

Os frutos dos maracujazeiros são conhecidos como maracujás, sendo comestíveis em pelo menos 70 espécies (Faleiro et al., 2021). A produção de frutos comestíveis é o destaque comercial do gênero, sendo a produção global estimada em 2017 em aproximadamente de 1,5 milhão de toneladas, liderada pelo Brasil, representando cerca de 65% da produção mundial, seguido da Colômbia e Indonésia (Altendorf, 2018). No Brasil, a maior parte dessa produção é gerada na região nordeste, sobretudo no Estado da Bahia (IBGE, 2021). Além disso, não somente no mercado de fruticultura, as espécies de *Passiflora* são destaque também no uso ornamental (Mikovski et al., 2019), cosmético (Proaño et al., 2020) e medicinal (Santos et al., 2020).

Contudo, a produção dos maracujazeiros comerciais sofre influência de diversos fatores limítrofes na cultura, como o tipo de solo, condições climáticas, déficit hídrico, obsolescência tecnológica, pragas, doenças, indisponibilidade de polinizadores, dentre outros fatores bióticos e abióticos (Veimrober Junior, 2021; Faleiro et al., 2019; Peruch et al., 2018; Medeiros et al.; 2017). A despeito do potencial comestível dos frutos de muitas espécies, a comercialização dos frutos de maracujazeiros encontra-se concentrada em apenas uma espécie (*P. edulis* Sims) que corresponde em mais de 90% da produção nacional de 690.364 t em 2020 (IBGE, 2021).

Dentre as espécies silvestres, ainda que pouco exploradas comercialmente, observa-se um aumento no reconhecimento desta biodiversidade enquanto recurso natural, sobretudo para os programas de melhoramento genético (Nass, 2011). Neste contexto, encontra-se a espécie *Passiflora setacea* DC, popularmente conhecida como maracujá-do-sono, maracujá-cascavel ou maracujá-sururuca, nativa dos biomas Cerrado, Mata Atlântica e Caatinga. Segundo Ataíde et al. (2012), os frutos de *P. setacea* possuem potencial para serem consumidos através do mercado de frutas frescas, devido ao sabor doce e exótico, além de apresentar potencial como fonte de resistência para fatores de estresse biótico e abiótico (Teixeira et al., 2017; Pereira et al., 2019; Sacoman et al., 2018; Souza et al., 2018). Apesar de ser uma espécie ainda pouco estudada e caracterizada (Almeida, 2018), a *P. setacea* já está sendo utilizada em programas de

melhoramento, como o que lançou em 2013 o cultivar BRS Pérola do Cerrado (BRS PC) (EMBRAPA, 2015).

O estado da Bahia, além de se destacar no contexto produtivo da cultura do maracujá, é também em seus biomas um ambiente de ocorrência natural para várias espécies do gênero (Species Link, 2021). O território baiano é compreendido em sua maior parte pelo semiárido, onde predominam vegetações de Caatinga (Giulietti et al., 2006). A Bahia apresenta mosaicos de florestas estacionais, campos rupestres e áreas de transição com ecossistema do Cerrado circundadas pela Caatinga que apresentam diferentes condições de topografia, microclimas e composição do solo (Pinho, 2008). As regiões geográficas compreendendo Vitória da Conquista, Candido Sales, Caculé e Encruzilhada estão incluídas em áreas de transição entre aos biomas Caatinga e Mata Atlântica (IBGE, 2019) que possuem índices pluviométricos entre 500 a 800 mm, enquanto a região de Caetité possui índice pluviométrico de 800 mm (Bahia, 2003). A região de Divisa Alegre, MG, situa-se no bioma da Caatinga, entre as bacias hidrográficas do Rio Pardo e Rio Jequitinhonha e com índice pluviométrico anual menor que 650 mm (Guimarães et al., 2010).

A biodiversidade inerente ao gênero *Passiflora*, aliada ao seu uso comercial, e sobretudo o potencial crescimento na produtividade e na diversificação da cultura, coloca os maracujazeiros como um importante recurso genético a ser pesquisado e utilizado (Cerqueira-Silva et al., 2015). Características relativas à sua reprodução, enquanto planta alógoma autoincompatível obrigatória e com capacidade de cruzamento interespecífico, fortalecem o uso desses recursos genéticos naturais em programas de melhoramento; envolvendo conjuntamente espécies comerciais e silvestres (Silva et al., 2014).

O estabelecimento de Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) e a conservação das espécies *in situ* são fundamentais para a manutenção da biodiversidade de maracujazeiros, além de fomentarem o uso dessas espécies como recursos genéticos. Naturalmente são desenvolvidas as caracterizações genéticas e agronômicas dos acessos nos BAGs, integrando o uso deste germoplasma em programas de conservação e, sobretudo, em programas de melhoramento (Braga et al., 2005).

A conservação da biodiversidade do gênero *Passiflora* recebe contribuições através de estudos sobre os padrões de distribuição e adaptação das espécies em diferentes regiões geográficas (Scherer, 2014). As centenas de espécies de *Passiflora* distribuídas em habitats com diferentes características macroecológicas e climáticas revelam que há diversidade de relações

ecológicas e evolutivas nesses ambientes que resultam em diferentes adaptabilidades, além de identificação de espécies com risco de extinção (Cerqueira-Silva et al., 2015).

Dentre as inúmeras possibilidades de caracterização dos recursos genéticos, a utilização de marcadores moleculares é uma importante ferramenta para avaliar a diversidade genética de maracujazeiros. Tais ferramentas possibilitam a obtenção de informações que contribua para identificação de genes relacionados às características desejáveis para uso no melhoramento e na avaliação da biodiversidade a partir de parâmetros populacionais (Cerqueira-Silva et al., 2018) que dentre outras possibilidades, direcionam cruzamentos convergentes ou divergentes. Um dos marcadores moleculares que possibilitam estimativas de diversidade intra e interespecífica são os ISSR (“*inter-simple sequence repeats*”).

Os marcadores ISSR podem ser entendidos como fragmentos de DNA localizados entre regiões microssatélites opostamente orientadas. Eles podem ser amplificados com o uso de iniciadores que possuem nucleotídeos que podem ser ancorados nas regiões microssatélites. As ampliações dos fragmentos que ocorrem a partir da técnica de PCR, seguida pela separação que ocorre através da eletroforese em gel, possibilitam a análise da diversidade genética através da presença de amplicons com diferentes tamanhos, ou mesmo ausência de bandas (Zietkiewicz, 1994).

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Estimar a diversidade e estrutura genética de acessos de *Passiflora setacea* DC presentes em bancos de germoplasma e populações naturais.

Objetivos Específicos

1. Ampliar o número de amostras de DNA genômico de *P. setacea* no banco de DNA do Laboratório de Genética Molecular Aplicada da UESB, *campus* de Itapetinga;
2. Genotipar com uso de marcadores moleculares acessos de maracujazeiros presentes em populações naturais e Bancos de Germoplasma;
3. Estimar a diversidade e estrutura genética de maracujazeiros presentes em populações naturais e Bancos de Germoplasma;
4. Identificar acessos de maracujazeiros com potencial uso para cruzamentos divergentes e convergentes em programas de melhoramento genético de maracujazeiros.

DESENVOLVIMENTO

REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Diversidade

A diversidade biológica é a variabilidade do número de organismos vivos em ecossistemas terrestres, aquáticos, ecológicos, além da diversidade de espécies, entre espécies e ecossistemas (Stehmann, 2017). Por sua vez, a diversidade genética pode ser definida como a quantidade total de variações genéticas em três níveis: (a) dentro de populações, (b) entre populações e (c) entre espécies.

A diversidade genética é naturalmente fundamental para a sobrevivência e evolução das espécies. Ela auxilia as espécies tanto no sucesso da reprodução, quanto na resistência às doenças e na adaptação das mudanças ambientais. Ela também pode ser entendida como o resultado da interação de diversos fatores, como o ambiente onde a espécie se encontra, o fluxo gênico, o sistema e modo reprodutivo, bem como o tamanho populacional (Silva, 2010).

Em contextos particulares de cada espécie, a variabilidade genética pode ser entendida como a variação entre alelos de um mesmo gene em determinada população. Ela é consequência de mutações, *crossing-over*, segregação e compartilhamento de genes entre populações. Além disso, ela pode ser considerada tanto de modo intraespecífico quanto de modo interespecífico. A variação intraespecífica, também chamada de polimorfismo, consiste em alterações genéticas dentro de uma mesma espécie e pode causar efeitos em comunidades ecológicas (Bolnick, 2011). A variação interespecífica, por sua vez, ocorre em diferentes espécies, sendo importante na relação entre espécies nos diferentes níveis taxonômicos (Diniz-Filho, 2012).

Fatores como a seleção natural e deriva genética podem contribuir para a perda da variabilidade genética (Costa, 2012). A deriva genética, neste contexto, altera aleatoriamente a frequência de um alelo em determinada população, sendo assim, ela pode reduzi-la através da exclusão de determinadas variantes genéticas (Hartl, 2020).

Espécies geneticamente uniformes estão mais ameaçadas de extinção, sendo que a diversidade genética é ameaçada, dentre outros fatores, pela redução do tamanho efetivo ou desaparecimento de populações, pela implementação unilateral de variedades de alto desempenho na agropecuária e através das alterações climáticas (Hajibabaei, 2007).

Características adaptativas são características herdáveis e benéficas para uma espécie ao serem vantajosas para a sua sobrevivência e capacidade de reprodução em um determinado período e contexto ambiental (Kremer et al., 2012).

O *pool* genético de uma população é o conjunto total de todos os alelos nos indivíduos reprodutores em determinado momento (Griffiths et al., 2022). Ele pode ser alterado aleatoriamente através das mutações. Sob a influência da seleção natural, pode-se ver com o tempo se a nova expressão causada por uma mutação resulta em uma adaptação significativa. Se for assim, será transmitida com mais frequência no futuro, porque os indivíduos afetados têm uma vantagem genética sobre os outros sem essa mutação. Se a mutação é neutra, ou prejudicial, os indivíduos afetados serão menos capazes de transmiti-la e, como resultado, a mutação permanecerá rara ou desaparecerá completamente, pois como a população é finita, as linhagens dos genes vão sendo substituídas ao longo das gerações (Hartl, 2020).

As diferentes formas de polinização também possuem relevância para a manutenção da diversidade genética (Fattorini e Glover, 2020). Algumas plantas evitam a polinização por autoincompatibilidade, ao possuírem estruturas florais com heterostilia, interferindo no comprimento dos pistilos e estames que dificultam a polinização (Welsford, 2016). Existem diferentes tipos de polinização cruzada. Na polinização através do vento (anemofilia), as plantas geralmente possuem altas reservas de pólen, estruturas mais adaptadas para a recepção do pólen e flores discretas (Rech, 2016). Enquanto a polinização através de animais (zoocoria) é caracterizada geralmente pela presença de flores hermafroditas, inflorescências ou falsas flores mais atrativas e adaptadas para os animais, sendo eles possivelmente atraídos pela cor, fragrância ou forma (Dicks, 2015).

1.2 Gênero *Passiflora*

Popularmente conhecidas como maracujazeiros, o gênero *Passiflora* é o mais diverso gênero das regiões tropicais das américas (Espinoza et al., 2018) e possui aproximadamente 520 espécies no mundo (MacDougal e Feuillet, 2004), sendo esta estimativa variável, visto a constante descrição de novas espécies (MacDougal e Espinoza, 2022). Países como Colômbia e Brasil possuem respectivamente 167 e 157 espécies e são reconhecidos como principais centros de diversidade de *Passiflora* (Ocampo et al., 2010; Bernacci et al., 2020; Fajardo et al., 1998).

As *Passiflora* spp. (Família *Passifloraceae*), caracterizam-se como plantas trepadeiras perenes que se apresentam como ervas e arbustos (Vanderplank, 1996). O sistema floral de *Passiflora* é normalmente caracterizado com flores de diversas colorações e misturas de cores, com comprimento maior que três centímetros, com cinco estames e órgãos sexuais elevados (Cervi, 1997). O caule possui estípulas, gavinhas e alto teor de lignina na base, sendo considerado pouco lenhoso (Manica, 1981; Crochemore et al., 2003). As folhas na maioria dos maracujazeiros são simples e alternas, inteiras ou lobadas e as raízes são axiais (Cunha et al., 2002).

O modo reprodutivo da maioria dos maracujazeiros é caracterizado pela alogamia obrigatória autoincompatível, isto é, a polinização é cruzada, entre indivíduos diferentes, sendo o maracujazeiro fértil incapaz de gerar sementes ao ser fertilizado com o seu próprio pólen (Silva et al., 2014). Apesar da autoincompatibilidade ser predominante no gênero, há espécies silvestres autocompatíveis como a *P. tenuifila*, *P. elegans*, *P. capsularis*, *P. villosa*, *P. suberosa*, *P. morifolia* e *P. foetida* (Faleiro, 2012).

Entre as espécies silvestres também se destacam as que possuem resistência aos principais patógenos do solo, como a *P. alata*, *P. caerulea*, *P. gibertii*, *P. macrocarpa*, *P. nitida*, *P. quadrangularis*, *P. setacea* (Fischer, 2005). Assim como resistência às doenças que atacam as partes aéreas, dentre estas espécies se destacam a *P. actinia*, *P. amethystina*, *P. setacea*, *P. coccinea*, *P. tenuifila*, *P. serratodigitata*, *P. odontophylla*, *P. nitida*, *P. gibertii* (Junqueira, 2005).

O maracujazeiro destaca-se tanto por aspectos ecológicos quanto por aspectos econômicos, visto que muitas espécies são reconhecidas como recurso natural devido ao potencial valor agregado às suas folhas, flores e frutos. A beleza e a diversidade das suas folhagens e flores despertam interesse no uso ornamental, já tendo sido registrados inúmeros híbridos ornamentais (Abreu et al., 2009; Peixoto, 2005). De forma semelhante, existe interesse econômico devido ao potencial uso dos princípios ativos das *Passifloras* como plantas medicinais (Silva, 2015), cosmetológicas (Proaño et al., 2020) e como fontes de princípios ativos (Fonseca, 2013). Por fim, destaca-se a importância econômica relativa às *Passifloras* quanto a produção e comercialização de frutos, conhecidos como maracujás, sendo neste contexto reconhecidas ao menos 70 espécies produtoras de frutos comestíveis (Faleiro et al., 2021). Esses frutos podem ser consumidos tanto *in natura*, quanto na forma de sucos, mousses, sorvetes e bebidas alcoólicas (SANDI et al., 2003).

O Brasil possui destaque no cenário mundial como principal produtor de frutos de maracujá, estando a produção brasileira presente nas diferentes regiões do país (IBGE, 2021). Segundo o IBGE (2021), no ano de 2020 a produção brasileira de maracujá foi de 690.364 t produzidas em 46.530 ha, tendo rendimento de 14,867 t.ha⁻¹ (Figura 1). Os municípios com maior produção foram, respectivamente, Livramento de Nossa Senhora – BA (44.660 t) e Viçosa do Ceará – CE (41.580 t), com rendimento médio de 14 t.ha⁻¹ e 25,2 t.ha⁻¹, respectivamente (IBGE, 2021). Na região nordeste, onde está localizada a Bahia, foram produzidas 491.326 t. em 33.833 ha com rendimento médio de 14,535 t.ha⁻¹ durante o ano de 2020 (IBGE, 2021). A Bahia é o principal estado brasileiro produtor, alcançando em 2020 uma produção de 197.160 t. em 17.414 ha, com rendimento de 11.323 Kg.ha⁻¹ (IBGE, 2021)

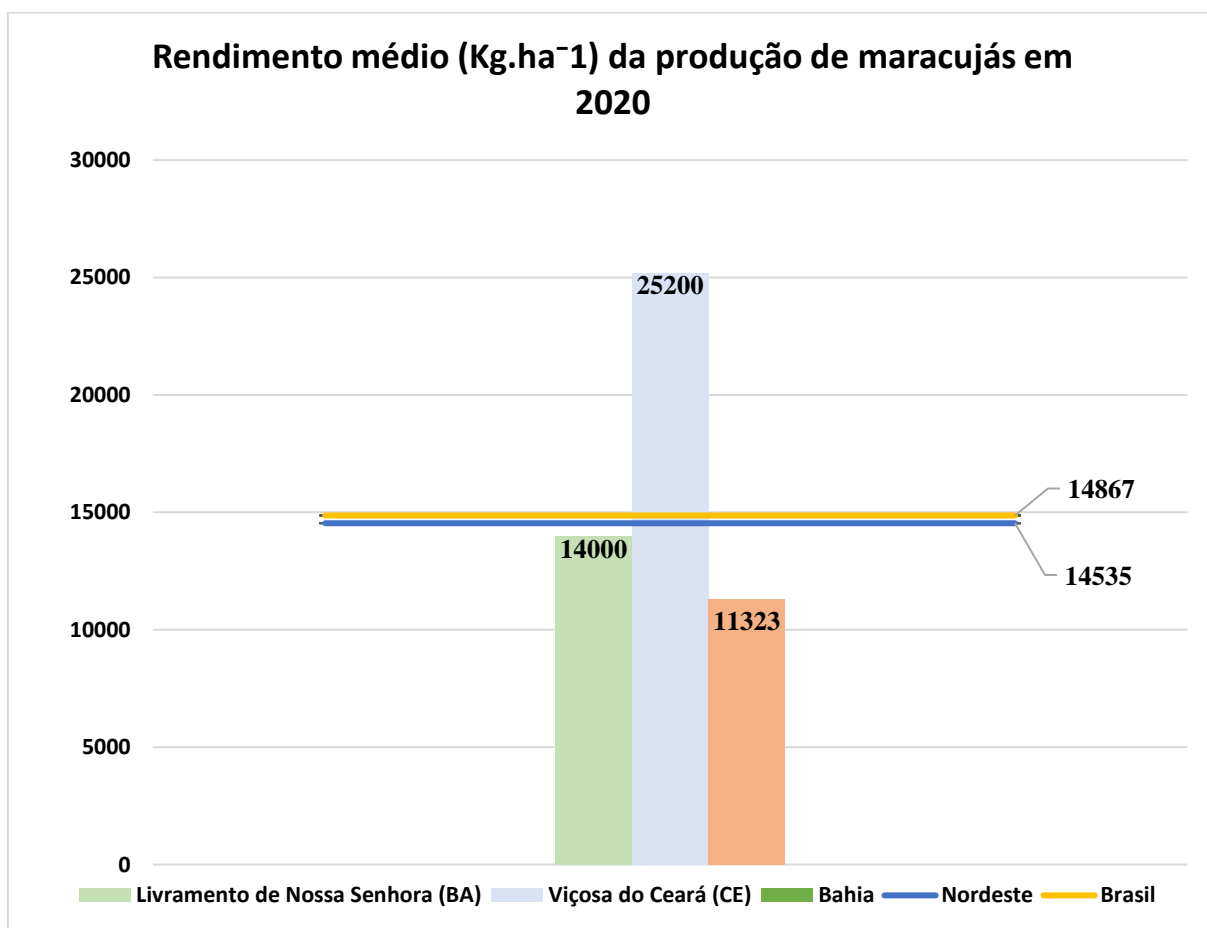


Figura 1. Rendimento médio da produção de maracujás no ano de 2020 no Brasil, expresso em Kg.ha⁻¹ (IBGE, 2021).

O menor rendimento encontrado na Bahia em comparação com o rendimento médio no Brasil pode ser justificado pelas diferenças nas características ambientais, como oferta de água, doenças, fertilidade do solo, fatores climáticos, ciclo vegetativo, disponibilidade de polinizadores, além de fatores técnicos e socioeconômicos, como manejo técnico, custo de produção, extrativismo predatório e genótipo utilizado (Araújo et al., 2005; Junqueira et al., 2005; Peruch et al., 2018; São José, 1994). Contudo, o rendimento médio menor da Bahia comparado com o restante da região nordeste, por apresentar características ambientais em comum, é um ponto importante a ser elucidado. Além do que, o incremento da sua produtividade apresenta-se como desafio para a manutenção da liderança do estado na cadeia produtiva.

Com o intuito de aumentar a produtividade da cultura, programas de pré (melhoramento) buscam utilizar espécies de maracujazeiros selvagens como fonte de genes de resistência às principais doenças que acometem os maracujazeiros (Faleiro et al., 2011). Neste contexto, merece destaque espécies silvestres como a *P. cincinnata* MAST. e *P. setacea* DC., que inclusive já possuem cultivares lançadas, como BRS Sertão Forte e BRS Pérola do Cerrado, respectivamente (Araújo et al., 2016).

1.2.1 *Passiflora setacea* DC.

O maracujazeiro-do-sono, maracujazeiro do cerrado ou maracujazeiro sururuca (*Passiflora setacea* DC) é uma espécie silvestre nativa do Cerrado brasileiro e que pode ser encontrada na Mata Atlântica, Cerrado e Caatinga (Oliveira e Ruggiero, 2005). Ela foi primeiramente descrita pelo botânico suíço Augustim Pyramus *de Candolle* (DC) em 1828 e como a sua espécie possui estípulas em formato de setas, a espécie recebeu o nome de *setacea*, que significa “em forma de setas” em latim (Cervi, 1997).

O fruto do maracujazeiro-do-sono tem formato redondo-ovalado, aproximadamente quatro cm de diâmetro, é menor do que o fruto do maracujazeiro azedo (4 a 5 cm de diâmetro) e sua coloração é verde-amarelada com cinco listras longitudinais (Sozo, 2014; Ribeiro, 2014)

A flor dessa espécie é noturna, possui coloração branca e anteras posicionadas numa única direção (Figura 2). Essas características fazem com que a espécie receba visitas de polinizadores como insetos de hábitos noturnos bem como morcegos (Souza et al., 2008; Junqueira et al., 2005). O potencial comercial da *P. setacea* está presente

tanto na produção de sucos *in natura*, devido ao seu sabor doce e exótico, quanto nas propriedades medicinais (Ataíde et al., 2012).

Quanto as estimativas de diversidade genética os estudos são ainda incipientes, sobretudo envolvendo populações naturais (Cerqueira-Silva et al., 2012; Pereira et al., 2015ab), mas apresentam evidências, embasadas em marcadores RAPD, RGA (*Resistance Gene Analogs*) e ISSR (*inter-simple sequence repeats*) para a existência de variabilidade significativa, passível de ser incorporada em programas de melhoramento genético.



Figura 2. *P. setacea*. Créditos: Silva, T.S.S.

1.3 Diversidade de Bancos Ativos de Germoplasma e Populações Naturais

Os bancos ativos de germoplasma (BAGs) são locais de conservação *ex situ* de espécies, com a finalidade de manter a variabilidade das espécies e utilizá-las para programas de conservação e melhoramento, além disso, os BAGs são alvo de avaliações, caracterizações, coletas e documentações dos acessos representativos do ecossistema natural (Vieira et al., 2005).

As principais coleções de acessos de maracujazeiros no Brasil estão localizadas nos BAGs da Embrapa, que contabilizam aproximadamente 600 acessos únicos pertencentes a diversas espécies do gênero *Passiflora* que podem ser disponibilizadas para programas de melhoramento (Embrapa, 2022).

As populações naturais são as principais fontes primárias de variabilidade para os programas de melhoramento. A distribuição geográfica das espécies em populações naturais está associada à dispersão, sendo ela influenciada tanto pela origem da espécie quanto pelas

características do seu novo habitat. A distribuição das espécies também é influenciada pelo isolamento geográfico imposto devido às barreiras físicas e até endemismo (Giulietti, 2005).

Caracterizar as populações naturais pode produzir informações sobre a origem, manutenção e organização das espécies “*in situ*” (Castellen, 2005). Essas informações auxiliam no acesso de genótipos com características desejáveis, como acessos produtivos ou acessos resistentes às doenças, bem como adaptadas no ambiente (Netto, 2010).

De acordo com Faleiro et al. (2018), no melhoramento de plantas, os marcadores moleculares podem ser utilizados em todas as fases, desde as caracterizações e análises nos germoplasmas, seguido pelo pré-melhoramento e melhoramento propriamente dito, com o auxílio da seleção de genitores, confirmação de hibridações e autofecundações, desenvolvimento de mapas genéticos e mapeamento comparativo, seleção assistida, mapeamento gênico e predição de desempenho de híbridos simples, até o pós-melhoramento, com análise, caracterização e proteção de cultivares.

Espécies silvestres de maracujazeiro apresentam potencialmente resistência à fatores de estresse bióticos e abióticos, representando recurso genético importante para os programas de melhoramento genético do maracujazeiro (Faleiro et al. 2011; Junqueira et al. 2005). Como exemplo, há espécies silvestres com anatomia do sistema reprodutivo adaptada à polinização por insetos pequenos (Junqueira et al. 2005). Também há relatos de algumas espécies silvestres resistentes às doenças causadas por fungos do solo, como a *P. caerulea*, *P. nitida*, *P. laurifolia*, *P. suberosa*, *P. alata*, *P. coccinea*, *P. gibertii* e *P. setacea* (Menezes, 1994; Fisher, 2003; Araújo et al., 2012; Preisigke et al., 2017).

1.4 Marcadores moleculares

Os marcadores moleculares são sequências no genoma que podem ser utilizadas como ferramentas para identificar polimorfismos genéticos entre indivíduos (Faleiro et al., 2019). De maneira geral, eles podem ser baseados em hibridação, amplificação ou sequenciamento. Enquanto a hibridação utiliza-se de sondas radioativas ou fluorescentes para marcação e ligação ao DNA, como as técnica RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) e DArT (*Diversity Arrays Technology*), a amplificação utiliza-se da PCR para a amplificação das pequenas sequências específicas, como os marcadores RAPD (*random amplified polymorphic DNA*), AFLP (*amplified fragment length polymorphism*), SSR (*simple sequence repeats*) e ISSR (*inter-simple sequence repeats*) (Poczai, 2013), e os baseados em sequenciamento usam tecnologias

de sequenciamento de nova geração e alinhamentos através da bioinformática para a detecção de polimorfismo, como os SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) os quais são baseados em sequenciamento (Meuwissen, 2001).

Além disso, os marcadores moleculares podem exibir predominantemente comportamentos relativos/associados a alelos dominantes ou codominantes. No primeiro, é possível a identificação da presença ou ausência de uma determinada marca (amplificação ou fragmento), como o RAPD, AFLP, DArT e ISSR. No segundo, é possível identificar um *locus* específico, alelo, sendo assim é capaz de diferenciar homozigotos e heterozigotos, como RFLP, SNP e SSR (Foll, 2008).

As vantagens dos marcadores moleculares dominantes, de modo geral, é que eles são simples, rápidos, reprodutíveis e mais baratos que os codominantes, contudo suas desvantagens podem estar associadas aos problemas de interpretação e por não conseguir diferenciar mais de um *locus* gênico, o que gera uma informação limitada (Meyer, 2002), enquanto as vantagens dos marcadores moleculares codominantes está associada à identificação de mais de um alelo e uma ampla cobertura do genoma, enquanto suas desvantagens, de modo geral, estão associadas ao maior custo e maior demora do que os marcadores dominantes (Bonnett, 2005).

Nos maracujazeiros, os marcadores moleculares são estudados e utilizados (Figura 3) em análises de diversidade genética (Cerqueira-Silva et al., 2014), análise e caracterização de cultivares resistentes às pragas e doenças, como o mapeamento preliminar QLT (*“Quantitative Trait Loci”*) feito por Santos et al. (2019) para detectar genótipos resistentes ao CABMV (*“cowpea aphid-borne mosaic virus”*), além de seleções com fins ornamentais (Sousa et al., 2015).

Populações naturais de *Passiflora* já foram caracterizadas com diferentes marcadores moleculares. Cerqueira-Silva et al. (2010) utilizou marcadores RAPD para analisar a diversidade genética de uma população natural de *P. trintae*. Pereira (2012), analisou populações naturais de *P. setacea* com marcadores ISSR (Pereira, 2012), enquanto nos estudos de Pereira et al. (2015) foram feitas análises de diversidade de populações naturais de *P. setacea* com marcadores SSR.

Acessos de bancos de germoplasma de *Passiflora* também foram caracterizados. Crochemore et al. (2003) avaliou a diversidade genética de 70 acessos de 11 espécies do gênero com RAPD. Santos et al. (2011) analisaram 45 acessos de três variedades de *Passiflora* com 18 iniciadores ISSR, enquanto Paiva et al. (2014) caracterizou a diversidade genética de acessos de *Passiflora* de BAGs com marcadores SSR.

As isoenzimas são marcadores moleculares e bioquímicos definidas como uma forma molecular de uma enzima e que apresenta funções idênticas, mas é formada por sequências de aminoácidos diferentes, bem como é produzida a partir de um gene distinto. A distinção entre as isoenzimas é feita através de gel de eletroforese e como elas possuem aminoácidos que geram cargas diferentes, a migração de cada isoenzima será distinta, sendo, portanto, separadas pela eletroforese e visualizadas em gel (Aguiar, 2012).

RAPDs são fragmentos de DNA amplificados por PCR usando iniciadores sintéticos curtos (geralmente 10 pb) de sequência aleatória. Estes oligonucleotídeos servem como iniciadores diretos e reversos e são geralmente capazes de amplificar fragmentos de vários locais genômicos simultaneamente. Os fragmentos amplificados são separados por eletroforese em gel de agarose e posteriormente são utilizados corantes específicos para detectar polimorfismos, sendo eles definidos como a presença ou ausência de bandas de tamanhos particulares. Considera-se que estes polimorfismos se devem principalmente à variação nos locais de emparelhamento de iniciadores, mas eles também podem ser gerados por diferenças de comprimento na sequência amplificada entre esses locais (Lacerda et al., 2002).

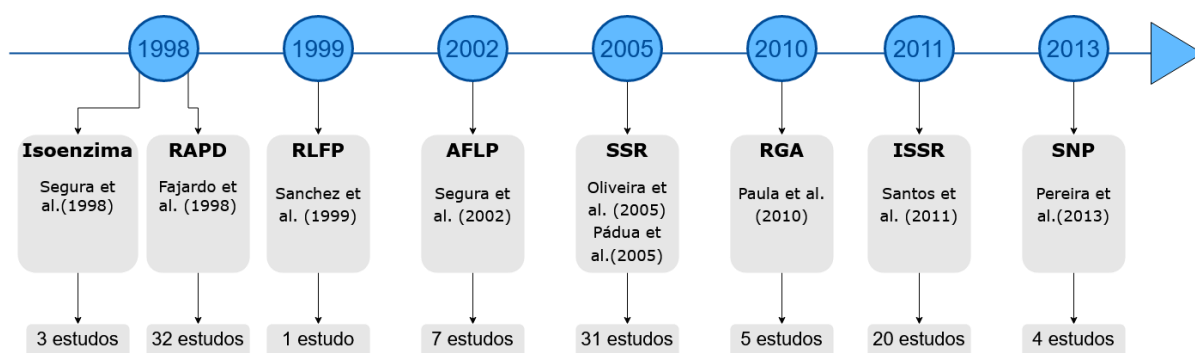


Figura 3: Linha do tempo indicando os estudos iniciais com os principais marcadores moleculares em *Passiflora*. Informações encontradas nos bancos de dados Web Of Science, Scopus, Scholar Google e Microsoft Academic com uso dos seguintes termos para busca: “*Passiflora*”, “AFLP”, “Isoenzyme”, “ISSR”, “RAPD”, “RFLP”, “RGA”, “SNP” e “SSR” (Adaptado de Cerqueira-Silva, 2014).

RFLPs se baseiam na propriedade de enzimas de restrição que reconhecem uma sequência específica de bases de 4 a 8 oligonucleotídeos. Sequências com fragmentos iguais são cortadas e formam comprimentos iguais, que em gel de agarose podem ser juntos

observados, porém se ocorrer mutações os fragmentos podem ser separados no gel de agarose e observados através de mudanças no padrão de bandas (Ferreira, 1995).

A técnica de AFLP utiliza enzimas de restrição que cortam a dupla fita de DNA com extremidades coesivas em diversos locais do genoma. Os fragmentos produzidos são ligados aos adaptadores às extremidades geradas pelas enzimas de restrição para que iniciadores complementares aos adaptadores iniciem a amplificação através da PCR. Após a amplificação os fragmentos são separados através da eletroforese em gel de poliacrilamida para serem observados os polimorfismos (Lanza et al., 2000).

Microssatélites (SSR) são sequências de DNA curtas e não-codificantes frequentemente repetidas no genoma de um organismo. Uma sequência consiste de dois a quatro nucleotídeos que se repetem de 10 a 100 vezes, geralmente muitas repetições concentram-se no mesmo *locus*. Os SSR são a forma mais comum de DNA repetitivo e são utilizados para análise genética, visto que o número de repetições difere entre indivíduos e essa característica pode ser detectada no DNA (McCouch et al., 1997).

As regiões análogas à genes de resistência (RGA) são marcadores moleculares derivados de genes de resistência conhecidos. Para marcar as regiões associadas à resistência, são criados iniciadores degenerados que amplificam essas regiões através da técnica de PCR (Leister et al., 1996; Kanazin et al., 1996; Yu et al., 1996).

Os marcadores ISSR consistem em pequenos intervalos genômicos, entre 100 e 3000 pb que estão entre regiões microssatélites. Esses marcadores são amplificados com um único iniciador através da PCR e emparelhados juntamente com os nucleotídeos arbitrários não-repetidos adjacentes (Meyer, 1993). Após a amplificação os fragmentos são analisados através da PCR em gel de agarose para análise da presença ou ausência de bandas polimórficas (Lorenzoni et al., 2014).

A tecnologia DArT é um tipo de marcador molecular baseado na hibridização de microarranjos que detecta polimorfismos genéticos por meio de intensidades de sinais gerados pela ligação de adaptadores específicos com seus iniciadores complementares aos fragmentos gerados pela digestão do DNA genômico com enzimas de restrição (Kilian et al., 2012). A diferença entre o DArT e outros marcadores é que ele utiliza uma biblioteca genômica chamada de representação da espécie, que é utilizada como sonda nos microarranjos para análises de polimorfismos (Turchetto-Zolet et al., 2017).

Os marcadores SNPs são polimorfismos em apenas um único nucleotídeo, amplamente distribuídos no genoma, inclusive em regiões codificadoras e apresentam característica

codominante. Eles são baseados no alinhamento de sequências produzidas pelo sequenciamento, principalmente o de nova geração (Caetano, 2009).

1.5 Melhoramento Genético

Diversos híbridos interespecíficos artificiais do gênero *Passiflora* foram confirmados através de marcadores RAPD (Junqueira, 2008). Nesse gênero, os híbridos BRS Estrela do Cerrado e BRS Rubiflora, obtidos em programas de melhoramento, se tornaram uma alternativa para o mercado de plantas ornamentais (Faleiro et al., 2007a, Faleiro et. al. 2007b). O BRS Roseflora é um híbrido utilizado em paisagismo, que foi obtido através de cruzamento entre *P. coccinea* Aubl., de flores vermelhas, com *P. setacea* DC., de flores brancas, com posterior retrocruzamento com *P. setacea* (Junqueira, 2007).

A cultivar BRS Pérola do Cerrado é uma variedade resultante de policruzamentos de *P. setacea* de origens diferentes com o intuito de aumentar a produtividade, resistir às doenças e aumentar o tamanho dos frutos (EMBRAPA CERRADOS, 2013).

A BRS Sertão Forte é uma cultivar frutífera resultante do melhoramento genético de *P. cincinnata* com tolerância ao estresse hídrico e com níveis de resistência ao *fusarium* sp. semelhantes ao do maracujazeiro-azedo (Araújo et al., 2019).

O maracujazeiro doce (*P. alata*) também foi alvo de melhoramento, produzindo em 2017 a cultivar BRS Mel do Cerrado (EMBRAPA, 2017). Essa cultivar pode ser destinada ao mercado de frutas, por possuir um sabor doce, como também ao mercado ornamental por possuir uma cor vermelho arroxeadado, além de ter uma significativa resistência à virose e à bacteriose (EMBRAPA, 2017).

A BRS Céu do Cerrado é uma cultivar ornamental híbrida entre *P. incarnata* x *P. edulis* que possui flores azuladas com diâmetro de aproximadamente 7 cm e quando irrigadas possuem floração na maior parte do ano. Outra cultivar ornamental é a BRS Rósea Púrpura, um híbrido entre *P. incarnata* x (*P. quadrifaria* x *P. setacea*) que possui flores rosas com diâmetro de aproximadamente 8 cm e níveis de resistência às doenças maiores do que outras cultivares do mercado (Faleiro et al., 2014; EMBRAPA, 2016).

Em 2008 a Embrapa Cerrados lançou o híbrido BRS Sol do Cerrado, obtido por hibridação interespecífica de *P. edulis* para manter o interesse comercial e frutífero do maracujazeiro azedo, porém mais produtivo e resistente às doenças (Cohen, 2008). Outra cultivar fruto de programas de melhoramento através de retrocruzamentos entre *P. edulis* é a

BRS Rubi do Cerrado que possui à resistência às bacterioses e viroses, além de maior produtividade em relação às demais cultivares (Faleiro et al., 2014).

1.6 Conservação

Há diversas estratégias para manter a diversidade das espécies, como a conservação *in situ* e a conservação *ex situ*. Na primeira destas estratégias as espécies são preservadas em seu ambiente natural para que a população se adapte ao continuar o seu processo de evolução natural. Na segunda, são coletadas amostragens representativas de espécies nativas e enviadas para um banco de germoplasma onde será mantida a diversidade (Ribeiro et al., 2016). Na conservação *ex situ* as coleções podem ser de diversas modalidades, como a coleção ativa, coleção de base, coleção de trabalho, coleção nuclear, coleção *in vivo*, coleção genômica e criopreservação (Lopes et al., 2011).

Os marcadores moleculares possuem várias aplicações nos programas de conservação, contribuindo para medir o tamanho efetivo da população (Viegas, 2011), o fluxo gênico via pólen ou semente (Martins, 2005), além de contribuições das linhagens parentais (Gutiérrez-Guerrero, 2020)

A conservação de *Passiflora* é realizada principalmente por meio de programas de conservação *ex situ* em instituições de pesquisa como a Embrapa Mandioca e Fruticultura, Embrapa Cerrados e Embrapa Semiárido. Esse método se deve ao uso da conservação e manutenção das espécies para potencial uso no melhoramento genético, conservando os acessos de interesse, como os resistentes às doenças (Faleiro et al., 2020).

As espécies representativas dos locais que contém populações naturais do gênero *Passiflora* são cultivadas e, por meio dos marcadores moleculares, são estimadas e analisadas a diversidade genética, estrutura populacional, identidade, clones e sistemas de acasalamento (Ocampo et al.; 2017). Além disso, os genes podem ser mapeados, identificados e caracterizados (Cerqueira-Silva, 2014a; Faleiro 2007).

Em síntese, os programas de conservação da biodiversidade de plantas visam manter a riqueza dos recursos naturais frente às mudanças climáticas, processos evolutivos e alterações ambientais antropogênicas (Martins et al., 2017), devendo, portanto, serem entendidos como ações de longo prazo, essenciais para superarmos os desafios e mudanças, tanto ambientais quanto socioeconômicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e conservação das amostras de populações naturais

Amostras foliares jovens e saudáveis de 149 indivíduos de *Passiflora setacea* DC. foram coletadas a partir de expedições de coleta às populações naturais nos municípios de Caculé (CC), Caetité (CT), Candido Sales (CS), Divisa Alegre (DA), Encruzilhada (EM) e Vitória da Conquista (VC) conforme informado na tabela 1 e na figura 4.



Figura 4. Mapa os pontos de coleta de *P. setacea* em populações naturais de Vitória da Conquista (VC), Candido Sales (CS), Divisa Alegre (DA), Caculé (CC), Caetité (CT) e Encruzilhada (EN).

Tabela 1. Pontos de coleta das populações de *P. setacea* e suas respectivas coordenadas geográficas.

Código	Cidade	Quantidade	Coordenadas		Exsicata
			Latitude (S)	Longitude (W)	
CC	Caculé	28	14° 29' 00.4	42° 15' 39.8"	UESB-9168
CT	Caetité	22	14°06'14.5"	42°35'14.9"	UESB-9167
CS	Candido Sales	28	15° 26' 15.3"	41° 13' 22.1"	UESB-9164
DA	Divisa Alegre	28	15° 40' 47.2"	41° 19' 18.5"	UESB-9166
EN	Encruzilhada	13	15° 31' 40.9"	40° 59' 04.0"	UESB-9165
VC	Vitória da Conquista	30	14° 50' 58.3"	40° 50' 16.8"	UESB-9163

Após as amostras serem devidamente identificadas e acondicionadas em caixas térmicas de isopor com gelo, elas foram encaminhadas ao Laboratório de Genética Molecular Aplicada

(LGMA) da UESB (*campus* Itapetinga), onde as extrações de DNA foram realizadas seguindo o protocolo adaptado de Doyle e Doyle (1987).

Nessa etapa, o material foliar de cada indivíduo foi macerado em 1 mL de tampão de extração pré-aquecido a 65 °C (100 mM Tris-HCl em pH 8,0; 1,4 M NaCl; 20 mM EDTA; 2% (p/v) CTAB, 1% (p/v) PVP 40.000). O material foi homogeneizado e mantido em banho-maria a 65 °C por 30 min com inversão dos microtubos a cada 10 min. Após a retirada dos microtubos do banho-maria, acrescentou-se 1 mL de clorofórmio e álcool isoamílico (24:1) em cada tubo e homogeneizou-se por inversão. As amostras foram centrifugadas em microcentrífuga por 10 min (15000 rotações por minuto e 4 °C). O sobrenadante foi transferido para outro microtubo no qual foi adicionado 650 µL de clorofórmio álcool isoamílico (24:1). Na sequência, as amostras foram homogeneizadas e novamente centrifugadas.

O volume de 500 µL de sobrenadante foi transferido para novos tubos e acrescentou-se 600 µL de isopropanol gelado, invertendo-se os tubos, os quais foram mantidos por 20 minutos à -20 °C. O DNA precipitado foi novamente centrifugado. O sobrenadante foi descartado e, em seguida, adicionou-se 1 mL de etanol 70% como solução de lavagem. O material foi novamente centrifugado e todo o líquido descartado. O procedimento foi repetido com 1 mL de etanol a 95%, após lavagem, os *pellets* foram secos durante *overnight* à temperatura ambiente. Após a secagem o DNA foi ressuscitado em 60 µl de solução TE (1% p/v Tris-HCl 1 M 8,0 com 0,2% p/v de EDTA 0,5 M pH 8,0). O DNA obtido foi armazenado em freezer -20 °C.

A concentração e a qualidade das amostras de DNA foram estimadas por meio da técnica de eletroforese em gel de agarose 1% (m/v) por 1h a 90 V, e visualizadas em transiluminador UV (L-PIX EX) e fotodocumentado por meio de câmera digital Kodak®. Para estimar a concentração de DNA (ng/µL) foi adotado como padrão o marcador de peso molecular Lambda (DNA Lambda não digerido) (Invitrogen®), conforme descrito pelo fabricante). O teor de pureza e a quantidade de material genômico foram obtidos por meio da razão das absorvâncias A_{260}/A_{230} e A_{260}/A_{280} , respectivamente, e diluídos a 2%.

Junto às amostras das populações naturais, foram acrescentados cinco exemplares da espécie provenientes do banco ativo de germoplasma – BAG Flor da Paixão do Centro de Pesquisa Agropecuária do Cerrado – CPAC (CPAC MJ-12-04, CPAC MJ-12-06 e BRS Pérola do Cerrado) e quatro exemplares de três acessos do BAG da Embrapa Mandioca e Fruticultura – MFT (BRS PC, BGP434 e BGP 237) (Anexo 1).

Coleta e conservação das amostras de Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs)

Foram utilizadas amostras de DNA de nove acessos de *P. setacea* depositadas no banco de DNA genômico do LGMA provenientes dos Bancos Ativos de Germoplasma do Centro de Pesquisa Agropecuária do Cerrados (CPAC) - Embrapa Cerrados, em Brasília - DF e Embrapa Mandioca e Fruticultura (MFT), em Cruz das Almas (Anexo 1).

Ensaio de amplificação do DNA com uso de ISSR

A reação em cadeia de polimerase (PCR) foi realizada em termociclador Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems®). Foram utilizados 12 iniciadores ISSR (tabela 2), conforme descritos por Costa (2018). A reação com ISSR foi preparada com 4 µL de DNA a 2 ng, 1,7 µL de tampão para PCR 10X (20 mM Tris-HCl [pH 8,4] e 50 mM de KCl), 1,0 µL de MgCl₂, 1,0 µL de dNTP mix 2,5 mM, 0,11 de Taq DNA polimerase (LGC biotecnologia), 7,19 µL de água Milli-Q e 1,0 µL de iniciador, totalizando 16 µL de volume final. Para a reação de amplificação foi utilizado o programa de amplificação iniciado com desnaturação inicial a 94 °C por 5 min; seguido de 34 ciclos (94 °C por 50 s; 48 °C por 60 s; 72 °C por 60 s) e uma extensão final a 72 °C de 5 min.

Tabela 2. Descrição dos 12 iniciadores ISSR utilizados para caracterização de indivíduos coletados em populações naturais de *P. setacea* localizadas em Caetité, Caculé, Candido Sales, Divisa Alegre, Encruzilhada, Vitoria da Conquista e nove acessos coletados dos Bancos Ativos de Germoplasma.

Código	Sequência
DiGA3`T	5`- GAG AGA GAG AGA GAG AT- 3`
DiCA3`G	5`- CAC ACA CAC ACA CAC AG- 3`
DiCA3`RG	5`- CAC ACA CAC ACA CAC ARG- 3`
DiCA3`YG	5`- CAC ACA CAC ACA CAC AYG-3`
TriCAC3`YC	5`- CAC CAC CAC CAC CAC YC-3`
TriCAC5`CY	5`- CAC CAC CAC CAC CAC CY-3`
TriGTG3`YC	5`- GTG GTG GTG GTG GTG YC-3`
TriACG3`RC	5`- ACG ACG ACG ACG ACG RC-3`
TriCGA3`RC	5`- CGA CGA CGA CGA CGA RC-3`
TriGAC3`RC	5`- GAC GAC GAC GAC GAC RC-3`
TriGCA3`RC	5`- GCA GCA GCA GCA GCA RC-3`
TriGCC3`RC	5`- GCC GCC GCC GCC GCC RC-3`

I= A/T/G/C; D= A/G/T; E=C/G; R= A/G; Y= C/T

Alíquotas (6µL) dos produtos de amplificação coradas com Azul de bromofenol e GelRed® (Biotium) foram submetidas em sistema de eletroforese horizontal com gel de agarose a 2% (m/v), por 2 horas a 120V, e visualizadas em sistema de fotodocumentação L-PIX EX. Como padrão de marcas geradas foi utilizado o marcador de peso molecular *1KB plus DNA Ladder* (Invitrogen®).

Genotipagem molecular e estimativa da estrutura e diversidade genética

Os dados foram visualizados e analisados através da genotipagem nos géis e foram anotados no Excel® em matriz binária de presença (1) e ausência (0) de bandas. Obtida a matriz binária, prosseguiram-se com as análises genético-moleculares para calcular a média de marcadores por iniciador, a porcentagem de polimorfismo por iniciador, o quantitativo de marcas.

Com o auxílio do programa GenALEX v.6.5 (Smouse e Peakall, 2012) foram realizadas e estimadas as análises da variância molecular (AMOVA), distância e identidade de Nei (1978), Índice de Shannon (I), diversidade de gene de Nei (h), número de *loci* polimórficos (NLP), porcentagem de *loci* polimórficos (PLP), número de *loci* exclusivos (NLE) e análise de coordenadas principais (PCoA).

O agrupamento de unweighted neighbor joining (UNJ) foi gerado com a utilização do coeficiente de dissimilaridade de Jaccard através do programa DARwin Software Versão 6 (Perrier e Jacquemound, 2006), usando 1000 *bootstraps*

A estimativa de estrutura e composição de *pool* gênicos foram realizados utilizando o Structure (modelo de mistura, assumindo correlação e fluxo de alelos, sem definições *a priori* para origem dos genótipos). Foram avaliadas de uma a 10 possíveis populações e para cada estimativa realizada 10 repetições. Para cada repetição foi realizado um período de *burning* de 100000 e posteriormente um total de 100000 passos na cadeia de Markov (período de MCMC). A estimativa do número de *pools* gênicos que melhor representam a distribuição da diversidade foi realizada com uso da ferramenta *online* Structure Harvester (Earl e VonHoldt, 2012).

RESULTADOS

Considerando os 149 indivíduos de *P. setacea* coletados nas seis populações naturais e os nove acessos coletados nos bancos de germoplasma, as amplificações geraram um total de

186 marcas, todas polimórficas, com média de 15,5 marcas por iniciador ISSR. Os iniciadores DiCA3`RG, TriCAC3`YC e TriCAC5`CY geraram o maior número de marcas (19), enquanto o iniciador TriGCC3`RC gerou o menor número de marcas (11), conforme descrito na tabela 3.

Tabela 3. Polimorfismo obtido através de 12 iniciadores ISSR na caracterização de 149 indivíduos coletados em populações naturais de *P. setacea* localizadas em Caetité, Caculé, Candido Sales, Divisa Alegre, Encruzilhada, Vitoria da Conquista e nove acessos coletados dos Bancos Ativos de Germoplasma.

Iniciador	Total de marcadores
DiGA3`T	14
DiCA3`G	16
DiCA3`RG	19
DiCA3`YG	16
TriCAC3`YC	19
TriCAC5`CY	19
TriGTG3`YC	13
TriACG3`RC	12
TriCGA3`RC	16
TriGAC3`RC	18
TriGCA3`RC	13
TriGCC3`RC	11
Média	15,5
Total	186

Os resultados da análise de variância molecular (AMOVA) indicaram que a maior variação está presente dentro de populações (71%) do que entre populações (29%) (Tabela 4).

Tabela 4. Análise da variância molecular (AMOVA) para os 149 indivíduos de populações naturais *P. setacea* localizados em Caetité, Caculé, Candido Sales, Divisa Alegre, Encruzilhada, Vitoria da Conquista e nove acessos coletados de Bancos Ativos de Germoplasma. gl = grau de liberdade; sq = soma dos quadrados; MS = quadrado médio; cv = variância estimada.

Fonte da variação	gl	sq	MS	cv	%	P-valor
Entre populações	6	1283.282	213.880	8.719	29%	<0.001
Dentro de populações	151	3160.851	20.933	20.933	71%	<0.001
Total	157	4444.133		29.652	100%	

Em relação às populações naturais, VC e CS apresentaram, respectivamente, os maiores e menores valores baseados tanto no Índice de Diversidade Genética de Nei ($h = 0.279$ e $h = 0.182$) quanto no Índice de diversidade de Shannon ($I = 0.412$ e $I = 0.278$), enquanto os acessos dos bancos ativos de germoplasma apresentaram esses mesmos índices, respectivamente ($h = 0.156$ e $I = 0.232$), conforme a tabela 5.

O número de loci polimórficos entre as populações naturais variou de 97 (CT) a 138 (VC) e obteve valor de 88 nos BAGs, com média total de 111.86. O número de *loci* exclusivos (NLE) variou de 3 (CT, EN e BAGs) até 7 (DA), com média 4 *loci* exclusivos por grupo estudado. A porcentagem de *loci* polimórficos (PLP) variou de 52.15% (CT) a 74.19% (VC) nas populações naturais e obteve valor de 43.01% nos acessos, com média de 59.29%, como informado na tabela 5.

Tabela 5. Diversidade genética de seis populações naturais e de acessos de Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) de *P. Setacea* baseado nos dados ISSR.

	N	I	h	NLP	NLE	PLP
VC	30	0.412	0.279	138	5	74.19
CS	28	0.278	0.182	107	3	57.53
DA	28	0.338	0.224	125	7	67.2
CC	28	0.33	0.22	121	4	65.05
CT	22	0.28	0.188	97	3	52.15
EN	13	0.294	0.196	107	3	55.91
BAGs	9	0.232	0.156	88	3	43.01
Média	-	0.309	0.206	111.86	4	59.29

N = número de indivíduos; I = Índice de Shannon; h = diversidade genética de Nei (1972); NLP = número de *loci* polimórficos, NLE = número de *loci* exclusivos, PLP (%) = porcentagem de *loci* polimórficos. *Vitoria da Conquista (VC), Candido Sales (CS), Divisa Alegre (DA), Caculé (CC), Caetitê (CT), Encruzilhada (EN).

O maior valor de dissimilaridade genética (0.175), conforme a similaridade genética de Nei (1978), foram VC e CT. As populações naturais com maior dissimilaridade genética em relação aos bancos ativos de germoplasma foram CC e EN, ambas com 0.229. O menor valor de dissimilaridade (0.078) entre as populações naturais foi encontrado entre CC e CS, enquanto o menor valor de dissimilaridade com o banco ativo de germoplasma (0.159) foi encontrado na população de VC, conforme a tabela 6.

A maior similaridade genética de Nei (1978) nas populações naturais foi entre DA e CS, com valor de 0.921. A população natural mais similar aos bancos ativos de germoplasma foi VC, com valor de 0.853. A menor similaridade nas populações naturais (0.839) foi encontrada entre CT e VC, enquanto as populações naturais com menor similaridade genética de Nei (1978) em relação aos bancos ativos de germoplasma foram CC e EN, ambas com valor de 0.795, conforme a tabela 6.

Tabela 6. Distância e Identidade genética de Nei (1978) entre seis populações naturais e acessos de Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) de *Passiflora Setacea* baseado nos dados ISSR.

Distância	VC	CS	DA	CC	CT	EN	BAGs
Identidade							
VC		0.161	0.164	0.170	0.175	0.169	0.159
CS	0.852		0.082	0.078	0.137	0.141	0.192
DA	0.849	0.921		0.089	0.119	0.154	0.195
CC	0.844	0.925	0.915		0.117	0.148	0.229
CT	0.839	0.872	0.887	0.889		0.146	0.207
EN	0.844	0.869	0.857	0.862	0.864		0.229
BAGs	0.853	0.825	0.823	0.795	0.813	0.795	

*Vitoria da Conquista (VC), Candido Sales (CS), Divisa Alegre (DA), Caculé (CC), Caetitê (CT), Encruzilhada (EN).

A análise de coordenadas principais (PcoA) baseada nas distâncias genéticas de indivíduos das seis populações naturais estudadas e do banco de germoplasma representou espacialmente a diferenciação entre os indivíduos e acessos (Figura 5a), com eixos representando 9,92% e 20,79% da variação total. As populações naturais e os bancos de germoplasma podem ser visivelmente distinguidos na figura 5a. A coordenada 1 separou os indivíduos da população natural de VC das demais populações naturais, enquanto a coordenada 2 separou a maioria dos indivíduos das populações naturais de CS, DA e CC da maioria dos indivíduos das populações naturais de CT, EN e VC, bem como de todos os acessos do BAGs. No primeiro quadrante estão presentes todas as populações naturais e os bancos ativos de germoplasma. No segundo quadrante estão presentes as populações naturais de VC, CT e EN, bem como os acessos dos BAGs. No terceiro quadrante estão presentes as populações naturais de VC, CS, DA e CT. No quarto quadrante estão presentes as populações naturais de CS, DA e CC. A figura 5b mostra as populações agrupadas por população, com eixos representando entre 19,91% e 35,50% da variação total. As populações de DA, CS e CC aparecem no segundo quadrante, as populações de CT e EN aparecem no terceiro quadrante, e as populações de VC e os acessos do BAGs aparecem, respectivamente, no quarto e no primeiro quadrante. Na figura 5b, as cores vermelha e verde representam os pontos das populações de acordo a estruturação genética através da análise Bayesiana, com número ótimo igual a 2. Os dois grupos estruturais estão mais facilmente visíveis nas populações de VC, EN e nos acessos dos BAGs.

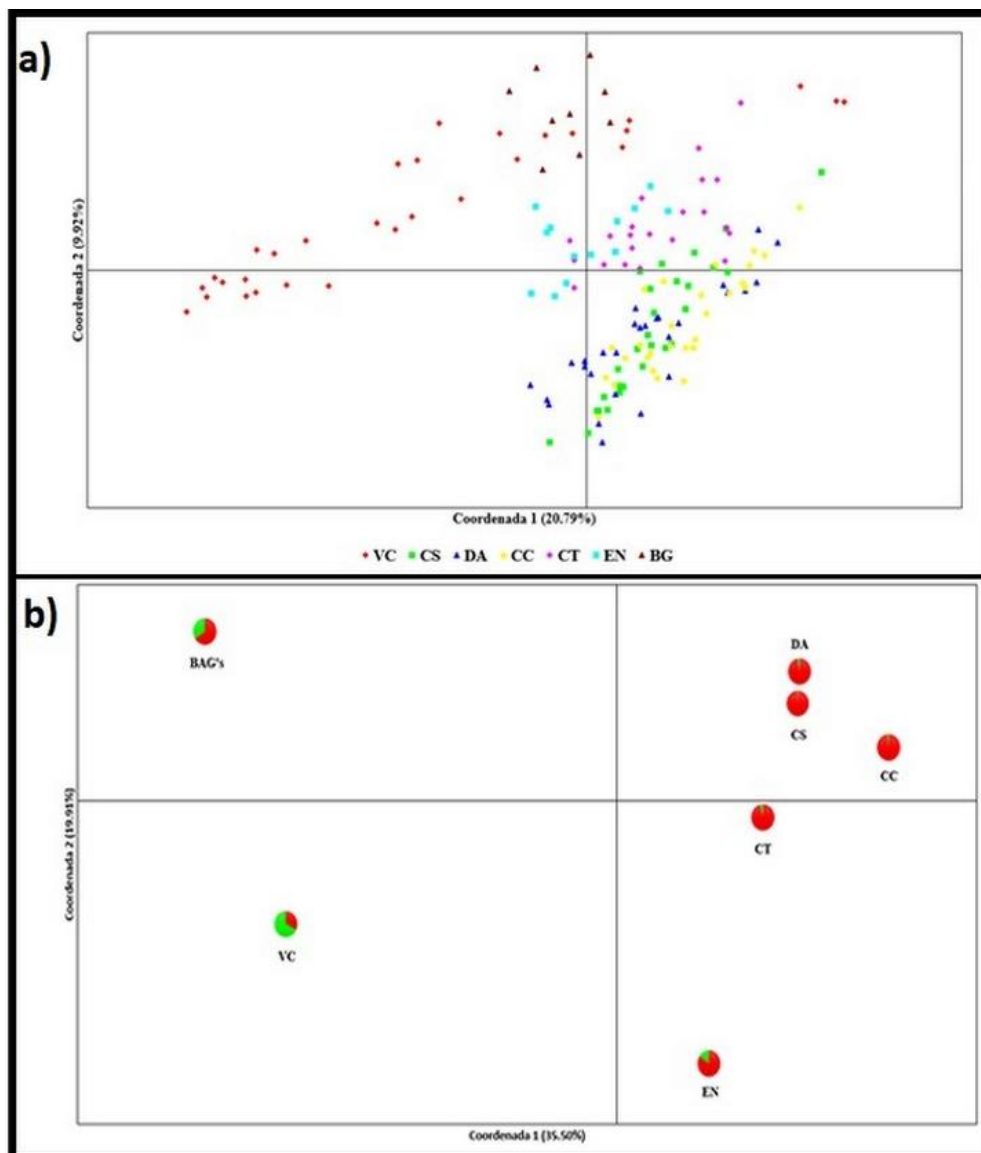
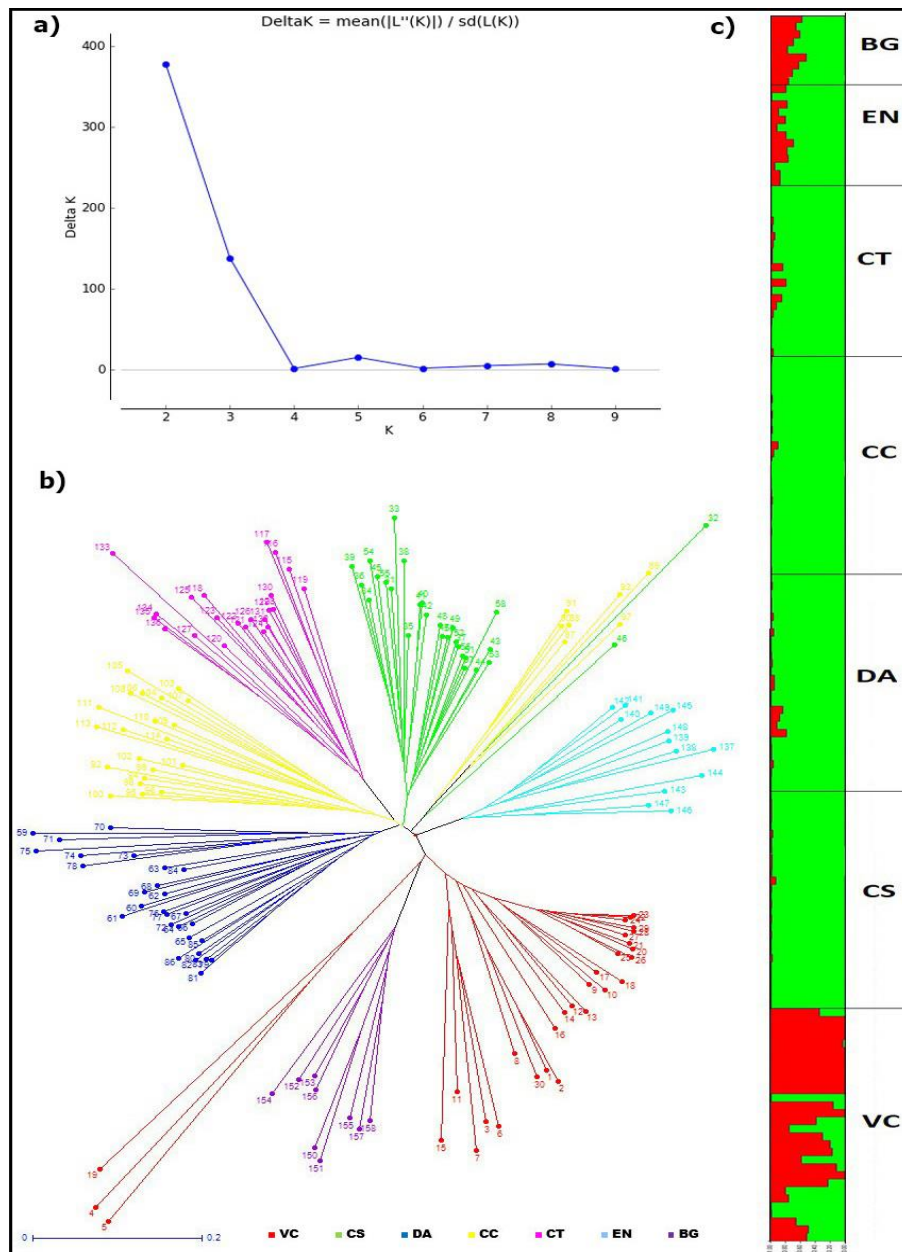


Figura 5: Análise de coordenadas principais (PCoA) do agrupamento de amostras individuais (a) e agrupadas (b) das populações naturais de *P. setacea* coletadas em seis populações naturais e de acessos de Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) baseado nos dados ISSR. *Vitória da Conquista (VC), Candido Sales (CS), Divisa Alegre (DA), Caculé (CC), Caetitê (CT), Encruzilhada (EN)

A análise da estrutura genética das seis populações naturais coletadas e dos acessos dos bancos ativos de germoplasma usando marcadores ISSR foi demonstrada pelo histograma (Figura 6c) produzido pelo Structure utilizando a maior probabilidade encontrada ($K = 2$) estimada pelo Structure Harvester (Figura 6a). Os resultados foram obtidos sem informações prévias sobre a origem geográfica das amostras coletadas. O maior nível de mistura foi encontrado em VC, enquanto o menor nível de mistura foi encontrado em CS e CC.

A árvore do agrupamento de “*Unweighted Neighbor Joining*” (UNJ), gerada pela

coeficiente de dissimilaridade de Jaccard através do software DARwin 6, mostrou a presença de dois principais agrupamentos (Figura 6b). O agrupamento superior é subdividido em seis subagrupamentos enquanto o agrupamento inferior é subdividido em três subagrupamentos. As populações naturais e os acessos podem ser visivelmente distinguidos em subagrupamentos diferentes. A população natural de VC e os acessos dos BAGs estão presentes no agrupamento inferior enquanto as outras populações naturais podem ser encontradas no agrupamento superior.



Vitoria da Conquista (VC), Candido Sales (CS), Divisa Alegre (DA), Caculé (CC), Caetiú (CT), Encruzilhada (EN)

Figura 6. Determinação do número ótimo de K (grupos genéticos) pelo método Bayesiano em amostras individuais de populações naturais coletadas em seis populações naturais e de acessos

de Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) de *P. Setacea* baseado nos dados ISSR, agrupamento de “*unweighted neighbor joining*” (UNJ) gerado com a utilização do coeficiente de dissimilaridade de Jaccard no programa DARwin 6 (b). Inferência Bayesiana da estrutura genética das seis populações de *P. setacea* e de acessos de Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs), conforme a divisão em dois grupos genéticos (K). O ponto de intersecção entre o maior valor no eixo Y com o eixo X indica o número ótimo de K (a).

DISCUSSÃO

A diversidade genética em espécies de *Passiflora setacea* vem sendo estudada tanto em populações naturais quanto em acesso de bancos ativos de germoplasma, contudo devido à ampla distribuição geográfica e as características de fecundação e polinização, mais dados devem ser obtidos e avaliados visto que a espécie vem sendo objeto de estudos em programas de conservação e melhoramento (Cerqueira-Silva, 2014).

Estudos de diversidade genética com marcadores moleculares em espécies silvestres de *P. setacea* já foram realizados por Pereira et al. (2015), com o uso de ISSR, e por Barbosa (2016), com o uso de SSR. O elevado número de marcas por iniciador (15.5) e o alto percentual de marcas polimórficas (100%) dos iniciadores ISSR utilizados nesses estudos demonstram que os marcadores utilizados foram eficientes e que há variabilidade genética entre os indivíduos de *P. setacea* coletados em populações naturais de Vitória da Conquista (VC), Candido Sales (CS), Divisa Alegre (DA), Caculé (CC), Caetité (CT), Encruzilhada (EN) e em acessos de Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs).

Para além dos resultados já observados entre maracujazeiros, é importante considerar que resultados de análises de polimorfismos com marcadores ISSR podem variar conforme a espécie analisada. Níveis de polimorfismo em 100% também foram encontrados em populações naturais de uma espécie vegetal alógama autoincompatível, como a mangabeira (*Hancornia speciosa*), utilizando 15 iniciadores ISSR que geraram 172 fragmentos (Soares, 2019). No estudo realizado por Pereira (2015) com marcadores ISSR em populações naturais de *P. setacea*, foram encontrados níveis de polimorfismo de 99%, com média de 9.9 *loci* por iniciador. Maciel et al. (2019) avaliando *P. alata* CURTIS em localidades do estado do Espírito Santos, encontrou nível de polimorfismo médio de 94% com o uso de marcadores ISSR.

Neste estudo, a maior diversidade dentro de populações (71%) do que entre populações (21%) corrobora com os estudos realizados com a estrutura genética populacional

de espécies de plantas com sistema reprodutivo alógamo, pois elas possuem maior diversidade intrapopulacional do que as espécies de plantas autofecundadas (Loveless e Hamrick, 1984; Hamrick e Godt, 1996; Jimenez, 2002; Cavallari, 2004; Blambert et al. 2016).

Esses valores de diversidade dentro e entre populações a partir de marcadores ISSR foram distintos dos encontrados em *P. setacea* por Pereira et al. (2015) e Barbosa (2016), que encontraram, respectivamente, variação de 57% e 55% dentro de populações e variação de 43% e 45% entre populações. Essa diferença pode ser causada pelo fato de que as populações em comum com os estudos de Pereira et al. (2015) são as de Vitória da Conquista, Candido Sales e Caculé, enquanto as populações em comum com os estudos de Barbosa (2016) são as de Vitória da Conquista e Caetité.

Segundo Sun (1997), a baixa diversidade entre populações também pode ser causada pela colonização com poucos indivíduos ou de indivíduos semelhantes. Estudos com o gênero *Passiflora* também encontraram maior diversidade dentro de populações do que entre populações, como ocorreu com *P. alata* (Loss et al., 2006) e com *P. setacea* (Teixeira, 2017). O equilíbrio de fatores como mutação, seleção, deriva e fluxo gênico molda a diversidade genética (Loveless e Hamrick, 1984) e ele é mantido devido ao sistema de reprodução (Hamrick e Godt, 1996) e por fatores bióticos e abióticos (Bohonak, 1999).

Pereira et al. (2015) e Barbosa (2016), estudando populações naturais de *P. setacea*, também encontraram valores menores de variação entre populações (43% e 45%) do que dentro de populações (57% e 55%), respectivamente. Isso pode indicar que as populações analisadas neste estudo podem ter sido colonizadas com menos indivíduos do que as populações desses outros estudos com *P. setacea*.

O índice de diversidade genética de Nei ($h = 0.206$) foi próximo ao valor de ($h = 0.21$) encontrado por Pereira et al. (2015). O índice de diversidade de Shannon ($I = 0.309$) de *P. setacea* foi menor do que o encontrado por Barbosa, 2016 ($I = 0.493$) e Pereira et al. (2015) ($I = 0.51$). A queda na diversidade pode ter sido causada pelo avanço do extrativismo sem estratégias de conservação das regiões onde se encontram as populações naturais.

Na população de Candido Sales os menores valores de Nei (1978) e de Shannon ($h = 0.18$ e $I = 0.278$), respectivamente, podem ser explicados devido às amostras coletadas serem provenientes de áreas localizadas nas bordas da rodovia BR-116, isto é, áreas antropomizadas com significativa circulação de veículos motores de grande porte. Os valores de diversidade observados por Pereira et al. (2015) em Candido Sales ($h = 0.18$ e $I = 0.27$) também foram semelhante à este estudo.

O percentual de *loci* polimórficos médio (59.29%) nas amostras corrobora com os estudos de Pereira et al. (2015) em *P. setacea*, que utilizou marcadores ISSR e encontrou resultado porcentagem de *loci* polimórficos médio igual a 59%. Outros estudos, como o de Barbosa (2016), utilizando marcadores SSR, o percentual médio de *loci* polimórficos encontrado foi de 66,67.

A população natural que apresentou maior número de *loci* exclusivos foi a de DA (7), seguida de VC (5). Esse resultado sugere que essas populações não enfrentaram gargalos tão recentes quanto as outras populações estudadas, que podem ter sido estabilizadas após enfrentarem mais recentemente as pressões ambientais ou um evento fundador (Stathi et al., 2020).

A maior distância genética (0.175) foi encontrada entre as populações naturais de Vitória da Conquista e Caetité. A dissimilaridade encontrada entre as duas populações naturais pode ser explicada pelas diferentes características ambientais, visto que as duas cidades apresentam características ambientais diferentes, a exemplo dos índices pluviométricos (Bahia, 2003).

A partir da análise de coordenadas principais (PCoA) foi possível demonstrar os diferentes agrupamentos populacionais (Figura 5). Ela revelou que os indivíduos das populações naturais estão predominantemente mais distantes dos nove acessos dos BAGs, o que pode indicar diversidade genética e novos perfis genéticos nas populações naturais. Esse resultado pode estar relacionado com a adaptabilidade das populações, uma vez que elas sofrem mais pressões ambientais do que os acessos dos bancos ativos de germoplasma que são cultivados com vistas a manter a conservação do recurso genético.

Através da estimativa de Delta K (Figura 6a) foi observado que as populações de *P. setacea* possuem apenas dois *pools* gênicos (Figura 6c), sendo assim é possível inferir que a estrutura genética mais provável separa todos os genótipos em dois grupos, corroborando com o estudos de Barbosa (2016) que também encontrou dois *pools* gênicos, mas com marcadores SSR, como mais prováveis em populações naturais de *P. setacea* em alguns municípios da Bahia, inclusive no que tange que a estrutura da população de Vitória da Conquista é predominantemente de um *pool* gênico distinto da população natural de Caetité. Além disso, o histograma da estrutura genética considerando $K = 2$ confirma a existência de indivíduos que compartilham relação com ambos os grupos (mistura), bem como indivíduos isolados dentro de cada um dos grupos.

O agrupamento de “*Unweighted Neighbor Joining*” (UNJ) usando o coeficiente de

dissimilaridade de Jaccard (Figura 6b) corrobora com o número de grupos ($K = 2$) (Figura 6a) e com a estrutura genética demonstrada (6c) pelo método Bayesiano.

A variabilidade genética na *P. setacea* pode ser influenciada pelas características de polinização. Segundo Rangel Junior (2018) as flores de *P. setacea* são abertas durante a noite e possuem o seu fechamento próximo das 6 horas da manhã. Esse hábito noturno da espécie, bem como a presença de flores brancas, posição unidirecional das anteras do androceu e a liberação de fortes odores noturnos facilitam a polinização predominantemente por morcegos, o que a caracteriza como uma planta com flores quirópteras (Rocha et al., 2015). Além disso, a polinização da espécie também pode ocorrer através de insetos e mariposas (Teixeira, 2017). Esse sistema de polinização também pode ser responsável pelo fluxo gênico dentro de uma população (Handel, 1983).

Falcão et al. (2005) sugere que o planalto de Vitória da Conquista apresenta uma alta diversidade de morcegos distribuídos em pequenas populações naturais dentro de fragmentos, enquanto os resultados encontrados por Soares et al. (2018) encontraram uma quantidade menor de morcegos do que as observadas em outras regiões da Caatinga.

Os resultados encontrados sobre a estrutura genética e variabilidade da espécie em populações naturais e bancos ativos de germoplasma são fundamentais para a conservação, produção e pré-melhoramento de um genótipo da espécie. A identificação de genótipos mais divergentes ou mais semelhantes em regiões naturais conservadas, bem como em regiões mais antropizadas com características climáticas e ambientais distintas permite selecionar genótipos mais adequados ao interesse da pesquisa. Além disso, a depender do objetivo da pesquisa, podem ser selecionados tanto genótipos mais divergentes quanto genótipos mais semelhantes. Contudo, as informações geradas com a presente pesquisa permitem inferir a existência de possíveis processos evolutivos em andamento com a espécie (Linhart, 2000).

CONCLUSÃO

As seis populações naturais e os nove acessos dos bancos ativos de germoplasma apresentaram diversidade genética e estruturação populacional. A maior parte da diversidade está presente dentro de populações. Além disso, houve dissimilaridade genética entre os grupos estudados. Essa diversidade encontrada pode estar tanto associada às particularidades de cada uma das regiões onde foram coletadas as amostras de *P. setacea* quanto pelas características intrínsecas da espécie. As populações naturais de Caculé e Encruzilhada apresentaram maior

divergência genética dos acessos dos Bancos de Germoplasma, portanto acessos dessas duas populações naturais podem agregar maior valor a riqueza de diversidade dos bancos ativos de germoplasma.

REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

ABREU, PP.; SOUZA, MM.; SANTOS, EA.; PIRES, MV.; PIRES, MM.; ALMEIDA, AAF. 2009. Passion flower hybrids and their use in the ornamental plant market: perspectives for sustainable development with emphasis on Brazil. *Euphytica*, v. 166, n. 3, p. 307-315.

AGUIAR, MS. 2012. Marcadores Moleculares como ferramenta no Melhoramento Genético de Plantas. *Sci. Agrar. Paran.* 12: 1-5.

ALMEIDA, LES. 2018. Caracterização citogenética e molecular de acessos de maracujá da caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast.). 59 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.

ALTENDORF, S. 2018. Minor tropical fruits. Food Outlook. FAO. http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM_MARKETS_MONITORING/Tropical_Fruits/Documents/Minor_Tropical_Fruits_FoodOutlook_1_2018.pdf, p. 67-75.

ARAÚJO, CAT.; FALEIRO, FG.; SEMPREBOM, MS.; KRAUSE, W. 2012. Sobrevivência de plantas enxertadas de maracujazeiro em área com histórico de doenças causadas por fusarium spp. no Mato Grosso. In: Embrapa Cerrados-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 22., 2012, Bento Gonçalves. Anais... Bento Gonçalves: SBF, 2012.

ARAÚJO, FP.; MELO, NF.; AIDAR, SDT.; YURI, J.; FALEIRO, F. 2019. Cultivo de *Passiflora cincinnata* Mast. cv. BRS Sertão Forte. Embrapa Semiárido-Circular Técnica (INFOTECA-E).

ARAÚJO, FP.; MELO, NF.; FALEIRO, FG.; JUNQUEIRA, NTV. 2016. Maracujás-azedos espécies comerciais e silvestres. Embrapa Semiárido-Capítulo em livro científico (ALICE).

ARAÚJO, JLP.; ARAÚJO, EP.; CORREIA, RC. 2005. Análise do custo de produção e rentabilidade com maracujá explorado na região do Submédio São Francisco. Embrapa Semiárido-Comunicado Técnico (INFOTECA-E).

ATAÍDE, EM.; OLIVEIRA, JCD.; RUGGIERO, C. 2012. Florescimento e frutificação do maracujazeiro silvestre *Passiflora setacea* DC cultivado em Jaboticabal, SP. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34(2), 377-381.

BAHIA. 2003. Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais. Mapa de pluviometria, Estado da Bahia. Altura: 1349 pixels. Largura: 613 pixels. Formato PDF.

BARBOSA, NCS. 2016. Anatomia foliar e diversidade genética em *Passiflora* spp.(Passifloraceae L.) resistentes ao Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV). Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Genética e Biodiversidade da Universidade Federal da Bahia. UFBA. Salvador.

BERNACCI, LC.; CERVI, AC.; MILWARD-DE-AZEVEDO, MA.; NUNES, TS.; IMIG, DC.; MEZZONATO, AC. 2013. Passifloraceae in lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

BERNACCI, LC.; NUNES, TS.; MEZZONATO, AC.; MILWARD-DE-AZEVEDO, MA.; DC. IMIG; CERVI, AC. (IN MEMORIAM). 2020. *Passiflora in* Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB12506>>. Acesso em: 20 fev. 2022.

BOHONAK, AJ. 1999. Dispersal, gene flow, and population structure. *The Quarterly review of biology*, 74(1), 21-45.

BOLNICK, D.; AMARASEKARE, P.; ARAÚJO, MS.; BURGER, R.; LEVINE, JM.; NOVAK, M.; RUDOLF, VHW.; SCHREIBER, SJ.; URBAN, MC.; VASSEUR, DA. 2011. Why intraspecific trait variation matters in community ecology. *Trends in ecology & evolution*, v. 26, n. 4, p. 183-192.

BONNETT, DG.; REBETZKE, GJ.; & SPIELMEYER, W. 2005. Strategies for efficient implementation of molecular markers in wheat breeding. *Molecular Breeding*, 15(1), 75-85.

BRAGA, MF.; JUNQUEIRA, NTV.; FALEIRO, FG.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, KP. 2005. Maracujá-doce: melhoramento genético e germoplasma. Maracujá: germoplasma e melhoramento genético.

CAETANO, AR. 2009. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(8), 64-71.

CASTELLEN, MDS. 2005. Avaliação do estado de conservação de populações naturais de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) por meio de análises de estrutura genética e autocorrelação espacial. São Paulo: Universidade de São Paulo. Tese de doutorado em Ecologia de Agroecossistemas (Ecologia e Agroecossistemas).

CERQUEIRA-SILVA CBM.; CARDOSO-SILVA CB.; NONATO JVA.; CORRÊA RX.; OLIVEIRA AC. 2009. Genetic dissimilarity of yellow and sleep passion fruit accessions based on the fruits physical-chemical characteristics. *Crop breed appl biotechnol.*, 9: 210- 218.

CERQUEIRA-SILVA CBM.; SANTOS ESL.; SOUZA AM.; MORI GM.; OLIVEIRA EJ.; CORRÊA RX.; SOUZA AP. 2012a. Development and characterization of microsatellite markers for the wild South American *Passiflora cincinnata* (Passifloraceae). *American Journal of Botany* 99: e170-e172.

CERQUEIRA-SILVA CBM.; SANTOS ESL.; VIEIRA JGP.; MORI GM.; JESUS ON.; CORRÊA RX.; SOUZA AP. 2014c. New microsatellite markers for wild and commercial species of *Passiflora* (Passifloraceae) and cross-amplification. *Applications in Plant Sciences* 2:1-5.

CERQUEIRA-SILVA, CBM.; CONCEIÇÃO, LDHCS.; CARDOSO-SILVA, CB.; PEREIRA, AS.; 2010. Genetic diversity of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) based on RAPD markers. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 10: 154-159.

CERQUEIRA-SILVA, CBM.; CONCEIÇÃO, LDHCS.; SANTOS, ESL.; CARDOSO-SILVA, CB.; PEREIRA, AS.; OLIVEIRA, AC.; CORRÊA, RX. 2010. Genetic variability in wild genotypes of *Passiflora cincinnata* based on RAPD markers. *Genetics and molecular research*, 9(4), 2421-2428. <https://doi.org/10.4238/vol9-4gmr981>

CERQUEIRA-SILVA, CBM.; CONCEIÇÃO, LDHCS.; SOUZA, AP.; CORRÊA, RX. 2014. A history of passion fruit woodiness disease with emphasis on the current situation in Brazil and prospects for Brazilian passion fruit cultivation. *European Journal of Plant Pathology*, v. 139, n. 2, p. 261-270.

CERQUEIRA-SILVA, CBM.; FALEIRO, FG.; JESUS, ON.; SANTOS, ESL. 2018. Passion Fruit (*Passiflora* spp.) Breeding. In: *Advances in Plant Breeding Strategies: Fruits*. Springer, Cham, p. 929-951.

CERQUEIRA-SILVA, CBM.; FALEIRO, FG.; NUNES, O.; SANTOS, ESL.; SOUZA, AP. 2015. The Genetic Diversity, Conservation, and Use of Passion Fruit (*Passiflora* spp.). *The Genetic Diversity, Conservation, and Use of Passion Fruit (Passiflora spp.)*. 8 ed. Switzerland: Springer International Publishing, 2015, v. 8, p. 215-231.

CERQUEIRA-SILVA, CBM.; SANTOS, ESL.; CONCEIÇÃO, LDHCS.; CARDOSO-SILVA, CB.; PEREIRA, AS.; OLIVEIRA, AC.; CORRÊA, RX. 2012. Genetic variation in a wild population of the 'sleep' passion fruit (*Passiflora setacea*) based on molecular markers. *Genetics and molecular research*, 11(1), 731-738.

CERQUEIRA-SILVA, CBM., SANTOS, ES., JESUS, ON., VIEIRA, JG., MORI, GM., CORRÊA, RX.; SOUZA, A. P. 2014. Molecular genetic variability of commercial and wild accessions of passion fruit (*Passiflora* spp.) targeting ex situ conservation and breeding. *International journal of molecular sciences*, 15(12), 22933-22959.

CERVI, AC. 1997. Estudo do gênero *Passiflora* L., Subgênero *Passiflora*. Departamento de Botânica. Universidade Federal do Paraná. Passifloraceae do Brasil. Fontqueria XLV, Madrid. P. 4-6.

COHEN, KDO. 2008. Compostos funcionais na polpa dos frutos do híbrido de maracujazeiro azedo BRS Sol do Cerrado.

COSTA, AM.; SPEHAR, CR.; SERENO, JRB. 2012. Conservação de recursos genéticos no Brasil. Embrapa Cerrados-Livro científico (ALICE).

COSTA, NDS. 2018. Estudo genético molecular em espécies do gênero *Passiflora* a partir de marcadores moleculares. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Itapetinga-BA. 2018. Disponível em: <http://www2.uesb.br/ppg/ppgca/wp-content/uploads/2019/06/DISSERTA%C3%87%C3%83O-N%C3%A1tilla-Deyse-Souza-Costa.pdf>

CROCHEMORE, ML.; MOLINARI, HB.; & STENZEL, NMC. 2003. Caracterização agromorfológica do maracujazeiro (*Passiflora spp.*). Revista Brasileira de Fruticultura, 25(1), 5-10.

CUNHA, MAP. DA; BARBOSA, LV.; JUNQUEIRA, NTV. 2002. Aspectos Botânicos. In: Lima, A.A. (Ed.) Maracujá produção: aspectos técnicos. Embrapa mandioca e Fruticultura Cruz das Almas. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, p.15-24.

DICKS, LV.; BAUDE, M.; ROBERTS, SPM.; PHILLIPS, J.; GREEN, M.; CARVELL, C. 2015. How much flower-rich habitat is enough for wild pollinators? Answering a key policy question with incomplete knowledge. Ecological Entomology, v. 40, p. 22-35.

DINIZ-FILHO, JAF.; RANGER, TF.; SANTOS, T.; BINI, LM. 2012. Exploring patterns of interspecific variation in quantitative traits using sequential phylogenetic eigenvector regressions. Evolution, v. 66, n. 4, p. 1079-1090.

DOYLE, JJ.; DOYLE, JL. 1987. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, Amsterdam, n. 12, p. 13-15.

EARL, DA.; VONHOLDT, BM. 2012. Structure harvester: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conservation Genetics Resources, v. 4, p. 359–361.

EMBRAPA CERRADOS. 2013. Lançamento da cultivar de maracujazeiro silvestre BRS Pérola do Cerrado. Disponível em: <http://www.cpac.embrapa.br/lancamentoperola/>. Acesso: 23 jan 2021.

EMBRAPA. 2016. Maracujá BRS Céu do Cerrado - BRS CC. Embrapa Cerrados. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/6055/maracuja-brs-ceu-do-cerrado---brs-cc>. Acesso: 23 jan 2021.

EMBRAPA. 2016. Maracujá Ornamental BRS Rosea Púrpura - BRS RP. Embrapa Cerrados. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/6056/maracuja-ornamental-brs-rosea-purpura---brs-rp>. Acesso: 23 jan 2021.

EMBRAPA. 2017. Lançamento da cultivar de maracujazeiro doce BRS Mel do Cerrado. Disponível em: <http://www.cpac.embrapa.br/lancamentomeldocerrado>. Acesso em: 23 jan. 2021.

EMBRAPA. 2022. Alelo: gestor integrado de recursos genéticos. Disponível em: <<http://alelobag.cenargen.embrapa.br/>>. Acesso em: 08 fev 2022.

ESPINOZA, TEB.; JØRGENSEN, PM.; MACDOUGAL, JM. 2018. A Taxonomic Revision of *Passiflora* sect. *Xerogona* (Passifloraceae) Using Principal Component Analysis1. Annals of the Missouri Botanical Garden, 103(2), 258-313.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Molecular ecology, 14(8), 2611-2620.

FAJARDO, D.; ANGEL, F.; GRUM, M.; TOHME, J.; LOBO, M.; ROCA, WM.; SANCHEZ, I. 1998. Genetic variation analysis of the genus *Passiflora* L. using RAPD markers. *Euphytica*, v. 101, n. 3, p. 341-347.

FALCÃO, FC.; SOARES-SANTOS, B.; DRUMMOND, S. 2005. Espécies de morcegos do Planalto da Conquista, Bahia, Brasil. *Chiroptera Neotropical*, 11(1-2), 220-223.

FALEIRO, FG.; FONSECA, KG.; JUNQUEIRA, N.; VIANA, M.; DUTRA, P. 2014. Obtenção e validação de descritores das cultivares de maracujazeiro silvestre BRS Pérola do Cerrado, BRS Céu do Cerrado e BRS Rosea Púrpura. In Embrapa Cerrados-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 23., 2014, Cuiabá. Anais. Cuiabá: SBF, 2014.

FALEIRO FG.; JUNQUEIRA NTV.; BRAGA MF.; PEIXOTO JR. 2011. PRÉ-MELHORAMENTO DO MARACUJÁ. IN: LOPES MA, FÁVERO AP, FERREIRA MAJF, FALEIRO FG, FOLLE SM, GUIMARÃES EP (ED.). Pré-melhoramento de plantas. Estado da arte e experiências de sucesso. Embrapa Informações Tecnológicas, Brasília, DF., Cap. 14, p.549-570.

FALEIRO, FG.; JUNQUEIRA, NTV.; OLIVEIRA, EJ.; MACHADO, CDF.; PEIXOTO, JR.; COSTA, AM.; JUNQUEIRA, KP. 2014. Caracterização de germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro assistidos por marcadores moleculares-fase 2: resultados de pesquisa 2008-2012. Embrapa Cerrados-Documents (INFOTECA-E).

FALEIRO, FG. 2007b. Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. Planaltina: Embrapa Cerrados.

FALEIRO, FG.; AMABILE, RF.; SILVA, CBMC. 2018. Marcadores Moleculares Aplicados ao Melhoramento Genético de Plantas. In: AMABILE, RF.; VILELA, MS.; PEIXOTO, JR. (Org.). MELHORAMENTO DE PLANTAS variabilidade genética, ferramentas e mercado. 1ed. Brasília: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2018, v. 1, p. 53-76.

FALEIRO, FG.; JUNQUEIRA, NTV.; BRAGA, MF. 2006. Maracujá: demandas para a pesquisa. Embrapa Cerrados-Livro científico (ALICE).

FALEIRO, FG.; JUNQUEIRA, NTV.; BRAGA, MF.; COSTA, AM. 2012. Conservação e caracterização de espécies silvestres de maracujazeiro (*Passiflora* spp.) e utilização potencial no melhoramento genético, como porta-enxertos, alimentos funcionais, plantas ornamentais e medicinais-resultados de pesquisa. Embrapa Cerrados-Documents (INFOTECA-E).

FALEIRO, FG.; JUNQUEIRA, NTV.; JUNGHANS, TG.; JESUS, OND.; MIRANDA, D.; OTONI, WC. 2019. Avanços na propagação do maracujazeiro (*Passiflora* spp.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 41(2).

FALEIRO, FG.; JUNQUEIRA, NTV.; JUNQUEIRA, KP.; BRAGA, MF.; BORGES, RF.; PEIXOTO, JR.; ANDRADE, GA.; SANTOS, EC.; SILVA, DGP. 2007. BRS Estrela do Cerrado: híbrido de *Passiflora* para uso como planta ornamental (2007). Embrapa Cerrados-Folder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E).

FALEIRO, FG.; OLIVEIRA, JS.; JUNQUEIRA, NTV.; JESUS, ON. 2021. Caracterização e uso de recursos genéticos de passiflora no brasil. *Avances de la horticultura y la mejora en la calidad de vida*. Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas, Bogotá. 131. DOI: <https://doi.org/10.17584/viihorticultura>

FALEIRO, FG.; OLIVEIRA, JS.; WALTER, BMT.; JUNQUEIRA, NTV. 2020. O Gênero *Passiflora*: diversidade, conservação e uso. Embrapa Cerrados.

FATTORINI, R.; GLOVER, BJ. 2020. Molecular mechanisms of pollination biology. *Annual review of plant biology*, v. 71, p. 487-515.

FERREIRA, ME.; & GRATTAPAGLIA, D. 1995. Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética. Brasília: Embrapa-Cenargen.

FOLL, M.; GAGGIOTTI, O. 2008. A genome-scan method to identify selected loci appropriate for both dominant and codominant markers: a Bayesian perspective. *Genetics*, v. 180, n. 2, p. 977-993.

FONSECA, LR. 2013. Desenvolvimento de solução oral a base de *Passiflora incarnata*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica. Instituto de Tecnologia em Fármacos – FIOCRUZ. Rio de Janeiro.

GIULIETTI, AM.; HARLEY, RM.; QUEIROZ, LP.; WANDERLEY, MGL.; VAN DEN BERG, C. 2005. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. *Megadiversidade* 1(1):52–61.

GIULIETTI, AM.; QUEIROZ, LP.; SILVA, TRS.; FRANÇA, F.; GUEDES, ML.; AMORIM, AM. 2006. Flora da Bahia. *Sitientibus*, ser. Ci. Biol. 6(3):169-173.

GRIFFITHS, AJF.; DOEBLEY, J.; PEICHEL, C.; WASSARMAN, DA. 2022. Introdução À Genética. 12ª Edição. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan LTDA.

GUIMARÃES, DP.; REIS, R.; LANDAU, EC. 2010. Índices pluviométricos em Minas Gerais. Embrapa Milho e Sorgo. *Boletim de pesquisa e desenvolvimento*, 30.

GUTIÉRREZ-GUERRERO, YT.; CASTELLANOS-MORALES, G.; EGUIARTE, LE. 2020. Combining Mitochondrial and Nuclear Data for Pedigree Reconstruction in Absence of Genealogical Information: Analysis of a Captive Population of the Endemic and Endangered Mexican Prairie Dog. In *Conservation Genetics in Mammals* (pp. 351-378). Springer, Cham.

HAJIBABAEI, M.; SINGER, GAC.; HEBERT, PDN.; HICKEY, DA. 2007. DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *TRENDS in Genetics*, v. 23, n. 4, p. 167-172.

HAMRICK, JL.; GODT, MW. 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 351(1345), 1291-1298.

HANDEL, SN. 1983. Pollination ecology, plant population structure, and gene flow. *Pollination biology*, 163, 211.

HARTL, DL. 2020. A primer of population genetics and genomics. Fourth Edition. Oxford University Press. DOI: 10.1093/oso/9780198862291.003.0004

IBGE. 2019. Biomas e Sistema costeiro-marinho do Brasil: compatível com a escala 1: 250 000. Coordenação de Recursos Naturais e Estudos Ambientais. IBGE. Rio de Janeiro: Consultado em 07/03/2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/geociencias/cartas-e-mapas/informacoes-ambientais/15842-biomas.html?=&t=downloads>

IBGE. 2021. Produção Agrícola Municipal, 2020. Consultado em 02/10/2021. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457>

JUNQUEIRA, K.; FALEIRO, FG.; JUNQUEIRA, NTV.; BELLON, G.; RAMOS, JD.; BRAGA, MF.; SOUZA, LS. 2008. Confirmação de híbridos interespecíficos artificiais no gênero *Passiflora* por meio de marcadores RAPD. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 30, n. 1, p. 191-196.

JUNQUEIRA, NTV.; BRAGA, MF.; FALEIRO, FG.; PEIXOTO, JR.; BERNACCI, LC. 2005. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In F. G. FALEIRO, NTV. JUNQUEIRA, & MF. BRAGA (EDS.), *Maracujá: Germoplasma e melhoramento genético* (pp. 5478). Planaltina: Embrapa cerrados.

KANAZIN, V.; MAREK, LF.; SHOEMAKER, RC. 1996. Resistance genes analogs are conserved and clustered in soybean. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, v.93, p.11746-11750.

KILIAN, A.; WENZL, P.; HUTTNER, E.; CARLING, J.; XIA, L.; BLOIS, H.; ...& ASCHENBRENNER-KILIAN, M. 2012. Diversity arrays technology: a generic genome profiling technology on open platforms. In *Data production and analysis in population genomics* (pp. 67-89). Humana Press, Totowa, NJ.

KREMER, A.; RONCE, O.; ROBLEDO-ARNUNCIO, JJ.; GUILLAUME, F.; BOHRER, G.; NATHAN, R.; BRIDLE, JR.; GOMULKIEWICZ, R.; KLEIN, EK.; RITLAND, K.; KUPARINEN, A.; GERBER, S.; SCHUELER, S. 2012. Long-distance gene flow and adaptation of forest trees to rapid climate change. *Ecology letters*, v. 15, n. 4, p. 378-392.

LACERDA, DR.; ACEDO, MD.; LEMOS FILHO, JD.; LOVATO, MB. 2002. A técnica de RAPD: uma ferramenta molecular em estudos de conservação de plantas. *Lundiana*, 3(2), 87-92.

LANZA, MA.; GUIMARÃES, CT.; & SCHUSTER, I. 2000. Aplicação de marcadores moleculares no melhoramento genético. *Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em periódico indexado (ALICE)*.

LEISTER, D.; BALLVORA, A.; SALAMINI, F.; GEBHARDT, CA. 1996. A PCR-based approach for isolating pathogen resistance genes from potato with potential for wide application in plants. *Nature Genetics*, v.14, p.421-429, 1996.

LIMA, ADA.; BORGES, AL.; FANCELLI, M.; CARDOSO, CEL. 2011. Maracujá: sistema de produção convencional. Embrapa Mandioca e Fruticultura-Capítulo em livro científico (ALICE).

LIMA, CA. 2011. Atividade redox-protetora da *Passiflora cincinnata* Mast sobre o estresse oxidativo induzido pelo exercício físico. Aracaju: Universidade Federal de Sergipe. Dissertação de mestrado em Ciências da Saúde).

LINHART, YB. 2000. Variation in woody plants; molecular markers, evolutionary processes and conservation biology. In *Molecular Biology of Woody Plants* (pp. 341-373). Springer, Dordrecht.

LOPES, MA.; FÁVERO, AP.; FERREIRA, MAJF. FALEIRO, FG.; FOLLE, SM.; GUIMARÃES, EP. 2011. Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 614 p.

LORENZONI, RM.; SOARES, TCB.; SANTIAGO, VF.; SILVA, JA.; & COELHO, RI. 2014. Utilização de marcadores ISSR na avaliação da divergência genética entre acessos de biribazeiro. *Rev. Bras. Frutic*, 36, 251-257.

LOSS, ACC.; LEITE, YLR.; LOURO ID.; BATITUCCI MCP; 2006. Diversidade genética de populações de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) no estado do Espírito Santo, Brasil. *Natureza on line* 4(2): 55-61. [on line] <http://www.naturezaonline.com.br>

LOVELESS, MD.; HAMRICK, JL. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual review of ecology and systematics*, 15(1), 65-95.

MACDOUGAL, JM.; ESPINOZA, TEB. 2022. *Passiflora calicicalyx*, a New Species in Section Decaloba (Passifloraceae) from Bolivia. *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature*, v. 30, n. 1, p. 13-17.

MACDOUGAL, JM.; FEUILLET, C. 2004. Systematics. *Passiflora: passionflowers of the world*, p. 27-31.

MACIEL, KS.; LIMA, PAM.; MADALON, FZ.; SILVA FERREIRA, MF.; ALEXANDRE, RS.; LOPES, JC. 2019. Genetic diversity in passion fruit plants at different altitudes. *Australian Journal of Crop Science*, 13(7), 1083-1093.

MANICA, I. 1981. Botânica e variedades. In: MANICA, I. (Ed.). *Fruticultura tropical: maracujá*. São Paulo: Agronômica Ceres. 160p.

MAPBIOMAS, Projeto. 2017. Coleção 2 da Série Anual de Mapas de Cobertura e Uso de Solo do Brasil de 1987 a 2017. 2017. Disponível em: <http://mapbiomas.org/pages/database/mapbiomas_collection> Acesso em: 21 jan. 2021.

MARTINS, E.; LOYOLA, R.; MARTINELLI, G. 2017. Challenges and Perspectives for Achieving the Global Strategy for Plant Conservation Targets in Brazil1. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 102(2), 347-356.

MARTINS, K.; 2005. Diversidade genética e fluxo gênico via pólen e semente em populações de *Solanum lycocarpum* A. ST. HIL. (Solanaceae) no sudeste de Goiás. 128 pp. Tese. Doutorado em genética e melhoramento de plantas): Universidade de São Paulo, Piracicaba

MCCOUCH, SR.; CHEN, X.; PANAUD, O.; TEMNYKH, S.; XU, Y.; CHO, YG.; BLAIR, M. (1997). Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding. In *Oryza: From Molecule to Plant* (pp. 89-99). Springer, Dordrecht.

MEDEIROS, WJF.; OLIVEIRA, FIF.; CAVALCANTE, LF.; COSTA, LC.; ROCHA, RHC.; SILVA, AR. 2017. Qualidade química em frutos de maracujazeiro amarelo cultivado em solo com biofertilizantes bovino. *Magistra*, 26(2), 156-168.

MENEZES, JMT.; OLIVEIRA, JC.; RUGGIERO, C.; BANZATO, DA. 1994. Avaliação da taxa de pegamento de enxertos de maracujá-amarelo sobre espécies tolerantes à “morte prematura de plantas”. *Científica*, v. 22, n. 1, p. 95-104.

MEUWISSEN, THE.; HAYES, BJ.; GODDARD, ME. 2001. Prediction of total genetic value using genome wide dense marker maps. *Genetics*, v. 157, p. 1819-1829.

MEYER, ADS. 2002. Comparação de coeficientes de similaridade usados em análises de agrupamento com dados de marcadores moleculares dominantes. São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz - Universidade de São Paulo. Dissertação de mestrado em Agronomia (Estatística e Experimentação Agrônômica).

MEYER, W.; MITCHELL, TG.; FREEDMAN, EZ.; & VILGALYS, R. 1993. Hybridization probes for conventional DNA fingerprinting used as single primers in the polymerase chain reaction to distinguish strains of *Cryptococcus neoformans*. *Journal of Clinical Microbiology*, 31(9), 2274-2280.

MIKOVSKI, AI.; SILVA, NTD.; SOUZA, CDS.; MACHADO, MD.; OTONI, WC.; CARVALHO, IF.; ROCHA, DI.; SILVA, ML. 2019. Tissue culture and biotechnological techniques applied to passion fruit with ornamental potential: an overview. *Ornamental Horticulture*, 25, 189-199.

NASS, LL. 2011. Pré-melhoramento vegetal. In: Lopes, MA.; FÁVERO, AP.; FERREIRA, MAJF.; FALEIRO, FG.; FOLLE, SM.; GUIMARÃES, EP. (Eds). Pré-melhoramento de plantas. (pp. 23-38). Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas.

NEI, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89(3), 583-590.

NETTO, DAM. 2010. Coleção de base e coleção ativa: o banco de germoplasma de sorgo. Embrapa Milho e Sorgo-Documentos (INFOTECA-E).

- OCAMPO, J.; ACOSTA, N.; HERNÁNDEZ, J. 2017. Variability and genetic structure of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener) in Colombia using microsatellite DNA markers. *Agronomía Colombia* 35:135-149. doi:10.15446/agron.colomb. v. 35, n.2, 59973.
- 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*, v. 2, n. 11, p. 1158-1180.
- OLIVEIRA, JC. de; RUGGIERO, C. 2005. Espécies de maracujá com potencial agrônômico. In: FALEIRO, FG.; JUNQUEIRA, NTV.; BRAGA, MF. Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, p.143-158.
- PAIVA, CL.; VIANA, AP.; SANTOS, AE.; FREITAS, JC. DE O.; SILVA, RNO.; OLIVEIRA, EJ. 2014. Genetic variability assessment in the genus *Passiflora* by SSR markers. *Chilean Journal Of Agricultural Research*, v. 74, n. 3, p355-360.
- PEAKALL, ROD.; SMOUSE, PE. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*, v. 6, n. 1, p. 288-295.
- PEIXOTO, M. 2005. Problemas e perspectivas do maracujá ornamental. Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 457-464.
- PEREIRA, DA. 2012. Conservação e pré-melhoramento de maracujazeiro 'do-sono' (*Passiflora setacea* DC): prospecção ecogeográfica, diversidade e estruturação genéticas baseadas em locus moleculares e repetibilidade de caracteres dos frutos. Dissertação. Pós-Graduação em Genética, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Jequié, Bahia.
- PEREIRA, DA.; GAIOTTO, FA.; CORRÊA RX.; OLIVEIRA AC. 2015. Transferibilidade de primers heterólogos e acesso ao polimorfismo de loci microssatélites em maracujazeiro-do-sono (*Passiflora setacea* DC). *Biotemas*, v. 28, n. 3, p. 51-56.
- PEREIRA, DA.; CORREA, RX.; OLIVEIRA, AC. 2015. 'Do-sono' passion fruit: Ecogeographical prospecting and phenotypic dispersion in transition areas between the caatinga and cerrado of Brazil. *African Journal of Biotechnology*, 14(3), 206-211.
- PEREIRA, DA.; CORRÊA, RX.; OLIVEIRA, AC. 2015. Molecular genetic diversity and differentiation of populations of 'somnus' passion fruit trees (*Passiflora setacea* DC): Implications for conservation and pre-breeding. *Biochemical Systematics and Ecology*, 59, 12-21.
- PEREIRA, PPA.; LIMA, LKS.; SOARES, TL.; LARANJEIRA, FF.; JESUS, ON.; GIRARDI, EA. 2019. Initial vegetative growth and survival analysis for the assessment of Fusarium wilt resistance in *Passiflora* spp. *Crop Protection*, 121, 195-203.
- PERRIER, X.; JACQUEMOUD-COLLET JP. 2006. DARwin software <http://darwin.cirad.fr/darwin>.

PERUCH, L.; COLARICCIO, A.; BATISTA, DDC. 2018. Controle de doenças do maracujazeiro: situação atual e perspectivas. Embrapa Semiárido-Artigo em periódico indexado (ALICE).

PINHO, MDS. 2008. Avaliação da eficiência da rede de unidades de conservação da natureza na proteção da avifauna da caatinga baiana. 155 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Sustentável) - Universidade de Brasília, Brasília.

POCZAI, P. 2013. Advances in plant gene-targeted and functional markers: a review. *Plant Methods*, v. 9, n. 1, p. 6.

PREISIGKE, SDC.; SILVA, LP.; SERAFIM, ME.; BRUCKNER, CH.; ARAÚJO, KL.; NEVES, LG. 2017. Early selection of *Passiflora* species resistant to fusariosis. *Summa Phytopathologica*, v.43, n.4, p.321-325.

PROAÑO, J.; RIVADENEIRA, E.; MONCAYO, P.; MOSQUERA, E. 2020. Passion fruit oil (*Passiflora edulis*): Use of the seeds in cosmetic products. *Enfoque UTE*, 11(1), 119-129.

RANGEL JUNIOR, IM. 2018. Biologia Floral e Caracterização Físico-química de Frutos do Maracujazeiro Silvestre *Passiflora setacea* Cultivado no Estado do Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós graduação em Fitotecnia. UFRRJ. Seropédica, Rio de Janeiro.

RECH, AR.; DALSGAARD, B.; SANDEL, B.; SONNE, J.; SVENNING, J. C.; HOLMES, N.; & OLLERTON, J. 2016. The macroecology of animal versus wind pollination: ecological factors are more important than historical climate stability. *Plant Ecology & Diversity*, 9(3), 253-262.

RIBEIRO, DP. 2014. Biologia reprodutiva e compostos bioativos dos frutos de *Passiflora setacea* D. C. Tese (Mestrado em Agronomia) - Vitória da Conquista - BA, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, 69 p.

RIBEIRO, NP.; SANCHES, CC.; OLIVEIRA, MÂC.; COSTA, RB. 2016. Biodiversidade e conservação de recursos genéticos de espécies arbóreas. *Multitemas*. Campo Grande, MS, v. 21, n. 50, p. 31-49. DOI: <http://dx.doi.org/10.20435/688>.

ROCHA, DI. 2015. Estudo dos caracteres florais associados à ornitofilia e quiropterofilia em espécies de *Passiflora* (Passifloraceae). 2015. p. 148. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas – Campinas.

SACOMAN, NN.; VIANA, AP.; CARVALHO, VS.; SANTOS, EA.; RODRIGUES, R. 2018. Resistência ao Cowpea aphid-borne mosaic virus em genótipos de *Passiflora setacea* germinadas in vitro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40(1).

SANDI, D. 2003. Correlações entre características físico-químicas e sensoriais em suco de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) durante o armazenamento Correlation between physico-chemical and sensory characteristics of yellow passion fruit juice over storing time. *Food Science and Technology*, v. 23, n. 3, p. 355-361.

SANTOS, APM.; GALINDO, AS.; QUEIROZ, ES. 2020. Propriedades neuropsicofarmacológicas, compostos quimicamente ativos e uso medicinal da *Passiflora incarnata*. Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 12, p. 94823-94836.

SANTOS, EA.; VIANA, AP.; WALTER, FHB, FREITAS, JCO.; RAMOS, HCC.; BOECHAT, MSB. 2019. First report of a genetic map and evidence of QTL for resistance to CABMV in a segregating population of *Passiflora*. European Journal of Plant Pathology, 155(3), 903-915.

SANTOS, LF.; OLIVEIRA, EJ.; SANTOS-SILVA, A.; CARVALHO, FM.; COSTA, J. L.; PÁDUA, JG. 2011. ISSR markers as a tool for the assessment of genetic diversity in *Passiflora*. Biochemical Genetics, 49(7-8), 540-554.

SÃO JOSÉ, AR. 1994. Maracujá: produção e mercado. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 1994.

SCHERER, CC. 2014. Conservação filogenética de nicho climático para espécies do gênero *Passiflora* L. (*Passifloraceae*) com ocorrência no Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Brazil.

SILVA, CI.; MARCHI, P.; ALEIXO, KP.; NUNES-SILVA, B.; FREITAS, BM.; GARÓFALO, CA.; IMPERATRIZ-FONSECA, VL.; OLIVEIRA, PEAM.; ALVES-DOS-SANTOS, I. 2014. Manejo dos polinizadores e polinização de flores do maracujazeiro. Fortaleza, CE: Editora Fundação Brasil Cidadão, 1. ed. 59 p.

SILVA, JA da. 2015. Efeitos da suplementação da *Passiflora incarnata* L. sobre a ansiedade em humanos. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Nutrição) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

SILVA, MC. 2010. Diversidade genética, sistema de reprodução, estrutura genética espacial e fluxo gênico em *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore no cerrado. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SMOUSE, R.; PEAKALLAND, PE.; PEAKALL, R. 2012. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. Bioinformatics, v. 28, n. 19, p. 2537-2539.

SOARES, ANR. 2019. Biometria, crescimento inicial e diversidade genética em mangabeira. 2018. 83 f. Tese (Doutorado em Agricultura e Biodiversidade) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

SOARES F.; ROCHA, PA.; FERRARI, S.; ACIOLI, T. PINTO-SOBRINHO, JP. 2018 Bats (Mammalia, Chiroptera) from an area of Caatinga in southwestern Bahia, Brazil. Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza, 2(1): 07–16. <http://dx.doi.org/10.29215/pecen.v2i1.575>

SOUSA, AGR.; SOUZA, MM.; MELO, CAF.; SODRÉ, GA. 2015. ISSR markers in wild species of *Passiflora* L. (*Passifloraceae*) as a tool for taxon selection in ornamental breeding. Genetics and Molecular Research, 14(4), 18534-18545.

SOUZA, LNB. DE; DIAS, NDSC.; SANTANA, V. DE O., SILVEIRA, L.A.; MEIRA, MR.; SANTOS, E SL.; FALEIRO, FG.; CERQUEIRA-SILVA, CBM. 2020. Amplification test and selection of markers analogue to resistance genes in species and commercial varieties of *Passiflora* spp. Multi-Science Journal (ISSN 2359-6902), 3(1), 65-71. <https://doi.org/10.33837/msj.v3i1.1183>

SOUZA, L.S.; JUNQUEIRA, NTV.; LIMA, CA.; SILVA, DP. da; FALEIRO, FG.; NETO, FCC.; BERNACCI, LC. 2008. Determinação da compatibilidade genética entre espécies de *Passifloras* visando à obtenção de híbridos resistentes a doenças. In: IX Simpósio Nacional Cerrado. Brasília.

SOUZA, PU.; LIMA, LKS.; SOARES, TL.; JESUS, ON.; COELHO-FILHO, MA.; GIRARDI, EA. 2018. Biometric, physiological and anatomical responses of *Passiflora* spp. to controlled water deficit. Scientia Horticulturae, 229, 77-90.

SOZO, JS. 2014. Perfis de metabólitos secundários e atividade antioxidante de frutos, sementes e calos cultivados in vitro de *Passiflora setacea* e *Passiflora tenuifila* (Passifloraceae). Dissertação de mestrado. Mestrado em Biotecnologia. Florianópolis. UFSC.

SPECIES LINK. 2015. Centro de Referência em Informação Ambiental, CRIA. Disponível em <http://smlink.cria.org.br/tools>. Acesso em 22 jan. 2021.

STATHI, E.; KOUGIOUMOUTZIS, K.; ABRAHAM, EM., TRIGAS, P.; GANOPOULOS, I.; AVRAMIDOU, EV.; TANI, E. 2020. Population genetic variability and distribution of the endangered Greek endemic *Cicer graecum* under climate change scenarios. AoB Plants, 12(2), plaa007.

STEHMANN, JR. & SOBRAL, M. 2017. Biodiversidade no Brasil. Simões, CMO; Schenkel, EP; Mello, JCP, p. 1-10.

TEIXEIRA, L.; COELHO, L.; TEBALDI, ND. 2017. Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates and resistance of passion fruit genotypes to fusariosis. Revista Brasileira de Fruticultura, 39(3).

TEIXEIRA, TPDO. 2017. Biologia reprodutiva do maracujá brs pérola do cerrado: um estudo de caso com *Passiflora setacea* DC. Passifloraceae.

TURCHETTO-ZOLET, AC.; TURCHETTO, C.; ZANELLA, CM.; & PASSAIA, G. 2017. Marcadores Moleculares na Era Genômica: Metodologias e Aplicações. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética

VANDERPLANK, J. 1996. *Passiflora quadrifaria* Passifloraceae. Curtis's Botanical Magazine, v. 13, n. 2, p. 63-69.

VEIMROBER JUNIOR, LAA. 2021. Eficiência do uso da água e qualidade pós-colheita no cultivo do maracujazeiro sob diferentes formas de propagação e manejo da irrigação por gotejamento. Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Cruz das Almas, Bahia.

VIEGAS, MP.; SILVA, CLSP.; MOREIRA, JP.; CARDIN, LT.; AZEVEDO, VCR.; CIAMPI, AY.; SEBBENN, AM. 2011. Diversidade genética e tamanho efetivo de duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., sob conservação ex situ. Revista *Árvore*, 35(4), 769-779.

WELSFORD, MR.; HOBBAHN, N.; MIDGLEY, JJ.; JOHNSON, SD. 2016. Floral trait evolution associated with shifts between insect and wind pollination in the dioecious genus *Leucadendron* (Proteaceae). *Evolution*, v. 70, n. 1, p. 126-139.

ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20:176-183.

ANEXOS

Anexo 1: Descrição e identificação de cada acesso utilizado no estudo depositado no Laboratório de Genética Molecular Aplicada (LGMA) da UESB (*campus* Itapetinga), com respectivo código do acesso no BAG, BAG de origem e origem de coleta do acesso.

nº	Acesso	Código	BAG	Origem
1	<i>P. setacea</i> DC.	CPAC MJ-12-04	EMBRAPA CERRADOS - "FLOR DA PAIXÃO"	Redondo miúdo, BA
2	<i>P. setacea</i> DC.	CPAC MJ-12-06		típico, flor branca
3	<i>P. setacea</i> DC.	CPAC MJ-12-06		Manhuaçu, MG
4	<i>P. setacea</i> DC.	CPAC MJ-12-04		mesclado, Tapiramutá, Ba
5	BRS perola do cerrado	BRS PC		PMGP CPAC
6	BRS perola do cerrado	BRS PC		PMGP CPAC
7	<i>P. setacea</i> DC.	BGP434	EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA	---
8	<i>P. setacea</i> DC.	BGP237		---
9	<i>P. setacea</i> DC.	BRS-Pérola do Cerrado	EMBRAPA CERRADOS - "FLOR DA PAIXÃO"	Brasília-DF