



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



THALANA SOUZA SANTOS SILVA

**CARACTERIZAÇÕES GENÉTICO MOLECULAR, ECOGEOGRÁFICA
E FITOQUÍMICA EM ESPÉCIES DE MARACUJAZEIROS (*Passiflora*
SPP.)**

VITORIA DA CONQUISTA, BAHIA

ABRIL/2022

THALANA SOUZA SANTOS SILVA

**CARACTERIZAÇÕES GENÉTICO MOLECULAR, ECOGEOGRÁFICA
E FITOQUÍMICA EM ESPÉCIES DE MARACUJAZEIROS (*Passiflora*
SPP.)**

Tese 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 Doutor.

Orientador: Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva

VITORIA DA CONQUISTA, BAHIA

ABRIL/2022

634.425
S584c

Silva, Thalana Souza Santos.

Caracterizações genético molecular, ecogeográfica e fitoquímica em espécies de maracujazeiros (*passiflora* spp.). / Thalana Souza Santos Silva. – Vitória da Conquista - BA: UESB, 2022.
97f.

Tese 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 Doutor. Sob a orientação do Prof. D. Sc. Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva.

1. Maracujazeiros – Diversidade genética. 2. Maracujazeiros – Composição química. 3. Maracujazeiros – Caracterização ecogeográfica. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa Multicêntrico de Doutorado em Bioquímica e Biologia Molecular, *Campus* de Vitória da Conquista. 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 silvestres
2. *Passiflora setacea*
3. *Passiflora cincinnata*

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

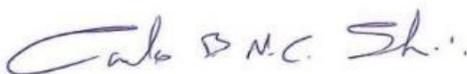
DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: “CARACTERIZAÇÕES GENÉTICO MOLECULAR, ECOGEOGRÁFICA E FITOQUÍMICA EM ESPÉCIES DE MARACUJAZEIROS (*Passiflora SPP.*)”.

Autor (a): Thalana Souza Santos Silva

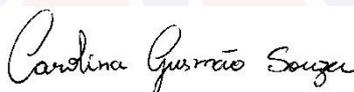
Orientador (a): Professor Dr. Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva

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



Prof. Dr. Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia



Profa. Dra. Carolina Gusmão Souza

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia



Profa. Dra. Elisa Susilene Lisboa dos Santos

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia



Prof. Dr. Américo José Carvalho Viana

Embrapa Soja – Londrina – Paraná



Prof. Dr. Fábio Gelape Faleiro

Embrapa Cerrados – Distrito Federal

Data de realização: 29 de abril de 2022.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente ao amado Deus, minha constante e eterna gratidão pois até aqui a tua mão me guiou e me sustentou em todos os momentos.

Aos meus pais Dermeval e Neurides, e irmãs Crisley e Thalane, pelo amor, carinho e apoio incondicional.

Ao meu esposo Kaique, meu grande incentivador, pela força nos momentos de desânimo, pela compreensão e paciência, e por sempre apoiar os meus sonhos.

Ao professor Carlos Bernard pela oportunidade e orientação, por todo o conhecimento compartilhado e pela imensa contribuição em minha formação acadêmica.

À professora Messulan Meira pela contribuição em diversas etapas do trabalho.

Aos colegas e professores do Programa Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular (PMBqBM), pelos momentos de aprendizagem e amizade.

Aos colegas do Laboratório de Genética e Molecular Aplicada (LGMA), por todos os momentos vivenciados, pelo auxílio nas coletas e nas atividades do laboratório.

À professora Simone Gualberto e aos alunos do Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LAPRON).

À professora Carolina Gusmão pela confecção do mapa.

Aos componentes da banca de qualificação e defesa da tese pela disponibilidade em aceitar o convite e pelas contribuições ao trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) e ao PMBqBM da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), pelo fomento à pesquisa e pela concessão de bolsas de fomento.

RESUMO

O Brasil, com aproximadamente 150 espécies, é considerado um dos centros de diversidade do gênero *Passiflora*, cujas espécies são popularmente conhecidas como maracujazeiro e apresentam importância diversificada, com destaque para o valor econômico decorrente principalmente da comercialização de frutos para consumo ou produção de derivados. Apesar da riqueza de espécies, da ampla distribuição geográfica do gênero *Passiflora* no Brasil e do país se destacar como o maior produtor e consumidor de frutos de maracujá, inúmeros são os desafios para a conservação dessa biodiversidade, bem como para a expansão da passicultura. Dentre os desafios enfrentados para conservação das espécies e expansão da passicultura estão a ausência de informações relacionadas a diversidade genética, caracterizações ecogeográficas e fitoquímicas de grande parte destes recursos naturais, incluída a significativa porção da biodiversidade mantida em coleções e bancos de germoplasma. Nesse contexto, a realização de ações de prospecção, caracterização e uso consciente dos recursos naturais dos maracujazeiros, sobretudo das espécies silvestres, são essenciais para os avanços nas estratégias de conservação, manejo e melhoramento genético. Diante do exposto, objetivou-se realizar caracterizações genético moleculares, ecogeográficas e fitoquímicas em espécies de maracujazeiros silvestres. Foi caracterizada a estrutura e diversidade genética de 213 acessos de *P. cincinnata*, sendo 158 acessos coletados em seis populações naturais no estado da Bahia, Brasil (Anagé, Encruzilhada, Malhada de Pedras, Caetité, Caculé e Ibiassucê) e 55 acessos provenientes dos bancos de germoplasma das Embrapa Cerrados e Embrapa Mandioca e fruticultura. As estimativas genéticas foram baseadas na análise do perfil de amplificação de 12 *primers* ISSR. Para caracterização ecogeográfica foram analisados os atributos físico-químico e granulométricos do solo bem como as condições edafoclimáticas em 12 locais (Divisa Alegre, Encruzilhada, Assentamento Primavera, Cândido Sales, Vitória da Conquista, Anagé, Serra dos Pombos, Malhada de Pedra, Ibiassucê, Caculé, Urandi e Caetité) de ocorrência natural de *P. cincinnata* e *P. setacea* na mesorregião centro-sul baiano. Para as caracterizações fitoquímicas foram analisados extratos das espécies *P. setacea* e *P. cincinnata*. As populações/coleções de *P. cincinnata* apresentaram altos índices de polimorfismo, a metapopulação apresentou 25,3% de marcadores/alelos privados. A metapopulação está estruturada em pelo menos três *pool* gênicos, enquanto os BAGs em dois *pools* gênicos. A análise molecular de variância (AMOVA) indicou uma maior diversidade dentro das populações, com baixa diferenciação entre elas. A caracterização ecogeográfica indicou que os locais com temperaturas médias de até 28°C,

altitude entre 670 e 860 m, pH 4,3-5,11, saturação por base <50 e H+Al entre 2-5, favorecem a distribuição das duas espécies. Temperaturas altas de até 31°C, pH entre 5 e 6, saturação por base > 50 e H+Al ≤ 1,5, favorecem *P. cincinnata*, enquanto os ambientes com temperaturas de até 27°C, altitudes superiores a 900 m, pH médio de 4,5, saturação por base média de 30 e H+Al média de 3, favorece *P. setacea*. A capacidade antioxidante e os teores de compostos fenólicos e flavonoides totais foi maior para a amostra de *P. cincinnata* da população de Vitória da Conquista e demonstrou relação com os valores da atividade antioxidante encontrados.

Palavras-chave: conservação, compostos químicos, ecogeografia, diversidade genética, ISSR, *Passiflora cincinnata*, *Passiflora setacea*.

ABSTRACT

Brazil, with approximately 150 species, is considered one of the centers of diversity of the genus *Passiflora*, whose species are popularly known as passion fruit and have diversified importance, with an emphasis on the economic value arising mainly from the commercialization of fruits for consumption or production of derivatives. Despite the richness of species, the wide geographic distribution of the genus *Passiflora* in Brazil, and the country to stand out as the largest producer and consumer of passion fruit, there are numerous challenges for the conservation of this biodiversity, as well as for the expansion of the passiculture. Among the challenges faced for species conservation and expansion of passiculture are the lack of information related to genetic diversity and ecogeographic characterizations of a large part of these natural resources, including the significant portion of biodiversity maintained in germplasm collections and banks. In this context, carrying out prospection, characterization, and conscious use of natural resources of passion fruit, especially wild species, are essential for advances in conservation, management and genetic improvement strategies. Given the above, the objective was to carry out genetic-molecular and ecogeographic characterizations in wild passion fruit species. The genetic structure and diversity of 213 *P. cincinnata* accessions were characterized, with 158 accessions collected from six natural populations in the state of Bahia, Brazil (Anagé, Encruzilhada, Malhada de Pedras, Caetité, Caculé and Ibiassucê) and 55 accessions from the germplasm banks of Embrapa Cerrados and Embrapa Cassava and fruit growing. Genetic estimates were based on the analysis of the amplification profile of 12 ISSR primers. For ecogeographic characterization, soil physicochemical and granulometric attributes were analyzed, as well as soil and climatic conditions in 12 locations (Divisa Alegre, Encruzilhada, Primavera Settlement, Cândido Sales, Vitória da Conquista, Anagé, Serra dos Pombos, Malhada de Pedra, Ibiassucê, Caculé, Urandi and Caetité) of naturally occurring *P. cincinnata* and *P. setacea* in the central-southern mesoregion of Bahia. For phytochemical characterizations, extracts of *P. setacea* and *P. cincinnata* species were analyzed. The populations/collections of *P. cincinnata* showed high rates of polymorphism, the metapopulation showed 25.3% of private markers/alleles. The metapopulation is structured in at least three gene pools, while the BAGs are in two gene pools. Molecular analysis of variance (AMOVA) indicated greater diversity within populations, with low differentiation between them. Ecogeographic characterization indicated that places with mean temperatures of up to 28°C, altitude between 670 and 860 m, pH 4.3-5.11, base saturation <50 and H+Al between 2-

5, favors the distribution of the two species. High temperatures up to 31°C, pH between 5 and 6, base saturation > 50 and $H+Al \leq 1.5$ favors *P. cincinnata*, while environments with temperatures up to 27°C, altitudes above 900 m, mean pH of 4.5, mean base saturation of 30 and mean H+Al of 3, favors *P. setacea*. The antioxidant capacity and the total phenolic and flavonoid contents were higher for the sample of *P. cincinnata* from the population of Vitória da Conquista and showed a correlation with the values of antioxidant activity found.

Keywords: conservation, chemical compounds, ecogeography, genetic diversity, ISSR, *Passiflora cincinnata*, *Passiflora setacea*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
2.1 OBJETIVO GERAL.....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3. DESENVOLVIMENTO.....	15
3.1 CAPÍTULO 1.....	15
3.2 CAPÍTULO 2.....	31
3.3 CAPÍTULO 3.....	48
3.4 CAPÍTULO 4.....	68
4. CONCLUSÃO.....	81
REFERÊNCIAS.....	82
ANEXOS	95

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 01. Infográfico ilustrando a distribuição geográfica das espécies do gênero *Passiflora* no Brasil, com destaque para o quantitativo de espécies presentes em cada região brasileira e seus respectivos estados com maior número de espécies. Informações obtidas na Lista de Espécies Flora do Brasil: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB12506>

Figura 2. Painel ilustrativo das flores de diferentes espécies do gênero *Passiflora*. P. subg. *Passiflora*: *P. cincinnata* (A), *P. setacea* (B) e *P. Alata* (C); P. subg. *Decaloba*: *P. pohlii* (D); P. subg. *Astrophea*: *P. mansoi* (E) e P. subg. *Deidamioides*: *P. Deidamioides* (F). Fonte: A e B, Acervo pessoal; C a F <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB12508>

Capítulo 2

Figura 1. *Passiflora cincinnata* Mast., planta no ambiente de ocorrência (A) com destaque para flores e frutos (B). Acervo pessoal.

Figura 2. Histogramas (baseado nos valores de Delta K) representando a distribuição dos prováveis *pools* gênicos para os 213 acessos de *Passiflora cincinnata* representativos de seis populações naturais e duas coleções de BAGs das Embrapas Cerrados e Mandioca e fruticultura (A); subestrutura considerando a análise da metapopulação (B) e os dois BAGs (C). As cores utilizadas nos histogramas representam a ascendência mais provável do grupo a partir dos quais os indivíduos foram derivados.

Figura 3. Gráfico de dispersão baseado na análise de coordenadas principais (PCoA). Os gráficos de pizza representam uma média da composição gênica total de cada população/coleção avaliada.

Capítulo 3

Figura 1. Localização e classificação do solo de 12 locais de ocorrência de *Passiflora* sp. na mesorregião centro- sul Baiano.

Figura 2. Análise da Componente Principal dos atributos físicos e químicos do solo de 12 locais de ocorrência natural de *Passiflora setacea* D.C. e *Passiflora cincinnata* Mst. na mesorregião centro-sul baiano.

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1. Apresentação descritiva e quantitativa de estudos publicados utilizando marcadores moleculares ISSR para o gênero *Passiflora*.

Tabela 2. Quantitativo de acessos e espécies conservadas nos bancos de germoplasma no Brasil. Dados disponíveis no portal alelo <http://alelo.cenargen.embrapa.br/>

Capítulo 2

Tabela 1. Populações de *Passiflora cincinnata* amostradas em seis municípios no Estado da Bahia, com dados de local de coleta, coordenadas geográficas, altitude (Alt), precipitação (Prec.) e temperatura (Temp.).

Tabela 2. Descrição e identificação dos acessos de *Passiflora cincinnata* utilizados no estudo de acordo os BAGs de origem.

Tabela 3. Descrição dos 12 iniciadores *Inter Simple Sequence Repeat*, número de marcadores observados, estimativas de conteúdo de informação polimórfica (PIC) e de heterozigosidade esperada (He) a partir da caracterização genética de 213 acessos de *Passiflora cincinnata*.

Tabela 4. Dados das análises descritivas, estimativas de Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC), de heterozigosidade esperada (He) e índice de Shannon (I), produzidos a partir da caracterização de 213 acessos de *Passiflora cincinnata* com base em iniciadores ISSR.

Tabela 5. Análise de variância molecular (AMOVA) baseada em iniciadores ISSR para os 213 acessos de *Passiflora cincinnata*.

Capítulo 3

Tabela 1. Localização e condições climáticas de 12 locais de ocorrência de *Passiflora* sp. na mesorregião centro-sul Baiano.

Tabela 2. Atributos químicos do solo de 12 locais de ocorrência de *Passiflora* sp. na mesorregião centro- sul Baiano.

Tabela 3. Atributos químicos e físicos do solo com os autovalores dos componentes principais dos 12 locais de coleta de *Passiflora* sp. na mesorregião centro-sul baiano, Brasil.

Capítulo 4.

Tabela 1. Teores de compostos fenólicos e flavonoides totais encontrados nos extratos etanólicos das espécies *P.cincinnata* e *P.setacea*.

Tabela 2. Resultados da atividade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP dos extratos das espécies *P.cincinnata* e *P.setacea*.

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Carta de aceite para publicação no periódico *Chilean Journal of Agricultural Research* do artigo intitulado “Structure and molecular genetic diversity in natural populations and active germplasm banks of *Passiflora cincinnata* Mast”.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AFLP – *Amplified Fragment Length Polymorphism* (Polimorfismo de tamanho de fragmento amplificado)
- AMOVA – *Analysis of molecular variance* (Análise da Variância Molecular)
- BAG – Banco Ativo de Germoplasma
- BHT - Butilhidroxitolueno
- CTAB – *Cetyltrimethylammonium Bromide* (Brometo de Cetiltrimetilamônio)
- DNA – Ácido Desoxirribonucleico
- DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
- dNTP – Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- FRAP - *Ferric Reducing Antioxidant Power* (Poder Antioxidante Redutor Férrico)
- He – Heterozigosidade Esperada
- IAA - Índice de Atividade Antioxidante
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- ISSR – *Inter-simple sequence repeats* (Repetições de sequência inter-simples)
- LGMA – Laboratório de Genética Molecular Aplicada
- UESB – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
- PCoA – *Principal Coordinates Analysis* (Análises de Coordenadas Principais)
- PCR – *Polymerase Chain Reaction* (Reação em cadeia da polimerase)
- PIC – *Polymorphism Information Content* (Conteúdo de Informação de Polimorfismo)
- RAPD – *Random Amplified Polymorphic DNA* (Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso)
- RFLP – *Restriction Fragment Length Polymorphism* (Polimorfismo no Comprimento dos Fragmentos de Restrição)
- RGA – *Resistance Gene Analogs* (Análogos a genes de resistência)
- SNP – *Single Nucleotide Polymorphism* (Polimorfismo de nucleotídeo único)
- SSR – *Single Sequence Repeat* (Sequências Simples Repetidas)
- TBE – Tampão de Tris/Borato/EDTA

1. INTRODUÇÃO

Passiflora L. compreende as espécies conhecidas popularmente como maracujazeiros, o gênero congrega aproximadamente 520 espécies, sendo considerado o mais numeroso e com relevância econômica da família Passifloraceae Juss. Ex Roussel, com distribuição predominante nas regiões tropicais e temperadas quentes, sendo a Colômbia e o Brasil, congregando ao menos 170 e 150 espécies, respectivamente, considerados seus centros de diversidade (BERNACCI et al., 2020; OCAMPO et al., 2010; MAC DOUGAL & FEUILLET 2004).

Os maracujazeiros apresentam uso diversificado, sendo reconhecidos por seus frutos saborosos, propriedades farmacológicas e/ou uso ornamental. Apesar da riqueza de espécies e dos usos atuais e potenciais, o valor econômico associado ao gênero decorre principalmente da comercialização de frutos comestíveis, com poucas espécies apresentando valor comercial significativo (majoritariamente *P. edulis* Sims e *P. alata* Curtis) (FALEIRO et al., 2011; BORGES et al., 2005). Estimativas indicam que mais de 90% da área destinada a passicultura no Brasil, que é o maior consumidor e produtor mundial de maracujá, seja destinada para o cultivo de *P. edulis*, embora existam pelo menos 80 espécies de maracujazeiros que são produtoras de frutos comestíveis, potencialmente comercializáveis ou restritos a pequenas feiras populares em regiões específicas (YOCKTENG et al., 2011; FALEIRO et al., 2011; MELETTI et al., 2005).

Dentre os maracujazeiros silvestres que produzem frutos comestíveis e que apresentam potencial diversificado, destacam-se as espécies *P. cincinnata* Mast e *P. setacea* DC. Essas espécies têm despertado o interesse em programas de melhoramento genético como fonte de resistência a fatores de estresse biótico e abiótico (ARAÚJO et al., 2020; BRAGA et al., 2016; CERQUEIRA-SILVA et al., 2016). Além disso, apresentam composição química rica em compostos bioativos (LEAL et al., 2020; SANTANA et al., 2015).

Apesar do potencial econômico reconhecido, a produção dessas espécies é majoritariamente proveniente do extrativismo e de áreas cultivadas em escala regional/doméstica (ARAÚJO et al., 2020). Dentre os fatores que contribuem para o limitado uso e conservação destes recursos naturais estão a escassez de estudos em diversas áreas, como as caracterizações genético moleculares e de compostos químicos, bem como a identificação dos fatores ecogeográficos que influenciam na distribuição dessas espécies, sobretudo das

populações naturais. Os dados gerados por esses estudos podem contribuir para o estabelecimento de estratégias adequadas para o uso, manejo e conservação *in situ* e *ex situ* dessas espécies, como a identificação de acessos a serem conservados em bancos e coleções de germoplasma e inseridos em programas de melhoramento genético, bem como a identificação de regiões prioritárias para conservação *in situ* (PEREIRA et al., 2015a; WETZEL et al., 2011).

Apesar dos avanços alcançados nas últimas décadas em relação aos estudos genético-moleculares do gênero *Passiflora*, os estudos com marcadores moleculares restringem-se a menos de 15% das espécies do gênero, sendo a maioria direcionados para as espécies ou acessos com interesse comercial (CERQUEIRA-SILVA et al., 2016; CERQUEIRA-SILVA et al. 2014a). Diante dessa realidade, pesquisas dedicadas a caracterizações genéticas populacionais, envolvendo acessos presentes em ambientes naturais são incipientes (MACIEL et al., 2019; PEREIRA et al., 2015b; CERQUEIRA-SILVA et al., 2010).

Similar à escassez de estudos genéticos com aplicação de marcadores moleculares para o gênero *Passiflora*, sobretudo de espécies silvestres, as caracterizações ecogeográficas e fitoquímicas são consideradas escassas. Diante do exposto, objetivou-se realizar caracterizações genético-moleculares, ecogeográficas e fitoquímicas em espécies silvestres de maracujazeiros.

Na busca dos objetivos traçados, o arquivo da tese está organizado em três capítulos que correspondem a sessão de desenvolvimento, sendo no capítulo 1 apresentado o referencial teórico contendo o estado da arte sobre o tema. No capítulo 2, é apresentado o artigo aceito para publicação no periódico *Chilean Journal of Agricultural Research*, no qual são apresentados os resultados obtidos a partir da análise de marcadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*), para caracterização da diversidade e estrutura genética de acessos de *P. cincinnata* presentes em populações naturais no estado da Bahia e em Bancos de germoplasma. Por sua vez, no capítulo 3, periódico pretendido para submissão a ser definido, são apresentados os resultados obtidos a partir da caracterização dos atributos físico-químicos e granulométricos bem como a ecogeografia de *P. cincinnata* e *P. setacea* em 12 locais na Bahia. E no capítulo 4 são apresentados os resultados relacionados a determinação da capacidade antioxidante e teores de fenólicos e flavonoides totais das espécies silvestres *P. cincinnata* e *P. setacea*.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar caracterizações genético moleculares, ecogeográficas e fitoquímicas em espécies silvestres de maracujazeiros e em acessos presentes em bancos de germoplasma com vistas a subsidiar ações de conservação, manejo e uso destes recursos naturais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- (i) Caracterizar a estrutura e diversidade genética de acessos de *Passiflora cincinnata* presentes em populações naturais e em bancos de germoplasma com a aplicação de marcadores moleculares ISSR;
- (ii) Caracterizar os atributos físico-químicos e granulométricos do solo bem como a ecogeografia de *Passiflora cincinnata* e *Passiflora setacea*;
- (iii) Avaliar a capacidade antioxidante e determinar o teor de fenólicos e flavonoides totais das espécies silvestres *Passiflora cincinnata* e *Passiflora setacea*.

3. DESENVOLVIMENTO

3.1 CAPÍTULO 1

Características gerais do gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae)

Passifloraceae *sensu lato*, com cerca de 980 espécies e 29 gêneros, pertence à ordem Malpighiales e é composta por três famílias; Passifloraceae *sensu stricto*, Turneraceae Kunth *ex* DC. e Malesherbiaceae D. Don (APG, 2016; CHRISTENHUSZ & BYNG, 2016). A família Passifloraceae *s.s.* Juss. *ex* Roussel é a mais representativa com cerca de 600 espécies e 17 gêneros, distribuídos em duas tribos, Passiflorieae DC. e Paropsieae DC., com ocorrência predominante nas regiões tropicais e subtropicais da América e em menor abundância na África, Ásia e Austrália (FEUILLET & MACDOUGAL, 2007; MACDOUGAL & FEUILLET, 2004).

No Brasil, a família apresenta ampla distribuição geográfica, todos pertencentes à tribo Passiflorieae, compreendendo representantes de quatro gêneros, *Ancistrothyrsus* Harms, com duas espécies, *Dilkea* Mast., com quatro espécies, *Mitostemma* Mast. com duas espécies e *Passiflora* L. que se destaca por congregar o maior número de espécies no país, com 157 das quais 87 são endêmicas, com distribuição em todas as regiões brasileiras (Figura 01) (BERNACCI *et al.*, 2020; BERNACCI, 2003; BFG, 2015).

O gênero *Passiflora*, com aproximadamente 520 espécies, é o mais representativo da família, tanto em quantitativo de espécies quanto sob o aspecto econômico, sendo a maioria delas (96%) encontradas nas Américas, das quais 30% são encontradas no Brasil e Colômbia, o que torna esses países centros de diversidade do gênero. Estimativas indicam que apenas 20 espécies ocorrem na Índia, China, sudeste asiático, Austrália e ilhas da Oceania (ULMER & MACDOUGAL, 2004; BERNACCI *et al.*, 2003).

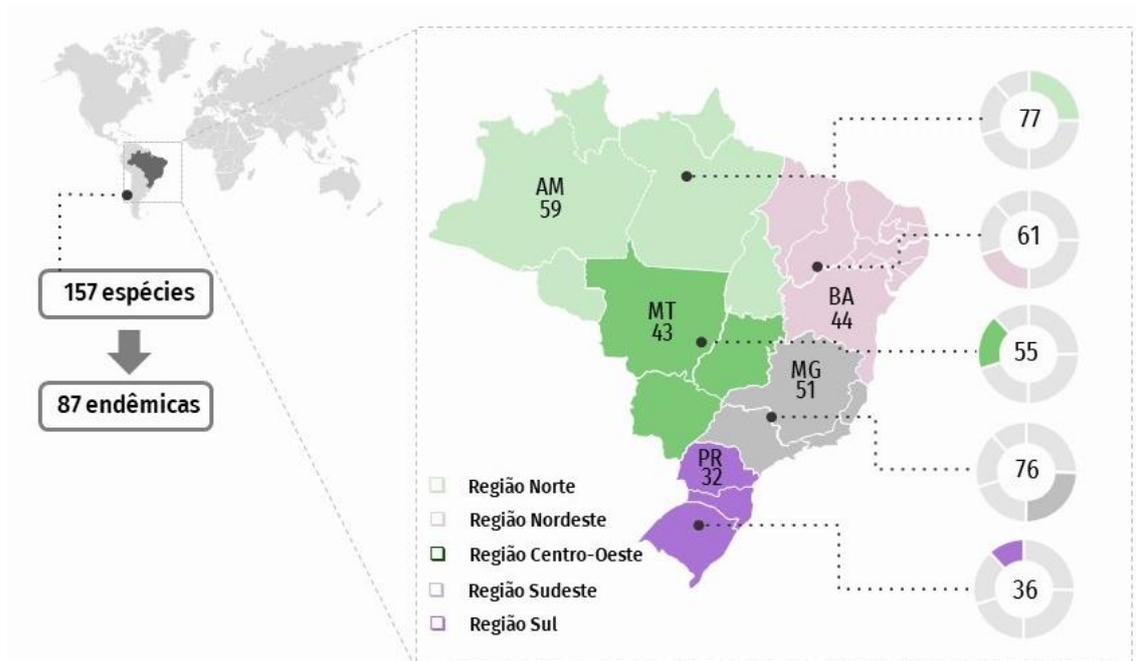


Figura 01. Infográfico ilustrando a distribuição geográfica das espécies do gênero *Passiflora* no Brasil, com destaque para o quantitativo de espécies presentes em cada região brasileira e seus respectivos estados com maior número de espécies. Informações obtidas na Lista de Espécies Flora do Brasil: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB12506>

Tendo em vista a diversidade morfológica e complexidade taxonômica, diversas são as propostas de classificação infragenérica para *Passiflora* e, embora não seja consenso, são reconhecidos quatro subgêneros com base em caracteres morfológicos, sendo estes: *P. subg. Passiflora* (240 espécies), *P. subg. Decaloba* (DC.) Rchb. (220 espécies), *P. subg. Astrophea* (DC.) Mast. (57 espécies) e *P. subg. Deidamioides* (Harms) Killip. (13 espécies) (FEUILLET & MACDOUGAL, 2004).

Em relação as informações citogenéticas para o gênero *Passiflora*, estudos indicam uma diversidade nos níveis de ploidia entre os subgêneros: no subgênero *Passiflora*, $x = 9$ ($2n = 18$, 36 e 72) e $x = 10$ ($2n = 20$), no subgênero *Decaloba* $x = 6$ ($2n = 12$, 24 e 36) e nos subgêneros *Astrophea* e *Deidamioides* $x = 12$ ($2n = 24$) (SADER et al., 2019; HANSEN et al., 2006; DE MELO & GUERRA, 2003).

Fatores como a ampla distribuição geográfica das espécies de *Passiflora* em diferentes paisagens, bem como a interação com muitos organismos, ressaltando-se os eventos de

polinização e dispersão, resultam na ampla diversidade morfológica observada entre as espécies do gênero, como formato de folhas, tamanho, forma e coloração das flores e frutos. Além da variação observada ao nível de gênero, também é observada uma alta variabilidade intraespecífica, devido principalmente a interação genótipo-ambiente (PAIVA et al., 2014a; ULMER & MACDOUGAL, 2004).

As espécies do gênero *Passiflora* caracterizam-se em sua maioria como plantas trepadeiras herbáceas (*P. capsularis*, *P. foetida*, *P. misera* etc.) ou lenhosas (*P. elegans*, *P. racemosa*, *P. amethystina* etc.) geralmente apresentando gavinhas. As folhas são sempre alternas, apresentando variações quanto à forma, inclusive dentro de uma mesma espécie. Apresentam características florais únicas, com ampla variação em tamanho, forma e cores (Figura 2), com a presença da corona composta por filamentos, cinco estames, cinco pétalas e cinco sépalos e pelo androginóforo ereto com estames de extremidades livres e três estigmas (BERNACCI, 2003; CERVI, 1997). Na maioria das espécies, as flores apresentam características como heterostilia, autoincompatibilidade e protandria, que contribuem para ocorrência da polinização cruzada (REGO et al., 1999). Os frutos são bagas que podem variar quanto à forma, tamanho e cor. Outras características morfológicas típicas incluem, estípulas axilares e glândulas nectaríferas (BERNACCI, 2003; CERVI, 1997).

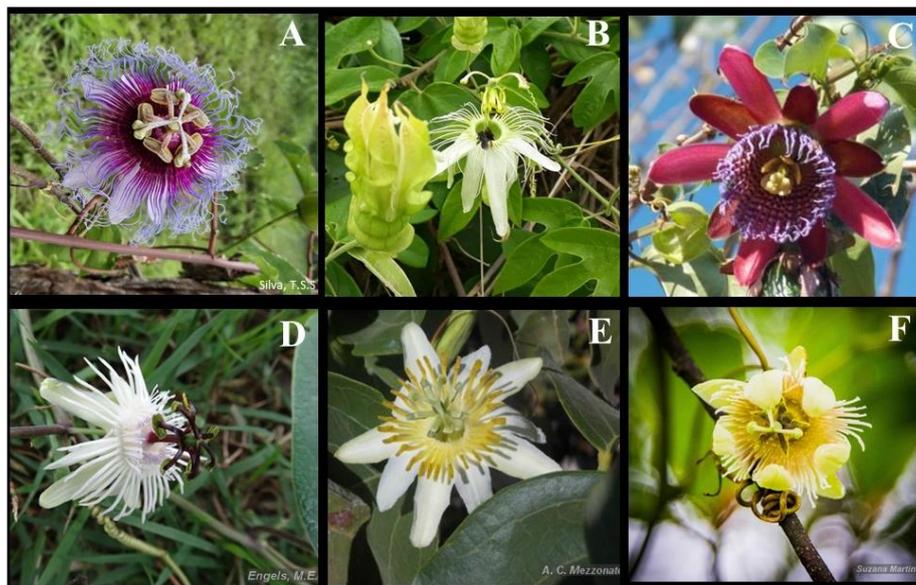


Figura 2. Painele ilustrativo das flores de diferentes espécies do gênero *Passiflora*. P. subg. *Passiflora*: *P. cincinnata* (A), *P. setacea* (B) e *P. Alata* (C); P. subg. *Decaloba*: *P. pohlii* (D); P. subg. *Astrophea*: *P. mansoi* (E) e P. subg. *Deidamioides*: *P. Deidamioides* (F). Fonte: A e B, Acervo pessoal; C a F <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB12508>

As estruturas florais variadas em *Passiflora* atraem polinizadores diversificados, caracterizando uma diversidade de síndromes de polinização dentro do gênero, com predominância para melitofilia, polinização realizada por abelhas, como a *Apis mellifera* e *Xylocopa* spp. (KILL et al., 2010; SAZIMA & SAZIMA, 1989). Entretanto, há espécies polinizadas por aves, a exemplo dos beija-flores (ABRAHAMCZYK et al., 2014; FISCHER & LEAL, 2006) e morcegos (JORGENSEN et al., 2012; KOSCHNITZKE & SAZIMA, 1997). A dispersão dos frutos é realizada principalmente por mamíferos, que atuam como agentes dispersores da maioria das espécies do gênero (BRAGA et al., 2016).

As interações entre plantas e polinizadores apresentam um alto nível de dependência, principalmente para plantas autoincompatíveis que necessitam de abelhas silvestres para sua polinização, assim como a maioria das espécies do gênero *Passiflora*. A soma de fatores que incluem as mudanças climáticas, ações antrópicas e fragmentação de habitats contribuem sobremaneira para o risco de extinção de espécies de abelhas e plantas (DÍAZ et al., 2019; POTTS et al., 2010).

Aspectos econômicos do gênero *Passiflora*

A importância econômica dos maracujazeiros está relacionada principalmente aos seus usos como gênero alimentício, medicinal, ornamental e na indústria de cosméticos. Diferentes partes da planta são utilizadas (polpa, sementes, casca, flores e as folhas), o que caracteriza o uso diversificado dessas espécies (FALEIRO et al., 2018). Estudos indicam que diversas espécies de *Passiflora* são potencialmente úteis para fins medicinais, devido a riqueza de seus constituintes químicos, sendo que as espécies *P. edulis*, *P. incarnata* e *P. alata* destacam-se como as mais estudadas e com utilização consolidada nas formulações de fitoterápicos ansiolíticos naturais e em monografias oficiais (FONSECA et al., 2020; BRASIL, 2019; GADIOLI et al., 2016; DHAWAN et al., 2004). A beleza e exuberância das flores, característica marcante de muitas espécies do gênero, têm ganhado destaque no setor ornamental (MIKOVSKI et al., 2019; SOARES et al., 2015; ABREU et al., 2009), com alguns híbridos já desenvolvidos pela Embrapa para essa finalidade, como BRS Estrela do Cerrado (FALEIRO et al., 2007a), BRS Rubiflora (FALEIRO et al., 2007b), BRS Roseflora (JUNQUEIRA et al., 2007), BRS Rosea Púrpura (FALEIRO & JUNQUEIRA, 2016a) e BRS Céu do Cerrado (FALEIRO & JUNQUEIRA., 2016b). Na indústria cosmética o óleo aromático

de maracujá é apreciado na fabricação de cosméticos, produtos de higiene e aromatizantes em geral (LEÃO et al., 2014).

Apesar dos maracujazeiros apresentarem importância diversificada, a exemplo dos citados usos medicinal e ornamental, o valor econômico do gênero consiste principalmente na comercialização de frutos comestíveis, com destaque no Brasil para o cultivo da espécie *P. edulis* Sims que ocupa mais de 90% da área destinada a passicultura no país (FALEIRO et al., 2020). No contexto mundial, o Brasil destaca-se como maior consumidor e produtor de maracujá, e embora esteja presente nas diferentes regiões do país, a maior parte dessa produção está concentrada na região nordeste (64,5%), sobretudo no Estado da Bahia (28,4%) (IBGE, 2019). Apesar de consolidada, alguns fatores têm limitado a expansão da produção brasileira de maracujá, como a ausência de cultivares adaptadas as condições edafoclimáticas das diversas regiões produtoras no país, bem como a baixa tolerância/resistência das principais espécies cultivadas a doenças e a importantes fatores ambientais, e a produção em escala comercial destinada a poucas espécies do gênero (FALEIRO et al., 2019; COELHO et al., 2016; FALEIRO et al., 2011; MELETTI et al., 2005).

A despeito da primazia de *P. edulis* na cadeia produtiva do maracujazeiro, existem pelo menos 80 espécies que são produtoras de frutos comestíveis, porém ainda pouco estudadas e com interesse comercial inexplorado, ou restrito a comercialização regional (FALEIRO et al., 2020; MACHADO et al., 2017; YOCKTENG et al., 2011; FALEIRO et al., 2011). Ao considerar um contexto alimentar global, fatores como a diversidade de culturas, segurança alimentar e as mudanças climáticas, estão correlacionados de maneira complexa, o que implica em um movimento de mudança nos padrões atuais na agricultura, direcionada para poucas culturas (MARINO, 2019).

Apesar da representatividade do gênero *Passiflora* no Brasil e de o país se destacar no cenário mundial como maior produtor e consumidor de maracujazeiros, inúmeros são os desafios para a conservação dessa biodiversidade, bem como para a manutenção e expansão da passicultura. Nesse contexto, a realização de ações de prospecção, caracterização e uso consciente dos recursos genéticos dos maracujazeiros (*Passiflora* spp.), sobretudo das espécies silvestres, são essenciais para os avanços nas estratégias de conservação, manejo e melhoramento genético (CERQUEIRA-SILVA et al., 2016; CERQUEIRA-SILVA et al., 2014a).

Maracujazeiros silvestres: Uso e *status* de conservação

O interesse acerca dos maracujazeiros silvestres tem aumentado, tendo em vista o potencial uso em diversas áreas, seja como gênero alimentício, medicinal e ornamental (FALEIRO et al., 2020; CERQUEIRA-SILVA et al., 2014a). Além disso, os recursos genéticos relacionados às espécies silvestres representam um potencial *pool* gênico para prospecção de genes de resistência e ou associados as características de interesse comercial para a passicultura, como maior resistência a pragas, maior longevidade, maior adaptação a condições climáticas adversas entre outras potencialidades (FALEIRO et al., 2019; MORGADO et al., 2015; MELETTI et al., 2005). Essas características apresentadas pelos maracujazeiros silvestres são particularmente interessantes em programas de melhoramento genético pois possibilita a hibridização interespecífica ou sua utilização como porta-enxerto para as espécies cultivadas (COELHO et al., 2016).

Dentre as espécies de maracujazeiros silvestres produtoras de frutos e com potencial econômico diverso, estão as espécies *P. cincinnata* Mast e *P. setacea* DC, são espécies que apresentam boa tolerância a pragas e doenças (ARAÚJO et al., 2020; ARAÚJO et al., 2019; BRAGA et al., 2016; CERQUEIRA-SILVA et al., 2014b, 2012a, 2012b; FALEIRO et al., 2011; JUNQUEIRA et al., 2005). Apresentam uso diversificado, sendo os frutos dessas espécies utilizados na alimentação, as folhas utilizadas na medicina tradicional e a planta inteira pode ser utilizada com a finalidade ornamental (ARAÚJO et al., 2020). No Brasil, essas espécies estão distribuídas nas regiões Norte, Sudeste e Centro-Oeste e com maior predominância no Nordeste, com ocorrência confirmada para ambas nos domínios fitogeográficos Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (BERNACCI et al., 2020). *P. setacea* é endêmica do Brasil, enquanto a *P. cincinnata* pode ser encontrada em outros países da América do Sul, como Argentina, Bolívia, Paraguai, Colômbia e Venezuela (ARAÚJO et al., 2020).

A produção e comercialização das espécies *P. cincinnata* e *P. setacea* é majoritariamente proveniente do extrativismo e de áreas cultivadas em escala regional/doméstica por cooperativas de agricultores familiares e comunidades tradicionais, com a comercialização de frutos feita principalmente em feiras livres próximas as regiões produtoras (SANTOS et al., 2021; ARAÚJO et al., 2020; FALEIRO et al., 2020; ARAÚJO et al., 2019). Tendo em vista o crescente interesse acerca dessas espécies e visando um incremento na produtividade e no aumento dos frutos, foram desenvolvidos as cultivares da espécie *P.*

cinnata, BRS Sertão Forte (BRS SF) (EMBRAPA, 2016), e de *P. setacea*, BRS Pérola do Cerrado (BRS PC) (EMBRAPA, 2013).

Muitas espécies de maracujazeiros silvestres têm sua sobrevivência ameaçada pelas interferências antrópicas nas áreas nativas em que ocorrem, tanto pela degradação do ambiente quanto pelo extrativismo predatório (BERNACCI et al., 2005). Dentre as alterações ocasionadas pelas ações antrópicas, a erosão genética constitui umas das mais preocupantes, tendo em vista o incipiente número de espécies silvestres estudadas, ou até mesmo não identificadas. O processo de erosão genética pode ser evitado ou atenuado com a elaboração de estratégias que visam a conservação da variabilidade genética tanto *in situ* em áreas naturais preservadas, quanto *ex situ* em bancos de germoplasma (BAGs) e coleções (JESUS et al., 2018; FALEIRO et al., 2005; BERNACCI et al., 2005; BRAGA & JUNQUEIRA, 2000).

Apesar dos maracujazeiros silvestres apresentarem importância ecológica e potencial econômico reconhecido, são incipientes os estudos em diversos âmbitos acerca dos maracujazeiros silvestres, o que limita as estratégias aplicadas ao seu manejo, uso e conservação, como a prospecção e manutenção de acessos em coleções e BAGs, assim como seu efetivo uso em programas de melhoramento genético (JESUS et al., 2018; CERQUEIRA-SILVA et al., 2016).

As principais coleções de acessos de maracujazeiros no Brasil estão localizadas nos BAGs da Embrapa, a exemplo dos BAG da Embrapa Cerrados, Embrapa Mandioca e Fruticultura e Embrapa Semi-Árido, segundo informações disponíveis no Portal Alelo, são conservados ao menos 600 acessos pertencentes a 70 espécies (Tabela 1), sendo que 26% do quantitativo de acessos são da espécie *P. edulis*, espécie mais cultivada no país. Não existem dados oficiais atualizados sobre o quantitativo de acessos conservados em outros Institutos agrônômicos e Universidades, embora seja provável que o número exato de acessos mantidos nessas coleções tenha variado para mais ou para menos desde as compilações feitas por Ferreira (2005).

Nesse contexto, é imprescindível que os materiais conservados e de populações naturais sejam caracterizados e avaliados quanto às características genéticas, biológicas, ecogeográficas e químicas para que efetivamente possam ser utilizados e conservados (FALEIRO et al., 2018; CERQUEIRA-SILVA et al., 2016; FALEIRO et al., 2011).

Tabela 1: Quantitativo de acessos e espécies conservadas nos bancos de germoplasma no Brasil. Dados disponíveis no portal alelo <http://alelo.cenargen.embrapa.br/>

Espécies	Total de acessos	Bancos de germoplasma		
		Embrapa Cerrados	Embrapa Mandioca e fruticultura	Embrapa semiárido
<i>P. actinia</i>	4	1	3	-
<i>P. alata</i>	31	13	17	1
<i>P. amethystina</i>	6	5	1	-
<i>P. araujoii</i>	2	2	-	-
<i>P. auriculata</i>	4	3	1	-
<i>P. bahiensis</i>	2	1	1	-
<i>P. biflora</i>	1	1	-	-
<i>P. caerulea</i>	3	2	1	-
<i>P. capparidifolia</i>	4	4	-	-
<i>P. cerasina</i>	1	-	1	-
<i>P. cerradense</i>	1	1	-	-
<i>P. cervii</i>	1	1	-	-
<i>P. cincinnata</i>	112	2	53	57
<i>P. coccinea</i>	8	4	4	-
<i>P. edmundoi</i>	3	2	1	-
<i>P. edulis</i> Sims	30	22	8	-
<i>P. edulis</i> Sims f. <i>edulis</i>	28	-	28	-
<i>P. edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i>	104	-	102	2
O. Deg				
<i>P. eichleriana</i>	1	-	1	-
<i>P. elegans</i>	1	1	-	-
<i>P. farneyi</i>	1	1	-	-
<i>P. ferruginea</i>	2	2	-	-
<i>fissurosa</i>	2	2	-	-
<i>P. foetida</i>	6	2	4	-
<i>P. galbana</i>	9	6	3	-
<i>P. gardneri</i>	2	1	1	-
<i>P. gibertii</i>	6	-	6	-
<i>P. glandulosa</i>	2	1	1	-
<i>P. hatschbachii</i>	2	2	-	-
<i>P. hybr.</i>	34	31	3	-
<i>P. Incarnata</i>	1	1	-	-
<i>P. junqueirae</i>	2	2	-	-
<i>P. kermesina</i>	1	1	-	-
<i>P. laurifolia</i>	5	2	2	1
<i>P. ligularis</i>	5	-	5	-
<i>P. loefgrenii</i>	1	1	-	-
<i>P. luetzelburgii</i>	5	2	1	2
<i>P. malacophylla</i>	2	1	1	-
<i>P. maliformis</i>	3	2	1	-
<i>P. mendoncaei</i>	1	-	1	-
<i>P. micropetala</i>	1	1	-	-
<i>P. miersii</i>	2	2	-	-
<i>P. morifolia</i>	4	2	2	-
<i>P. muchronata</i>	1	-	1	-
<i>P. mucronata</i>	5	5	-	-
<i>P. nitida</i>	8	4	4	-
<i>P. oerstedii</i>	2	2	-	-
<i>P. pedata</i>	1	1	-	-
<i>P. phoenicea</i>	1	1	-	-
<i>P. pohlii</i>	1	1	-	-
<i>P. quadrangularis</i>	5	2	2	1

<i>P. quadriglandulosa</i>	2	2	-	-
<i>P. racemosa</i>	5	4	1	-
<i>P. recurva</i>	1	1	-	-
<i>P. riparia</i>	3	3	-	-
<i>P. rubra</i>	3	1	2	-
<i>P. setacea</i>	26	2	20	4
<i>P. sidifolia</i>	2	2	-	-
<i>Passiflora sp.</i>	49	12	37	-
<i>P. suberosa</i>	16	3	13	-
<i>P. subrotunda</i>	5	2	3	-
<i>P. Tenuifila</i>	2	1	1	-
<i>P. tholozanii</i>	4	4	-	-
<i>P. triloba</i>	2	2	-	-
<i>P. trintae</i>	2	2	-	-
<i>P. tripartita</i>	1	1	-	-
<i>P. vespertilio</i>	1	1	-	-
<i>P. villosa</i>	1	1	-	-
<i>P. vitifolia</i>	3	2	1	-
<i>P. watsoniana</i>	4	-	4	-
Total:	602	192	342	68

Caracterizações Genético moleculares em maracujazeiros

Nas últimas décadas, tem-se alcançado grandes avanços no desenvolvimento de técnicas da genética e biologia molecular, a exemplo dos marcadores moleculares, para identificação, caracterização e avaliação dos recursos genéticos vegetais. Dentre as principais vantagens apresentadas pelos marcadores moleculares, quando comparados aos morfológicos e bioquímicos, ressalta-se a possibilidade de obtenção praticamente ilimitada de polimorfismos genéticos que podem ser detectados em qualquer estágio de desenvolvimento de uma planta ou até mesmo em cultura de células ou tecidos, e sem influências ambientais (FALEIRO et al., 2018; MONDINI et al., 2009, FALEIRO, 2007).

Existe uma diversidade de marcadores moleculares que podem ser empregados no estudo de diferentes organismos e com diversos objetivos de pesquisa, e de maneira geral, eles podem ser baseados em hibridização (*Restriction Fragment Length Polymorphism* - RFLP), em amplificação (*Random Amplified Polymorphic DNA* - RAPD, *Inter Simple Sequence Repeat* - ISSR, *Resistance Genes Analogs* - RGA, *Amplified Fragment Length Polymorphism* - AFLP, *Simple Sequence Repeats* - SSR) ou em sequenciamento (*single nucleotide polymorphism* - SNP) (TURCHETTO-ZOLET et al., 2017).

Diante da ampla disponibilidade de marcadores moleculares, diversos fatores devem ser analisados para escolha da técnica mais adequada aos objetivos do estudo e ao organismo alvo. Os marcadores moleculares apresentam diferenças quanto ao nível de polimorfismo detectado, a abundância no genoma, a especificidade de *locus*, a reprodutibilidade e os requisitos técnicos e de custos, além do nível de conhecimento genético disponível sobre a espécie a ser caracterizada no estudo (FALEIRO et al., 2018; TURCHETTO-ZOLET et al., 2017; HAYWARD et al., 2015; MONDINI et al., 2009).

O uso de marcadores moleculares em estudos com espécies do gênero *Passiflora* iniciou-se há cerca de 20 anos com a aplicação dos marcadores RAPD (FAJARDO et al., 1998) e isoenzimas (SEGURA et al., 1998). Apesar dos avanços no quantitativo de espécies avaliadas, os estudos com marcadores moleculares restringem-se a menos de 15% das espécies do gênero, com a maioria dos estudos direcionados para as espécies ou acessos com interesse comercial (CERQUEIRA-SILVA et al., 2016; CERQUEIRA-SILVA et al., 2014a). A maioria dos estudos são baseados na aplicação de marcadores dominantes, e apesar das limitações inerentes a essa classe de marcadores, como a impossibilidade de diferenciar os *locus* em heterozigose, eles possibilitam uma caracterização rápida e de baixo custo, além de não requerer informações prévias de sequências de DNA (TURCHETTO-ZOLET et al., 2017), o que os torna adequados para o uso em espécies ainda pouco estudadas e com interesse comercial pouco explorado, situação que se aplica para a maioria das espécies de maracujazeiros.

O emprego de marcadores codominantes como os microssatélites (SSR), limitou-se, no que diz respeito as espécies silvestres de maracujazeiros, principalmente ao desenvolvimento desses marcadores e em testes de amplificação cruzada (ARAYA et al., 2017; COSTA et al., 2017; CERQUEIRA-SILVA et al., 2012a, 2012b, 2014a, 2014b; CAZÉ et al., 2012). Estimativas de diversidade genética com uso de marcadores microssatélites em maracujazeiros são limitados a acessos mantidos em bancos de germoplasma e com interesse comercial, majoritariamente de *P. edulis* (PAIVA et al., 2014b; CERQUEIRA-SILVA et al., 2014a, 2014b; PENHA et al., 2013). Estudos com o uso de marcadores baseados em sequenciamento, como os SNPs, são recentes e com quantitativo modesto para o gênero *Passiflora*, apesar de reconhecida a importância desses estudos, na elucidação sobre as relações genéticas entre as diferentes espécies do gênero, estudos de diversidade genética intra e/ou interespecífica, dentre outras informações úteis para o melhoramento da passicultura (CASTILLO et al., 2021; Wu et al., 2020; COSTA et al., 2017; CERQUEIRA-SILVA et al., 2016).

Estudos com marcadores ISSR em maracujazeiros

Os marcadores moleculares ISSR são uma técnica simples, rápida e eficiente. Apresentam características que favorecem a sua aplicação como a pequena demanda de quantidade de DNA por reação, além de requerer pouca infraestrutura de equipamentos para execução dos experimentos. Esses marcadores foram desenvolvidos a partir da necessidade de exploração de repetições de microssatélites, abundantes no genoma eucarioto, com a vantagem de não requerer o sequenciamento prévio do DNA da espécie alvo do estudo (ZIETKIEWICZ et al., 1994).

Esses marcadores são obtidos por amplificação via PCR (*Reaction Chain Polymerase*) com a utilização de primer único, constituídos de sequências repetidas de di ou trinucleotídeos (ZIETKIEWICZ et al., 1994). O iniciador utilizado pode ou não estar ancorado, sendo a condição ancorado mais frequente, com um a quatro bases ancoradas na posição 5' e 3' do iniciador, dentro das sequências flanqueadas (REDDY et al., 2002). Os produtos amplificados correspondem a uma sequência de DNA, presente entre duas regiões idênticas de microssatélites, orientadas em direções opostas (REDDY et al., 2002). Os tamanhos dos produtos amplificados são geralmente de 200-2000 pb (pares bases) de comprimento e apresentam alta reprodutibilidade, possivelmente devido ao uso de iniciadores longos (formados por mais de 10 pb). A limitação dessa classe de marcadores está relacionada ao fato de serem dominantes, o que impossibilita a distinção entre os genótipos heterozigotos e homozigotos (ZIETKIEWICZ et al., 1994).

O quantitativo de estudos de caracterização de maracujazeiros envolvendo os marcadores moleculares ISSR é modesto, totalizando 14 artigos científicos (Tabela 1), com o primeiro estudo publicado em 2011, mais de 25 anos após o desenvolvimento inicial da técnica, sendo a maioria desses estudos, caracterizações de diversidade interespecífica do gênero *Passiflora* com reduzido número de acessos avaliados, com poucos estudos de caracterização de espécies em populações naturais (OLIVEIRA et al., 2019; CARMO et al., 2017), sendo a maioria dos estudos direcionados para as espécies ou acessos com interesse comercial. Diante dessa realidade, pesquisas dedicadas a caracterizações genético populacionais e de estrutura e diversidade genética, envolvendo acessos presentes em ambientes naturais são incipientes, o que indica a necessidade de estudos para suprir essa lacuna do conhecimento.

O conhecimento dos níveis e padrões de diversidade e estrutura genética em populações naturais de espécies cultivadas é uma tarefa necessária. Além de garantir a sobrevivência da espécie, a conservação de populações silvestres de plantas cultivadas é importante por fornecer genes valiosos para programas de melhoramento dessas espécies (RÜTER, HAMRICK, WOOD, 2000).

Tabela 2. Apresentação descritiva e quantitativa de estudos publicados utilizando marcadores moleculares ISSR para o gênero *Passiflora*.

Espécie(s)	Objetivo	Origem	Referência
<i>P. alata</i> e <i>P. edulis</i>	Diversidade genética	BAG	Santos et al., 2011
<i>P. edulis</i>	Diversidade genética	BAG	Costa et al., 2012
<i>P. setacea</i>	Diversidade genética	População natural	Pereira et al., 2015
25 espécies	Diversidade genética	BAG	Sousa et al., 2015
<i>P. sublanceolata</i> e híbridos	Confirmação de retrocruzamento	-	Melo et al., 2016
<i>P. cincinnata</i>	Diversidade genética	BAG	Carmo et al., 2017
Seis cultivares	Diferenciação das cultivares	BAG	Fonseca et al., 2017
<i>P. mucronata</i>	Diversidade genética	População natural	França et al., 2017
<i>Passiflora edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Degener, <i>P. edulis</i> Sims e <i>P. alata</i> Curtis	Diversidade genética	População natural	Maciel et al., 2019
15 espécies	Diversidade genética	BAG	Oliveira et al., 2019
<i>P. cristalina</i> , <i>P. miniata</i> , <i>P. coccinea</i> , <i>P. edulis</i> e <i>P. setacea</i>	Diversidade genética	-	Viana et al., 2019
Oito variedades e 12 cultivares	Seleção de <i>primers</i>	BAG	Dias et al., 2020
<i>Passiflora</i> spp.	Diversidade genética	Áreas de cultivo	Martinez et al., 2020
<i>P. edulis</i>	Diversidade genética	População natural	HO et al., 2021

Fatores ecogeográficos

A caracterização dos fatores ecogeográficos abrange as informações ambientais acerca dos locais de ocorrência de uma planta ou população, relacionada à sua adaptação aos fatores

abióticos mais importantes (clima, temperatura, precipitação, solo e topografia) (PARRA-QUIJANO et al., 2012). Essas informações somadas aos dados genéticos e fenotípicos potencializam as estratégias de conservação e o uso de recursos genéticos vegetais (OLIVEIRA et al., 2021; MEIRA et al., 2017; PEREIRA et al., 2015a; MENDES et al., 2015; PARRA-QUIJANO et al., 2012).

Tendo em vista o crescente interesse no incremento da produção dos maracujazeiros silvestres, como *P. cincinnata* e *P. setacea* (SANTOS et al., 2021; ARAÚJO et al., 2020; ARAÚJO et al., 2019), as informações relacionadas às condições ambientais específicas das regiões de ocorrência dessas espécies poderão ser úteis de modo a auxiliar nas estratégias de cultivo e conservação.

As condições edafoclimáticas características dos ambientes em que essas espécies ocorrem, que incluem clima árido e semiárido, resultam em plantas com potencial para produção de substâncias bioativas. A síntese desses compostos ativos faz parte da complexa interação entre as plantas e as condições de estresse abiótico, típico nessa região (OLIVEIRA et al., 2021; DECARVALHO et al., 2018; SIQUEIRA et al., 2013; GOBBO-NETO et al., 2007). Diversos estudos ecogeográficos têm possibilitado a caracterização dos locais de ocorrência de espécies medicinais (OLIVEIRA et al., 2021; MEIRA et al., 2017; MENDES et al., 2015).

Os fatores ecogeográficos também têm sido correlacionados com a diferenciação genética em populações naturais. Essas informações podem auxiliar na coleta, conservação e monitoramento das espécies, sendo possível identificar os locais mais apropriados para a regeneração de recursos genéticos e para planejar programas de conservação *in situ* (SÁNCHEZ GONZÁLEZ et al., 2018; XIA et al., 2018). A conservação de populações amostradas em regiões com diferentes condições ecogeográficas deve maximizar a diversidade genética conservada (THORMANN et al., 2016).

Compostos químicos em espécies de *Passiflora*: Compostos fenólicos

Os compostos químicos originários do metabolismo secundário das plantas estão diretamente relacionados as suas atividades biológicas com aplicabilidade na saúde humana (ALBA et al., 2021). Os metabólitos secundários produzidos pelas plantas incluem compostos químicos que são produzidos em resposta a fatores bióticos e abióticos, sendo importantes na

interação das plantas com o seu ambiente (RAMAKRISHNA & RAVISHANKAR, 2011). As principais classes de metabólitos secundários são os terpenos, os compostos nitrogenados e os compostos fenólicos (CHIOCCHIO et al., 2021).

Os compostos fenólicos são uma classe de metabólitos secundários com estruturas que variam de uma simples molécula fenólica a um polímero complexo de alta massa molecular, e podem ser classificados em diferentes subgrupos de acordo com suas estruturas químicas, sendo os principais grupos, os ácidos fenólicos, flavonóides, taninos, carotenóides, estilbenos e lignanas (ALU'DATT et al., 2017). Esses compostos são produzidos em diferentes partes das plantas e desempenham papéis importantes em diversos processos fisiológicos, relacionados tanto as propriedades sensoriais, como coloração, sabor, pigmentação, como envolvidos na proteção da planta contra fatores bióticos e abióticos (ZHANG et al., 2022). Essa classe de metabólitos secundários tem despertado o interesse acadêmico e econômico devido às suas aplicações farmacêuticas e nutricionais (BALASUNDRAM et al., 2006).

Estudos fitoquímicos em espécies de *Passiflora* têm demonstrado uma composição química diversa, tais como, fenóis, glicosídeos cianogênicos, alcaloides, flavonoides e saponinas (OŽAROWSKI & KARPIŃSKI, 2021; GADIOLI et al. 2018; COSTA et al., 2016; DHAWAN et al., 2004). Pelo menos 75 compostos fenólicos, já foram descritos para o gênero, segundo revisão realizada por Gadioli et al. (2018), sendo esses compostos encontrados nas diferentes partes da planta. Dentre as espécies do gênero, *P. edulis*, *P. incarnata* e *P. alata* têm sido as mais amplamente investigadas (GADIOLI et al. 2018).

As atividades biológicas e farmacológicas das espécies de *Passiflora* são atribuídas a presença dos compostos fenólicos, principalmente flavonoides (GADIOLI et al. 2018). Estudos indicam que diversas espécies de *Passiflora* apresentam atividade como sedativo, ansiolítico e antidepressivo (AYRES et al., 2015); como antidiabético (SALLES et al., 2020; ANUSOORIYA et al., 2014); antibacteriana (CALDERON et al., 2019); anti-inflamatória (SHANMUGAM et al., 2019; FIGUEIREDO et al., 2016; CAZARIN et al., 2015); e atividade antioxidante (AGUILLÓN-OSMA et al., 2019; SHANMUGAM et al., 2019; DOUNGUE et al., 2018; COLOMEU et al., 2014; DA SILVA et al., 2013).

Apesar da maioria dos estudos serem direcionados para as espécies de maior interesse comercial, como *P. edulis*, estudos vêm sendo desenvolvidos com espécies silvestres de maracujá, dentre as quais, *P. cincinnata* e *P. setacea*. Leal et al. (2020) identificaram quatorze metabólitos secundários nos extratos de diferentes partes de *P. cincinnata*, demonstrando a

potencialidade desta espécie como fonte de compostos fenólicos e antioxidantes. Na polpa dessa espécie também foram identificados compostos fenólicos e atividade antioxidante, incluindo os altos valores de quercetina 3-glicosídeo (SANTOS et al., 2021). Estudos realizados com *P. setacea* revelaram propriedades antioxidantes (SANTANA et al., 2015), e uma composição química rica em flavonóides C -glicosídeos, homoorientina, vitexina, isovitexina e orientina (DUARTE et al., 2020).

3.2 CAPÍTULO 2

Artigo aceito para publicação no periódico *Chilean Journal of Agricultural Research* (Anexo 1)

<https://www.chileanjar.cl/>

Structure and molecular genetic diversity in natural populations and active germplasm banks of *Passiflora cincinnata* Mast.

**Thalana S.S. Silva¹, Messulan R. Meira², João Guilherme P. Vieira³, Elisa S.L. Santos^{1, 2, 6},
Onildo N. de Jesus⁴, Fábio G. Faleiro⁵, and Carlos B. Cerqueira-Silva^{1, 2, 6*}**

¹Graduate Program in Biochemistry and Molecular Biology, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, Bahia, Brazil.

²Graduate Program in Environmental Sciences, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, Bahia, Brazil.

³Center for Molecular Biology and Genetic Engineering, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil.

⁴Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, Bahia, Brazil.

⁵Embrapa Cerrados, Planaltina, Distrito Federal, Brazil.

⁶ Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Department of Exact and Natural Sciences, Itapetinga, Bahia, Brazil.

*Corresponding author (csilva@uesb.edu.br).

ABSTRACT

Passiflora cincinnata Mast. is a wild passion fruit species widely distributed in Brazil, with diverse economic potential and source of resistance to biotic and abiotic stress factors. Despite this, molecular genetic studies on this species are incipient, which limits the definition of priority regions for conservation and identification of accessions to be prospected for germplasm banks and inserted in genetic improvement programs. Thus, this study aimed to characterize the structure and genetic diversity of *P. cincinnata* accessions using Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers. The study was carried out using leaf samples from 213 accessions of *P. cincinnata*, with 158 accessions from six natural populations (collectively considered in this study as a hypothetical metapopulation) in the state of Bahia, Brazil, and the other 55 accessions from two collections of Embrapa Cerrados and Embrapa Cassava & Fruits active germplasm banks (AGBs). Genetic estimates were based on an analysis of the amplification profile of 12 ISSR primers. Descriptive statistics analysis and the polymorphic information content (PIC) and expected heterozygosity (He) estimates were carried out using the GENES software. Approaches based on the Bayesian model, principal coordinate analysis (PCoA), and analysis of

molecular variance (AMOVA) were used to assess the genetic structure. *Passiflora cincinnata* populations/collections showed high polymorphism rates. The metapopulation showed 25.3% of private markers/alleles. The metapopulation is structured in at least three genetic groups, while AGBs in two genetic groups. AMOVA indicated higher diversity within populations, with low differentiation between them.

Key words: Conservation, genetic diversity, ISSR, passion fruit, *Passiflora cincinnata*.

INTRODUCTION

The genus *Passiflora*, with more than 500 species, is considered the most representative among the genera of the family Passifloraceae (He et al., 2020), in addition to encompassing the main species of economic importance of the family, such as *P. edulis* (Faleiro et al., 2020). In Brazil, about 87 out of approximately 150 existing *Passiflora* species are considered endemic (Bernacci et al., 2020). It makes the country one of the main centers of diversity of the genus. In the state of Bahia, located in the Northeast region of Brazil, the genus is represented by 44 species widely distributed in the three biomes of the state, Cerrado, Caatinga, and Atlantic Forest (Bernacci et al., 2020).

Passion fruits, as *Passiflora* species are popularly known, have diversified economic importance, such as medicinal, ornamental, and foodstuff uses, with fruit production and commercialization standing out among the commercial activities of this genus (Cerqueira-Silva et al., 2014a; Faleiro et al., 2020). Brazil stands out on the world stage as the largest producer and consumer of passion fruit, with most of this production concentrated in the Northeast region (64.5%), especially in the state of Bahia (28.4%) (IBGE, 2019). In this context, the species with the highest commercial expression is *P. edulis* (common passion fruit), used in more than 90% of the area destined for passion fruit production in Brazil (Faleiro et al., 2020). Despite this primacy in the passion fruit production chain, there are at least 70 species of passion fruit that produce edible fruits, therefore potentially marketable and sometimes already present in small regional popular fairs (Machado et al., 2017; Faleiro et al., 2020).

Passiflora cincinnata Mast. (Figure 1), popularly known as wild passion fruit, is among the genetic resources of the genus already commercialized regionally, whose production comes mostly from extractivism and cultivated areas on a regional scale (Araújo et al., 2020). The species stands out as a wild passion fruit that has potential for diversified use, both in the food, medicinal, and ornamental fields (Machado et al., 2017; Araújo et al., 2020). It is also well appreciated in genetic improvement programs as a source of resistance to biotic and abiotic stress factors (Araújo et al., 2020). Wild passion fruit is widely distributed in Brazil, mainly in the Northeast region, with confirmed occurrence in the North, Midwest, and Southeast regions (Bernacci et al., 2020).

Molecular genetic studies on this species, especially the characterization of natural populations,

are scarce although *P. cincinnata* has ecological importance, given its wide geographic distribution in different biomes and the mentioned economic potential (Cerqueira-Silva et al., 2014a). Molecular genetic studies are essential to enable the definition of priority regions for conservation and identification of species and accessions to be prospected for germplasm banks and inserted in genetic improvement programs (Cerqueira-Silva et al., 2016; Martínez et al., 2020).

Although in recent decades an advance has been observed in the quantification of genetic characterizations of the genus *Passiflora* and diversification of the adopted molecular tools/techniques (Cerqueira-Silva et al., 2016), there is a concentration of research using species with the highest commercial interest and, mainly, accessions maintained in germplasm banks or from producing regions (Cerqueira-Silva et al., 2014b; Martínez et al., 2020). The current scenario indicates that research dedicated to the genetic characterization of natural populations of wild passion fruit is incipient (Pereira et al., 2015; Maciel et al., 2019).

Considering the reality posed for wild passion fruit species, the application of molecular biology tools, such as Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) molecular markers, allows a fast and low-cost characterization, especially useful for still poorly studied species (Turchetto-Zolet et al., 2017). Thus, this study aimed to characterize the structure and genetic diversity of *P. cincinnata* accessions present in natural populations and maintained in germplasm banks using ISSR markers.

MATERIAL AND METHODS

Biological material

The study was carried out using samples from 213 accessions of *Passiflora cincinnata* Mast., with 158 accessions from natural populations (Table 1) and 55 accessions from active germplasm banks (AGBs) (Table 2). Samples associated with natural populations were obtained from young and healthy leaves of plants collected in six municipalities in Bahia (Anagé, Encruzilhada, Caetitê, Caculé, Malhada de Pedra, and Ibiassucê), Brazil (Table 1). A specimen collected in Anagé was deposited in the State University of Southwest Bahia (UESB) herbarium under the registration HUESBVC9162. In turn, the samples related to AGBs were obtained from Embrapa Cassava & Fruits (Embrapa Mandioca e Fruticultura), located in Cruz das Almas, Bahia, totaling 41 accessions, and the Cerrado Agricultural Research Center (Embrapa Cerrados – CPAC), located in Brasília-DF, totaling 14 accessions.

The genomic DNA of accessions from natural populations were isolated from leaf samples following the protocol adapted from Doyle and Doyle (1990) and stored at -20 °C at the Laboratory of Applied Molecular Genetics (LGMA), located at UESB (Campus Juvino Oliveira) in the municipality of Itapetinga-Bahia. The DNA samples of the accessions from AGBs were obtained from the LGMA genomic DNA bank.

The concentration and quality of DNA samples were estimated by spectrophotometry using a spectrophotometer (BioDrop µLITE, Biochrom, Cambridge, UK) and electrophoresis in 1% agarose gel

(m/v) for 1 h at 90 V, with running solution 0.5X TBE (Tris-boric acid-EDTA), visualized and photo-documented on an L-PIX EX photo-documentation system (Loccus, Cotia, São Paulo, Brazil) under ultraviolet light using a nucleic acid gel stain (GelRed, Biotium, Fremont, California, USA) intercalator and a Kodak camera. The molecular weight marker Lambda (undigested Lambda DNA) (Invitrogen, Carlsbad, California, USA) was adopted as a standard to estimate the DNA concentration (ng uL^{-1}), according to the specifications described by the manufacturer.

Amplification reactions

The amplification reactions to characterize the 213 accessions of *P. cincinnata* were performed using 12 previously selected Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) primers (Table 3) (Dias et al., 2020). Reactions were carried out in a Veriti 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems, Foster City, California, USA), with a final volume of 16 μL containing 8 ng DNA, 1.7 μL 10X PCR buffer (20 mM Tris -HCl [pH 8.4] and 50 mM KCl), 1.0 μL MgCl_2 (50 mM), 1.0 μL 2.5 mM dNTP mix, 0.11 unit Taq DNA polymerase (Invitrogen), Milli-Q water, and 1.0 μL 0.8 mM primer. The amplification program involves initial denaturation at 94 °C for 5 min, followed by 34 cycles (94 °C for 50 s, 48 °C for 60 s, and 72 °C for 60 s) and a final extension at 72 °C for 5 min.

Aliquots of the amplification products were stained with GelRed intercalator (Biotium) and subjected to electrophoresis in a 2% (m/v) agarose gel for 2 h at 120 V and visualized in an L-PIX EX photo-documentation system (Loccus) under UV light. The molecular weight marker 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen) was used as a pattern of generated marks.

Analysis and estimates of structure and genetic diversity

Analyses of the amplification profile of the different ISSR primers were conducted by two evaluators. The obtained marks were used to construct a matrix of binary data in Excel, where zero (0) was assigned for the absence of markers, one (1) for their presence, and nine (9) for inconclusive data. Then, descriptive statistical analyses were carried out, such as number of markers, percentage of polymorphic markers, number of rare markers/alleles (with an occurrence equal to or less than 5% of accessions in a population/AGB), and number of private markers/alleles (only present in one population/AGB).

Estimates of polymorphic information content (PIC) and expected heterozygosity (H_e) were carried out using the Genes software (Cruz, 2006); PIC was calculated according to the formula proposed by Botstein et al. (1980):

$$\text{PIC} = 1 - \sum_{j=1}^n P_{ij}^2$$

where P_{ij} is the frequency of allele j at marker i .

According to the authors, indices below 0.25 are slightly informative; between 0.25 and 0.50, informative; and above 0.50 highly informative, where 0.50 is the maximum value reached in dominant

markers such as ISSR (Botstein et al., 1980).

The H_e was calculated as proposed by Nei (1987), applying the following formula:

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^k x_i^2$$

where x_i is the frequency of allele i and k is the number of alleles.

The Bayesian analysis of population structure estimation was performed using the STRUCTURE software version 2.3.4 (Pritchard et al., 2000). The admixture model, which admits genetic flow between samples, was assumed in these analyses, and the possibility of the existence of one to 10 genetic groups (K) was evaluated. Five replicates were performed for each K estimate, and a burn-in period of 50000 was considered in each replicate/estimate, followed by 500000 replicates. The estimation of the number of genetic groups that best represents the distribution of diversity was performed using the online tool STRUCTURE Harvester (Earl and vonHoldt, 2012), using the method proposed by Evanno et al. (2005).

Principal coordinate analysis (PCoA) and analysis of molecular variance (AMOVA), with 999 bootstraps (random permutations), were performed to observe the genetic variation and its distribution/structuring. The analyses were performed using the GenALEX v.6.5 software (Peakall and Smouse, 2012).

RESULTS AND DISCUSSION

Amplification reactions from the 12 ISSR primers, considering the 213 accessions of *P. cincinnata*, produced 142 markers, all polymorphic, with a mean of 11.8 markers per primer (Table 3). Primers TriCGA3`RC and TriGCC3`RC produced the lowest (nine) and highest (15) number of markers, respectively (Table 3). The PIC values ranged from 0.23 (TriGTG3`YC) to 0.33 (TriCAC3`YC) (mean of 0.28), most of them classified as informative (DiGA3`T, DiCA3`RG, DiCA3`YG, TriCAC3`YC, TriCAC5`CY, TriCGA3`RC, TriGAC3`RC, TriGCA3`RC, and TriGCC3`RC) (Table 3).

The descriptive analyses showed differences for all the variables (i.e., number of markers, percentage of polymorphism, private alleles, rare alleles, and PIC) in the six natural populations in both germplasm banks and, mainly, between accessions of natural populations and germplasm banks (Table 4). The number of markers ranged from 100 (Ibiassucê) to 137 (Anagé) for natural populations and 72 (Embrapa Cerrados) to 103 (Embrapa Cassava & Fruits) for AGBs (Table 4). Together, the six natural populations (considered in this study as a hypothetical metapopulation) totaled 142 markers, while 106 markers were observed in the two germplasm banks (Table 4). The percentage of polymorphism was $\geq 75\%$ in all populations and banks, the highest percentage being observed for the Embrapa Cassava & Fruits collection (87.4%), and the lowest for the Embrapa Cerrados collection (75%) (Table 4). The PIC estimates showed mean values ranging from 0.21 (Anagé) to 0.30 (Embrapa Cerrados). The H_e

estimates between populations/AGBs showed values ≥ 0.28 , ranging from 0.28 (Anagé) to 0.38 (Embrapa Cerrados) (Table 4).

The percentages of polymorphism found at the species level (100%) (Table 3) and between populations/collections ($\geq 75\%$) (Tables 4) are similar to the data available in the literature for different species of the genus *Passiflora* based on ISSR primers (Ho et al., 2021; Martínez et al., 2020; Vianna et al., 2019; Maciel et al., 2019; Fonseca et al., 2017; Pereira et al., 2015; Sousa et al., 2015; Costa et al., 2012 order chronologically), with percentages ranging from 75 (Martínez et al., 2020) to 100% (Ho et al., 2021). The observed polymorphism rates may be associated with the flower anatomy, which, although presenting anatomical characteristics of complete flowers with the two reproductive organs, gynoecium and androecium, present self-incompatibility due to floral morphology. Thus, they require cross-pollination by floral visitors, which contributes to the increase in the genetic variability of the species of the genus, especially *P. cincinnata* (Kiill et al., 2010; Araújo et al., 2020).

Thirty-six private alleles were identified in natural populations when considering the hypothesis of the existence of a metapopulation compared to AGBs (Table 4). In turn, a total of 29 private alleles/markers were observed among germplasm banks, most of them (26) in the Embrapa Cassava & Fruits AGB. Seven private alleles/markers were identified among natural populations, all of them present in the Anagé population. In turn, regarding the identification of rare alleles/markers, considering the metapopulation hypothesis, only two rare alleles were observed in the set of 158 accessions. Three rare alleles/markers were observed when the two AGBs were evaluated, all of them present in the Embrapa Cassava and Fruits AGB. Seven alleles/markers were identified among natural populations, four of them in the Anagé population and three in the Encruzilhada population.

Of the observed 142 markers, 25.3% were alleles present only in the metapopulation (private alleles) (Table 4), that is, they were not detected in both AGBs. All private alleles/markers among natural populations were found in the Anagé population, and one of them was also rare. The presented scenario emphasizes the importance of characterizing natural populations of *P. cincinnata* so that the prospection strategies for accessions to be conserved in AGBs and/or inserted in genetic improvement programs and the indication of areas to be conserved are better targeted. Although *P. cincinnata* is widely distributed in Brazil (Bernacci et al., 2020) and does not present extinction risk assessments (IUCN, 2021), most of the populations studied here are present in anthropized environments, such as roadsides, and most of the fruit commercialization is based on extractivism, factors that together can jeopardize the species survival. Studies that characterize the diversity of natural populations become even more important (Cerqueira Silva et al., 2014b; Cerqueira Silva et al., 2015) when considering the presence of private and rare markers/alleles, given that they may be linked to genes of agronomic interest (Reis et al., 2011).

The Bayesian analysis indicated the existence of two genetic groups (Figure 2A) in the natural populations and germplasm banks of *P. cincinnata* as the most likely. The structuring in two genetic groups showed a predominance of a genetic group represented by the green color for the metapopulation accessions (approximately 72%), while the second genetic group was represented by the red color for

the AGB accessions (100%) (Figure 2A).

The structure evaluation indicated the existence of three genetic groups as the most likely when considering only the metapopulation hypothesis (Figure 2B). The first genetic group was formed by 24 out of the 26 accessions of the Anagé population and one accession of the Caculé population (represented by the red color in the histogram); the second genetic group was formed by all 44 accessions of the Encruzilhada and Ibiassucê populations and three accessions of the Caculé population (represented by the green color in the histogram) and; the third genetic group was composed of 58 out of the 60 accessions from the Caetité and Malhada de Pedra populations (represented by the blue color in the histogram). In turn, 24 out of the 28 accessions of the Caculé population, together with four accessions of the other populations, were identified as a mixture of the second and third genetic group, as they did not reach the minimum percentage of 70% of a single genetic group in their composition. Accessions belonging to AGBs were grouped into two distinct subgroups when evaluated separately from natural populations (Figure 2C). The first subgroup was composed of 36 out of the 41 Embrapa Cassava & Fruits accessions (represented by the yellow color in the histogram), whereas the second subgroup was composed of 12 out of the 14 Embrapa Cerrados accessions (represented by the gray color in the histogram). The other seven accessions were classified as a mixture, adopting the same criteria used in natural populations.

The formation of an exclusive genetic group, represented by the red color, for accessions of the Anagé population may be related to the fact that 7 markers/alleles were exclusive to this population. The second genetic group was mostly shared by the Encruzilhada and Ibiassucê accessions. The genetic similarity seems to indicate that human interference has occurred in the distribution of the species despite the distance of about 258 km between the municipalities. Natural dispersion and selection processes may not have been the main force shaping the genetic structure since environmental factors are also different between environments. The third genetic group shared between the Malhada de Pedras and Caetité accessions can be explained by the predominance of the Caatinga biome in these municipalities. Larger geographic distances associated with smaller genetic distances can be observed between populations located within the same geo-environmental unit (Pereira et al., 2015). Conserving populations sampled in the widest possible range of ecogeographic conditions should maximize conserved genetic diversity (Thormann et al., 2016).

The scatter plot obtained by PCoA (Figure 3) allowed the observation of a wide genetic diversity among populations/collections. The results obtained through PCoA corroborate the sub-structuring hypothesis obtained by the Bayesian analysis in three and two genetic groups for the metapopulation and AGBs, respectively (Figures 2B and 2C), showing a grouping of populations/collections that share the same genetic group. The groups formed in the PCoA graph show the separation between metapopulation and AGBs, with the genetic composition of each population/collection. The AGBs differed from each other in terms of the polymorphism rate (Table 3) and genetic group composition (Figures 2C and 3), which demonstrates the importance of maintaining the species in different AGBs.

The implementation of an AMOVA revealed that the highest percentage of variation occurred within (99%) and not between populations (1%). Pereira et al. (2015) found similar results when evaluating the use of ISSR markers in 259 accessions of *P. setacea* distributed in 12 municipalities in the state of Bahia. The higher genetic diversity found within populations and not between populations (Table 4) may also be related to self-incompatibility due to floral morphology observed in *Passiflora* species (Araújo et al., 2020), which would lead to an increase in the polymorphism rate of species from the same population, thus increasing genetic variability. Although the flowers of *P. cincinnata* are hermaphroditic, they present the strategy of herkogamy, thus reducing inbreeding depression (Kiill et al., 2010).

CONCLUSIONS

Passiflora cincinnata populations showed high polymorphism rates. The metapopulation showed 25.3% of private markers/alleles. Natural populations are structured in at least three genetic groups, while AGBs are in two genetic groups. Analysis of molecular variance indicated higher diversity within populations, with low differentiation between them.

The knowledge about the variability and genetic structure of *P. cincinnata* presented in this study is important regarding the elaboration of collection strategies and expeditions to compose germplasm banks and make in situ and ex situ conservation programs more efficient. A large proportion of the variability present within populations suggests that fewer populations will be needed for a representation of *P. cincinnata* diversity. Material collection from the Anagé population is suggested to be prioritized since 7 alleles are deprived of this population.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the Foundation for Research Support of the State of Bahia (FAPESB TO PIE 0014/2016 and TO APP005/2016) and CNPQ (No. 431493/2016.2), the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), and the Graduate Programs (PPGCA/UESB and PMBqBM/ UESB) of the State University of Southwest Bahia (UESB) for granting scholarships to promote the research.

REFERENCES

- Araújo, F.P., Melo, N.F., Aidar, S. de T., Faleiro, F.G., and Jesus, O.N. 2020. Maracuyá de la Caatinga: *Passiflora cincinnata* Mast. In Carlosama, A.R., Faleiro, F.G., Morera, M.P., Costa, A.M. (eds.) 2020. PASIFLORAS especies cultivadas en el mundo. ProImpress, Brasília, D.F., Brasil.
- Bernacci, L.C., Nunes, T.S., Mezzonato, A.C., Milward-de-Azevedo, M.A., D.C. Imig and Cervi, A.C. (in memoriam). 2020. *Passiflora* in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

- Available at <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB12506> (accessed September 2020).
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., and Davis, R.W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32:314-331.
- Cerqueira-Silva, C.B.M., Faleiro, F.G., Jesus, O.N., Santos, E.S.L. and Souza, A.P. 2016. The genetic diversity, conservation, and use of passion fruit (*Passiflora* spp.) In Ahuja, M.R., and Jain, S.M. (eds.) *Genetic diversity and erosion in plants - case histories*, v.2. Springer International Publishing, Switzerland, 2016. doi:10.1007/978-3-319-25954-3_5.
- Cerqueira-Silva, C.B.M., Nunes, O., Santos, E.S.L., Corrêa, R.X., and Souza, A.P. 2014a. Genetic breeding and diversity of the Genus *Passiflora*: Progress and perspectives in molecular and genetic studies. *International Journal of Molecular Sciences* 15:14122-14152. doi:10.3390/ijms150814122.
- Cerqueira-Silva, C.B.M., Santos, E.S.L., Jesus, O.N., Vieira, J.G.P., Mori, G.M., Corrêa, R.X., et al. 2014b. 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. doi:10.3390/ijms151222933.
- Cerqueira-Silva, C.B.M., Faleiro, F.G., Nunes, O., Santos, E.S.L., and Souza, A.P. The Genetic Diversity, Conservation, and Use of Passion Fruit (*Passiflora* spp.). In Ahuja, M., and Jain, S. (eds.) 2015. *Genetic Diversity and Erosion in Plants. Sustainable Development and Biodiversity*, vol 8. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-25954-3_5.
- Costa, J.L., Jesus, O.N.D., Oliveira, G.A.F., and Oliveira, E.J.D. 2012. Effect of selection on genetic variability in yellow passion fruit. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 12:253-260. doi:10.1590/S1984-70332012000400004.
- Cruz, C.D. 2006. *Programa Genes: Análise multivariada e simulação*. Editora da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.
- Dias, N.D.S.C., de Souza, L.N.B., Santana, V.D.O., Meira, M., Santos, E., Faleiro, F., et al. 2020. Characterization and selection of ISSR molecular markers in species of *Passiflora* spp. *Multi-Science Journal* 3(3):17-22. doi:10.33837/msj.v3i3.1290.
- Doyle, J.J., and Doyle, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.
- Earl, D.A. and vonHoldt, B.M. 2012. STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* 4:359-361.
- Evanno, G., Regnaut, S., and Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Molecular Ecology* 14:2611-2620.
- Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., de Jesus, O.N., Cenci, S.A., Machado, C.F., Rosa, R.C.C., et al. 2020. Maracuyá: *Passiflora edulis* Sims. In Carlosama, A.R., Faleiro, F.G., Morera, M.P., Costa, A.M. (eds.) 2020. *PASIFLORAS especies cultivadas en el mundo*. ProImpress, Brasília, D.F., Brasil.

- Fonseca, K.G.D., Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Barth, M., and Feldberg, N.P. 2017. Morphoagronomic and molecular characterization of ornamental passion fruit cultivars. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 52(10):849-860.
- He, X., Luan, F., Yang, Y., Wang, Z., Zhao, Z., Fang, J., et al. 2020. *Passiflora edulis*: An insight into current researches on phytochemistry and pharmacology. *Frontiers in Pharmacology* 11:617. doi:10.3389/fphar.2020.00617.
- Ho, V.T., Ngo, T.K.A., Phan, T.H.T., Ta, T.T.T., and Tran, T.K.P. 2021. Genetic diversity among passion fruit (*Passiflora edulis*) accessions of southern Vietnam using RAPD and ISSR markers. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics* 53(1):1-14.
- IBGE. 2019. Produção agrícola municipal. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), Rio de Janeiro, Brasil. Available at http://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_pdf/dados/brasil/maracuja/b1_maracuja.pdf (accessed August 2020).
- IUCN. 2021. Lista vermelha de espécies ameaçadas da IUCN. Versão 2021-2. Available at <https://www.iucnredlist.org> (accessed 20 August 2021).
- Kiill, L.H.P., Siqueira, K.M.M., De Araújo, F.P., Trigo, S.P.M., E. Feitoza, De A., e Lemos I.B. 2010. Biologia reprodutiva de *Passiflora cincinnata* Mast. (Passifloraceae) na região de Petrolina (Pernambuco, Brasil). *Oecologia Australis* 14 (1):115-127.
- Maciel, K.S., de Lima, P.A.M., Madalon, F.Z., Ferreira, M.F.S., Alexandre, R.S., and Lopes, J.C. 2019. Genetic diversity in passion fruit plants at different altitudes. *Australian Journal of Crop Science* 13(7):1083-1093. doi:10.21475/ajcs.19.13.07.
- Machado, C.F., Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Araujo, F.P. de, Costa, A.M., Junghans, T.G. 2017. Espécies silvestres de maracujazeiro comercializadas em pequena escala no Brasil. In Junghans, T.G., e Jesus, O.N. de (eds.) 2017. Maracujá do cultivo à comercialização. Embrapa, Brasília, D.F., Brasil.
- Martínez, M.A., Morillo, A.C., and Reyes-Ardila, W. 2020. Characterization of the genetic diversity in *Passiflora* spp. in the Boyacá Department, Colombia. *Chilean Journal of Agricultural Research* 80:342-351. doi:10.4067/S0718-58392020000300342.
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York, USA.
- Peakall, R., and Smouse, P.E. 2012. GenAIEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. *Bioinformatics* 28:2537-2539.
- Pereira, D.A., Corrêa, R.X., and Oliveira, A.C. 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. doi:10.1016/j.bse.2014.12.020.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., and Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-959.
- Reis, R.V., Oliveira, E.J., Viana, A.P., Pereira, T.N.S., Pereira, M.G., e Silva, M.G.M. 2011. Diversidade

- genética em seleção recorrente de maracujazeiro amarelo detectada por marcadores microssatélites. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 46(1):51-57. doi:10.1590/S0100-204X2011000100007.
- Sousa, A.G.R., Souza, M.M., Melo, C.A.F., and Sodré, G.A. 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. doi:10.4238/2015.December.23.41.
- Thormann, I., Reeves, P., Reilley, A., Engels, J.M.M, Lohwasser, U., B rner, A., et al. 2016. Geography of genetic structure in barley wild relative *Hordeum vulgare* subsp. *spontaneum* in Jordan. *PLOS ONE* 11(8):e0160745. doi:10.1371/journal.pone.0160745.
- Turchetto-Zolet, A.C., Turchetto, C., Zanella, C.M., e Passaia, G. (organizadores). 2017. Marcadores moleculares na era gen mica: Metodologias e aplica es. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, Brasil. Available at <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/206114/001056131.pdf?sequence=1>
- Vianna, L., Pereira, T., Santos, E., Vianna, A., Pereira, M., Ramos, H., et al. 2019. ISSR and SSR markers for determining genetic relationships among three wild species of *Passiflora*. *Genetic and Molecular Research* 18:1-10. doi:10.4238/gmr18040.

Figure 1. *Passiflora cincinnata*, the wild passion fruit, in the native environment of occurrence (A), with emphasis on flowers and fruits in the process of development (B). Personal collection.



Figure 2. Histograms (based on Delta K values) representing the distribution of probable genetic groups for the 213 *Passiflora cincinnata* accessions representative of six natural populations and two active germplasm banks (AGB) collections of Embrapa Cerrados and Embrapa Cassava & Fruits (A); substructure considering the analysis of the metapopulation (B) and two AGBs (C). The colors used in the histograms represent the most likely ancestry of the group from which the individuals were derived.

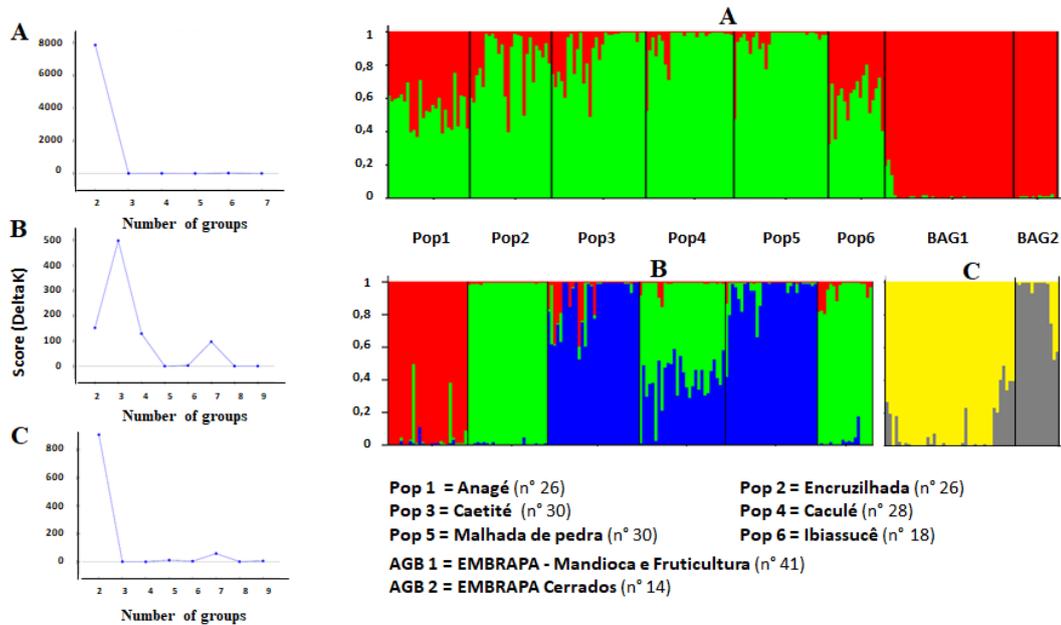


Figure 3. Scatter plot based on principal coordinate analysis (PCoA). The pie charts represent a mean of the total gene composition of each evaluated population/collection.

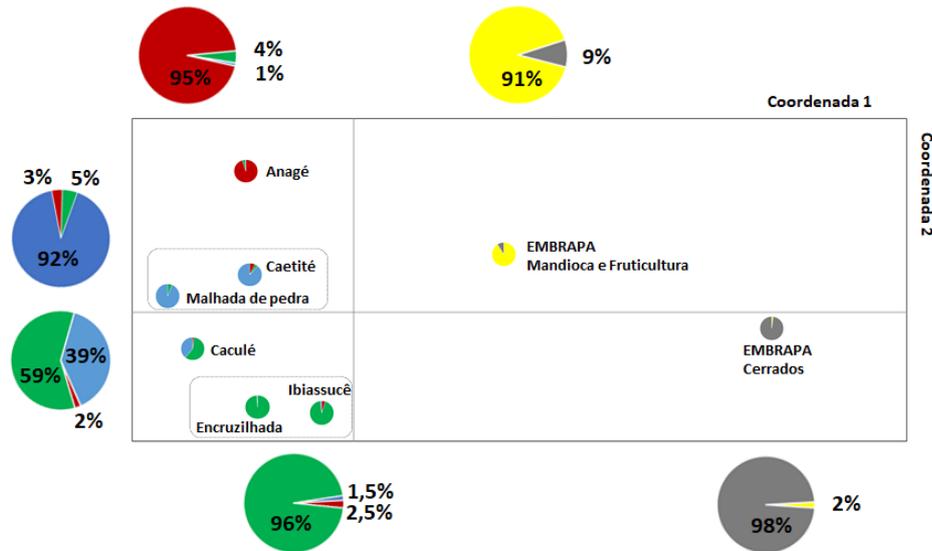


Table 1. Populations of *Passiflora cincinnata* sampled in six municipalities in the state of Bahia, with data on collection site, geographic coordinates, altitude, precipitation, and temperature

Site	Geographical coordinates	Altitude m a.s.l.	Precipitation mm	Temperature °C
Encruzilhada	15°31'38.8" S 40°59'02.6" W	814	649	17-26
Anagé	14°38'50.7" S 41°03'49.2" W	745	595	18-28
Malhada de Pedras	14°14'.55.9" S 42°35.24.9" W	639	781	15-31
Ibiassucê	15°15'.06.0" S 40°15'.10.5" W	481	717	18-28
Caculé	14°29'.00.7" S 42°15'.66.3" W	676	672	18-28
Caetité	14°06'.24.1" S 42°35'.24.9" W	732	982	17-27

Table 2. Description and identification of *Passiflora cincinnata* accessions used in the study according to the active germplasm bank (AGB) of origin.

Active germplasm bank (AGB)	Code	Number of plants	Origin
Embrapa Mandioca e Fruticultura	BGP200	3	São Paulo
	BGP300	3	Bahia
	BGP-483	2	Mato Grosso do Sul
	BGP297	2	Bahia
	BGP422	3	Bahia
	BGP421	3	Bahia
	BGP268	3	Bahia
	BGP-279	3	Bahia
	BGP-481	3	Bahia
	BGP398	3	Bahia
	BGP-246	3	Bahia
	BGP-243	3	Bahia
	BGP-276	3	Bahia
	BGP-239	3	Bahia
	BGP016	1	Alagoas
Subtotal		41	
Embrapa Cerrados	CPAC MJ -26-03 (PL1)	1	PMGP CPAC
	CPAC MJ -26-03 (PL2)	1	
	CPAC MJ -26-03 (PL3)	1	
	CPAC MJ -26-03 (PL4)	1	
	CPAC MJ -26-03 (PL5)	1	
	CPAC MJ -26-03 (PL6)	1	
	CPAC MJ -26-03 (PL7)	1	
	CPAC MJ -26-03 (PL8)	1	
	CPAC MJ -26-03 (PL9)	1	
	CPAC MJ -26-03 (PL10)	1	
	CPAC MJ -26-03 (PL11)	1	
	CPAC MJ -26-03 (PL12)	1	
	CPAC MJ -26-03 (PL13)	1	
	CPAC MJ -26-03 (PL14)	1	Minas Gerais
Subtotal		14	
Total		55	

Table 3. Description of 12 ISSR primers, number of observed markers, estimates of polymorphic information content (PIC), and expected heterozygosity (He) from the genetic characterization of 213 *Passiflora cincinnata* accessions.

Code	Sequence (5' → 3')	Number of markers*	PIC	He
DiGA3`T	(GA) ₈ T	11	0.29	0.37
DiCA3`G	(CA) ₈ G	14	0.24	0.30
DiCA3`RG	(CA) ₈ RG	10	0.28	0.35
DiCA3`YG	(CA) ₈ YG	12	0.31	0.39
TriCAC3`YC	(CAC) ₅ YC	11	0.33	0.42
TriCAC5`CY	(CAC) ₅ CY	11	0.25	0.30
TriGTG3`YC	(GTG) ₅ YC	13	0.23	0.29
TriACG3`RC	(ACG) ₅ RC	13	0.24	0.30
TriCGA3`RC	(CGA) ₅ RC	15	0.28	0.35
TriGAC3`RC	(GAC) ₅ RC	12	0.30	0.38
TriGCA3`RC	(GCA) ₅ RC	11	0.25	0.32
TriGCC3`RC	(GCC) ₅ RC	9	0.32	0.40
Total		142	0.28	0.35

*100% polymorphic markers considering the evaluation of 213 *Passiflora cincinnata* accessions.

Table 4. Descriptive analyses, estimates of polymorphic information content (PIC) and expected heterozygosity (He), obtained from the characterization of 213 *Passiflora cincinnata* accessions based on ISSR primers.

Population/Collection	Number accessions	Number markers	Private alleles	Rare alleles	Polymorphism percentage	PIC	He
Anagé	26	137	7	4	78.1	0.21	0.28
Encruzilhada	26	109	0	3	83.5	0.26	0.33
Caetité	30	108	0	0	86.1	0.26	0.33
Caculé	28	114	0	0	78.0	0.24	0.30
Malhada de Pedra	30	115	0	0	77.4	0.24	0.30
Ibiassucê	18	100	0	0	77.0	0.24	0.30
Metapopulation	158	142	36	2	97.9	0.28	0.35
Embrapa Mandioca e Fruticultura	41	103	26	3	87.4	0.23	0.30
Embrapa Cerrados	14	72	3	0	75.0	0.30	0.38
Active germplasm banks	55	106	0	3	95.2	0.27	0.33

Table 5. Analysis of molecular variance (AMOVA) based on ISSR primers for the 213 *Passiflora cincinnata* accessions.

	DF	SS	MS	Var	%
Entre	7	4.453	0.636	0.006	1
Dentro	205	99.105	0.483	0.483	99
Total	212	103.559		0.489	100

PhiPT = 0.012 P(rand \geq data) 0.001

DF: Degrees of freedom; SS: sum of squares; MS: mean squares; Var: estimated variation; PhiPT: value for genetic variability for dominant markers, P (rand \geq data) Probability for PhiPT based on standard permutation across the entire data set.

3.2 CAPÍTULO 3

Caracterização ecogeográfica de duas espécies de maracujá (*P. cincinnata* e *P. setacea*) nativas do centro-sul baiano

Thalana S.S. Silva, Messulan R. Meira, Carlos B. Cerqueira-Silva *

*definição de coautores e/colaboradores ainda não finalizada para esse artigo.

Resumo: *Passiflora cincinnata* e *P. setacea* são duas espécies nativas do semiárido nordestino com predominância nos biomas Caatinga e Cerrado, com ampla distribuição na mesorregião centro-sul baiano. Essas espécies são reconhecidas pela produção de bioflavonoides, porém, apesar da importância terapêutica e nutricional, pouco se conhece quanto aos aspectos ecogeográficos, morfológicos e ecofisiológicos. Portanto, objetivou-se caracterizar os atributos físico-químico e granulométricos do solo bem como as condições edafoclimáticas em 12 locais (Divisa Alegre, Encruzilhada, Assentamento Primavera, Cândido Sales, Vitória da Conquista, Anagé, Serra dos Pombos, Malhada de Pedra, Ibiassucê, Caculé, Urandi e Caetité) de ocorrência natural de *P. cincinnata* e *P. setacea* na mesorregião centro-sul baiano. Os resultados identificaram os ambientes pertencentes à ecotonos dos biomas Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica. Nestas fitofisionomias, os solos variam entre cambissolo, latossolo e planossolo e apresentam textura arenosa com pH ácido. Também apresentam características ecogeográficas variadas com altitudes entre 481 e 929 metros, precipitação entre 478 e 1.644 milímetros e temperatura média variando entre 15 e 31 graus. Os locais com temperaturas médias de até 28°C, altitude entre 670 e 860 m, pH 4,3-5,11, saturação por base <50 e H+Al entre 2-5, favorece as duas espécies. Temperaturas altas de até 31°C, pH entre 5 e 6, saturação por base > 50 e H+Al ≤ 1,5, favorece *P. cincinnata*. E ambientes com temperaturas de até 27°C, altitudes superiores a 900 m, pH médio de 4,5, saturação por base média de 30 e H+Al média de 3, favorece *P. setacea*.

Palavras-chave: Adaptação ambiental, ecogeografia, recursos genéticos, *Passiflora cincinnata*, *Passiflora setacea*.

Abstract: *Passiflora cincinnata* and *P. setacea* are two native species from the northeastern semiarid region, predominantly in the Caatinga and Cerrado biomes, with wide distribution in the central-southern mesoregion of Bahia state. These species are recognized for the production of bioflavonoids, however, despite their therapeutic and nutritional importance, little is known about ecogeographic, morphological and ecophysiological aspects. Therefore, the goal was to characterize the physiochemical and granulometric attributes of the soil as well as the edaphoclimatic conditions in 12 locations (Divisa Alegre, Encruzilhada, Assentamento Primavera, Cândido Sales, Vitória da Conquista, Anagé, Serra dos Pombos, Malhada de Pedra, Ibiassucê, Caculé, Urandi and Caetité) of naturally occurring *Passiflora cincinnata* and *Passiflora setacea* in the central-southern mesoregion of Bahia. The results identified the environments belonging to the ecotones of the Cerrado, Caatinga and Mata Atlântica biomes. In these phytophysionomies, the soils varied between cambisol, oxisol and planossol and

presented a Sandy texture with acidic pH. They also have varied ecogeographic characteristics with altitudes between 481 and 929 meters, precipitation between 478 and 1.644 milimeters and average temperature ranging between 15 and 31 degrees. Sites with average temperatures of up to 28 degrees, altitude between 670 and 860 meters, pH between 4.3 and 5.11, base saturation smaller than 50 and H+Al between 2-5 favor both species. High temperatures up to 31 degrees, pH between 5 and 6, base saturation bigger than 50 and H+Al smaller equal 1.5 favor *P. cincinnata*. And environments with temperatures of up to 27 degrees, altitudes above 900 meters, average pH of 4.5, average base saturation of 30 and average H+Al of 3, favors *P. setacea*.

Keywords: Environmental adaptation, ecogeography, genetic resources, *Passiflora cincinnata*, *Passiflora setacea*.

Introdução

O gênero *Passiflora* é o mais importante da família Passifloraceae. No Brasil, existem uma grande diversidade concentrada na região Centro-Norte do país, com aproximadamente 120 espécies (LEAL et al., 2020; PEREIRA et al., 2015). Desse número, estima-se que 83 sejam endêmicas e de alto valor nutricional (FALEIRO et al., 2005). Em que 44 espécies ocorrem no estado da Bahia com ampla distribuição (BERNACCI et al., 2020). Dentre as espécies economicamente viáveis estão os maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.) e o maracujá-do-sono (*Passiflora setacea* DC.).

Passiflora cincinnata, é nativa do semiárido nordestino, possui flores arroxeadas com frutos verde-palha opaca (MONTE; SANTOS, 2021). Os frutos possuem sabor ácido com aroma frutado devido aos ésteres presentes nos voláteis da polpa (D'ABADIA et al., 2020). Toda a espécie é rica em bioflavonóides com alta atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e controle de bactérias patogênicas, antioxidante, anti hepatotóxica, anti ulcerogênica, anti inflamatória e sedativa (LEAL et al., 2020; COSTA et al., 2020).

Passiflora setacea D.C. também é silvestre, predominante nos biomas Caatinga e Cerrado (OLIVEIRA; RUGGIERO, 2005). Possui flores brancas de aroma floral e adocicado contendo monoterpenos Trans- β -Ocimeno, composto responsável pela visitação dos quirópteros nectarípagos, seu agente polinizador efetivo (DE OLIVEIRATEIXEIRA et al., 2019; RANGEL JUNIOR, 2018; EMBRAPA, 2015; SIQUEIRA et al, 2009). Também é produtora de flavonoides de alto valor anti-inflamatório e antioxidante, neuroprotetor, ansiolítico, antidepressivo e hipoglicemiante (DUARTE et al., 2020; DE CARVALHO et al., 2018; GOMES et al., 2017).

As duas espécies possuem ampla distribuição nas regiões nordeste e são resistentes à seca prolongada e ao ataque de fitopatógenos (CARMO et al., 2017; ATAÍDE et al., 2012). Esses atributos fazem dessas plantas promissoras para a produção de cultivares resistentes e altamente produtivos. Porém, ainda carecem de estudos quanto à morfologia reprodutiva e aspectos fisiológicos (SANTOS et al., 2016). A falta de informações sobre as espécies é devido à perda de habitat, o que levou à vulnerabilidade ambiental com consequente perda de populações nativas provocados pelas atividades antrópicas. Entretanto as plantas restantes encontram-se em processo de adaptação ao atual cenário ecossistêmico (LEAL et al., 2020).

Para evitar a erosão genética vegetal, muitas espécies têm sido mantidas em coleções *ex situ* de forma cultivada. Entretanto a melhor forma de conservar esses recursos é mantê-los em seu ambiente de origem. Mas para isso, caracterizar ecogeograficamente e conhecer a influência das questões antrópicas nas populações nativas de interesse econômico faz-se necessário. Uma vez que não é possível conservar de forma *ex situ* todas as plantas, pois a manutenção do banco de germoplasma exige recursos e mão de obra qualificada o que onera o custo (ZONNEVELD et al., 2018).

Portanto, informações dessa natureza norteará estudos continuados de diversidade e melhoramento genético no âmbito de manejo e conservação dessas espécies. Tornando a exploração desses recursos mais consciente e garantindo a permanência do ecossistema o mais próximo possível do original para atender as futuras gerações (ZONNEVELD et al., 2018; ZHIVOTOVSKY et al., 2015; GRAUDAL et al., 2014). Diante do exposto, objetivou-se caracterizar os atributos físico-químico e granulométricos do solo bem como as condições edafoclimáticas em 12 locais de ocorrência natural de *P. cincinnata* e *P. setacea* na mesorregião centro-sul baiano.

Material e Métodos

O estudo foi conduzido de janeiro de 2019 a Julho de 2020 em 12 locais de ocorrência de *P. setacea* e *P. cincinnata* na mesorregião sudoeste da Bahia. A região é caracterizada pelo clima semiárido cujo bioma predominante é Caatinga. A vegetação da região é composta por espécies herbáceas, arbóreas e arbustivas xeromórfitas (PRADO, 2003). Os ambientes foram previamente localizados por meio de consulta às informações contidas no banco do INCT-Herbário virtual da Flora e dos Fungos e pelo sistema de informações de coleções científica *SpeciesLink* e por meio de caminhada na região. Os locais de ocorrência foram identificados por GPS (Global Positioning System) Oregon 550 Garmi®, pelo qual foi determinado as

coordenadas geográficas (Latitude e Longitude) e dados de altitude. A partir dessas coordenadas efetuou-se a confecção da carta temática com os pontos de ocorrência das espécies nos 12 locais da mesorregião.

Os dados para a confecção da carta foram extraídos dos arquivos vetoriais disponibilizados pelo IBGE (2021), os quais foram importados para o SIRGAS 2000 (Sistema de Referência Geocêntrico para as Américas) cujo código EPSG foi o 31983 com projeção Datum em UTM zona 23s. Para classificação dos ambientes de ocorrência das espécies, identificou-se o bioma, o tipo de vegetação, a precipitação média anual e temperatura média anual, utilizando cartas temáticas disponibilizadas pelo IBGE (IBGE, 2021).

Em cada local de ocorrência das espécies, coletou-se material botânico. O critério utilizado nessa etapa foi coletar exemplar florido para confecção de exsicatas e coletar folhas jovens e tecido meristemático para futuro estudo genético molecular. A população que apresentou mais de 60 indivíduos, foi coletado amostras de 30 indivíduos e as populações com baixa densidade populacional, coletou-se um exemplar de cada indivíduo representativo.

Para as análises das propriedades químicas do solo, foram realizadas amostragens e cada local de ocorrência na camada de 0-20 cm de profundidade, com o auxílio de um trado holandês, sendo realizadas cinco tradagens por local para formar cada amostra composta. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Análise de Solos Campo®- Paracatú-MG onde foram realizadas as análises químicas e granulométricas. As determinações analíticas foram obtidas segundo as marchas de extração e determinação proposta pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 1997) as quais estão de acordo com os métodos analíticos recomendados pela Comissão de Fertilidade do Solo. Os solos foram classificados de acordo o Sistema de Classificação de Solos Brasileiro (SANTOS et al., 2018).

Os dados das análises química e granulométrica dos locais de ocorrência das espécies foram submetidos à análise da componente principal (ACP). Primeiramente as variáveis foram submetidas à correlação de Pearson (r) ($p \leq 0,05$), a fim de verificar se as mesmas possuíam correlação mínimas o suficiente que justificassem seu uso na matriz de dados. A retenção dos eixos da ACP a serem interpretados foi pela redução do conjunto de dados em combinações lineares, gerando escores em torno de 90% da variação total. O que permitiu identificar as propriedades químicas mais relevantes na discriminação dos diferentes locais de ocorrência. A partir da matriz de correlação gerada, foi possível separar grupos com base em suas medidas. Esta análise foi realizada utilizando o software estatístico Ntsys-pc 2.1 (ROHLF, 2000).

Resultados e Discussão

Os 12 ambientes de coleta estão localizados na mesorregião centro-sul (ou sudoeste) Baiano, pertencente a quatro microrregiões, a de Guanambi (Caculé, Caetitê, Ibiassucê e Urandi), de Brumado (Malhada de Pedras), de Vitória da Conquista (Vitória da Conquista, Anagé, Serra dos Pombos, Cândido Sales e Divisa Alegre) e de Itapetinga (Encruzilhada e Assentamento Primavera) (Figura 1).

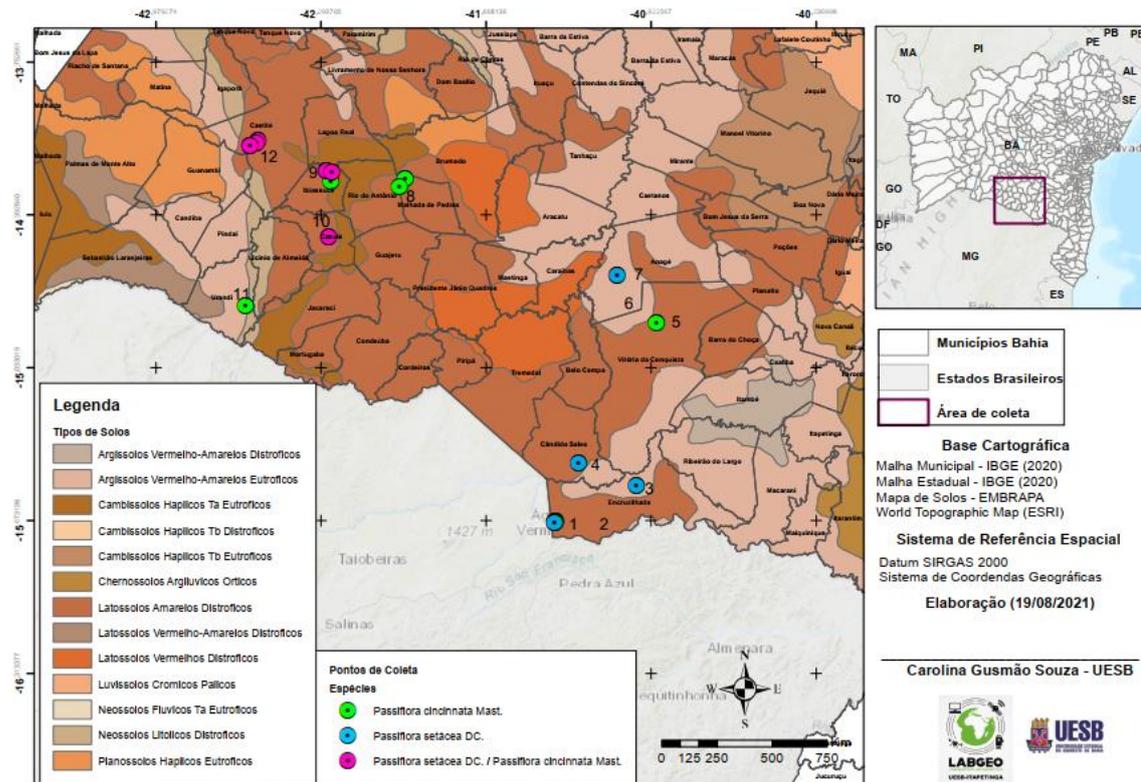


Figura 1: Localização e classificação do solo de 12 locais de ocorrência das espécies *Passiflora cincinnata* e *P. setacea* na mesorregião centro-sul Baiano.

Os solos nos 12 locais de coleta variaram entre cambissolo, latossolo e planossolo (Tabela 1). A maioria dos locais (CS, MP, IBI, CAE, DA, CAC e AP) apresentaram Cambissolo eutrófico. Características distróficas foram observadas em ENC, sendo que CS apresentou características intermediárias entre esses dois tipos. VCT apresentou características de latossolo amarelo distrófico, ANA e SEP de Latossolo vermelho amarelo eutrófico. O ambiente de URA apresentou solo com característica de Planossolo eutrófico. Todos esses ambientes estão inseridos no polígono da seca que segundo Köpper essa mesorregião é típica de semiárido – Bsh. Essas microrregiões são banhadas pelas bacias hidrográficas do rio São Francisco e rio

Verde Grande (CAE, URA), rio Pardo (CS, ENC, AP, VCT, DA, SEP) e rio de Contas (ANA, MP, CAC, IBI). Sendo VCT banhado pelas bacias do rio pardo e do rio de contas.

Tabela 1: Localização e condições climáticas de 12 locais de ocorrência das espécies *Passiflora cincinnata* e *P. setacea* na mesorregião centro-sul Baiano.

Código	Local*	Coordenadas		Classe Solo	Alt. (m)	Prec. (mm)	Temp. (°C)		N°		Registro	
							PS	PC	PS	PC	PS	PC
DA	D. Alegre	15°40'47.2"	41°19'18.5"	Bsh-CXbe	920	1.644	17 - 27	30 -			HUESBVC9166	
ENC	Encruzilhada	15°31'38.8"	040°59'02.6"	Bsh-CXbd	814	649	17 - 26	14 30			HUESBVC9165	
AP	A. Primavera	15°37'15.3"	040°49'59.4"	Bsh-CXve	823	649	17 - 26	- 30				
CS	C. Sales	15°40'82.5"	41°19'35.5"	Bsh-CXbdbe	929	599	17 - 27	30 -			HUESBVC9164	
VCT	V. Conquista	14°50'37.6"	040°53'59.7"	Bsh-LAd	865	711	17 - 26	30 30			HUESBVC9163	
ANA	Anagé	14°36'32.7"	041°07'48.2"	Bsh-LVAe	537	478	19 - 30	- 30				HUESBVC9162
SEP	S. Pombos	14°38'50.7"	041°03'49.2"	Bsh-LVAe	745	595	18 - 28	30 -				
MP	M. Pedra	14°14'.55.9'	42°35'.24.9'	Bsh-CXbe	639	781	15 - 31	- 30				
IBI	Ibiassucê	15°15'.06.0'	40°15'.10.5'	Bsh-CXbe	481	717	18 - 28	- 20				
CAC	Caculé	14°29'.00.7'	42°15'.66.3'	Bsh-CXbe	676	672	18 - 28	30 30				
URA	Urundi	14°06'.24.1'	42°35'.24.9'	Bsh-SXe	807	505	19 - 30	- 04				
CAE	Caetité	14°06'.24.1'	42°35'.24.9'	Bsh-CXbe	732	982	17 - 27	22 30			HUESBVC9167	

*D. Alegre= Divisa Alegre; C. Sales= Cândido Sales; V. Conquista; Vitória da Conquista; S. Pombos= Serra dos Pombos e M. Pedra= Malhada de Pedra. PS= *Passiflora setacea*, Pc= *Passiflora cincinnata*; N°= Número de indivíduos coletados por local.

Alt.= altitude, Prec. Precipitação anual, Temp. Temperatura média mínima e média máxima anual, CXbe=Cambissolo haplico Tb eutrófico, CXve= Cambissolo háplico Ta eutrófico, CXbd= Cambissolo háplico Tb distrófico, SXe=Planossolos háplicos eutrófico, Bsh= Semiárido quente (SANTOS e tal., 2018; IBGE, 2021).

Os ambientes de ocorrência do maracujazeiro variaram de baixas altitudes (IBI=481m) até altitudes mais elevadas (CS=929m). O gradiente de temperaturas variou de 15°C a 31°C. As maiores temperaturas ocorrem em ANA e as menores temperaturas em ENC e AP. A maior precipitação ocorre em DA com 1.644 mm.ano⁻¹, enquanto a menor em ANA com 478 mm.ano⁻¹.

¹ (Tabela 1). Embora a região de DA seja típica de semiárido, é o único local limítrofe de mesorregião norte de Minas e centro-sul baiano. A vegetação desse ambiente é de Mata Atlântica, mas devido às atividades antrópicas, as plantas desenvolveram plasticidade de xeromorfismo típicas de Cerrado. Características semelhantes foram observadas em VCT e SEP que com a alteração no ciclo hidrológico, a Mata Atlântica convergiu para mata de cipó com remanescentes de Cerrado, logo a vegetação atual é mata secundária com ecótono entre os biomas Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (MUYLAERT et al., 2018).

O principal motivo pela alteração na conformação vegetal nas últimas décadas foi o desmatamento para dar espaço à agricultura irrigada (CUNHA et al., 2019). CS, ENC, AP também predominam vegetação de Mata Atlântica, porém com o passar do tempo, houve redução na precipitação, o que levou a adaptação da vegetação à ambiente seco (CUNHA et al., 2019; MUYLAERT et al., 2018). Esses três ambientes assim como ANA e CAC que tem vegetação de ecótono entre Mata Atlântica e Caatinga, têm em comum a presença de solos rasos e pedregosos com histórico de mineração (CUNHA et al., 2019). URA e CAE possuem fitofisionomia de Caatinga e Cerrado, IBI apesar de possuir predominância de Caatinga, possui espécies arbórea-arbustivas típicas de Cerrado.

Todas essas regiões têm em comum o desmatamento para fomentar a economia local que é baseada na agropecuária e agricultura familiar de subsistência, sendo comum encontrar maracujá nativo (*Passiflora setacea* D.C. e *Passiflora cincinnata* Mast.) sob cultivo em algumas propriedades rurais conforme observação *in locu*. Os ambientes além da agropecuária e agricultura familiar, também têm em comum como atividade econômica o desmatamento para geração de energia ceramista e mineração para extração de argila (ALMEIDA, 2020; CUNHA et al., 2019; FARIAS et al., 2013).

Quanto a ocorrência e densidade populacional foi possível observar variação para as duas espécies (Tabela 1). Não houve registros de *Passiflora cincinnata* em DA e CS. Já em IBI e URA, observou-se baixa densidade populacional com 20 e 4 indivíduos, respectivamente. O número reduzido de indivíduos nesses dois ambientes é resultado do forte antropismo na região, em que a população de IBI ocorre na beira de estrada com hastes ramificadas ao longo de cercas e próximo ao lixão. E a região de URA é ocupada por gado, onde essa prática de uso e ocupação de solos é tradicional em áreas de Cerrado e Caatinga principalmente na estação seca, cuja fonte de alimento para o gado é escassa (KLINK; BRAGA et al., 2016; MACHADO, 2005; MACHADO, 2004). Entretanto, durante a expedição de coleta, observou-se ramos secos

da planta ao longo das estradas rurais com frutos secos no chão, porém sem parte aérea passiva de coleta. Essa observação enfatiza que a espécie floresce na estação chuvosa, completando seu ciclo reprodutivo seguido de senescência na estação seca, sendo esta característica típica das espécies nativas da região que, de acordo Köpper-Geiger o clima de semiárido quente é reconhecido pelas duas estações bem definidas, a de verão chuvoso e a de inverno seco (BLUE PLANET BIOMES, 2021; ALVARES et al., 2013).

Para a *Passiflora setacea*, não houve registro da espécie em quatro locais (IBI, URA, MP e ANA). Populações pequenas foram registradas em AP e CAE com 14 e 22 indivíduos, respectivamente. Em AP, trata-se de um assentamento de Sem Terra no município de Encruzilhada. Entretanto, nesse mesmo ambiente há ocorrência de plantio de mandioca (*Manihot* sp.), inferindo que a população da espécie seja proveniente de coleção *ex situ* de iniciativa particular, própria do assentamento. Já no município, população identificada como ENC, observou-se alta densidade populacional na beira de estrada, perímetro urbano com muitos frutos e flores.

Em CAE, o motivo pela baixa densidade pode ser explicado pelo fato de o maracujá ocorrer nas entrelinhas de mandiocal em terreno cercado com arame. As demais áreas rurais do município estão circundadas por plantio de eucalipto com muitos trabalhadores locais envolvidos no processo de plantio e corte da monocultura. Com isso, infere-se que embora o Herbário Virtual da Flora e dos Fungos tenha registrado a ocorrência da espécie nessa região conforme coleta realizada em 2001 por Correia sob registro de exsicata CEPEC 109613, ao longo desse período, a vegetação nativa foi substituída por agricultura familiar e por empresa de celulose e carvão vegetal, sendo essa prática cada vez mais comum nas últimas décadas (PEREIRA et al., 2015). Entretanto se houvesse ocorrência da espécie na região seria facilmente reconhecida, pois diferente da *P. cincinnata*, a *P. setacea* floresce na estação seca, data da realização da coleta, conforme observado por Ataíde e colaboradores (2012) ao reportarem que a abertura floral ocorre em períodos de dias curtos no inverno, entre junho e setembro.

Em acessos melhorados da espécie *P. setacea* como a cultivar BRS Pérola do Cerrado, há variação no ciclo reprodutivo. No estado de Goiás por exemplo, o florescimento sob cultivo ocorre entre janeiro e junho e frutificação entre agosto e dezembro (TEIXEIRA et al., 2019). Já no município de Seropédica no Rio de Janeiro, o maior número de flores foram registrados em novembro e dezembro (RANGEL JUNIOR, 2018).

Como meio de localização das populações em campo, além da consulta ao Herbário Virtual e ao Specieslink®, observou-se também que a erva baleeira (*Varronia curassavica* Jacq.), espécime da família Boraginaceae, é uma bioindicadora de ambientes de ocorrência da *Passiflora setacea* D.C., pois em todos os ambientes registrou-se a presença de ambas espécies.

Estudos de diversidade genética realizados por Pereira et al. (2015) com acessos de *P. setacea* coletados em 12 ambientes diferentes do presente estudo, porém na mesma mesorregião, foi observado também baixa representatividade com poucos indivíduos por local, o que evidencia o comprometimento das populações naturais pelas atividades humanas. Os autores ainda enfatizam a necessidade desta ser conservada tanto *ex situ* quanto *in situ*, uma vez que a população de VCT foi a única que apresentou exclusividade de alelo, inferindo um provável efeito fundador em ambiente altamente antropizado.

Quanto a classificação dos solos, esses apresentaram características franco arenoso (em 4 acessos: CAC, CAE, IBI, MP com 19% de argila), franco argiloso arenoso em 5 acessos (ANA, VCT, ENC, URA, AP com 34% de argila) e 3 argiloso (acessos SEP, DA e CS com 50% de argila). Segundo a classificação dos solos do estado da Bahia, os solos da região são considerados cambisol háplico devido à topografia irregular e montanhosa e sem horizonte superficial de ácido húmico (IBGE, 2021). A textura franco, típica de solo intermediário, onde a granulometria mantém uma proporção média de pelo menos 30% argila, 25% limo e 45% areia (SANTOS et al., 2018). O que diferencia o solo é a atividade da argila que varia entre distrófico, de baixa atividade e eutrófico de alta atividade, sendo esse último também de maior fertilidade. Dentro dessa classificação, apenas CAC e CAE possuem argila de alta atividade (Ta) e fertilidade. Os demais possuem argila de pouca atividade e fertilidade (Tb), respectivamente (Figura 1).

A baixa atividade da argila está diretamente atribuída ao potencial hidrogeniônico dos colóides do solo. Onde o pH em água nos 12 locais de ocorrência de maracujá apresentou características de solos ácido, porém com variação na acidez, indo desde muito alta como em CS e AP (pH=<4.5); acidez elevada em SEP, DA e ENC (pH entre 4.36 a 4.54); acidez média em MP, IBI, VCT e CAC (pH H₂O entre 5.05 a 5.41) e até acidez fraca como observado em ANA e URA (pH= 6.03 e 6.25) (Tabela 2).

Tabela 2: Atributos químicos do solo de 12 locais de ocorrência das espécies *Passiflora cincinnata* e *P. setacea* na mesorregião centro- sul Baiano.

Acesso	Local*	Atributos químicos do solo												
		pHH ₂ O	pHCa	Pmeh	K	Ca	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+AlCTC	m	V	MO	C	
		mg dm ³				cmoc dm ³				%	dag Kg ⁻¹			
DA	D. Alegre	4.51	4.11	0.30	115.86	0.45	0.35	0.61	3.14	4.24	36	26	0.98	0.6
ENC	Encruzilhada	4.36	4.05	2.89	122.04	0.14	0.39	0.55	5.69	7.78	21	27	3.40	2.0
AP	A. Primavera	4.35	4.02	2.05	152.50	1.02	0.80	0.73	6.02	8.23	0	27	3.78	2.2
CS	C. Sales	4.22	3.81	1.25	182.94	1.21	0.44	0.25	3.30	5.42	11	39	1.35	0.8
VCT	V. Conquista	5.11	4.55	5.51	171.97	1.99	0.62	0.01	3.96	7.01	0	44	2.98	1.7
ANA	Anagé	6.03	5.72	55.9	218.98	1.86	0.68	0.10	0.83	3.93	0	79	0.80	0.5
SEP	S. Pombos	4.54	3.91	1.89	171.70	1.46	0.67	0.58	5.03	7.60	18	34	2.07	1.2
MP	M.Pedra	5.05	4.39	12.49	171.38	0.46	0.51	0.10	1.24	2.65	0	53	0.43	0.6
IBI	Ibiassucê	5.18	4.66	3.43	44.61	1.36	0.38	0.10	1.73	3.58	0	52	1.04	0.6
CAC	Caculé	5.41	4.81	15.16	245.32	2.05	0.74	0.10	2.81	6.23	25	55	2.14	1.2
URA	Urundi	6.25	5.95	12.44	332.21	8.87	3.58	0.10	1.57	14.87	0	89	1.97	1.1
CAE	Caetité	5.18	4.21	1.62	26.34	0.27	0.11	0.03	2.06	2.51	36	18	0.77	0.4

*D. Alegre= Divisa Alegre; C. Sales= Cândido Sales; V. Conquista; Vitória da Conquista; S. Pombos= Serra dos Pombos e M. Pedra= Malhada de Pedra

A saturação por alumínio (m%) foi melhor representada em CAE e DA=36. Os acessos ANA, MP, VCT, IBI e URA não apresentaram saturação por alumínio com m%=0. Os solos da região são pobres em matéria orgânica, na qual apresentou-se baixa, em que o maior teor de matéria orgânica foi obtido em AP=3.78.

Os atributos físico-químicos do solo, são melhor representados pela análise dos componentes principais (ACP) e análise discriminante. Essa análise sumariza as variáveis físico-químicas nos dois primeiros componentes principais (CP). Em que esses foram retidos

para interpretação, com autovalores acumulados de 89,98% da variância de todas as variáveis. O primeiro componente explicou 61,46% da variabilidade para todas as amostras. Os atributos avaliados com maior carga fatorial no primeiro componente foram: pH em cálcio, cálcio, magnésio, CTC em pH 7 e saturação por base, com escores variando entre 0,94 a 0,98. O segundo componente explicou 28,51% da variabilidade. Os atributos que contribuíram para a explicação deste componente foi a argila e acidez potencial (H+Al) com escores negativos de -0,939 e -0,728 e o carbono orgânico (C) com escore positivo de 0,865 (Tabela 3).

Tabela 3: Atributos químicos e físicos do solo com os autovalores dos componentes principais dos 12 locais de coleta de *Passiflora* sp. na mesorregião centro-sul baiano, Brasil.

Componentes da variância	Índices de solo	
	CP 1	CP 2
Variabilidade (%)	61.46	28.51
Variabilidade acumulada (%)	61.46	89.98

Variáveis	Média±DP	Carga fatorial	
pH em Ca	4.64±0.68	0.970	0.003
pH em H ₂ O	5.13±0.65	0,789	-0,625
Fósforo (Remanescente mg L ⁻¹)	9.58±15	0.679	0.644
Potássio (K em mg dm ⁻³)	163±83	0.742	-0,246
Cálcio	1.76±2.33	0.987	-0.194
Magnésio	0.77±0.9	0.985	-0,237
Acidez trocável (Al cmolc dm ⁻³)	0.27±0.26	-0.674	-0.436
Acidez potencial (H+Al em cmolc dm ⁻³)	3.12±1.75	-0.798	-0.728
Saturação por alumínio (m em %)	13.36±14	-0.503	-0.719
CTC em pH 7.0 (T em cmolc dm ⁻³)	6.17±3.4	0.946	-0.059
Saturação por base (V em %)	45.25±21.7	0.945	-0.531
Matéria Orgânica (MO em dag Kg ⁻¹)	1.80±61	0.017	-0.278

Carbono Orgânico (C em dag Kg ⁻¹)	1.07±0.61	-0.427	0.865
Areia grossa (g Kg ⁻¹)	57.95±17	0.381	-0.249
Silte (dag Kg ⁻¹)	7.71±5.66	-0.391	-0.118
Argila (dag Kg ⁻¹)	40.28±24	-0.230	-0.939

*DP= Desvio Padrão; CP= Componente principal

Na análise da componente principal (CP-1) é possível observar a proximidade desses acessos em função da acidez. Onde o pH em cálcio dos acessos SEP, DA e ENC variou entre (pH Ca entre 3.91 a 4.11) e a acidez trocável de ($Al^{3+} \cong 0.58$) (Figura 2).

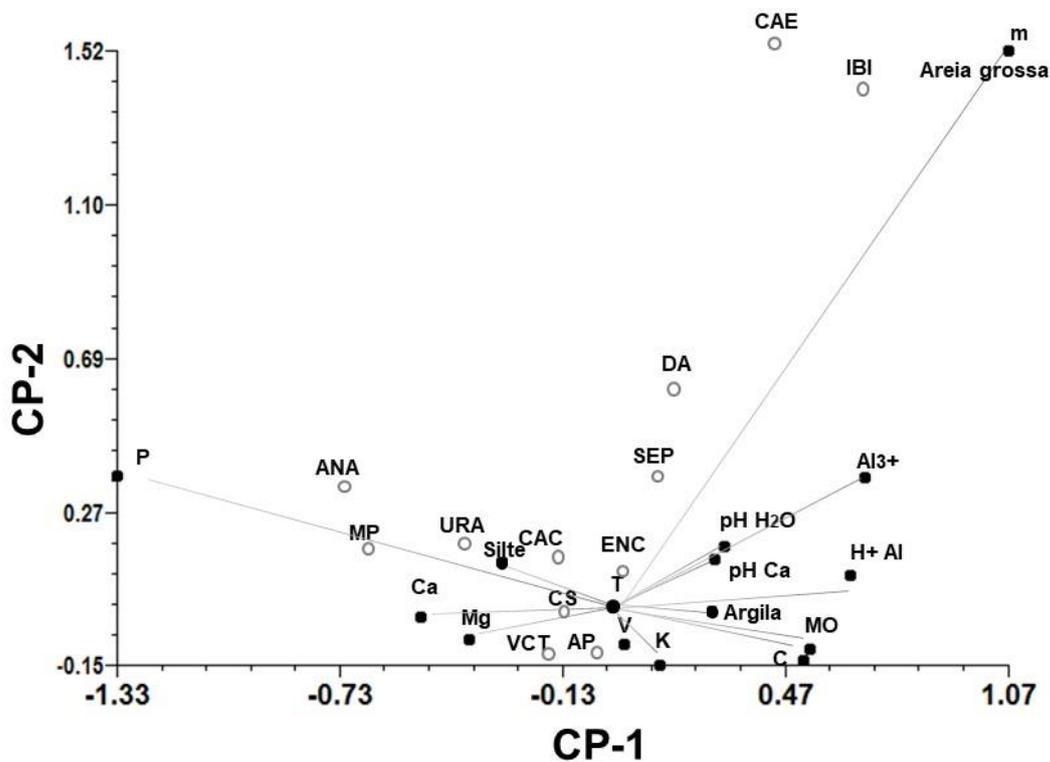


Figura 2: Análise da Componente Principal dos atributos físicos e químicos do solo de 12 locais de ocorrência natural de *Passiflora setacea* D.C. e *Passiflora cincinnata* Mst. na mesorregião centro-sul baiano

Assim como os acessos CAE e IBI estão próximos (quadrante 2) por terem apresentado acidez média entre 4.01-6.0 (pH Ca=4.21 e 4.66 pH H₂O= 5.18) e acidez trocável muito baixa, inferior aos demais ($Al^{3+} < 0.03$ e 0.1). Esses dois acessos também apresentaram os menores valores de potássio dentre os acessos com k=26.34 e 44,61. Os demais acessos localizados nos

quadrantes 1 e 4 apresentaram alto teor desse elemento com $K > 120$, no qual apresentou alta carga fatorial com $r = 0,742$ (Tabela 3). Portanto, a alocação do potássio no gráfico próximo do centróide, infere forte relação com todos os locais de coleta (Tabela 2; Figura 2).

Além do potássio, outros macronutrientes também foram retidos para explicar a distribuição dos acessos nesses dois quadrantes. Todos os acessos dos ambientes pertencentes ao quadrante 1 apresentaram acidez média (MP e CAC) e fraca (ANA e URA) e teores de fósforo superior a 12 (Tabela 2). Esses locais também apresentaram a melhor saturação por base. URA por exemplo, apresentou o maior teor de cálcio e magnésio ($Ca = 8.87$ e $Mg^{2+} = 3,58$) e juntamente com o acesso ANA, obtiveram a melhor saturação por base (ANA e URA $V \geq 80$) (Tabela 2). Já CAC e MP apresentaram V um pouco inferior, mas também foram considerados com valores satisfatório de classificação média para análise de solos com $V = 53$ e 55 . Não obstante, ANA também se destacou com o maior valor de fósforo ($P = 55,9$). Os acessos: MP, URA, CAC, apresentaram valores próximos de fosforo, com média $P \cong 13,4$ (entre 12, 4 a 15,16) e os demais acessos apresentaram valores inferiores a $P < 6$ (com média de 2.26).

A maioria dos acessos que apresentaram baixa saturação por base (V) foram alocados no segundo quadrante (SEP, ENC, DA, CAE), cujo teor foi $V < 35$. Com exceção do AP que está no quadrante 4 e também apresentou V baixo ($V = 27$) e para IBI que embora esteja alocado no quadrante 2, apresentou saturação mediana ($V = 52$). Para esses dois acessos a acidez potencial e CTC em pH 7 foram inversamente proporcionais, sendo baixas para IBI ($H+Al = 1.73$; $CTC_{pH7} = 3.58$) e boa e média para AP ($H+Al = 6.02$; $CTC_{pH7} = 8.23$) (Tabela 2).

Entretanto AP foi o único ambiente explicado pela CP-2, por ter apresentado forte relação com os parâmetros MO e C, com 3.78 e 2.02, o que faz dessas variáveis estarem posicionadas próximas do eixo na CP-2 (Figura 2). O teor de matéria orgânica mostrou-se extremo nos quadrantes 1 e 4, sendo que o local MP apresentou o menor teor ($MO = 0,4$) (quadrante 1) e AP o maior valor para esse parâmetro. Embora mais distantes e na parte superior do eixo, além do atributo H+Al e CTC conforme mencionado, o Al^{3+} também apresentou o maior valor para esse local com (0.73), no qual foi considerado pela interpretação de fertilidade do solo junto a esses parâmetros como de valor médio (SANTOS et al., 2018). Essa observação justifica essas duas variáveis (MO, C) terem sido retidas para explicar a componente principal CP- 2, bem como H+Al, também ter apresentado alta carga fatorial com relação negativa para os dois componentes principais.

Dessa forma, assim como os demais atributos do solo foram explicados pela ACP, a granulometria também corrobora o agrupamento dos ambientes de acordo à classificação do solo. Para fins didáticos, a relação eutrófica e distrófica é baseado nos indicativos de soma de bases trocáveis expressas em porcentagem de capacidade de troca de cátions. Essa classificação corrobora aos resultados dos atributos físico-químicos do solo para os locais que são classificados como eutróficos por terem apresentados saturação por base (V) >50%, exceção foi para DA que apresentou V<50% e foi considerado como eutrófico. Geralmente os solos distróficos são pobre em cátions como Ca^{2+} , Mg^{2+} e K^+ (MP, DA, CAE, ENC < Ca^{2+} , IBI, CAE < K^+ e CAE e DA < Mg^{2+}), porém nenhum local apresentou elevados teores de alumínio trocável e nem saturação de alumínio >50% que justificasse o solo muito pobre, pois todos os ambientes apresentaram acidez trocável (Al^{3+}) <0.6 e saturação por alumínio (m%) <36. Portanto, os solos não são considerados ácidos ao ponto de provocarem toxicidade à vegetação (RONQUIM, 2010; SANTOS et al., 2018). O que se espera para boa produtividade agrícola do maracujá é V% entre 50 e 80% (ANA, MP, IBI, URA, CAC) e pH entre 6,0 e 6,5 (ANA e URA) (RONQUIM, 2010). Entretanto os melhores índices de fertilidade quanto aos valores de cálcio e magnésio em URA e juntamente com ANA os melhores pH, saturação por base e potássio, pode ser explicado pela não lixiviação de seus elementos em função desses dois locais terem apresentado as menores precipitação anual (478 e 505 mm.ano⁻¹) (Tabela 1).

Os resultados obtidos corroboram a literatura ao reportar que a espécie *Passiflora cincinnata* Mast. desenvolve-se em grande parte dos solos argilo-silicosos ou sílico-argiloso, mas suporta qualquer tipo de solo e mantém boa produtividade (MONTE; SANTOS, 2021). A *P. setacea* também possui boa abrangência, porém apresenta dormência tegumentar e presença de arilo, o que faz a espécie ser ortodoxa e suportar longos períodos de estiagem, mantendo suas sementes viáveis com até em 4,7 % de umidade (PÁDUA, et al., 2011). As diferentes características ecofisiológicas dessas espécies fazem delas boas prestadoras de serviços ecossistêmicos por resistirem condições ambientais variadas e extremas e por alimentarem a fauna local em períodos secos, podendo serem úteis também na recuperação de áreas degradadas (BRAGA et al., 2016; PEREIRA et al., 2015).

Contudo, o conhecimento das condições edafoclimáticas e ecogeográficas, bem como análise multivariada dos atributos físico-químicos dos solos dos 12 locais de ocorrência, enfatizam que as duas espécies de maracujá são ecótipos bem adaptados. As características típicas do gênero representado por essas espécies nos ambientes estudados são: altitudes e

índice pluviométricos variados, solos rasos, ácidos, arenosos, pobres em matéria orgânica, com baixa saturação por alumínio.

Porém com as diferentes atividades antrópicas praticadas na mesorregião centro-sul baiano, conforme observação *in loco*, verificou-se registros de frutos verdes e desidratados no chão como indícios de extrativismo (SANTOS et al., 2021). Segundo Oliveira Júnior e colaboradores (2010) e Paiva e Santos (2021) tal atividade é uma excelente opção de renda para os agricultores de pequeno porte, contudo, essa prática extrativista tem levado à redução das populações, com poucos indivíduos por local de coleta, bem como a dificuldade de frutos para banco de sementes e alimentação da fauna local (BRAGA et al., 2016; PEREIRA et al., 2015). Embora essas espécies não estejam em extinção, estão sob ameaças, sendo necessário estudos de caracterização genética dessas populações para seleção de genótipos que apresentem critérios genéticos como alta variabilidade e genes de resistência às doenças para serem incorporados aos bancos germoplasmas.

Conclusão

As espécies *Passiflora setacea* e *P. cincinnata*, possuem ampla distribuição dentro da mesorregião centro-sul baiano e densidade variada, composta por populações de poucos indivíduos (≤ 100). Apresentam características ecogeográficas variadas quanto à topografia, temperatura, pH, saturação por base e acidez potencial.

Os locais com temperaturas médias de até 28°C, altitude entre 670 e 860 m, pH 4,3-5,11, saturação por base < 50 e H+Al entre 2-5 (CAC, CAE, ENC e VCT) favorece as duas espécies, enquanto que temperaturas altas de até 31°C, pH entre 5 e 6, saturação por base > 50 e H+Al $\leq 1,5$ (URA, MP e ANA) favorece *P. cincinnata* e nos ambientes com temperaturas de até 27°C, altitudes superiores a 900 m, pH médio de 4,5, saturação por base média de 30 e H+Al média de 3 (CS e DA), favorece *P. setacea*.

Referências

ALMEIDA, J. L. **Impactos ambientais provocados pela extração de argila no Município de Ibiassucê-BA. Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**, v.3 p. 35-46, 2020. DOI: 10.32749/nucleodoconhecimento.com.br/meio-ambiente/extracao-de-argila

ALVARES, C. A. S. J. L.; SENTELHAS, P. C.; DE MORAES GONÇALVES, J. L.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013. doi:10.1127/0941-2948/2013/0507

ATAÍDE, E. M.; OLIBEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. Florescimento e frutificação do maracujazeiro silvestre *Passiflora setacea* D.C. cultivado em Jaboticabal, SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n.2, p. 377-381, 2012.

BLUE PLANET BIOMES. Disponível em: <https://blueplanetbiomes.org/climate.php>. Acessado em: 07 out. 2021.

BERNACCI, L. C.; NUNES, T. S.; MEZZONATO, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; IMIG, D. C.; CERVI, A. C. (*in memoriam*). 2020. *Passiflora in Flora do Brasil 2020*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB12522>>. Acesso em: 29 set. 2021

BRAGA, M. F.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FALEIRO, F. G.; BERNACCI, L. C. 2016. *Passiflora* spp.: Maracujá-do-cerrado. **Plantas para o futuro – Região Centro-Oeste. Embrapa Cerrados**, p. 272-279. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/163255/1/passiflora.pdf>>. Acessado em: 13 out. 2021.

CARMO, T. V. B; MARTINS, L. S. S.; MUSSER, R. S.; SILVA, M. M.; SANTOS, J. P. O. Genetic diversity in accessions of *Passiflora cincinnata* Mast. based on morphoagronomic descriptors and molecular markers. **Revista Caatinga**, v.30, n.1, p.68-77, 2017. <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n108rc>

COSTA, C. F.; FUSIEGER, A.; ANDRETTA, M.; CAMARGO, A. C.; CARVALHO, A. F.; MENEZES, D. R.; NERO, L. A. Short communication: Potential use of passion fruit (*Passiflora cincinnata*) as a biopreservative in the production of coalho cheese, a traditional Brazilian cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 4, p. 3082-3087, 2020. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17791>

CUNHA, J. S.; OLIVEIRA, G. G.; ANDRADE, M. L. Estudo socioambiental da bacia do rio pardo: Irrigação, monoculturas e crise hídrica – Relatório de Pesquisa. **Caderno do**

CEAS: Revista Crítica de Humanidades, n. 246, p. 227-247, 2019. Doi: <https://doi.org/10.25247/2447-861X.2019.n246.p227-247>

D'ABADIA, A. C. A.; COSTA, A. M.; FALEIRO, F. G.; RINALDI, M.M.; OLIVEIRA, L.L.; MALAQUIAS, J. V. Determinação do estágio de maturação e características dos frutos de duas populações de *Passiflora cincinnata* Mast. **Caatinga**, v.33, n.2, p. 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252020v33n208rc>

DECARVALHO, M. V. O.; DE OLIVEIRA, L.; COSTA, A. M. Effect of training system and climate conditions on phytochemicals of *Passiflora setacea*, a wild *Passiflora* from Brazilian savannah. **Food Chemistry**, v.266, n. 1, p. 350–358, 2018. DOI: [10.1016/j.foodchem.2018.05.097](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.097)

DEOLIVEIRA TEIXEIRA, T. P.; FERREIRA, I. N. M.; BORGES, J. P. R.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; DE MELO E SILVA NETO, C.; FANCESCHINELLI, E. V. Reproductive strategy and the effect of floral pillagers on fruit production of the passion flower *Passiflora setacea* cultivated in Brazil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 42, n. 1, p. 63-71, 2019. <https://doi.org/10.1007/s40415-018-00512-z>

DUARTE, I. A. E.; MILENKOVIC, D.; BORGES, T. K. S.; ROSA, A. J. M.; MORAND, C.; OLIVEIRA, L. L.; COSTA, A. M. Acute effects of the consumption of *Passiflora setacea* Juice on Metabolic risk factors and gene expression. Profile in humans. **Nutrients**, v.12, n. 14, p. 1104-1124, 2020. DOI: [10.3390/nul12041104](https://doi.org/10.3390/nul12041104)

EMBRAPA. Embrapa Cerrados. 2015. **Lançamento da cultivar de maracujazeiro silvestre BRS Pérola do Cerrado**. Disponível em: [http:// www.cpac.embrapa.br/lancamento-perola/](http://www.cpac.embrapa.br/lancamento-perola/) Consultado em 10 de fevereiro de 2015.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análises de solo**. 2. Ed. Rio de Janeiro: Embrapa, 1997. 212p.

SPECIESLINK. Disponível em: <https://smlink.cria.org.br/>. Acessado em 01 jan. 2019.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. 2005. **Germoplasma e Melhoramento Genético do Maracujazeiro – Desafio da Pesquisa**. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds.), Maracujá: Germoplasma e Melhoramento Genético. Embrapa Cerrados, Planaltina, pp. 187-210.

GRAUDAL, L.; ARAVANPOULOS, F.; BENNADJI, Z.; CHANGTRAGOON, S.; FADY, B.; KJÆR, E. D.; ... VENDRAMIN, G. G. Global to local genetic diversity indicators of evolutionary potential in tree species within and outside forests. **Forest Ecology and**

Management, v. 333, p. 35–51, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2014.05.002>.

GOMES, S. V. F.; PORTUGAL, L. A.; DOS ANJOS, J. P.; DE JESUS, O. N.; DE OLIVEIRA, E. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Accelerated solvent extraction of phenolic compounds exploiting a Box-Behnken design and quantification of five flavonoids by HPLC-DAD in *Passiflora* species. **Microchemical Journal**, v. 132, p. 28-35, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.12.021>

IBGE, 2021. **Mapas Temático**. Disponível em <https://portaldemapas.ibge.gov.br/portal.php#homepage> Acesso em: 18 set 2021.

INCT. **Herbário Virtual da Flora e dos Fungos**. Disponível em: <<http://inct.splink.org.br/>>. Acesso em: 15 jan. 2019.

KLINK, C.A.; MACHADO, R.B. A conservação do *Cerrado brasileiro*. **Megadiversidade**, v.1, n.1, p. 1-9, 2005. Disponível em <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/recursos/Texto_Adicional_ConservacaoID-xNOKMLsupY.pdf>. Acessado em: 10 nov. 2020.

LEAL, A. E. B. P.; DE OLIVEIRA, A. P.; SANTOS, R. F.; SOARES, J. M. D.; LAVOR, E. M.; PONTES, M. C.; LIMA, J. T.; SANTOS, A. D. C.; TOMAZ, J. C.; OLIVEIRA, G. G.; CARNEVALE NETO, F.; LOPES, N. P.; ROLIM, . A.; ALMEIDA, J. R. G. S. Determination, of phenolic compounds, in vitro antioxidante activity and characterization of secondary metabolites in diferente parts of *Passiflora cincinnata* by HPLC-DAD-MS/MS analysis. **Natural Products Research**, v. 34, n.7, p. 995-1001, 2020. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1548445>

MACHADO, R. B., M. B.; RAMOS NETO, P. PEREIRA, E. CALDAS, D. GONÇALVES, N. SANTOS, K.; STEININGER, T. M. 2004. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. **Conservation International do Brasil, Brasília**. Disponível em:<https://jbb.ibict.br/bitstream/1/357/1/2004_%20Conservacao%20Internacional_%20estimativa_desmatamento_cerrado.pdf>. Acessado em: 20 set. 2021.

MUYLAERT, R. L.; VANCINE, M. H.; BERNARDO, R.; OSHIMA, J. E. F.; SOBRAL-SOUZA, T.; TONETTI, V. R.; NIEBUHR, B. B.; RIBEIRO, M. C. Uma nota sobre os limites territoriais da Mata Atlântica. **Oecologia Australis**, v. 22, n. 3, p. 302-311, 2018. DOI: 10.4257/oeco.2018.2203.09

OLIVEIRA, J. C. RUGGIERO, C. 2005. **Espécies de maracujá com potencial agrônômico**. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds.), *Maracujá Germoplasma e Melhoramento Genético*. Embrapa Cerrados, Planaltina, Go. 141-158.

PÁDUA, J. G.; SCHWINGEL, L. C.; MUNDIM, R. C.; SALOMÃO, A. N.; ROVERIJOSÉ, S. C. B. Germinação de Sementes de *Passiflora setacea* e dormência induzida pelo armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 1, p. 080-085, 2011.

Disponível

em:

<<https://www.scielo.br/j/rbs/a/3XdGS4kByf7QdXjQW5W99st/?format=pdf&lang=pt>>

PRADO, D.E. As Caatingas da América do Sul. 2003. In: LEAL, R. I.; TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C. da. Ecologia e conservação da Caatinga. Recife: Ed. Universitária da UFPE.

MONTE, I. A.; SANTOS, S. C. L. O maracujazeiro-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.) e sua importância econômica: Uma Revisão narrativa. **Research, Society and Development**, v. 10, n.7, e18210716464, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i7.16464>

PEREIRA, D. A.; CORRÊA, R. X.; OLIVEIRA, A. C. 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**, v. 59, p. 12-21, 2015. Doi: <https://dx.doi.org/10.1016/j.bse.2014.12.020>.

RANGEL JUNIOR, I. M.; VASCONCELLOS, M. A. S.; ROSA, R. C. C.; CRUVINEL, F. F. Floral biology and physicochemical characterization of wild passion fruit *Passiflora setacea* D.C BRS Pérola do Cerrado Cultivated in the state of Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 40, n.6, p. e-041 (1-9), 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452018041>

RONQUIM, C.C. Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite**, v. 8, 2010, 26p. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/882598/1/BPD8.pdf>>.

Acessado em: 20 set 2021.

ROHLF, F. J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system: version 2.1**. New York: Department of Ecology and Evolution State University of New York, 2000. 44p.

SANTOS, R. T. S.; BIASOTO, A. C. T.; RYBKA, A. C. P.; CASTRO, C. D. P. C.; AIDAR, S. T.; BORGES, G. S. C.; SILVA, F. L. H. Physicochemical characterization, bioactive compounds, in vitro antioxidant activity, sensory profile and consumer acceptability of fermented alcoholic beverage obtained from Caatinga passion fruit (*Passiflora cincinnata* Mast.). **Food Science and Technology**, v. 148, n. 1, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111714>

SANTOS, H. G. et al. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos 5.ed. Ver. e ampl. -Brasília, DF.** Embrapa, 2018, 356 p. Disponível em: <<file:///C:/Users/Dell/Downloads/SiBCS-2018-ISBN-9788570358004.pdf>>. Acesso em: 18 set. 2021.

SANTOS, J. L., MATSUMOTO, S. N., OLIVEIRA, P. N. D., OLIVEIRA, L. S. D.; SILVA, R. D. A. Morphophysiological analysis of passion fruit plants from different propagation methods and planting spacing. **Revista Caatinga**, v. 29, n.2, p.305-312, 2016. DOI: [http:// dx.doi.org/10.1590/1983-21252016v29n206rc](http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252016v29n206rc)

SIQUEIRA, K. M. M. DE.; KILL, L. H. P. DE.; MARTINS, C. F.; LEMOS, I. B.; MONTEIRO, S. P.; FEITOZA, E. A. 009. Ecologia da polinização do maracujá-amarelo, na região do vale do submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, n.1, p. 1-12, 2009.

ZHIVOTOVSKY, L. A.; YURCHENKO, A. A.; NIKITIN, V. D.; SAFRONOV, S. N.; SHITOVA, M. V.; ZOLOTUKHIN, S. F.; ... SEMENCHENKO, A. Y. Eco-geographic units, population hierarchy, and a two-level conservation strategy with reference to a critically endangered salmonid, Sakhalin taimen *Parahucho perryi*. **Conservation Genetics**, v.16, p.431–441, 2015. <https://doi.org/10.1007/s10592-014-0670-4>

ZONNEVELD, M. V.; THOMAS, E., CASTAÑEDA-ÁLVAREX, N. P.; DAMME, V.V.; ALCAZAR, C.; LOO, J.; SCHELDEMAN, X. Tree genetic resources at risk in South America: A spatial threat assessment to prioritize population for conservation. **Biodiversity and Distributions**, v. 24, n.6, p. 1-12, 2018. DOI: 10.1111/ddi.12724

3.4 CAPÍTULO 4

Determinação de compostos fenólicos e flavonoides totais e avaliação da capacidade antioxidante em espécies silvestres (*Passiflora cincinnata* Mast. e *Passiflora setacea* DC) de maracujzeiros.

Thalana S.S. Silva, Messulan R. Meira, Carlos B. Cerqueira-Silva*

*definição de coautores e/colaboradores ainda não finalizada para esse artigo.

Resumo: Considerando os compostos químicos já identificados em espécies do gênero *Passiflora*, bem como os potenciais compostos existentes em espécies adaptadas a condições específicas de estresse, objetivou-se determinar os teores de compostos fenólicos e flavonoides totais e avaliar a capacidade antioxidante dos extratos de folhas das espécies *Passiflora cincinnata* e *Passiflora setacea* presentes em populações naturais no Sudoeste da Bahia, Brasil. Após obtenção dos extratos das folhas por percolação exaustiva com etanol 80%, procedeu-se com as análises em triplicata. A determinação dos fenólicos e flavonoides totais foi feita por espectrofotometria. A avaliação da atividade antioxidante foi realizada pelo método de sequestro de radicais livres DPPH e pelo método da redução de íons ferro (FRAP). O extrato da amostra de *P. cincinnata* coletada em Vitória da Conquista, demonstrou as maiores concentrações de compostos fenólicos e flavonoides totais, bem como uma relação positiva com os valores da atividade antioxidante encontrados para a mesma, em ambos os métodos utilizados.

Palavras-chave: Compostos bioativos, maracujá-do- mato, maracujá -do- sono.

INTRODUÇÃO

A família Passifloraceae destaca-se na flora brasileira pelo seu amplo uso na fitoterapia, sendo o gênero *Passiflora* o mais importante da família no país, tanto no âmbito econômico quanto em quantitativo de espécies (SIEBRA et al., 2018), com aproximadamente um terço das espécies de *Passiflora* ocorrendo naturalmente no Brasil (BERNACCI et al., 2020). O gênero *Passiflora* compreende espécies notadas por seus frutos comestíveis, belas flores com potencial ornamental e uso na medicina popular por seus efeitos sedativos, ansiolíticos, diuréticos e analgésicos (BRANDÃO et al., 2017). As espécies do gênero apresentam uma composição química diversa, tais como, fenóis, glicosídeos cianogênicos, alcaloides, flavonoides e saponinas, característica que tem despertado um crescente interesse acadêmico e econômico

sobre as propriedades químicas e/ou farmacológicas do gênero (GADIOLI et al. 2018; COSTA et al., 2016; DHAWAN et al., 2004).

Apesar da riqueza de espécies de *Passiflora* com ocorrência no Brasil, essa biodiversidade é pouco estudada. Dentre as espécies do gênero, *P. edulis*, *P. alata* e *P. incarnata* têm sido as mais amplamente investigadas por seus compostos químicos com aplicabilidade na saúde humana (GADIOLI et al., 2018; ZUCOLOTTO et al., 2011), sendo as duas primeiras listadas na Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2019). Dentre as espécies de maracujazeiros silvestres que apresentam uso diversificado e potencial econômico, destacam-se o maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.) e o maracujá-do-sono (*Passiflora setacea* DC.) (ARAÚJO et al., 2020).

A espécie *P. cincinnata* é amplamente distribuída no Brasil, principalmente na região Nordeste (BERNACCI et al., 2020). Os frutos apresentam aroma e sabor exóticos, boa aceitabilidade para consumo e elevado valor nutricional (ARAÚJO et al., 2019). Atividades antimicrobianas (SIEBRA et al., 2018), anti-inflamatórias (LAVOR et al., 2018) e antioxidante (SANTOS et al., 2021), têm sido investigadas em diferentes partes da planta, sendo essas atividades atribuídas a sua riqueza de compostos fenólicos (LEAL et al., 2020). Por sua vez, *P. setacea* é endêmica do Brasil, com ampla distribuição no bioma Cerrado, apresenta característica sensorial doce e agradável, o que faz ser bem consumida na região (BOMTEMPO et al., 2016). A espécie é rica em flavonóides C-glicosídeos, homoorientina, vitexina, isovitexina e orientina, cujas propriedades possuem efeito antioxidante (SANTANA et al., 2015). Esses flavonoides glicosídicos atuam no sistema nervoso central promovendo efeito ansiolítico e sedativo (DUARTE et al., 2020).

As condições edafoclimáticas que incluem clima árido e semiárido, com exposição excessiva a altas temperaturas e irradiância luminosa, condições que se aplicam aos ambientes de ocorrência de ambas as espécies (*P. cincinnata* e *P. setacea*), resultam em plantas resistentes a condições extremas de estresse, com metabolismo secundário bastante ativo (DECARVALHO et al., 2018; SIQUEIRA et al., 2013). A plasticidade fenotípica dessas espécies está relacionada aos altos teores de compostos fenólicos produzidos como mecanismos adaptativos à fotoproteção, uma vez que os flavonoides são produzidos em resposta ao estresse oxidativo, a fim de inibir as espécies reativas de oxigênio (TAIZ et al., 2017). Estudos têm mostrado uma forte correlação entre a produção de compostos bioativos em frutas, incluindo os compostos fenólicos e seus ambientes de ocorrência natural (DECARVALHO et al.,

2018; SIQUEIRA et al., 2013). Esses compostos estão relacionados aos seus potenciais efeitos biológicos e à saúde humana (GADIOLI et al. 2018). Naturalmente, essas características fazem com que essas espécies de maracujazeiros sejam apreciadas economicamente tanto para fins nutracêuticos quanto para fins medicinais.

Diante desse contexto, objetivou-se determinar os teores de compostos fenólicos e flavonoides totais e avaliar a capacidade antioxidante dos extratos de folhas das espécies silvestres *Passiflora cincinnata* e *Passiflora setacea* presentes em populações naturais no Sudoeste da Bahia, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do material vegetal

O material vegetal consistiu da parte aérea de *Passiflora cincinnata* e *Passiflora setacea*. Exemplares da primeira espécie foram coletados em Anagé e Vitória da Conquista (Amostras 1 e 2), enquanto as amostras da segunda espécie foram coletadas em Vitória da Conquista (Amostra 3). O material coletado foi encaminhado ao Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LAPRON), localizado na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga, Bahia. Exsiccatas do material vegetal foram depositadas no Herbário da UESB, onde estão registradas no acervo (Amostra 1 – Aguardando nº de registro, Amostra 2 - HUESBVC9162 e Amostra 3 - HUESBVC9163).

Obtenção do extrato etanólico

As amostras foliares foram secas em estufa com circulação de ar por 12 horas a 50°C e posteriormente foram pulverizadas em moinho de facas. O extrato foi obtido por percolação exhaustiva com etanol a 80% e a solução obtida foi evaporada em um evaporador rotativo (Fisatom) à temperatura de 50°C e 160 RPM e armazenado em frasco âmbar, mantido no refrigerador até a realização das análises. Após obtenção dos extratos prosseguiu-se com os testes fitoquímicos, em que todas as análises foram realizadas em triplicata.

Prospecção fitoquímica: determinação de fenólicos totais

A determinação dos fenólicos totais foi realizada por meio de espectroscopia através do método de Folin-Ciocalteu, seguindo a metodologia descrita por Sousa et al. (2007). Os extratos etanólicos foram diluídos em metanol a uma concentração de $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para as amostras 1 e 2 e de $3000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para a amostra 3.

Em tubos de ensaio, alíquotas de $500 \mu\text{L}$ de cada amostra foram agitadas com $500 \mu\text{L}$ do reagente de Folin-Ciocalteu e $6,0 \text{ mL}$ de água deionizada por um minuto; após essa etapa $2,0 \text{ mL}$ de Na_2CO_3 a 15% foram adicionados à mistura e as soluções agitadas por 30 segundos. Em seguida, os volumes das soluções foram completados para $10,0 \text{ mL}$ com água deionizada, sendo posteriormente deixadas em repouso por duas horas ao abrigo da luz. A leitura das absorbâncias foi realizada a 750 nm em espectrofotômetro Shimadzu UV-Vis 1800, tendo como “branco” o metanol e todos os reagentes, menos a amostra. O teor de fenólicos totais foi determinado por interpolação das absorbâncias das amostras em uma curva analítica construída com soluções padrão de ácido gálico ($0,05$ a $0,35 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e expressos como mg de Equivalentes de Ácido Gálico (EAG) por grama de extrato.

Prospecção fitoquímica: determinação de flavonoides totais

A concentração dos flavonoides totais foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Santos et al. (1998), com modificações. Para a realização do ensaio foi utilizada a concentração de $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para as amostras 1 e 2 e de $3000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para a amostra 3, usando-se metanol como solvente. Em balões volumétricos, alíquotas de cada amostra foram agitadas com $500 \mu\text{L}$ de solução metanólica de cloreto de alumínio a 10% e o volume foi completado com solução metanólica de ácido acético a 5%. Os procedimentos ocorreram em ambiente escuro. Após 30 minutos as leituras das absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro a 425 nm , tendo como branco o metanol e todos os reagentes, exceto as amostras. Para determinar o teor de flavonoides construiu-se a curva padrão da quercetina, utilizando-se concentrações de $5,0$; $10,0$; $15,0$; $20,0$ e $25,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$, sendo as absorbâncias das amostras interpoladas na equação de regressão linear. O teor de flavonoides totais foi expresso como mg Equivalente de Quercetina (EQ) por g de extrato.

Avaliação da atividade antioxidante: método do sequestro de radicais livres DPPH

A atividade sequestrante do radical livre DPPH foi obtida de acordo com a metodologia descrita por Rufino et al. (2007), a partir de cinco concentrações, em triplicata, do extrato vegetal (500, 1000, 1500, 2000 e 2500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) diluído em metanol. Em ambiente escuro foram transferidos 0,1 mL de cada concentração das amostras para tubos de ensaio contendo 3,9 mL de solução metanólica de DPPH a 0,06 mM e as soluções homogêneas em agitador. As amostras foram mantidas no escuro por 40 minutos, conforme determinado pela cinética e a absorbância medida em espectrofotômetro Shimadzu UV-Vis 1800 em comprimento de onda de 515 nm, sendo utilizado o metanol como “branco”. O controle negativo foi composto por 3,9 mL de metanol em 1 mL de DPPH e o controle positivo, foi o Butilhidroxitolueno – BHT nas mesmas concentrações.

O cálculo da Concentração Efetiva 50 (EC_{50}), foi baseado nas leituras das absorbâncias das amostras, esse índice corresponde à quantidade de amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical livre DPPH, portanto, quanto menor o valor de EC_{50} , maior a atividade antioxidante. A atividade antioxidante das amostras também foi expressa pelo índice de atividade antioxidante (IAA) proposto por SCHERER & GODOY (2009). Este índice contribui para comparação do potencial antioxidante de diferentes extratos, no qual, é calculado conforme com a equação:

$$\text{IAA} = \text{Concentração inicial de DPPH } (\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}) / \text{CE50 } (\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$$

De acordo esse índice, a atividade antioxidante é considerada baixa quando o IAA < 0,5, moderada quando o IAA estiver entre 0,5 e 1,0, e alta quando o IAA estiver entre 1,0 e 2,0 e muito alta quando o IAA > 2,0.

Avaliação da atividade antioxidante: método do FRAP – *Ferric Reducing Antioxidant Power*

Essa metodologia é baseada no poder redutor dos íons ferro, e foi realizada de acordo metodologia proposta por Rufino et al. (2006). A solução do reagente FRAP foi obtida misturando-se 25,0 mL de tampão acetato a 0,3 M (pH 3,6), 2,5 mL da solução de 2,4,6-Tris (2-piridil)-s-triazina (TPTZ, Sigma-Aldrich®), na concentração de 10 mM em solução aquosa de HCl a 40 mM e 2,5 mL de solução aquosa de cloreto férrico a 20 mM, utilizando-se imediatamente após o seu preparo.

Transferiu-se para tubos de ensaio, em triplicata, 90,0 μL das amostras e dos controles positivos (BHT e Quercetina) com 270,0 μL de água deionizada e 2,7 mL do reagente FRAP, homogeneizando-se em agitador de tubos. As soluções foram mantidas em banho-maria a 37°C por 30 minutos, fazendo-se a leitura das absorbâncias ao final desse tempo, a 595 nm. Construiu-se a curva de calibração com soluções de sulfato ferroso, e as absorbâncias das amostras foram lidas e os resultados foram expressos em mg de Fe_2^+ por grama de extrato.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de fenólicos totais e de flavonoides totais das amostras estão apresentados na tabela 1, os quais foram calculados a partir dos dados obtidos pela curva de calibração do ácido gálico, utilizado como padrão analítico.

Tabela 1: Teores de compostos fenólicos e flavonoides totais encontrados nos extratos etanólicos das espécies *Passiflora cincinnata* e *Passiflora setacea*.

Amostras	Fenólicos Totais (mg de EAG / g extrato) \pm DP	Flavonoides totais (mg EQ / g de extrato)
Amostra 1	80,736 \pm 5,09	15,529
Amostra 2	96,166 \pm 4,93	21,568
Amostra 3	37,396 \pm 0,40	11,437

Amostra 1 - *P. cincinnata* Anagé, Amostra 2- *P. cincinnata* Vitória da Conquista e Amostra 3- *P. setacea* Vitória da Conquista. DP (desvio padrão).

O extrato da amostra 2 apresentou o maior teor de compostos fenólicos e flavonoides, seguido pelas amostras 1 e 3. Leal et al. (2020) ao investigar os teores de compostos fenólicos em diferentes partes de *P. cincinnata* encontraram valores que variaram de 19,53 \pm 1,41 EAG/g na polpa do fruto até 45,53 \pm 14,14 EAG/g no caule, e de flavonoides com valores que variaram de 0,49 \pm 0,07 nas sementes até 1,42 \pm 0,01 QE/g nas folhas. O teor de compostos fenólicos encontrado por Leal et al. (2020) ao avaliar o extrato da folha de *P. cincinnata* foi inferior (36,90 \pm 19,98 EAG/g) ao encontrado nesse estudo (Tabela 1). Em contrapartida, Carvalho,

Oliveira e Costa (2018) ao investigarem os compostos fenólicos presentes na polpa de *P. setacea* encontraram uma maior concentração 78,5 mg GAE/g comparado a esse estudo para a mesma espécie.

Fatores geográficos, climáticos e intrínsecos às plantas podem contribuir para a diferente concentração de compostos fenólicos encontradas nas distintas partes de uma mesma planta, como folhas, cascas, polpas e sementes, bem como entre espécies (ALBA et al., 2021; CANDIDO et al., 2015; YILMAZ et al., 2015). Além disso, o solvente e o método de extração podem variar e, conseqüentemente, influenciar no tipo e na quantidade de compostos fenólicos identificados (GADIOLI et al., 2018).

Os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante dos extratos das espécies *P. cincinnata* e *P. setacea*, pelo método do sequestro de radicais livres DPPH e pelo método FRAP, estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Atividade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP dos extratos das espécies *Passiflora cincinnata* e *Passiflora setacea*.

Amostras	DPPH		FRAP
	CE ₅₀ (µg.mL ⁻¹)	IAA	(mg Fe ²⁺ / g ⁻¹ extrato)
Amostra 1	48,64	0,493	6,145
Amostra 2	34,378	0,698	10,373
Amostra 3	268,79	0,089	1,954
Quercetina	1,54	15,5	254,74

Amostra 1 - *P. cincinnata* Anagé, Amostra 2- *P. cincinnata* Vitória da Conquista e Amostra 3- *P. setacea* Vitória da Conquista. Controle positivo: Quercetina

O extrato da amostra 2 apresentou maior atividade antioxidante para os dois métodos utilizados DPPH e FRAP (Tabela 2), com valores de CE₅₀ igual a 34,378 µg. mL⁻¹, IAA de 0,698 e FRAP 10,37345 mg Fe²⁺. g⁻¹, respectivamente. Leal et al. (2020), encontraram concentrações variadas de atividade antioxidante nos extratos etanólicos empregando o método

DPPH, ao avaliar diferentes partes das plantas de *P. cincinnata*, com valores variaram de CE_{50} igual a 25,65 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ no caule a 87,25 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ na polpa do fruto. A atividade antioxidante para as folhas foi melhor no presente estudo em comparação ao CE_{50} igual a 65,28 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ encontrado por Leal et al. (2020), para essa mesma parte da planta. Silva et al (2013) ao avaliar o extrato aquoso de folhas de *P. edulis* encontrou CE_{50} igual a 1100 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, indicando uma atividade antioxidante inferior. Essa discrepância nos valores encontrados pode estar relacionada ao solvente utilizado, uma vez que solventes alcoólicos e metanólicos favorecem a identificação de mais compostos fenólicos, e conseqüentemente, apresenta uma maior atividade antioxidante (GADIOLI et al., 2018).

Estudos têm indicado que o potencial antioxidante encontrado para as espécies de *Passiflora* é fortemente influenciado por fatores como método analítico, estágios de desenvolvimento da planta, sistema de cultivo e composição de compostos fenólicos (REIS et al., 2018 ; CARVALHO, OLIVEIRA, COSTA, 2018; RAMAIYA et al., 2013). Nesse contexto, para que os resultados encontrados nos diferentes estudos, incluindo aqueles com a mesma espécie, sejam comparados, é necessário que esses fatores sejam considerados e naturalmente as diferenças relativizadas.

De acordo o índice IAA proposto por Scherer & Godoy (2009) as amostras 1 e 2 apresentaram atividade antioxidante moderada, enquanto a amostra 3 apresentou pouca atividade. Os resultados indicam uma relação existente entre a concentração de fenólicos e flavonoides apresentada pela amostra 2 e a maior atividade antioxidante encontrada para a mesma. Em geral, um valor mais alto de compostos fenólicos e flavonoides está relacionado a uma atividade antioxidante mais alta. Estudos têm apresentado essa correlação em espécies de *Passiflora* (RAMAIYA et al., 2021; LEAL et al., 2020; RAMAIYA et al., 2013; MACORIS et al., 2012), e em outras espécies vegetais (RIBEIRO et al., 2020; KO et al., 2018).

Os compostos fenólicos apresentam a capacidade de reduzir as espécies reativas de oxigênio que causam estresse oxidativo, e que estão relacionadas a diversas condições fisiopatológicas (OSÓRIO-TOBÓN, 2020). O crescente interesse em fontes naturais de moléculas antioxidantes têm resultado em um grande número de pesquisas, visto que esses antioxidantes naturais extraídos de plantas possuem alta atividade antioxidante e são utilizados em diversas aplicações nas indústrias de medicamentos, alimentos e cosméticos (SCHERER & GODOY, 2009).

CONCLUSÃO

Foi possível detectar um maior teor de compostos fenólicos e flavonoides totais nas amostras 2 (*Passiflora cincinnata* – Vitória da Conquista) e 1 (*Passiflora cincinnata* – Anagé), respectivamente, que demonstraram uma relação com os valores da atividade antioxidante encontrados para as mesmas. Essas mesmas amostras (1 e 2) apresentaram atividade antioxidante moderada, enquanto a amostra 3 apresentou baixa atividade. Como perspectivas, vislumbra-se o desenvolvimento de análises cromatográficas a fim de identificar as principais classes de compostos fenólicos presentes nas amostras.

REFERENCIAS

ALBA, T. M., TESSARO, E. AND SOBOTTKA, A. M. Seasonal effect on phenolic content and antioxidant activity of young, mature and senescent leaves from *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis (Basellaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.254174>.

ARAÚJO, A. J. de B.; SANTOS, N. C.; BARROS, S. L.; VILAR, S. B. de O.; SCHMIDT, F. L.; ARAÚJO, F. P. de; AZEVEDO, L. C. de. Caracterização Físico-química e Perfil Lipídico da Semente de Maracujá do Mato (*Passiflora cincinnata* Mast.). **Caderno de Pesquisa, Ciência e Inovação**, v. 2, n. 3, p. 14-22, 2019.

BOMTEMPO, L. L.; COSTA, A. M.; LIMA, H.; ENGESETH, N.; GLORIA, M. B. A. Bioactive amines in *Passiflora* are affected by species and fruit development. **Food Research International**, v. 89, p. 733–738, 2016. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.09.028>

BRANDÃO, L. E. M.; NÔGA, D. A. M. F.; DIERSCHNABEL, A. L.; CAMPÊLO, C. L. D. C.; MEURER, Y. D. S. R. et al. *Passiflora cincinnata* extract delays the development of motor signs and prevents dopaminergic loss in a mice model of parkinson's disease. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, p. 1-11, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1155/2017/8429290>

BRASIL, Farmacopeia Brasileira, vol. 2., 6.ed. 2019. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira/6a-edicao-volume-2> acessado em: 20/01/2022.

CANDIDO, T. L.; SILVA, M. R.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) from the Cerrado and Amazon biomes. **Food Chemistry**, v. 177, p. 313-9, 2015. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.041>

COSTA, G. M.; GAZOLA A. C.; ZUCOLOTTO S. M.; CASTELLANOS L.; RAMOS F. A.; REGINATTO F. H.; SCHENKEL E. P. Chemical profiles of traditional preparations of four South American *Passiflora* species by chromatographic and capillary electrophoretic techniques. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 26, n.4, p.451–458, 2016. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.02.005>

DHAWAN, K., DHAWAN, S., SHARMA, A. *Passiflora*: a review update. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, n. 1, p. 1–23, 2004. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.02.023>

DUARTE, I. D. A. E.; MILENKOVIC, D.; BORGES, T. K. D. S; ROSA, A. J. D. M.; MORAND, C.; OLIVEIRA, L. D. L. D.; COSTA, A.M. Acute Effects of the Consumption of *Passiflora setacea* Juice on Metabolic Risk Factors and Gene Expression Profile in Humans. **Nutrients**, v. 12, n. 4, 2020. Doi: <https://doi.org/10.3390/nu12041104>

GADIOLI, I. L.; CUNHA, M. S. B.; CARVALHO, M. V. O.; COSTA, A. M.; PINELI, L. L. O. A systematic review on phenolic compounds in *Passiflora* plants: exploring biodiversity for food, nutrition, and popular medicine. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 5, p.785–807, 2018. Doi: <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2016.1224805>

KO, H. C.; LEE, J. Y.; JANG, M. G.; SONG, H. and KIM, S. J. Seasonal variations in the phenolic compounds and antioxidant activity of *Sasa quepaertensis*. **Industrial Crops and Products**, v. 122, p. 506-512, 2018. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.031>

LAVOR, E. M.; LEAL, A. E. B. P.; FERNANDES, A. W. C.; RIBEIRO, F. P. R. A.; BARBOSA, J. M.; SILVA, M. G.; TELES, R. B. A.; OLIVEIRA, L. F. S.; SILVA, J. C.; ROLIM, L. A., et al. Ethanolic extract of the aerial parts of *Passiflora cincinnata* Mast. (Passifloraceae) reduces nociceptive and inflammatory events in mice. **Phytomedicine**, v.47, p. 58–68, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.04.052>

LEAL, A. E. B. P.; OLIVEIRA, A. P. DE; SANTOS, R. F. DOS; SOARES, J. M. D.; LAVOR, E. M. DE; PONTES, M. C., et al. Determination of phenolic compounds, in vitro antioxidant activity and characterization of secondary metabolites in different parts of *Passiflora cincinnata* by HPLC-DAD-MS/MS analysis. **Natural Product Research**, v. 34, n.7, p - 995-1001, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1548445>

MACORIS, M. S.; DE MARCHI, R.; JANZANTTI, N. S. AND MONTEIRO, M. The influence of ripening stage and cultivation system on the total antioxidant activity and total

phenolic compounds of yellow passion fruit pulp. **Journal of The Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 9, p.1886–1891, 2012. Doi: <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.5556>

OLIVEIRA, M. V. DE C.; OLIVEIRA, L. DE L. DE; COSTA, A. M. Effect of training system and climate conditions on phytochemicals of *Passiflora setacea*, a wild *Passiflora* from Brazilian savannah. **Food Chemistry**, v. 266, 2018, p- 350-358, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.097>

OSORIO-TOBÓN, J. F. Recentes avanços e comparações de técnicas convencionais e alternativas de extração de compostos fenólicos. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos** v. 57, n. 12, p. 4299-4315, 2020. Doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-020-04433-2> PMID:33087945.

RAMAIYA, S. D.; BUJANG, J. S.; ZAKARIA, M. H.; KING, W. S.; SAHRIR, M. A. S. Sugars ascorbic acid, total phenolic content and total antioxidant activity in passion fruit (*Passiflora*) cultivars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n.5, p. 1198-1205, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.5876>

RAMAIYA, S. D.; LEE, H. H.; XIAO, Y. J.; SHAHBANI, N. S.; ZAKARIA, M. H.; BUJANG, J.S. Organic cultivation practices enhanced antioxidant activities and secondary metabolites in giant granadilla (*Passiflora quadrangularis* L). **PLOS ONE**, v. 16, n. 7, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255059>

RIBEIRO, D. A.; CAMILO, C. J.; NONATO, C. F. A.; RODRIGUES, F. F. G., MENEZES, I. R. A.; RIBEIRO-FILHO, J.; XIAO, J.; SOUZA, M. M. A.; COSTA, J. G. M. Influence of seasonal variation on phenolic content and in vitro antioxidant activity of *Secondatia floribunda* A. DC. (Apocynaceae). **Food Chemistry**, v. 315, 2020. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126277>

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PEREZ-JIMÉNEZ, J.; et al. Metodologia científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. Comunicado Técnico *On line* Embrapa 127. Fortaleza, CE, 4p, 2007.

SANTANA, F. C.; SHINAGAWA, F. B.; ARAUJO, E.; COSTA, A. M.; MANCINI-FILHO, J. Chemical Composition and Antioxidant Capacity of Brazilian *Passiflora* Seed Oils. **Journal Food Science**, v. 80, n. 12, 2015. Doi: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13102>

SANTOS, B. T.; DE ARAUJO, F. P.; NETO, A. F.; DE FREITAS, S. T.; ARAÚJO J. DE S.; VILAR, S. B. DE O.; ARAÚJO, A. J. B.; LIMA, M. S. Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of the Pulp of Two Brazilian Passion Fruit Species: *Passiflora Cincinnata*

Mast. And *Passiflora Edulis* Sims. **International Journal of Fruit Science**, v. 21, n. 1, p. 255-269, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1080/15538362.2021.1872050>

SANTOS, M.D. dos; BLATT, C.T.T. Teor de flavonóides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. de mata e de cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 21, n. 2, 1998.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, v.112, p.654-658, 2009. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.026>

SIEBRA, A. L. A.; OLIVEIRA, L. R.; MARTINS, A. O. B. P. B.; SIEBRA, D. C.; ALBUQUERQUE, R. S.; LEMOS, I. C. S.; DELMONDES, G. A.; TINTINO, S. R.; FIGUEREDO, F. G.; DA COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A.; FELIPE, C. F. B.; KERNTOPF, M. R. Potentiation of antibiotic activity by *Passiflora cincinnata* Mast. front of strains *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n.1, p.37-43, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.01.019>

SILVA, J. K.; CAZARIN, C. B. B.; COLOMEU, T. C.; BATISTA, A. G.; MELETTI, L. M. M.; PASCHOAL, J. A. R.; JÚNIOR, S. B.; FURLAN, M. F.; REYES, F. G.; AUGUSTO, F.; JÚNIOR, M. R. M.; ZOLLNER, R. L. Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: in vitro and in vivo study. **Food Research International**, v. 53, p. 882–890, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.043>

SIQUEIRA, E. M.; ROSA, F. R.; FUSTINONI, A. M.; DE SANT'ANA, L. P.; ARRUDA, S. F. Brazilian savanna fruits contain higher bioactive compounds content and higher antioxidant activity relative to the conventional red delicious apple. **PLoS One**, v. 8, n. 8, 2013. Doi: [10.1371/journal.pone.0072826](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072826)

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. V.; AYRES. M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v.30, n.2, p.351-355, 2007. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021>

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. 2017. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6th. edn. Porto Alegre, Artmed.

YILMAZ, Y.; GÖKSEL, Z.; ERDOGAN, S. S.; ÖZTÜRK, A.; ATAK, A.; OZER, C. Antioxidant Activity and Phenolic Content of Seed, Skin and Pulp Parts of 22 Grape (*Vitis vinifera* L.) Cultivars (4 Common and 18 Registered or Candidate for Registration). **Journal**

of Food Processing and Preservation, v. 39, n. 6, p. 1682-1691, 2015. ISSN 1745-4549. Doi: <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.12399>

ZUCOLOTTO, S. M.; CARIZE, F.; REGINATTO, F. H.; RAMOS, F. A.; CASTELLANOS, L.; DUQUEB, C.; SCHENKEL, E. P. Analysis of C-glycosyl flavonoids from South American Passiflora species by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Phytochemical Analysis**, v. 23, p. 232-239, 2012. Doi: <https://doi.org/10.1002/pca.1348>

CONCLUSÃO

As populações/coleções de *Passiflora cincinnata* apresentaram altos índices de polimorfismo, sendo os marcadores utilizados informativos. A metapopulação apresentou 25,3% de marcadores/alelos privados, com destaque entre as populações naturais para Anagé, que apresentou sete marcadores/alelos privados. A metapopulação está estruturada em pelo menos três *pool gênicos*, enquanto os BAGs em dois *pool gênicos*. A análise molecular de variância (AMOVA) indicou uma maior diversidade dentro das populações, com baixa diferenciação entre elas. O conhecimento sobre a variabilidade e estrutura genética de *P.cincinnata* apresentado neste estudo é importante no que diz respeito a elaboração de estratégias e expedições de coleta para compor bancos de germoplasma e para tornar mais eficiente os programas de conservação *in situ* e *ex situ*. Uma grande proporção da variabilidade presente dentro das populações sugere que um número menor de populações será necessário para uma representação da diversidade de *P. cincinnata*. No entanto, considerando as limitações de recursos financeiros e técnicos para implementação dessas estratégias, sugere-se que a coleta de material da população de Anagé seja priorizada, visto que, 7 alelos são privados dessa população.

As espécies *Passiflora setacea* e *Passiflora cincinnata*, possuem ampla distribuição dentro da mesorregião centro-sul baiano e densidade variada, composta por populações de poucos indivíduos (≤ 100). Apresentam características ecogeográficas variadas quanto à topografia, temperatura, pH, saturação por base e acidez potencial. Os locais com temperaturas médias de até 28°C, altitude entre 670 e 860 m, pH 4,3-5,11, saturação por base <50 e H+Al entre 2-5 (CAC, CAE, ENC e VCT) favorece as duas espécies, enquanto que temperaturas altas de até 31°C, pH entre 5 e 6, saturação por base > 50 e H+Al $\leq 1,5$ (URA, MP e ANA) favorece *P. cincinnata* e nos ambientes com temperaturas de até 27°C, altitudes superiores a 900 m, pH médio de 4,5, saturação por base média de 30 e H+Al média de 3 (CS e DA), favorece *P. setacea*.

Foi possível detectar fenólicos e flavonoides totais nas amostras nos extratos de *P. cincinnata* e *P. setacea*, que demonstraram uma relação com os valores da atividade antioxidante encontrados para as mesmas.

REFERENCIAS

ABRAHAMCZYK, S.; SOUTO-VILARÓS, D.; RENNER, S. S. Escape from extreme specialization: passionflowers, bats and the sword-billed hummingbird. **Proceedings of the Royal Society**, v. 281, n. 1795, 2014.

ABREU, P. P.; SOUZA, M. M.; SANTOS, E. A.; PIRES, M. V.; PIRES, M. M.; ALMEIDA, A. A. F. 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, 2009. Doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s10681-008-9835-x>

AGUILLÓN-OSMA, J.; LUZARDO-OCAMPO I.; CUELLAR-NUÑEZ, M. L.; MALDONADO-CELIS, M. E.; LOANGO-CHAMORRO, N.; CAMPOS-VEJA, R. Impact of in vitro gastrointestinal digestion on the bioaccessibility and antioxidant capacity of bioactive compounds from Passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves and juice extracts. **Journal of Food Biochemistry** v. 43, n. 7, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1111/jfbc.12879>

ALU'DATT, M. H.; RABABAH, T.; ALHAMAD, M. N.; AL-MAHASNEH, M.; ALMAJWAL, A.; GAMOH, S. et al. A review of phenolic compounds in oil-bearing plants: distribution, identification and occurrence of phenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 218, p. 99-106, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.057>

ANUSOORIYA, P.; MALARVIZHI, D.; GOPALAKRISHNAN, V. K.; DEVAKI, K. Antioxidant and antidiabetic effect of aqueous fruit extract of *Passiflora ligularis* Juss. on streptozotocin induced diabetic rats. **International Scholarly Research Notices**, v. 2014, 2014. Doi: <https://doi.org/10.1155/2014/130342>

APG, Angiosperm Phylogeny Group. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. p. 181: 1-20, 2016.

ARAÚJO, F. P.; MELO, N. F.; AIDAR, S. D. E. T.; FALEIRO, F. G.; JESUS, O. N. Maracuyá de la Caatinga: *Passiflora cincinnata* Mast. In: CARLOSAMA, AR; FALEIRO, FG; MORERA, MP; COSTA, AM. (Eds.) 2020. PASIFLORAS especies cultivadas en el mundo. ProImpress, Brasília, DF, 2020.

ARAYA, S.; MARTINS, A. M.; JUNQUEIRA, N. T. V.; COSTA, A. M.; FALEIRO, F. G.; FERREIRA, M. E. Microsatellite marker development by partial sequencing of the sour passion fruit genome (*Passiflora edulis* Sims). **BMC Genomics**, v. 18, n.549. 2017. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3881-5>

AYRES, A. S.; DE ARAÚJO, L. L.; SOARES, T. C.; COSTA, G. M.; REGINATTO, F. H.; RAMOS, F. A. et al. Comparative central effects of the aqueous leaf extract of two populations of *Passiflora edulis*. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.25, p. 499-505, 2015. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.06.007>

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; AND SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191–203, 2006. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.07.042

BERNACCI, L.C.; NUNES, T.S.; MEZZONATO, A.C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A.; D.C. Imig; Cervi, A.C. (in memoriam). 2020. *Passiflora* in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB12506>>. Acesso em: 07 out. 2021

BERNACCI, LC. Passifloraceae. In: Wanderley, M. G. L.; Shepherd G. J.; Giulietti, AM & Melhem, TS. (coords.). Flora Fanerogâmica do estado de São Paulo. Vol. 3. FAPESP/RIMA, São Paulo, 247-274p, 2003.

BFG. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. **Rodriguesia**, v. 66, p. 1085-1113, 2015.

BERNACCI, L. C.; MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; PASSOS, I. R. S. Espécies de maracujá: caracterização e conservação da biodiversidade. In: FALEIRO, FG; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (ed.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 559-586, 2005.

BORGES, R. DE. S.; SACANARI, C.; NICOLI, A. M.; COELHO, R. R. Novas variedades: validação e transferência de tecnologia. In: FALEIRO, FG; JUNQUEIRA, NTV; BRAGA, M. F. (Ed.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina-DF: Embrapa Cerrados, cap.25, p.618 -639, 2005.

BRAGA, M. F. & JUNQUEIRA, N. T. V. Uso potencial de outras espécies do gênero *Passiflora*. **Informe Agropecuário**, v. 21, n. 206, p. 72-75, 2000.

BRAGA, M. F.; JUNQUEIRA, N. T.V.; FALEIRO, F. G.; BERNACCI, L. C. *Passiflora* spp. Maracujá-do-cerrado in: VIEIRA, R. F.; CAMILLO, J.; CORADIN, L (Ed.). Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: Região Centro-Oeste. Brasília, DF: MMA, 1.160 p., 2016.

CALDERON, A.; SALAS, J.; DAPELLO, G.; GAMBOA E.; ROSAS, J.; CHÁVEZ, J. et al. Assessment of antibacterial and antifungal properties and in vivo cytotoxicity of Peruvian *Passiflora mollissima*. **The Journal Contemp Dent Pract**; v. 20, n.2, p. 145-51, 2019. Doi: <http://dx.doi.org/10.5005/jp-journals-10024-2489>

CARMO, T. V. B. DO; MARTINS, L. S. S.; MUSSER, R. DOS. S.; SILVA, M. M. D. A.; SANTOS, J. P. O. 2017. Genetic diversity in accessions of *Passiflora cincinnata* Mast. based on morphoagronomic descriptors and molecular markers. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 30, n. 1, p. 68 – 77.

CAZARIN, C. B.; DA SILVA, J. K.; COLOMEU, T. C.; BATISTA, A. G.; MELETTI, L. M. M.; PASCHOAL, J. A. R. et al. Intake of *Passiflora edulis* leaf extract improves antioxidant and anti-inflammatory status in rats with 2,4,6-trinitrobenzenesulphonic acid induced colitis. **Journal Functional Foods**, v. 17, p. 575-86, 2015. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.05.034>

CAZÉ, A. L. R.; KRIEDT, R. A.; BEHEREGARAY, L. B.; BONATTO, S. L.; FREITAS, L. B. 2012. Isolation and characterization of microsatellite markers for *Passiflora contracta*. **International Journal of Molecular Sciences**, v.13, n. 9, p. 11343–11348.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; SANTOS, E. S. L.; SOUZA, A. M.; MORI, G. M.; OLIVEIRA, E. J.; CORRÊA, R. X.; SOUZA, A. P. Development and characterization of microsatellite markers for the wild South American *Passiflora cincinnata* (Passifloraceae). **American Journal of Botany**, v. 99, p.170-172, 2012a.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; SANTOS, E. S. L.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S.; CARDOSO-SILVA, C. B.; PEREIRA, A. S.; OLIVEIRA, A. C. AND CORRÊA, R. X. Short Communication Genetic variation in a wild population of the `sleep passion fruit (*Passiflora setacea*) based on molecular markers. **Genetics and Molecular Research**, v.11, p. 731-738, 2012b.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; FALEIRO, F. G; JESUS, O. N; SANTOS, E. S. L.; SOUZA, A. P. 2016. The genetic diversity, conservation, and use of passion fruit (*Passiflora* spp.). In: AHUJA, M. R.; JAIN, S. M. (eds.) Genetic diversity and erosion in plants - case histories, v.2. Springer International Publishing, Switzerland. https://doi: 10.1007/978-3-319-25954-3_5.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S.; SANTOS, E. S. L.; CARDOSO-SILVA, C. B.; PEREIRA, A. S.; OLIVEIRA, A. C.; CORRÊA, R. X. Genetic variability in wild genotypes of *Passiflora cincinnata* based on RAPD markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 9, p. 2421-2428, 2010. Doi: <https://doi.org/10.4238/vol9-4gmr981>

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; NUNES, O.; SANTOS, E. S. L.; CORRÊA, R. X.; SOUZA, A. P. Genetic Breeding and Diversity of the Genus *Passiflora*: Progress and Perspectives in Molecular and Genetic Studies. **International Journal of Molecular Sciences** (Online), v. 15, p. 14122-14152, 2014a.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; SANTOS, E. S. L.; VIEIRA, J. G. P.; MORI, G. M.; JESUS, O. N.; CORRÊA, R. X.; SOUZA, A. P. New microsatellite markers for wild and commercial species of *Passiflora* (Passifloraceae) and cross-amplification. **Applications in Plant Sciences**, v.2, p.1-5, 2014b.

CERVI, A. C. 1997. Passifloraceae do Brasil. estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. Madrid: Fontqueira XLV, 92 p.

CHIOCCHIO, I.; MANDRONE, M.; TOMASI, P.; MARINCICH, L., AND POLI, F. Plant secondary metabolites: an opportunity for circular economy. **Molecules**, v. 26, n. 2, 2021. Doi: 10.3390/molecules26020495

CHRISTENHUSZ, M. J. & BYNG, J. W. The number of known plants species in the world and its annual increase. **Phytotaxa**, v. 261, n.3, p. 201-217, 2016.

COELHO, M. D. S. E.; DE ANDRADE BORTOLETI, K. C.; DE ARAÚJO, F. P.; DE MELO, N. F. Cytogenetic characterization of the *Passiflora edulis* Sims × *Passiflora cincinnata* Mast. interspecific hybrid and its parents. **Euphytica**, v. 210, n.1, p. 93-104, 2016.

COLOMEU, T. C.; FIGUEIREDO, D.; CAZARIN, C. B.; SCHUMACHERA, N. S. G.; MARÓSTICA, M. R.; MELETTIC, L. M. M., et al. Antioxidant and anti-diabetic potential of *Passiflora alata* Curtis aqueous leaves extract in type 1 diabetes mellitus (NOD-mice). **International Immunopharmacology**, v. 18, p. 106-15, 2014. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2013.11.005>

COSTA, Z. P. D. A.; MUNHOZ, C. D. E. F.; VIEIRA, M. L. C. Report on the development of putative functional SSR and SNP markers in passion fruits. **BMC Research Notes**, v. 10, n.445, 2017.

DA SILVA, J.; CAZARIN, C.; COLOMEU, T.; BATISTA, A. G.; MELETTI, L. M. M.; PASCHOAL, J. A. R. et al. Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: in vitro and in vivo study. **Food Research International**, v. 53, p. 882-90, 2013. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.043>

DE MELO, F.; GUERRA, M. Variability of 5S and 45S rDNA sites in *Passiflora* L. species with distinct base chromosome numbers. **Annals Botany**, v. 92, p. 309-316, 2003. Doi: <https://doi.org/10.1093/aob/mcg138>

DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; SHARMA, A. *Passiflora*: a review update. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, n.1, p.1–23, 2004.

DÍAZ, S.; SETTELE, J.; BRONDÍZIO, E. S.; NGO, H. T.; AGARD, J.; ARNETH, A. et al. Pervasive human-driven decline of life on earth points to the need for transformative change. **Science**, v. 366, p. 1-10, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1126/science.aax3100>

DOUNGUE, H. T.; KENGNE, A. P.; KUATE, D. Neuroprotective effect and antioxidant activity of *Passiflora edulis* fruit flavonoid fraction, aqueous extract, and juice in aluminum chloride-induced Alzheimer's disease rats. **Nutrire**, v. 43, n. 23, p. 1-12, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1186/s41110-018-0082-1>

DUTRA R. C.; CAMPOS, M. M.; SANTOS, A. R.; CALIXTO, J. B. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Farmacological Research**, v. 112, p. 4 – 29, 2016. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.01.021>

EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA. Núcleo de Tecnologia da Informação (NTI). AleloVegetal. Disponível em: <<http://alelobag.cenargen.embrapa.br/AleloConsultas/Home/index.do>>. Acesso em: Agosto de 2021.

EMBRAPA. Cultivar de maracujazeiro silvestre (*Passiflora cincinnata* Mast.) para a Caatinga e para o Cerrado BRS Sertão Forte. 2016. (Pasta técnica). Disponível em: http://www.cpac.embrapa.br/publico/usuarios/uploads/lancamentosertaoforte/foldercultivarbrs_sertaoforte.pdf

EMBRAPA. Lançamento da cultivar de maracujazeiro silvestre BRS Pérola do Cerrado. Folder Técnico da Cultivar Pérola do Cerrado, 2013. Disponível em: <https://www.cpac.embrapa.br/lancamentoperola/>

FAJARDO, D.; ANGEL, F.; GRUM, M.; TOHME, J.; LOBO, M.; ROCA, W. M. & SANCHEZ, I. Análise da variação genética do gênero *Passiflora* L. usando marcadores RAPD. **Euphytica**, v. 101, n.3, p.341-347, 1998.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNQUEIRA, K. P.; BRAGA, M. F.; BORGES, R. de S.; PEIXOTO, J. R.; ANDRADE, G. A.; SANTOS, E. C.; SILVA, D. G. P. BRS Estrela do Cerrado: híbrido de *Passiflora* para uso como planta ornamental, folheto, 2007a. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/78948/1/p2007-27.pdf>

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N.; JUNQUEIRA, K. P.; BRAGA, M. F.; SOARES-SCOTT, M. D.; SOUZA, L.; CASTIGLIONI, G. L. BRS Rubiflora: Híbrido de *Passiflora* para uso como planta ornamental. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 13, pág.337, 2007b.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Híbrido interespecífico de maracujá ornamental de flores rosadas BRS Rósea Púrpura. Folheto, 2016a. Disponível em:

https://www.cpac.embrapa.br/publico/usuarios/uploads/lancamentoornamental2016/BRSRoseaPurpura_folder.pdf

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Híbrido interespecífico de maracujá ornamental de flores azuladas BRS Ceu do cerrado. Folheto, 2016b. Disponível em: https://www.cpac.embrapa.br/publico/usuarios/uploads/lancamentoornamental2016/BRSCeudoCerrado_folder.pdf

FALEIRO, F. G. Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. Embrapa, 2007.

FALEIRO, F. G.; FERNANDES, P. C. C.; GONTIJO, G. M.; MENDES, A. C. S.; COSTA, A. M.; JUNQUEIRA, N. T. V. Experiências de sucesso de produtores de maracujá no DF. In: FALEIRO, F. G.; ROCHA, F. E. C.; GONTIJO, G. M.; ROCHA, L. C. T. (ed.). Maracujá: prospecção de demandas para pesquisa, extensão rural e políticas públicas baseadas na adoção e no impacto de tecnologias. Expedição safra Brasília – maracujá. Brasília (DF): Emater, p.256-269, 2019.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro – desafios da pesquisa. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina, DF: Embrapa Cerradosp. 187-210, 2005.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. 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, 2011.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; DE JESUS, O. N.; CENCI, A.S.; MACHADO, C. F.; ROSA, R. C. C.; COSTA, A. M.; JUNQUEIRA, K. P.; JUNGHANS, T. G. Maracuyá: *Passiflora edulis* Sims. In: CARLOSAMA, A.R., FALEIRO, F.G., MORERA, M.P., COSTA, A.M. (Eds.) 2020. PASIFLORAS especies cultivadas en el mundo. ProImpress, Brasília, DF, 2020.

FALEIRO, F. G.; NILTON, T. V. J.; DE JESUS, O. N.; COSTA, A.M. Caracterização Ecológica, Morfológica, Agrônômica e Molecular das Passifloras e seu Uso Diversificado. In: Maracujá: dos recursos genéticos ao desenvolvimento tecnológico / Editores técnicos, MORERA, M. P.; COSTA, A. M.; FALEIRO, F. G.; CARLOSAMA, A. R.; CARRANZA, C. ProImpress, Brasília, DF, 2018.

FERREIRA, F.R. Recursos genéticos de Passiflora. In: FALEIRO, F.G. et al. Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 41-51, 2005.

FEUILLET, C. AND MACDOUGAL, J. M. A new infrageneric classification of *Passiflora* L. (Passifloraceae). *Passiflora*, v.14, n.1, p.34-38, 2003.

FEUILLET, C. AND MACDOUGAL, J. Passifloraceae in The families and genera of vascular plants vol. 9, ed. K. Kubitzki. Berlin: Springer-Verlag, 270–280p, 2007.

FIGUEIREDO, D.; COLOMEU, T. C.; SCHUMACHER, N. S. G.; STIVANIN-SILVA, L. G.; CAZARIN, C. B. B.; MOLINA, L. M. et al. Aqueous leaf extract of *Passiflora alata* Curtis promotes antioxidant and antiinflammatory effects and consequently preservation of NOD mice beta cells (non-obese diabetic). **International Immunopharmacology**, v. 35, p. 127-36, 2016. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2016.03.031>

FISCHER, E., LEAL, I.R. Effect of nectar secretion rate on pollination success of *Passiflora coccinea* (Passifloraceae) in the central Amazon. **Brazilian Journal of Biology**. 66: 29-41, 2006.

FONSECA, L. R. D.; RODRIGUES, R. D. A.; RAMOS, A. D. S.; DA CRUZ, J. D.; FERREIRA, J. L. P.; SILVA, J. R. D. A.; AMARAL, A. C. F. Herbal medicinal products from *Passiflora* for anxiety: An unexploited potential. **The Scientific World Journal**, v. 2020, 2020. <https://dx.doi.org/10.1155%2F2020%2F6598434>

GADIOLI, I. L.; DA CUNHA, M. S.; DE CARVALHO, M. V.; COSTA, A. M.; PINELI, L. L. A systematic review on phenolic compounds in *Passiflora* plants: Exploring biodiversity for food, nutrition, and popular medicine. **Critical Reviews in Food Science and nutrition**, v. 58, n.5, p. 785-807, 2016. Doi: [10.1080/10408398.2016.1224805](https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1224805)

GOBBO-NETO, L. & LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

SÁNCHEZ GONZÁLEZ J. D. J; RUIZ CORRAL J. Á.; GARCÍA G. M.; OJEDA G. R.; LARIOS L. D. L. C.; HOLLAND J. B. et al. Ecogeografía do teosinto. **PLoS ONE**, v. 13, n. 2, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192676>

HANSEN, A.K.; LAWRENCE, G.; SIMPSON, B. B.; DOWNIE, S. R.; CERVI, A. C. JANSEN, R, K. Phylogenetic relationships and chromosome number evolution in *Passiflora*. **Systematic Botany**, v. 31, p. 138-150, 2006. Doi: <https://doi.org/10.1600/036364406775971769>

IBGE 2019. Produção agrícola municipal. Disponível em: http://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_pdf/dados/brasil/maracuja/b1_maracuja.pdf (Acessado em agosto de 2020).

JESUS, O. N. D. E.; MACHADO, C. D. E. F.; JUNGHANS, T. G.; OLIVEIRA, E. J. D. E.; GIRARDI, E. A.; FALEIRO, F. G.; ROSA, R. C. C.; SOARES, T. L.; LIMA, L. K. S.; SANTOS, I. S. DOS; SAMPAIO, S. R.; AGUIAR, F. S.; GONÇALVES, Z. S. Recursos Genéticos de *Passiflora* L. na Embrapa: pré-melhoramento e melhoramento genético. In: Maracujá: dos recursos genéticos ao desenvolvimento tecnológico / Editores técnicos, MORERA, MP; COSTA, AM; FALEIRO, FG; CARLOSAMA, AR; CARRANZA, C. ProImpress, Brasília, DF, 2018.

JORGENSEN, P. M.; MUCHHALA, N.; MACDOUGAL, J. M. *Passiflora unipetala*, a new bat-pollinated species of *Passiflora* supersect. *Tacsonia* (Passifloraceae). **Novon**, v. 22, p. 174–179, 2012.

JUNQUEIRA, K. P., JUNQUEIRA, N. T. V., FALEIRO, F. G., BRAGA, M. F., LIMA, C. A., DE FARIA VAZ, C., & VILLANOVA, A. C. C. BRS Roseflora: Híbrido de *Passiflora* para uso em paisagismo. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, 13, 429-431, 2007.

JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; BERNACCI, L. C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, FG, JUNQUEIRA, NTV, BRAGA, MF. Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 81-108, 2005.

KIILL, L. H. P.; SIQUEIRA, K. M. M.; DE ARAÚJO, F. P.; TRIGO, S. P. M.; FEITOZA, E. D. E. A.; LEMOS, I. B. Biologia reprodutiva de *Passiflora cincinnata* Mast. (Passifloraceae) na região de Petrolina (Pernambuco, Brasil). **Oecologia Australis**, v. 14, n.1, p. 115-127, 2010.

KOSCHNITZKE. C.; SAZIMA, M. Biologia floral de cinco espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) em mata semi-decídua. *Revista Brasileira de Botânica*, v.20 p. 119-126, 1997.

LEÃO, K. M. M.; SAMPAIO, K. L.; PAGANI, A. A. C.; DA SILVA, M. A. A. P. Odor potency, aroma profile and volatiles composition of cold pressed oil from industrial passion fruit residues. **Industrial Crops and Products**, v. 58, p. 280-286, 2014. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.04.032>

LIU, Z.; LI, M.; QIAN, D.; LIU, Z.; SHU, Q. Phytochemical profiles and the hypoglycemic effects of tree peony seed coats. **Food & Function**, v. 12, 2021. Doi: [https://doi-org.ez84.periodicos.capes.gov.br/10.1039/D1FO02341A](https://doi.org.ez84.periodicos.capes.gov.br/10.1039/D1FO02341A)

MAC DOUGAL, J. M. & FEUILLET, C. Systematics. In: ULMER, T. and MACDOUGAL, J. M (ed.), *Passiflora*: passion flowers of the world. Portland Oregon: Timber Press. p. 27-31, 2004.

MACHADO, C. F.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ARAUJO, F. P. D. E; COSTA, A. M; JUNGHANS, T. G. Espécies silvestres de maracujazeiro comercializadas em pequena escala no Brasil. In: Junghans, TG.; Jesus, ON. de (Ed.). 2017. Maracujá do cultivo à comercialização. Brasília, DF: Embrapa. 2017.

MACIEL, K. S; DE LIMA, P. A. M; MADALON, F. Z; FERREIRA, M. F. S., ALEXANDRE, R. S.; LOPES, J. C. Genetic diversity in passion fruit plants at different altitudes. **Australian Journal of Crop Science**, v. 13, n.07, p. 1083-1093, 2019. Doi: 10.21475/ajcs.19.13.07.p1545

MARINO, M. World's Bioersivity for food and agriculture. **Italian Review of Agricultural Economics**, v. 74, n. 3, p. 7-10, 2019. Doi: 10.13128/rea-11207

MEIRA, M. R.; MATINS, E. R.; RESENDE, L. V. Ecogeography of *Lippia rotundifolia* Cham. In Minas Gerais, Brazil. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 47, n.8, 2017

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; PASSOS, I, R. S. Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (ed.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, Cap. 3, p. 55-78, 2005.

MENDES, A. D. R.; NASCIMENTO, C. R.; QUEIROZ, T. B.; PINTO. V. B.; MARTINS, E. R. Ecogeography populations of *Cordia (Varronia curassavica* Jacq.) in North and Jequitinhonha Valley in Minas Gerais, Brazil. **Ciência Rural**, v. 45, n. 3, p. 418-424, 2015. Doi: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20140196>

MIKOVSKI, A. I.; SILVA, N. T. D.; SOUZA, C. D. S.; MACHADO, M. D.; OTONI, W. C.; CARVALHO, I. F.; SILVA, M. L. Tissue culture and biotechnological techniques applied to passion fruit with ornamental potential: an overview. **Ornamental Horticulture**, v.25, p.189-199, 2019.

MONDINI, L.; NOORANI, A.; PAGNOTTA, M. A. Assessing plant genetic diversity by molecular tools. **Diversity**, v.1, n.1, p.19–35. 2009. Doi: 10.3390/d1010019.

MORGADO, M. A. D. O.; BRUCKNER, C. H.; ROSADO, L. D. S.; SANTOS, C. E. Development of passion fruit grafted on *passiflora* wild species. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 2, p. 471-479, 2015.

OCAMPO, J.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; JARVIS, A. 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, 2010.

OLIVEIRA, E. A. DE; OLIVEIRA, L. M. DE; LORDELO, M. S.; SALES, R. P. Ecogeographic studies on *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth. Harley & J.F.B. Pastore: A

medicinal species of the semiarid region of Brazil. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, 2021. Doi: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i4.13963>

OLIVEIRA, J., GELAPE, F., VILELA, N., DA FONSECA, G., AND ARAYA, S. Genetic variability of *Passiflora* spp. base on ISSR and RAPD. **Asian Journal of Science and Technology**, v. 10, p. 9375-9378, 2019.

OŻAROWSKI, M.; KARPIŃSKI, T. M. Extracts and Flavonoids of *Passiflora* Species as Promising Anti-inflammatory and Antioxidant Substances. **Current Pharmaceutical Design**, v. 27, n. 22, p. 2582-2604, 2021. Doi: <http://dx.doi.org/10.2174/1381612826666200526150113>

PAIVA, C. L.; VIANA, A. P.; SANTOS, E. A.; SILVA, R. N. O.; OLIVEIRA, E. J. D. Diversidade genética de espécies do gênero *Passiflora* com o uso da estratégia Ward-MLM. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 381-390. 2014a.

PAIVA, C. L.; VIANA, A. P.; SANTOS, A. E.; FREITAS, J. C. DE O.; SILVA, R. N. O.; OLIVEIRA, E. J. DE. Genetic variability assessment in the genus *Passiflora* by SSR markers. **Chilean Journal Of Agricultural Research**, v. 74, n. 3, p355-360, 2014b.

PARRA-QUIJANO, M.; IRIONDO, J. M.; TORRES, E. Review. Applications of ecogeography and geographic information systems in conservation and utilization of plant genetic resources. **Spanish J Agric Res.**, v. 10, n. 2, p. 419–429, 2012.

PENHA, H. A.; PEREIRA, G. S.; ZUCCHI, M. I.; DINIZ, A. L.; VIEIRA, M. L. C.; FLACHOWSKY, H. Development of microsatellite markers in sweet passion fruit, and identification of length and conformation polymorphisms within repeat sequences. *Plant Breed*, v. 132, p. 731–735. 2013. Doi:[10.1111/pbr.12083](https://doi.org/10.1111/pbr.12083)

PEREIRA, D. A.; CORREA, R. X.; OLIVEIRA, A. C. ‘Do-sono’passion fruit: Ecogeographical prospecting and phenotypic dispersion in transition areas between the caatinga and cerrado of Brazil. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n.3, p. 206-211. 2015a.

PEREIRA, D. A.; CORRÊA, R. X.; OLIVEIRA, A. C. 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**, v. 59, p. 12-21, 2015b. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2014.12.020>

POTTS, S. G.; BIESMEIJER, J. C.; KREMEN, C.; NEUMANN, P.; SCHWEIGER, O.; KUNIN, W. E. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology Evolution**, v. 25, p. 345-353, 2010. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.01.007>

RAMAKRISHNA, A. and RAVISHANKAR, G. A. Influence of Abiotic Stress Signals on Secondary Metabolites in Plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 11, p. 1720-1731, 2011. Doi: <http://dx.doi.org/10.4161/psb.6.11.17613>

REDDY, M. P.; SARLA, N.; REDDY, E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application plant breeding. **Euphytica**, v. 128, p.9-17. 2002.

SADER, M. A.; AMORIM, B. S.; COSTA, L.; SOUZA, G.; PEDROSA-HARAND, A. The role of chromosome changes in the diversification of *Passiflora* L. (Passifloraceae) **Systematics Biodiversity**, v. 17, n. 1, p. 7-21, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1080/14772000.2018.1546777>

SALLES, B. C. C.; DA SILVA, M. A.; TANIGUTHI, L.; FERREIRA, J. N.; ROCHA, Q.; VILEGAS, W. et al. *Passiflora edulis* leaf extract: evidence of antidiabetic and antiplatelet effects in rats. **Biological Pharmaceutical Bulletin**, v. 43, n. 1, p. 169-74, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1248/bpb.b18-00952>

SANTOS, L. F. DOS; OLIVEIRA, E. J. DE; SANTOS SILVA, A. DOS; CARVALHO F. M. DE; COSTA, JL; PÁDUA, J. G. ISSR Markers as a Tool for the Assessment of Genetic Diversity in *Passiflora*. **Biochem Genet.**, v.49, n.7-8, p.540-54, 2011.

SANTOS, R. T. S; BIASOTO, A. C. T.; RYBKA, A. C. P.; CASTRO, C. D. P. C.; AIDAR, S. T.; BORGES, G. S. C.; SILVA, F. L. H. Physicochemical characterization, bioactive compounds, in vitro antioxidant activity, sensory profile and consumer acceptability of fermented alcoholic beverage obtained from Caatinga passion fruit (*Passiflora cincinnata* Mast.). **LWT - Food Science and Technology**, v 148, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111714>

SAZIMA, I. & SAZIMA, M. Mamangavas e irapuás (Hymenoptera, Apoidea): visitas, interações e consequências para a polinização do maracujá (Passifloraceae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 33, p. 108-118, 1989.

SEGURA, S. D.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; OLLITRAULT, P. Isozyme variation in five species of *Passiflora* subgenus Tacsonia and *Passiflora manicata*. **Proc. Interam. Soc. Trop. Hort.**, v. 42, p. 260–266, 1998.

SHANMUGAM, S.; MURUGAIYAN, I.; LIMA, B. S.; SEREFINI, M. R.; ARAUJO, A. A. S.; NARAIN, N. et al. HPLC-DAD-MS identification of polyphenols from *Passiflora leschenaultii* and determination of their antioxidant, analgesic, anti-inflammatory and antipyretic properties. **Arabian Journal Chemistry**, v.12, n. 6, p. 760-71, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.02.008>

SOARES, T. L.; DE JESUS, O. N.; DE SOUZA, E. H.; DE OLIVEIRA, E. J. Reproductive biology and pollen–pistil interactions in *Passiflora* species with ornamental potential. **Scientia Horticulturae**, v. 197, p. 339-349, 2015.

TURCHETTO-ZOLET, A. C.; TURCHETTO, C.; ZANELLA, C. M.; PASSAIA, G. (organizadores). Marcadores Moleculares na Era genômica: Metodologias e Aplicações. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 181 p., 2017. Disponível em:https://www.sbg.org.br/sites/default/files/e_book_marcadores_moleculares_sbg_2017_final.pdf

THORMANN, I., REEVES P., REILLEY A., ENGELS J. M. M, LOHWASSER U., BÖRNER A., et al. 2016. Geography of Genetic Structure in Barley Wild Relative *Hordeum vulgare* subsp. *spontaneum* in Jordan. **PLoS ONE**, v. 11, n. 8, 2016. doi:10.1371/journal.pone.0160745

ULMER, T. & MACDOUGAL, J. M. *Passiflora*. Passion flowers of the world. Portland. Timber Press, 2004.

WETZEL, M. M. V. S; GIMENES, M. A.; PÁDUA, J. G.; JOSÉ, S. C. B. R.; NETO, L. G. P. Conservação de espécies silvestres com potencial de utilização em programas de pré-melhoramento na coleção base da Embrapa. In: LOPES, MA; FÁVERO, AP; FERREIRA, MAJF; FALEIRO, FG; FOLLE, FM; GUIMARÃES, EP (Eds.). Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso. Embrapa Informações tecnológicas, Brasília, DF. p. 102-122, 2011.

WU, Y; TIAN, Q; HUANG, W; LIU, J; XIA, X; YANG, X; MOU, H. Phylogenetic analysis by SNP and development of SSR marker in *Passiflora*. **bioRxiv**, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1101/2020.07.15.203513>

XIA, T.; CHEN, S.; WANG, L.; XU, J.; WANG, H.; ZHANG, H. et al. The genetic structure of six-rowed naked barley landraces from the Qinghai-Tibetan Plateau is correlated with variation for ecogeographical factors. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 98, n. 1, p. 81-92, 2018. Doi: <https://doi-org.ez84.periodicos.capes.gov.br/10.1139/cjps-2017-0132>

YOCKTENG, R.; EECKENBRUGGE, G. C.; SOUZACHIES, T. T. *Passiflora*. In: KOLE, C. (ed.). Wild crop relatives: genomic and breeding resources/tropical and subtropical fruits. Berlin: Springer, p.129-193, 2011.

ZHANG, Y.; CAI, P.; CHENG, G.; ZHANG, Y. A. Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological Activity. **Natural Product Communications**, v. 17, n. 1, p. 1–14, 2022. Doi: 10.1177/1934578X211069721

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

ANEXOS

Anexo 1. Carta de aceite para publicação no periódico *Chilean Journal of Agricultural Research* do artigo intitulado “Structure and molecular genetic diversity in natural populations and active germplasm banks of *Passiflora cincinnata* Mast”.



CHILEAN JOURNAL
of AGRICULTURAL RESEARCH

Chillán, Chile, July 29, 2022

Mister/Miss

Carlos Bernard Cerqueira-Silva
State University of Southwest Bahia
Itapetinga
Brazil

Dear author:

We are pleased to inform you that the manuscript **Structure and molecular genetic diversity in natural populations and active germplasm banks of *Passiflora cincinnata* Mast.**, of **Thalana S.S. Silva, Messulan R. Meira, Joao Guilherme P. Vieira, Elisa S.L. Santos, Onildo N. de Jesus, Fabio G. Faleiro, and Carlos B. Cerqueira-Silva**, code **CJAR220085**, has been accepted for publication in Chilean Journal of Agricultural Research.

Your manuscript will be published in Volume 82, issue 04, in October December 2022.

Sincerely yours



Pablo Undurraga D.
Editor
Chilean J. Agricultural Research

**Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias**
Ministerio de Agricultura

INIA Quilamapu: Avda Vicente Méndez 515, Chillán. Casilla 426
Tel.: +56 42 220 6780