



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

**ESTUDO GENÉTICO MOLECULAR EM ESPÉCIES DO
GÊNERO *PASSIFLORA* A PARTIR DE MARCADORES
MOLECULARES**

Nátilla Deyse Souza Costa

Itapetinga-Bahia
Junho, 2018

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais
Campus Universitário —Juvino Oliveira
Itapetinga – BA. Cep: 45.700-000. Tel. (77) 3261-8631

**ESTUDO GENÉTICO MOLECULAR EM ESPÉCIES DO
GÊNERO *PASSIFLORA* A PARTIR DE MARCADORES
MOLECULARES**

Autora: Nátilla Deyse Souza Costa
Orientador: Prof. Dr. Carlos Bernard M. Cerqueira
Silva

“Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS, no Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Ambientais da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Área de concentração: Meio Ambiente e Desenvolvimento”.

Itapetinga-Bahia
Junho, 2018

634.425 Costa, Nátilla Deyse Souza.

C874e Estudo genético molecular em espécies do gênero *Passiflora* a partir de marcadores moleculares. / Nátilla Deyse Souza Costa. - Itapetinga: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2018.
105fl.

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS, no Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Ambientais da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Área de concentração: Meio Ambiente e Desenvolvimento. Sob a orientação do Prof. D. Sc. Carlos Bernard M. Cerqueira Silva.

1. Maracujazeiro - Marcadores moleculares. 2. Maracujá – Diversidade genética - Marcadores moleculares. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais. II. Silva, Carlos Bernard M. Cerqueira. III. Título.

CDD(21): 634.425

Catálogo na fonte:

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

Índice Sistemático para Desdobramento por Assunto:

1. Maracujazeiro - Marcadores moleculares
2. Maracujá – Diversidade genética - Marcadores moleculares

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu.”.

Eclesiastes 3:1

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus, pois sem ele não estaria aqui, por ter me sustentado e acalmado meu coração.

Aos meus pais Valmar e Suleide e irmão Vagner que me apoiaram, me ajudaram, e me suportaram nas horas mais difíceis, amo muito vocês. Os familiares que demonstraram orgulho em especial minhas avós Maria Helena e Maria (In memoriam).

Ao meu grande amor, agora esposo, Esdras, imensa foi a prova que passamos, mas Deus nos sustentou a cada momento e mesmo você sentindo dores e impossibilitado, me ajudou quando eu pensei que não iria conseguir.

A meu orientador Prof. Carlos Bernard pela compreensão, confiança e direcionamento e exemplo.

Aos meus colegas e companheiros do LGMA, que estavam sempre presentes ajudando, formando uma grande família, em especial a Lucas, Rafaela e Thamires.

Ao grupo BioGen, em que possuo professores capacitados, tornando-se exemplos para os alunos.

A Daniela e Nilza, secretárias do PPGCA, que ao longo do tempo se tornaram tão especiais e amigas.

Ao Prof. Fábio Faleiro e alunas da UNB (Jamille, Tamara, Kênia e Cloh), pela disposição em ajudar e contribuir imensamente no estudo.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia - FAPESB pela confiança e bolsa concedida.

Aos colegas que rapidamente se tornaram grandes amigas e suporte. Tenho certeza que tudo seria muito mais difícil sem vocês, Larissa, Quírlia e Letícia.

A todos os amigos que contribuíram de forma direta ou indiretamente com esse trabalho e não foram citados, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
A FAMÍLIA <i>PASSIFLORACEAE</i>	3
GÊNERO E SUBGÊNERO DE <i>PASSIFLORA</i>	4
ESPÉCIES SILVESTRES E COMERCIAIS.....	7
BANCOS ATIVOS DE GERMOPLASMAS (BAGs).....	8
DIVERSIDADE GENÉTICA.....	10
MARCADORES MOLECULARES.....	12
<i>INTER-SIMPLE SEQUENCE REPEAT</i> – ISSR.....	13
REFERÊNCIAS.....	14
CAPÍTULO I.....	21
CARACTERIZAÇÃO E SELEÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES ISSR EM ESPÉCIES DE <i>Passiflora</i> spp.	
CAPÍTULO II.....	55
CARACTERIZAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA INTERESPECÍFICA NO GÊNERO <i>Passiflora</i> spp. COM BASE EM MARCADORES ISSR (<i>INTER-SIMPLE SEQUENCE REPEAT</i>)	

LISTA DE ABREVIACOES

SSR - Simple Sequence Repeats

PCR – Polymerase Chain Reaction

RAPD - Random Amplified Polymorphic DNA

ISSR - Inter Simple Sequence Repeats

AFLP - Amplified Fragment Length Polymorphism

RFLP - Restriction Fragment Length Polymorphism

CPAC – Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados

CTAB - Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide

RGA – Resistance Genes Analogs

UESB – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

LGMA – Laboratório de Genética Molecular Aplicada

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Figura 1. Distribuição geográfica do gênero *Passiflora* L. **Fonte:**

<http://reflora.jbrj.gov.br/>

Fingura 2: Fingura 2: Exemplos de *Passiflora* spp. presentes nos BAGs das Embrapa.

Fonte: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/>

Figuras do capítulo I

Figura 1: Parâmetro para avaliação da qualidade de marcas geradas pelos iniciadores sendo, (A) Bom, (B) Razoável ou (C) Inadequado.

Figuras do capítulo II

Figura 1: Número de pools gênicos mais provável para os 79 indivíduos de *Passiflora* e 12 cultivares, obtido através do: <http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>

Figura 2: Histogramas obtidos a partir de 23 marcadores ISSR mostrando a estruturação com dois pools gênicos ($K = 2$) (A) e com seis pools gênicos ($K = 6$) (B), considerando 178 indivíduos de 79 espécies e 12 cultivares de três subgêneros e cultivares de *Passiflora* spp..

Figura 3: Gráfico baseado nos resultados obtidos através do pool gênico dois (K_2), onde demonstra o quantitativo de indivíduos em cada pool gênico para os três subgêneros (*Passiflora*, *Decaloba* e *Atrophea*) e os Cultivares.

Figura 4: Análise de Coordenadas Principais para a dispersão de três subgêneros de *Passiflora* (*Astrophea*, *Decaloba* e *Passiflora*) e cultivares.

Figura 5: Gráfico baseado nas análises de coordenadas principais (PCoA), avaliando a dispersão dos três subgêneros (*Astrophea*, *Decaloba* e *Passiflora*) e 12 cultivares em conjunto, levando em consideração o primeiro critério estabelecido (avaliando a presença (1) e a ausência (0) de marcas) na metodologia nas análises de PCoA.

Figura 6: Gráfico baseado nas análises de coordenadas principais (PCoA), avaliando separadamente a dispersão dos três subgêneros (*Astrophea*, *Decaloba* e *Passiflora*) e 12 cultivares levando em consideração o primeiro critério estabelecido na metodologia das análises de PCoA.

Figura 7: Gráfico baseado nas análises de coordenadas principais (PCoA), avaliando a dispersão dos três subgêneros (*Astrophea*, *Decaloba* e *Passiflora*) e 12 cultivares, levando em consideração o segundo critério estabelecido na metodologia.

Figura 8: Gráfico baseado nas análises de coordenadas principais (PCoA), avaliando separadamente a dispersão dos três subgêneros (*Astrophea*, *Decaloba* e *Passiflora*) e 12 cultivares levando em consideração o segundo critério estabelecido na metodologia.

Figura 9: Gráfico onde mostra a porcentagem de variância molecular entre e dentro as populações de *Passiflora* spp. com os 23 iniciadores ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*).

Apêndice do capítulo II

Figura 1: : Histograma descrevendo cada acesso, tendo por base os valores de Delta K2, mostrando a estruturação com dois pools gênicos, separando os três subgêneros e cultivares avaliados no estudo.

LISTA DE TABELAS

Tabelas do capítulo I

Tabela 1. Iniciadores ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*) utilizados no estudo e suas respectivas sequências de nucleotídeos.

Tabela 2: Classificação dos iniciadores mostrando o percentual de eficiência do marcador molecular ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*) em 79 espécies de *Passiflora*.

Tabela 3. Classificação de cada espécie apresentando o percentual de qualidade observado a partir do marcador molecular ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*).

Apêndice do capítulo I

Tabela 4. Classificação de 23 iniciadores ISSR de acordo ao padrão de amplificação (bom, razoável e inadequado) utilizando em 79 espécies e 12 cultivares do gênero *Passiflora* spp.

Tabela 5. Classificação dos iniciadores ISSR considerando o padrão de bom e/ou razoável para potencial uso em espécies do gênero *Passiflora* spp.

Tabela 6. Espécies do gênero *Passiflora* spp. classificadas quanto ao subgênero, origem e total de acessos utilizados no estudo.

Tabelas do capítulo II

Tabela 1: Descrição dos 23 iniciadores ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*) utilizados para o presente estudo.

Tabela 2: Total de marcas ISSR geradas e porcentagem de polimorfismo a partir de cada um dos 23 iniciadores para três subgêneros de *Passiflora*. O percentual em (*) é referente ao total de marcas geradas em cada subgênero.

Tabela 3: Avaliação da eficiência de cada um dos 23 marcadores ISSR considerando o número total de espécies com genoma amplificado para cada subgênero ou cultivares.

Apêndice do capítulo II

Tabela 1: Espécies do gênero *Passiflora* utilizadas no estudo e seus respectivos subgêneros, código, origens e quantidade de acessos utilizada de cada uma.

RESUMO

As espécies que compõem o gênero *Passiflora* L. estão amplamente distribuídas no território brasileiro. O Brasil é um dos principais produtores de maracujazeiro do mundo. Por esse motivo, as espécies possuem grande valor socioeconômico e socioambiental. Uma vez que o frutos que abastece as indústrias alimentícias, são obtidos por pequenos produtores do meio rural, cuja venda é a principal renda. A grande variedade morfológica entre as espécies desse gênero, constitui um dos motivos pelos quais não há um consenso entre os autores sobre o número de espécies e gêneros que as compõem, havendo registros de cerca de 530 espécies distribuídas em pelo menos 18 gêneros. Nesse aspecto, o conhecimento da diversidade genética das espécies do gênero, é uma forma de estratégia para alcançar também as espécies silvestres que não possuem interesse comercial e por muitas das vezes não são estudadas e que podem manifestar potencial como recurso biológico. Em virtude das informações apresentadas, objetivou-se caracterizar e selecionar marcadores moleculares para posterior aplicação em análise de diversidade e estrutura genética a partir de 178 acessos de 79 espécies do gênero *Passiflora* oriundas do Banco de Germoplasma da Embrapa Cerrados, aderindo para tal trabalho o perfil de amplificação de marcadores ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*) e RGA (*Resistance Genes Analogs*). A partir das análises de amplificação, as combinações de RGA que apresentaram melhores resultados nas espécies de *Passiflora* foram: S1 + NBSr1, S1 + As1, S1 + As3, NBSf1+As1, RGA1f + As3 e As1 + As3 com percentuais de eficiência acima de 45%. Dentre as 79 espécies, 25 obtiveram bons resultados utilizando a combinação de RGA, considerando valores $\geq 45\%$ de eficiência, dentre estas estão, *P. edulis*, *P. foetida*, *P. nitida*, *P. caerulea*, *P. ambigua*, *P. recurva*. Quando analisado os resultados obtidos a partir dos iniciadores ISSR, foi visto que, em comparação com o RGA, o ISSR teve maiores valores de eficiência tanto do marcador para a espécie, quanto da espécie para o marcador. Vinte e um dos iniciadores ISSR obtiveram valores acima de 45% de eficiência e, apenas os iniciadores DiCA3`G e DiCA3`YG foram considerados inadequados. Dentre as 79 espécies e 12 cultivares avaliados no estudo, apenas 6 foram considerados inadequados com o ISSR. Obteve-se um total de 843 marcas a partir dos 23 iniciadores ISSR utilizados nas 79 espécies e 12 cultivares de *Passiflora*. A análise Bayesiana apontou uma estruturação em dois *pools* gênicos como o mais provável com um Delta K acima de 150 e uma possível sub-estruturação em seis *pools* gênicos com Delta k abaixo de 50. As análises de Coordenadas Principais (PCoA) indicaram uma grande dispersão dos indivíduos estudados. Porém alguns indivíduos apresentaram bem próximos a outros. Análise de Variância Molecular mostrou uma grande

diversidade dentre os indivíduos estudados. Os possíveis comportamentos dos polinizadores das espécies de *Passiflora*, com hábitos voadores, podem indicar a diversidade encontrada nos resultados. De acordo com os resultados expostos, deve-se considerar que os marcadores moleculares RGA e ISSR são eficientes quando se deseja estudar as espécies do gênero *Passiflora* L., podendo estes contribuir com o melhoramento genético e a conservação da espécie.

Palavras-chave: Maracujazeiro, seleção, ISSR, RGA.

ABSTRACT

The species that make up the genus *Passiflora* L. are widely distributed in Brazilian territory. Brazil is one of the main producers of passion fruit in the world. For this reason, the species have great socioeconomic and socioenvironmental value. Since the fruits that supply the food industries, are obtained by small producers of the rural environment, whose sale is the main income. The great morphological variety among the species of this genus is one of the reasons why there is no consensus among the authors about the number of species and genera that compose them, with records of about 530 species distributed in at least 18 genera. In this respect, knowledge of the genetic diversity of the species of the genus is a form of strategy to reach also the wild species that do not have commercial interest and for the most part are not studied and that can manifest potential as a biological resource. Based on the information presented, the objective was to characterize and select molecular markers for later application in analysis of diversity and genetic structure from 178 accessions of 79 species of the genus *Passiflora* from the Germplasm Bank of Embrapa Cerrados, joining the profile amplification of ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*) and RGA (*Resistance Genes Analogs*) markers. From the amplification analyzes, the combinations of RGA that presented the best results in the *Passiflora* species were: S1 + NBSr1, S1 + As1, S1 + As3, NBSf1 + As1, RGA1f + As3 and As1 + As3 with efficiency percentages above 45%. Among the 79 species, 25 obtained good results using the combination of RGA, considering values $\geq 45\%$ of efficiency, among them are *P. edulis*, *P. foetida*, *P. nitida*, *P. caerulea*, *P. ambigua*, *P. recurva*. When analyzing the results obtained from the ISSR primers, it was seen that, in comparison to the RGA, the ISSR had higher efficiency values of both the marker for the species and the species for the marker. Twenty-one ISSR primers obtained values above 45% efficiency and only the primers DiCA3'G and DiCA3'YG were considered inadequate. Among the 79 species and 12 cultivars evaluated in the study, only 6 were considered inadequate with the ISSR. A total of 843 tags were obtained from the 23 ISSR primers used in the 79 species and 12 cultivars of *Passiflora*. Bayesian analysis pointed to a structuring in two gene pools as the most likely with a Delta K above 150 and a possible sub-structuring in six pools with Delta k below 50. The analyzes of Principal Coordinates (PCoA) indicated a great dispersion of the individuals studied. However, some individuals presented very close to others. Analysis of Molecular Variance showed a great diversity among the individuals studied. The possible behavior of *Passiflora* pollinators, with flying habits, may indicate the diversity found in the results. According to

the presented results, the RGA and ISSR molecular markers must be considered efficient when it is desired to study the species of the genus *Passiflora* L., which can contribute to genetic improvement and conservation of the species.

Keywords: Passion fruit, selection, ISSR, RGA.

INTRODUÇÃO GERAL

A família *Passifloraceae* é diversa quando se trata de gêneros e espécies, possuindo exemplares bastante característicos, dispendo de cerca de 19 gêneros e em média de 530 a 600 espécies (VANDERPLANK, 1996; BERNACCI, 2003). *Passifloraceae* são plantas herbáceas ou lenhosas, as quais são caracterizadas pela presença de gavinhas, suas folhas são alternadas, seu fruto é em forma de baga ou cápsula, sendo extremamente conhecido devido a grande comercialização da mesma. As flores com beleza atrativa e cores fortes, podem ser períginas ou hipóginas, com pétalas e sépalas membranáceas, tornando-as assim atraentes visivelmente e motivando sua comercialização (BERNACCI, 2003).

Dentre os gêneros da família *Passifloraceae*, *Passiflora* L. é, em termos numéricos, o predominante, apresentando em torno de 530 espécies distribuídos em seus quatro subgêneros (*Astrophea* DC.Mast., *Decaloba* DC. Rchb, *Passiflora* e *Deidamioides* Harms Killip) (FEUILLET e MACDOUGAL, 2003). Somente das que ocorrem no Brasil, o número de espécies chega a 140, inserindo o país dentre os principais produtores e consumidores das mercadorias geradas através de *Passiflora spp.* (MACDOUGAL e FEUILLET, 2004). No ano de 2015, o IBGE relatou uma produção de aproximadamente 694.539 t.a⁻¹ do maracujazeiro, o que configura uma grande produção e a concessão de empregos de formas direta ou indireta.

Considerando a importância econômica evidente, há de se considerar a relevância ecológica que as espécies desse gênero possuem, devido ao vasto número de exemplares silvestres e seu grande potencial em resistência a pragas (PAULA, 2010; FALEIRO et al. 2004). Tendo em vista as considerações abordadas e levando em conta a escassez de trabalhos genético-molecular, sobretudo para as espécies sem interesse comercial, pesquisas buscando o conhecimento sobre a utilização de marcadores moleculares e a diversidade genética que envolvem diversas espécies de *Passiflora spp.*, são de suma importância para contribuição em bancos de dados sobre as mesmas.

A utilização de marcadores moleculares é uma ferramenta poderosa para esses estudos. Existem diversos tipos de marcadores moleculares, podendo ser codominantes que são mais precisos e possibilitam um grande número de informações genéticas por loco, ou seja, tem a capacidade de identificação de heterozigotos ou dominantes onde caracterizam-se por não serem capazes de tal diferenciação dos locos (FALEIRO, 2007). Entre os codominantes destacam-se *Restriction Fragment Length Polymorphism – RFLP; Simple Sequence Repeats –*

SSR; Single Nucleotide Polymorphism - SNP). Entre os exemplos de marcadores dominantes estão *Random Amplified Polymorphism DNA – RAPD; Resistance Genes Analogs - RGA* e o *Inter-Simple Sequence Repeat – ISSR*, que entre as suas vantagens, está o fato de não haver a necessidade de um estudo prévio sobre o material a ser estudado, desta forma, reduzindo o custo da pesquisa (CERQUEIRA-SILVA, 2014).

O estudo teve por finalidade caracterizar e selecionar marcadores moleculares para posterior aplicação em análise de diversidade e estrutura genética existente, a partir de 178 acessos de espécies do gênero *Passiflora*, aderindo para tal trabalho o perfil de amplificação de marcadores ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*) e RGA (*Resistance Genes Analogs*), bem como contribuir com o melhoramento genético e a conservação da espécie.

Em detrimento aos objetivos propostos, a dissertação vem apresentada em dois capítulos. O corpo da dissertação está organizado conforme foi exigido pelas regras estabelecidas pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais (PPGCA) da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – Itapetinga, BA.

Com relação ao primeiro capítulo, o mesmo traz informações sobre seleção de marcadores para uma gama de espécies do gênero *Passiflora*, expondo em suas tabelas de forma clara e específica qual marcador RGA ou ISSR que poderá ser utilizado para uma determinada espécie presente no estudo, tornando-o assim, um ótimo guia introdutório quando se deseja trabalhar com algum componente dessa pesquisa (iniciador ou espécie).

Em respeito ao capítulo II, o capítulo expõe os resultados obtidos a partir da amplificação do material genético de 79 espécies e 12 cultivares do gênero *Passiflora*, utilizando para tanto, marcadores moleculares ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*) e RGA (*Resistance Genes Analogs*), para afim de avaliar a diversidade interespecífica dessas espécies, bem como contribuir com programas que visam o melhoramento e a conservação do gênero.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A FAMÍLIA *PASSIFLORACEAE*

A história dessa família se inicia com a expansão marítima da Europa onde ocorreram o descobrimento e conquista de lugares diferentes e conseqüentemente a descoberta de espécies novas de plantas, uma delas foram a família *Passifloraceae* que chamou atenção dos exploradores devido às flores e o misticismo relacionado à morfologia (CERVI, 1997).

O primeiro registro da família *Passifloraceae* foi feito em 1569 pelo pesquisador Nicolae Monardes quando descreveu a *Passiflora incarnata* L., tornando assim a espécie pioneira da família (LAWINSCKY, 2010). As flores dessa família são conhecidas como “flor da paixão”, esse nome foi dado a elas após missionários católicos enviarem ao Papa Paulo V algumas amostras, os componentes das flores foram relacionados com o símbolo da crucificação de Cristo, surgindo assim essa nomenclatura (FUMIS; SAMPAIO, 2007).

A família *Passifloraceae* se faz presente nas áreas tropicais e subtropicais, as Américas tem um destaque quanto a predominância dessa família, porém ela também está presente na Ásia e na Austrália (KILLIP, 1938). A família *Passifloraceae*, conhecida pela beleza de suas flores, é bastante diversa morfologicamente em relação as espécies, essa grande variedade constitui um dos motivos pelo qual não há um consenso entre os autores sobre o número de gêneros e espécies que compõe a família, Vanderplank (2000) diz ter 18 gêneros e cerca de 630 espécies, contrastando com Zamberlan (2007) que diz ter 15 gêneros e cerca de 650 espécies.

Embora haja discordância sobre o número de gêneros e espécies (entre os autores), as características que definem essa família são bem definidas. São plantas trepadeiras, mas também podem apresentar-se na forma de arbustos ou árvores baixas, possui gavinhas axilares, folhas alternada simples ou lobadas, glândulas ou nectários, gineceu com base comum e sementes ariladas (VANDERPLANK, 2000). São plantas que possuem flores e frutos, sendo eles utilizados para o comércio, com relação aos seus ramos, podem variar em cores, presença ou ausência de antocianina e de estípulas (JESUS et al. 2016). Com relação as flores, elas apresentam variação na presença de antocianina nas brácteas e nas sépalas do botão floral, conferindo-lhes a cor roxa, possui também variação na quantidade de flores por nó, tendo um valor médio de duas a quatro flores, apresenta ou não nectários na bráctea e na sépala, é detentora de coroa que é bastante característica da família, onde há uma variação de

cores de acordo com a espécie, o estigma, a antera e as pétalas são partes da flor que estão em bastante evidência, sendo de fácil identificação (KOSCHNITZKE, 1997). A casca dos frutos variam em cores, sendo elas, verde, amarelo, roxo, rosada e laranja, seu formato também pode variar em oval, arredondado, fusiforme, entre outros e a polpa, onde contém as sementes, são em geral, esbranquiçada, amarela, alaranjada, vermelha e roxa (MORAES, 2016). É importante destacar que quando se trata da flor e fruto de *passifloraceae*, refere-se sobre partes em que o comércio tem maior concentração, tanto para ornamentação, no caso das flores, quanto para o ramo alimentício, no caso dos frutos (LAWINSCKY, 2010).

GÊNERO E SUBGÊNERO DE *PASSIFLORA*

Segundo Bernacci (2005), o gênero *Passiflora*, dentre os outros pertencentes à família *Passifloraceae*, é o detentor da maior parte das espécies, abrangendo cerca de 400 espécies. Com distribuição predominante na América, com exceção de 20 espécies que se apresentam em regiões próximas à Índia, China e Austrália. No Brasil, a família *Passifloraceae* inclui cinco gêneros e cerca de 140 espécies, sendo o gênero *Passiflora*, o mais comum da flora brasileira, no qual é encontrado principalmente em bordas de florestas (Figura 1) (BERNACCI et al. 2005; SOUZA e LORENZI, 2008). Na Bahia este gênero possui cerca de 31 espécies, obtendo uma ampla distribuição geográfica, compreendendo diversos territórios de diferentes biomas, como o Cerrado, Caatinga, Amazonico e Pantanal (NUNES e QUEIROZ, 2006; THE BRAZIL FLORA GROUP, 2018). A distribuição geográfica do maracujazeiro é ampla. Os dados do Herbário Virtual, contém informações de coletas das espécies de *Passiflora* que ocorre no Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai, totalizando 1.279 registros, cujas exsicatas estão tombadas em herbários nacional fiel depositário e disponível *on line* para consulta e pesquisa científica, no qual tem facilitado a localização e estratégia de manejo sustentável de muitas espécies da flora brasileira (INCT, 2018).

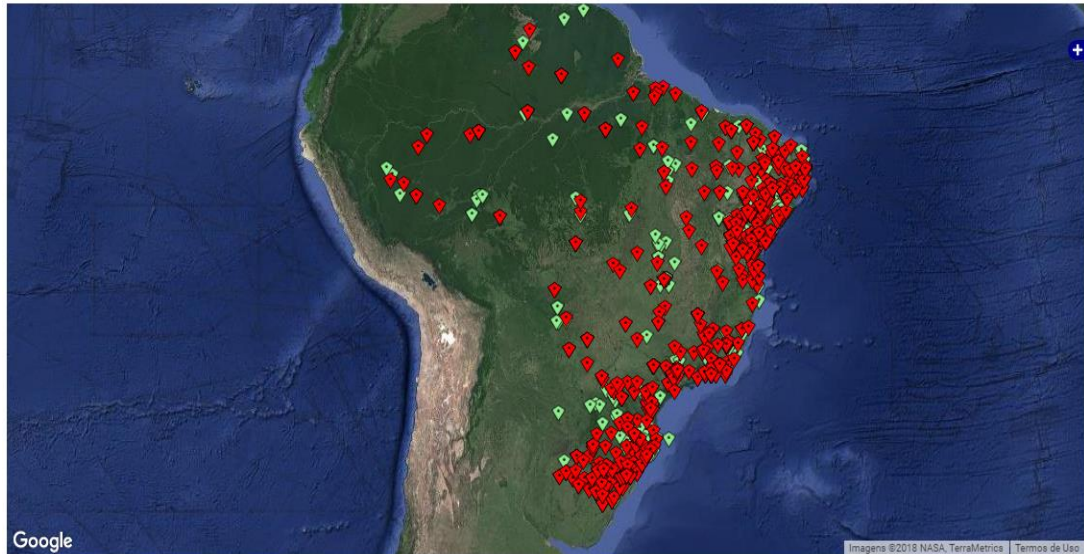


Figura 1. Distribuição geográfica do gênero *Passiflora* L.

Fonte: <http://reflora.jbrj.gov.br/>

Por muito tempo, a base informacional taxonômica sobre o gênero, foi apresentada por Killip (1938), com o intuito de facilitar a classificação, posteriormente Feuillet & MacDougal (2003) se basearam nas características ecológicas e morfológicas, classificou o gênero em 4 subgêneros principais, são eles: *Astrophea* DC.Mast. com 57 espécies, *Decaloba* DC. Rchb com 235 espécies, *Passiflora* com 240 espécies e *Deidamioides* Harms Killip com 13 espécies. A determinação desses 4 subgêneros, facilitou a identificação e posição de cada espécie, sendo possível distinguir os que se destacam em quantidade no grupo.

O uso alimentício é a forma em que as espécies desse gênero são mais exploradas, são utilizadas como matéria prima para a produção de sucos, sorvetes, doces, licores e consumo *in natura*, porém essa não é a única forma de utilização, as espécies possuem flores de extrema beleza, sendo elas comercializadas para ornamentação (*P. capparidifolia* Killip, *P. sidifolia* M. Roem, *P. morifolia* Mast, *P. amethystina* J. C Mikan), além disso, essas plantas são usadas também para a produção de fitoterápicos (*P. incarnata* L., *P. alata* Curtis, *P. quadrangularis* L.) (OLIVEIRA, 2016). O maracujazeiro é explorado por toda a área brasileira, mas é de fevereiro a abril que a comercialização aumenta e a faixa de preços caem, sendo justificado pelo pico da safra no país (LUCAS, 2002).

Algumas espécies pertencentes ao gênero são caracterizadas propriamente por serem utilizadas para a produção de alimentos, são elas: *Passiflora edulis* (maracujá amarelo), *Passiflora alata* (maracujá doce), *Passiflora quadrangularis* e *Passiflora caerulea*, ressaltando que a *P. edulis* por ser amplamente comercializada, conseqüentemente se torna a

mais conhecida (FALEIRO, 2007). O gênero também apresenta, espécies de importância ecológica, dessa forma, é essencial garantir meios que armazene informações genéticas dessas espécies, como os bancos de germoplasmas (BAGs), visto que, as áreas de florestas estão sendo reduzidas e o desmatamento aumentando, causando assim ameaças as espécies (BERNACCI et al. 2005).

Diversos estudos e em áreas distintas vem utilizando espécies do gênero *Passiflora* como fonte de pesquisa, como por exemplo Cerqueira-Silva (2009) que fez avaliações biométricas e genética; Lawinsky (2010) caracterizou morfológica e reprodutivamente a espécie *P. alata* e *P. Cincinnata*; Paiva et al. (2014) avaliou a diversidade genética, entre outros trabalhos, esses estudos apontam o potencial que o gênero possui.

Durante muitos anos a estrutura que carregava as informações a respeito dessa família foi apontado por Killip (1938). Onde após ser feita uma avaliação nas espécies de *Passifloraceae* fez a divisão do gênero em 22 subgêneros e diversas seções e séries. Com o passar dos anos, houve a necessidade de uma nova análise que foi realizada por Feuillet & MacDougal (2003), baseando-se em características morfológicas e ecológicas resultando em uma nova divisão. A partir de então, o gênero seria composto por quatro subgêneros, sendo eles *Astrophea* Mast (57 espécies), *Decaloba* Rchb. (214 espécies), *Deidamioides* Killip (13 espécies) e *Passiflora* (240 espécies), Posteriormente, estudos utilizando a biologia molecular, para avaliar a filogenia, desenvolvidos por Muschner et al. (2003) consolidaram essa nova divisão dos subgêneros.

As espécies do subgênero *Astrophea* estão dispersas em regiões da América Central e América do Sul. Dentre os componentes mais comuns do grupo estão a *P. haematostigma* Mart. Ex Mast. e a *P. cerradensis* Sacco. Além da subdivisão dentro do gênero, o subgênero se divide também em superseções como a *Astrophea* e a *Pseudoastrophea* Harms Feuillet & MacDougal, com três e duas seções respectivamente (ULMER & MACDOUGAL, 2004). A superseção *Astrophea*, tem sido estudada quanto à morfologia do pólen e sexina (MEZZONATO-PIRES et. al. 2015; MEZZONATO-PIRES et. al. 2017); e até mesmo o estudo de espécie nova incluída na superseção desse subgênero (AGUIRRE-MORALES et. al. 2016).

O subgêneros *Decaloba*, é um grupo monofilético, está subdividido em oito superseções (BAUMGRATZ, 2004). É considerado o segundo grupo mais numeroso dentre os subgêneros (MILWARD-DE-AZEVEDO; BAUMGRATZ e GONÇALVES-ESTEVEVES, 2012). No Brasil, as espécies desse grupo são encontradas na região sudoeste, a exemplos da *P. tricuspis* Mast, *P. pohlii* Mast., *P. morifolia* Mast. e *P. capsularis* Lam. (MILWARD-DE-

AZEVEDO e BAUMGRATZ, 2004) e no sudeste estão presentes a *P. misera*, *P. organensis*, *P. capsularis*, *P. truncata*, *P. morifolia*, *P. pohlii*, *P. Tricuspis* e *P. suberosa* (MACDOUGAL, 1994).

O subgênero *Deidamioides* possui o menor número de espécies. As quais são encontradas na América do Sul e na América Central. Sua principal característica morfológica, são a presença de folhas não lobadas, compostas por 3-9 folíolos, ausência de nectários laminares, presença de um par de pecíolo, suas gavinhas apresentam-se em formato bifurcado e as estípulas são pequenas subgêneros (ULMER e MACDOUGAL, 2004; MILWARD-DE-AZEVEDO e BAUMGRATZ, 2004). São exemplos desse grupo a *P. cirrhiflora* Juss, *P. deidamioides* Hams, *P. discophora* Yorg. & Law, *P. ovalis* Vell.

O subgênero *Passiflora* possui maior destaque por carregar exemplares de interesse comercial. Seus frutos são bem consumido de forma *in natura*. Também são utilizados pelas indústrias alimentícias na produção de sucos, sorvetes, doces e licores. As flores são comercializadas para ornamentação no paisagismo. As flores, as folhas e cascas para a indústria farmacêutica. Em que o mercado de fitoterápicos encontra-se em ascensão, podendo destacar a *P. incarnata* L., *P. alata* (maracujá-doce), Curtis, *P. quadrangularis* L e a *P. edulis* f. *Flavicarpa* (maracujá-amarelo) e *Passiflora edulis* (maracujá-roxo) como as mais comercializadas para esta finalidade (OLIVEIRA et al., 2005; BELLON et al. 2007; FALEIRO, JUNQUEIRA; BRAGA, 2006; JUNQUEIRA et al. 2005; FALEIRO, 2007; LORENZI, 2008; FARMACOPEIA, 2010; LAWINSCKY, 2010; CERQUEIRA-SILVA, 2012; CERQUEIRA-SILVA, 2014; OLIVEIRA, 2016).

ESPÉCIES SILVESTRES E COMERCIAIS

No Brasil, o maracujazeiro é comercializado em qualquer época do ano mas, é de fevereiro a abril que o consumo aumenta devido à queda do preço em função do período de safra (LUCAS, 2002). Exceções são atribuídas às espécies nativas como a *P. coccinea* e a *P. setacea*, que são capazes de florescer e frutificar em um curto período de tempo. O ciclo reprodutivo curto, é uma das características adaptativa em condições adversas de muitas espécies como a *P. setacea*, *P. coccínea* e *P. actínia*. Devido à interferência antrópica acentuada, muitas espécies têm expressado genes com caracteres de resistência. Esse caractere pode ser devido ao estresse hídrico, bem como à herbivoria e insetos patogênicos. Como

exemplo, pode-se citar a doença que provoca o endurecimento do fruto (BORGES et al. 2003).

Para identificar genes promissores, é necessário estudos de caracterização genética. Porém, em se tratando de espécies nativas, são poucos os estudos dessa natureza devido à dificuldade de acesso ao material. Mas mesmo com as limitações, alguns pesquisadores tem se empenhado para contribuir com a pesquisa. Como exemplo de esforços conjunto, está a *P. cincinnata* que teve os genes de resistência à doenças e a biologia reprodutiva identificada (JÚNIOR et al. 2009; KIILL, 2010).

Esses estudos são fundamentais na perpetuação das espécies, pois, além de aumentar a resistência à doenças, a variabilidade genética existente, contribui para manter a dinâmica de população em seu ambiente natural. Dessa forma evitando que o indivíduo saia do sistema de forma prematura, como é o caso de *P. nitida* (RONCATTO, 2004). Portanto, a identificação de todas essas questões, fazem das espécies nativas, promissoras para serem incluídas em programa de melhoramento genético de espécies cultivada. Uma vez que à alta variabilidade genética existente nas plantas nativas, bem como a resistência à doença, associada ao estudo fenológico, contribui para o rompimento da barreira existente em pomares comerciais. Dessa forma aumentando a produtividade das espécies de interesse durante todo o ano (JUNQUEIRA et al. 2005; FALEIRO et al. 2008).

Para viabilizar estudos de melhoramento, antes, é preciso conhecer os genótipos e a variabilidade existentes dentro dos pomares. No Brasil, o meio de conservar e viabilizar o comércio do maracujá é por bancos de germoplasma (BAGs). Visto que, as áreas de florestas estão sendo reduzidas e o desmatamento aumentando, causando assim ameaças as espécies (BERNACCI et al. 2005). Dessa forma, assim como para as espécies nativas, as informações genéticas das espécies mantidas em banco são insipientes. Mas estudos já tem contribuído para a caracterização das mesmas. Como exemplo desse diagnóstico estão as avaliações biométricas e genética (CERQUEIRA-SILVA, 2009), a caracterização morfológica e reprodutiva das espécies *P. alata* e *P. Cincinnata* (LAWINSCKY, 2010) e a diversidade genética entre os acessos do banco de *P. edulis* (VIANA et. al. 2003; PAIVA et al., 2014).

BANCOS ATIVOS DE GERMOPLASMAS (BAGs)

Bancos ativos de Germoplasmas podem ser definidos como um local onde são armazenados acessos representativos da espécie de interesse, de forma que, nesse caso, a

planta permanece viva e em seu estado natural, esses BAGs podem ser encontrados nas Embrapas (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), como também nas universidades, possuindo diversos alvos de pesquisas (Arroz e feijão, forrageiras, soja, amendoim, palmeira macaúba, etc) (SHIMIZU, JAEGER e SOPCHAKI, 2000). Dessa forma, os BAGs se tornam uma ferramenta útil como um meio de estratégia para a conservação da variabilidade genética, podendo ser até mesmo aumentada essa variabilidade com a presença de outros exemplares sendo introduzidos ocasionalmente (MANECHINI, 2017).

Como o principal produtor de maracujá, o Brasil, seguido do Equador e Colômbia, é também um dos principais em pesquisas relacionadas ao maracujazeiro, em virtude disso, a presença e manutenção de Bancos de Germoplasmas de *Passiflora spp.* é uma forma de preservar esses recursos para possíveis pesquisas (FERREIRA, 2005). Os BAGs permitem a caracterização fisiológica e morfo-agronômica, pelo fato de ter um exemplar da planta viva, como também possibilita o estudo molecular da espécie em questão (COSTA, 2011).

Embora exista pesquisa que visa o conhecimento das espécies do gênero *Passiflora*, a sua diversidade interespecífica é grande e muitas ainda não foram estudadas. Então manter a variabilidade dessas espécies em um ambiente com alta ação antrópica e sujeito à erosão genética se torna difícil. Por isso, os BAGs são alternativas para a manutenção da diversidade genética (FALEIRO, JUNQUEIRA e BRAGA, 2006). Nesse segmento, a Embrapa implementou essa alternativa para que as pesquisas subsidiasse os programas de melhoramento e conservação. Os Bancos Ativos de Germoplasmas de maracujazeiro da Embrapa estão dispersos em três unidades, são elas: Embrapa Mandioca e Fruticultura – CNPMF, que está localizada no recôncavo baiano (Cruz das Almas), Embrapa Cerrados - CPAC, se encontra no Distrito Federal (Planaltina) e a Embrapa Semiárido – CPATSA, fixado no Pernambuco (Petrolina) (BERNACCI et al. 2005). Juntas, essas unidades possuem exemplares de diferentes espécies do gênero (Figura 2).

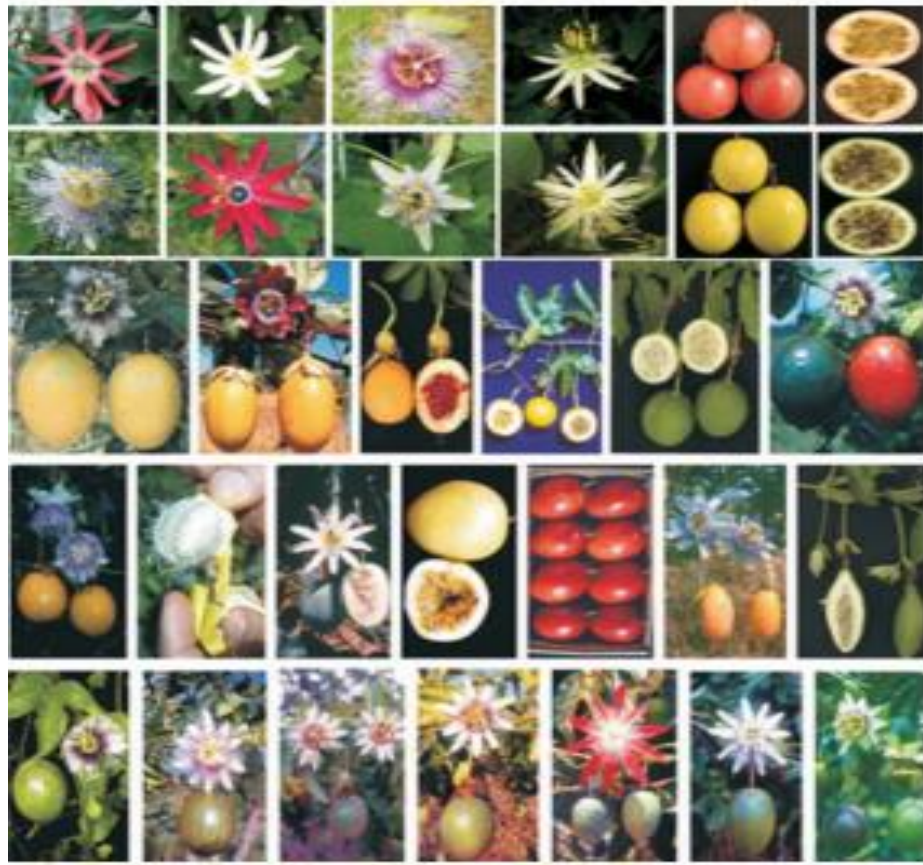


Figura 2: Exemplos de *Passiflora* spp. presentes nos BAGs das Embrapas.

Fonte: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/>

Além dos BAGs em que abrigam *Passifloras* pertencentes a EMBRAPA, a Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, também é responsável por um em seu campus, onde são desenvolvidas pesquisas de diversidade genética (VIANA et al. 2007), Caracterização morfológica, reprodutiva e fenológica (LAWINSCKY, 2010), entre outras.

Quanto ao uso do germoplasma de *Passiflora* presente nos BAGs, está primordialmente relacionado a elaboração de variedades para o consumo do fruto, devido a produção do maracujazeiro, além disso, relaciona-se também ao uso para finalidades como a produção de fitoterápicos e a comercialização das flores (FALEIRO, JUNQUEIRA e BRAGA, 2006).

DIVERSIDADE GENÉTICA

O Brasil é considerado o país mais diverso do planeta, esta classificação está relacionada a sua fauna, flora e também a diversidade genética, os diferentes biomas (Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Caatinga, Pampa e Pantanal) e o clima do país contribuem para com isso, sendo esses fatores os responsáveis por manter a harmonia do ambiente (SARTORETTO e MELLO-FARIAS, 2011). Para tanto, as ações antrópicas tem ameaçado e desequilibrado o ambiente e os seres em que nele vive, devido ao anseio de sempre obter maiores valores lucrativos por meios explorativos (SIMINSKI et al. 2004).

A diversidade genética existe em decorrência da mutação, deleção e inserção de genes em uma escala temporal e espacial (JOAQUIM e EL-HANI, 2010; HARTL, D. L.; CLARK, 1997) cujas modificações genéticas melhor adaptadas ao ambiente, são transmitidas para os descendentes através do material genético, a princípio essas informações se concentravam entre as espécies e com o passar de anos foram se agrupando formando táxons.

Dessa forma, todos os seres vivos podem ser caracterizados por essa variabilidade em seu material genético, possibilitando estudos que visam a conservação, melhoramento ou conhecimento de uma determinada espécie de interesse (EIZIRÍK, 1996). Além disso, o processo de replicação do DNA contribuiu de forma substancial para a diversidade genética, devido as mutações que ocorrem no DNA, configurando dessa forma uma mudança em sua estrutura (JOAQUIM e EL-HANI, 2010).

Espécies que tem a capacidade de produção de uma grande quantidade de prole por vez, são passíveis a ter uma alta diversidade, porém, quando os animais possuem uma baixa fecundidade, esses acabam obtendo uma baixa diversidade (ROMIGUIER et al. 2014).

A adaptação de um organismo está diretamente relacionada com a diversidade genética, quanto mais diversa geneticamente uma espécie é, mais será ápta as mudanças que ela pode sofrer no meio ambiente, por outro lado, uma mudança ambiental, pode ocasionar tanto na diversificação genética por meio do fluxo gênico quanto na especiação devido ao isolamento reprodutivo (ALMAÇA, 1981).

A presença de organismos distintos e o conhecimento sobre essa diversidade, são importantes em programas de conservação ecológica, faz-se necessário um estudo prévio sobre a variabilidade genética das espécies, para que possam ser colocadas em prática as políticas de conservação, pois é fato que, espécies com menor variabilidade genética são mais propícias às ameaças de extinções (FALEIRO, JUNQUEIRA e BRAGA, 2005). Desta forma, torna-se importante o estudo da diversidade genética, estudos com o interesse em conhecer a diversidade em *Passifloras* vem sendo realizados, onde avaliam espécies comerciais e

silvestres, sendo que, a maior quantidade de pesquisas estão voltadas as de origem comercial e poucos estudos visam as silvestres.

A diversidade genética pode ser estudada através do uso de marcadores moleculares sejam eles dominantes ou codominantes, as análises a respeito da diversidade genética baseada em informações precisas, como as encontradas na utilização de marcadores moleculares, é possível direcionar estratégias de cruzamentos específicos, com o intuito de maximizar os ganhos genéticos, podendo ser utilizado principalmente em estudos que se trata de espécies com potencial econômico (DIAS, 1998).

Diversas pesquisas vem utilizando esses iniciadores para tal avaliação em espécies de maracujazeiro, como a seleção de marcadores específicos para determinadas espécies, como para *P. edulis f. flavicarpa* (OLIVEIRA et al., 2005; CERQUEIRA-SILVA, 2014), *P. cincinnata* (CERQUEIRA-SILVA, 2012; CERQUEIRA-SILVA, 2014) e *P. setacea* (CERQUEIRA-SILVA, 2014), ou como pesquisas que visam conhecer o pontencial das espécies silvestres do maracujazeiro como fonte de resistência (JUNQUEIRA et al. 2005).

MARCADORES MOLECULARES

Desde que Mendel iniciou seus trabalhos em 1865, o ramo da genética passou a ser mais estudado e evidenciado. A partir de seus resultados, Mendel observou que existiam “fatores” no qual tinham a capacidade de transferir características. Porém, por sua limitação na época, ele não foi capaz de aprofundar nesses fatores, que hoje sabemos que são os genes. Desde então, os estudos em genética foram crescendo, um outro fato marcante, que impulsionou e abriu portas para as demais pesquisas, foi a descoberta da estrutura molecular do DNA por James Watson e Francis Crick em 1953. Este fato possibilitou inúmeras descobertas a nível molecular, inclusive o uso de marcadores moleculares.

Em meados da década de 70, pode-se observar o crescimento de novas tecnologias biológicas, como a técnica do DNA recombinante e marcadores bioquímicos (BRAMMER, 2000). Os primeiros marcadores utilizados foram as izoenzimas, começaram a ser desenvolvidas nas décadas de 60-70, são marcadores bioquímicos que se tornou vantajoso na época, por suprir dificuldades que os macadores morfológicos tinham, são definidas por serem uma mesma enzima mas que possui formas moleculares diferentes (OLIVEIRA, 2006).

Os marcadores se dividem em três grupos, são eles: os marcadores bioquímicos, os protéicos e os moleculares. Os marcadores moleculares abriu um leque para pesquisas em

polimorfismos genético, sua grande vantagem está em possibilitar o estudo de características a nível molecular, ou seja, não há a necessidade de esperar, por exemplo, a planta crescer e observar o fenótipo, além de isolar a influência do meio, como mudanças de temperatura, disponibilidade de água ou pH (BRAMMER, 2000).

Existem vários tipos de marcadores moleculares, podendo ser classificados em dominantes ou co-dominantes. Os marcadores dominantes, são definidos por não serem capazes de distinguir os indivíduos heterozigotos dos homozigotos a exemplo dos RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA), dos AFLPs (Restriction fragment length polymorphism), dos RGAs (Resistance Genes Analogs) e dos ISSRs (Inter Simple Sequence Repeats) (BUENO-SILVA, 2012). Já os marcadores co-dominantes se caracterizam pela diferenciação entre os locos homozigotos dos heterozigotos como os SNP (Single Nucleotide Polymorphism) e os SSR (Simple Sequence Repeats) (GANGA, 2004).

O primeiro marcador molecular inventado e utilizado foi o RFLP por Botstein et al. em 1980. Esses marcadores possibilitaram estudos de polimorfismo genético, são co-dominantes e permite estudos comparativo entre materiais genético por representar um único loco em cada genoma (PEREIRA, 2005). Anos seguintes, a invenção da amplificação em cadeia de polimerase, a PCR (*Polymerase Chain Reaction*), serviu de grande suporte para as técnicas em que utilizam marcadores moleculares, como: ISSR , SRR, RGA e AFLP (JUNQUEIRA, 2007).

INTER-SIMPLE SEQUENCE REPEAT – ISSR

Quando se iniciou os estudos de diversidade genética com *Passiflora*, um dos primeiros marcadores utilizados foram os RAPDs (WILLIAMS et al. 1990). Com o decorrer do tempo, outros marcadores foram surgindo, como o ISSR, que passou a ser bastante utilizado para estudos de variabilidade genética (TOPPA E JADOSKI, 2013) e se caracteriza por ser um marcador dominante, assim como o RAPD, porém o ISSR possui vantagem por obter um maior número de reprodutividade e produzir altos níveis de polimorfismo, por se tratar de um *primer* único, formado por sequências de nucleotídeos repetidas (di ou trinucleotídeos) (BORNET et al. 2002).

Por conta de circunstâncias que limitam os marcadores codominantes, como a necessidade de um estudo prévio genômico, o uso de marcadores dominantes aumentaram,

(KREMER et al. 2005). Marcadores como o ISSR, utilizam o princípio da PCR, onde através de um aparelho denominado termocilador, fragmentos de DNA são amplificados, algumas pesquisas mostram que apesar do ISSR ser dominante, os resultados dele se equipara com os marcadores moleculares codominantes (MADESIS et al. 2014; WANG et al. 2013). A técnica da PCR tem princípios simples, onde há uma variação de temperatura e leva em média duas horas, no caso do ISSR, é utilizado apenas um primer como iniciador.

Os produtos de amplificação do marcadores ISSR, possuem um tamanho de 200 – 2000 pb (pares de base), sua alta reprodutibilidade é justificada pelo cumprimento do *primer* e pela alta temperatura de anelamento utilizado na PCR, possui a vantagem de ser uma técnica relativamente barata, rápida, simples e eficiente, a desvantagem que esse marcador possui é o fato de ser dominante, que pode limitar estudos com interesse de acessar locos em homossigose (COSTA, 2014).

Devido sua alta reprodutibilidade, a técnica está sendo utilizada quando se deseja avaliar as diferenças que podem ser encontradas entre indivíduos próximos, torna-se possível também por outra vantagem que o iniciador possui, que são os altos níveis de polimorfismo gerados, estudos visando espécies silvestres e de importância comercial são realizadas utilizando esses marcadores microssatélites, que por fim, gerará resultados que corroborarão com os programas de melhoramento genético (BORBA et al. 2005, ALMEIDA, 2006). Como exemplo dos estudos que estão sendo realizados fazendo uso dos ISSR, pesquisadores do Banco de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura analisaram acessos de *Passiflora alata* e *Passiflora edulis*, utilizando esses marcadores, e observaram que houve uma grande variabilidade entre as espécies (SANTOS et al. 2011).

REFERÊNCIAS

AGUIRRE-MORALES, ADRIANA CAROLINA; BONILLA-MORALES, MIGUEL MACGAYVER; CAETANO, CREUCÍ MARIA. *Passiflora franciscoi*, a new species of *Passiflora* subgenus *Astropheia* (Passifloraceae) from Colombia. **Phytotaxa**, v. 252, n. 1, p. 56-62, 2016.

ALMAÇA, Carlos. Formas de especiação nos animais. **Arquipélago. Série Ciências da Natureza**, v. 2, p. 7-35, 1981.

ALMEIDA, Clébia Maria Alves de et al. Diversidade genética em populações de *Aechmea fulgens* Brongn. (*Bromeliaceae*) em fragmentos de Mata Atlântica em Pernambuco. 2006.

- BAUMGRATZ, J. F. A. Palinotaxonomia das espécies de *Passiflora* L. subg. *Decaloba* (DC.) Rchb. (Passifloraceae) no Sudeste do Brasil. **Revista Brasil. Bot**, v. 27, n. 4, p. 655-665, 2004.
- BELLON, Graciele et al. Variabilidade genética de acessos silvestres e comerciais de *Passiflora edulis* Sims. com base em marcadores RAPD. **Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2007.
- BERNACCI, Luís Carlos et al. Espécies de maracujá: caracterização e conservação da biodiversidade. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**, v. 1, p. 559-586, 2005.
- BERNACCI, Luís Carlos; VITTA, FA; BAKKER, YV *Passifloraceae*. **Flora fanerogâmica do estado de São Paulo**, v. 3, p. 247-274, 2003.
- BRASIL. Farmacopeia Brasileira, volume 2 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 546p.
- BORBA, R. da S. et al. Dissimilaridade genética de linhagens de *Trichogramma Westwood* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) através de marcadores moleculares ISSR. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 4, p. 565-569, 2005.
- BORGES, Ana Lúcia et al. Produtividade e qualidade de maracujá-amarelo irrigado, adubado com nitrogênio e potássio. **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal**, v. 25, n. 2, p. 259-262, 2003.
- BRAMMER, Sandra Patussi. Marcadores moleculares: princípios básicos e uso em programas de melhoramento genético vegetal. **Embrapa Trigo-Documents (INFOTECA-E)**, 2000.
- BUENO-SILVA, Marlus. Genética molecular e sistemática animal: Um breve histórico, contribuições e desafios. **Estudos de Biologia**, v. 34, n. 83, 2012.
- CERQUEIRA-SILVA, Carlos Bernard M. et al. Genetic breeding and diversity of the genus *Passiflora*: progress and perspectives in molecular and genetic studies. **International journal of molecular sciences**, v. 15, n. 8, p. 14122-14152, 2014.
- CERQUEIRA-SILVA, Carlos Bernard Moreno et al. Genetic dissimilarity of 'yellow' and 'sleep' passion fruit accessions based on the fruits physical-chemical characteristics. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 9, n. 3, 2009.
- CERQUEIRA-SILVA, Carlos et al. Development and characterization of microsatellite markers for the wild South American *Passiflora cincinnata* (Passifloraceae). **American journal of botany**, v. 99, n. 4, 2012.

CERVI, A. C. **Passifloraceae do Brasil: estudo do gênero Passiflora L., subgênero Passiflora**. Cyanus, 1997.

COSTA, Juliana Leles. Marcadores issr: diversidade genética e correlação com heterose em genótipos de *Passiflora edulis* Sims. 2014.

COSTA, Tatiana Santos et al. Diversidade genética de acessos do banco de germoplasma de mangaba em Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 5, p. 499-508, 2011.

FALEIRO, F. G. et al. Diversidade genética de espécies silvestres de maracujazeiro com resistência múltipla a doenças com base em marcadores RAPD. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, p. 325, 2004.

FALEIRO, Fábio Gelape et al. Caracterização de germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro assistidos por marcadores moleculares: resultados de pesquisa 2005-2008. **Embrapa Cerrados-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2008.

FALEIRO, Fábio Gelape. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Embrapa Cerrados, 2007.

FALEIRO, Fábio Gelape; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. Maracujá: demandas para a pesquisa. **Embrapa Cerrados-Livro científico (ALICE)**, 2006.

FALEIRO, Fábio Gelape; JUNQUEIRA, Nilton Tadeu Vilela; BRAGA, Marcelo Fideles. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005., 2005.

FERREIRA, Francisco Ricardo. Recursos genéticos de *Passiflora*. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**, p. 41-50, 2005.

FEUILLET, C.; MACDOUGAL, John M. A new infrageneric classification of *Passiflora* L. *Passifloraceae*. **Passiflora**, v. 13, n. 2, p. 34-38, 2003.

FUMIS, T. de F.; SAMPAIO, A. C. Aspecto botânico do maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryand). **Maracujá-doce: aspectos técnicos e econômicos**. São Paulo, UNESP, p. 25-30, 2007.

GANGA, Rita Maria Devós et al. Diversidade genética em maracujazeiro-amarelo utilizando marcadores moleculares fAFLP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. 494-498, 2004.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. Principles of population genetics. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. 542 p.).

IBGE. **Produção Agrícola Municipal 2015**. Culturas temporárias e permanentes. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam_2015_v42_br.pdf. Acesso em: 2018.

JESUS, O. N. et al. Aplicação de descritores morfoagronômicos utilizados em ensaios de DHE de cultivares de maracujazeiro-doce, ornamental, medicinal, incluindo espécies silvestres e híbridos interespecíficos (*Passiflora spp.*): manual prático. **Embrapa Cerrados-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E)**, 2016.

JOAQUIM, Leyla Mariane; EL-HANI, Charbel Niño. A genética em transformação: crise e revisão do conceito de gene. **Scientiae studia**, v. 8, n. 1, p. 93-128, 2010.

JÚNIOR, M. et al. Superação de dormência de maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.). **Rev. Bras. Frutic**, v. 32, n. 2, p. 584-590, 2009.

JUNQUEIRA, Keize Pereira et al. Variabilidade genética de acessos de maracujá-suspiro com base em marcadores moleculares. **Embrapa Cerrados-Artigo de divulgação na mídia (INFOTECA-E)**, 2007.

JUNQUEIRA, Nilton Tadeu Vilela et al. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. **Maracujá: Germoplasma e melhoramento genético**, p. 79-108, 2005.

KILLIP, Ellsworth Paine et al. As espécies americanas de *Passifloraceae*. **As espécies americanas de *Passifloraceae***. v. 19, p. 1-613, 1938.

KIILL, L. H. P. et al. Biologia reprodutiva de *Passiflora cincinnata* Mast.(Passifloraceae) na região de Petrolina (Pernambuco, Brazil). **Embrapa Semiárido-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2010.

KREMER, A. et al. Monitoring genetic diversity in tropical trees with multilocus dominant markers. **Heredity**, v. 95, n. 4, p. 274, 2005.

KOSCHNITZKE, C., & SAZIMA, M. Biologia floral de cinco espécies de *Passiflora* L.(Passifloraceae) em mata semidecídua. **Brazilian Journal of Botany**, v. 20, n. 2, p. 119-126, 1997.

LAWINSCKY, P. R. **Caracterização morfológica, reprodutiva e fenológica de *Passiflora alata* CURTIS e *Passiflora cincinnata* MAST**. Diss. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal)–Ilhéus–BA, Universidade Estadual de Santa Cruz–UESC, 134f, 2010.

LORENZI, H. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas / Harri Lorenzi, Francisco José de Abreu Matos; computação gráfica Henrique Martins Lauriano. – 2º. Ed. – Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.

LUCAS, A. A. T. **Resposta do maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims var. *flavicarpa* Deg) a lâminas de irrigação e doses de adubação potássica.** Dissertação. Universidade de São Paulo, 2002.

MACDOUGAL, J. M. Revision of *Passiflora* subgenus *Decaloba* section *Pseudodysosmia* (Passifloraceae). **Systematic Botany Monographs**, p. 1-146, 1994.

MACDOUGAL, John M.; HANSEN, A. Katie. A new section of *Passiflora*, subgenus *Decaloba* (Passifloraceae), from Central America, with two new species. **Novon**, p. 459-466, 2003.

MACDOUGAL, J. M.; FEUILLET, C. Systematics. ***Passiflora: Passionflowers of the world***, p. 27-31, 2004.

MADESIS, P. et al. Genetic diversity and structure of natural *Dactylis glomerata* L. populations revealed by morphological and microsatellite-based (SSR/ISSR) markers. **Genet. Mol. Res.**, v. 13, n. 2, p. 4226-4240, 2014.

MANECHINI, João Ricardo Vieira. Análise da estrutura genética do banco de germoplasma do programa CANA-IAC por meio de marcadores moleculares. 2017.

MEZZONATO-PIRES, A. C. et al. Pollen morphology and detailed sexine of *Passiflora* subgenus *Astrophea* (Passifloraceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 301, n. 9, p. 2189-2202, 2015.

MEZZONATO-PIRES, Ana Carolina et al. The systematic value of pollen morphology of *Passiflora* subgenus *Astrophea* (Passifloraceae). **Phytotaxa**, v. 298, n. 1, p. 1-19, 2017.

MILWARD-DE-AZEVEDO, Michael Alvim; BAUMGRATZ, José Fernando A. *Passiflora* L. subgênero *Decaloba* (DC.) Rchb.(*Passifloraceae*) na região sudeste do Brasil. **Rodriguésia**, p. 17-54, 2004.

MILWARD-DE-AZEVEDO, Michael Alvim; BAUMGRATZ, José Fernando A.; GONÇALVES-ESTEVEVES, Vania. A taxonomic revision of *Passiflora* subgenus *Decaloba* (Passifloraceae) in Brazil. **Phytotaxa**, v. 53, n. 1, p. 1-68, 2012.

MUSCHNER, V. C. et al. A first molecular phylogenetic analysis of *Passiflora* (*Passifloraceae*). **American Journal of Botany**, v. 90, n. 8, p. 1229-1238, 2003.

OLIVEIRA, Eder Jorge de. **Desenvolvimento e uso de marcadores microsatélites para construção e integração de mapas genéticos de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.).** 2006. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

OLIVEIRA, M. do SP **Caracterização molecular e morfo-agronômica de germoplasma de açaizeiro. 2005. 171p.** Tese de Doutorado. Tese (Doutorado)–Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PAIVA, Claudia Lougon et al. Diversidade genética de espécies do gênero *Passiflora* com o uso da estratégia Ward-MLM. **Embrapa Mandioca e Fruticultura-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2014.

PAULA, M. da S. et al. Caracterização genética de espécies de *Passiflora* por marcadores moleculares análogos a genes de resistência. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 1, p. 222-229, 2010.

PEREIRA, Messias Gonzaga; PEREIRA, Telma Nair Santana; VIANA, Alexandre Pio. Marcadores moleculares aplicados ao melhoramento genético do maracujazeiro. **Maracujá: Germoplasma e Melhoramento Genético**, p. 275-292, 2005.

ROMIGUIER, J. et al. Comparative population genomics in animals uncovers the determinants of genetic diversity. **Nature**, v. 515, n. 7526, p. 261, 2014.

RONCATTO, Givanildo et al. Comportamento de maracujazeiros (*Passiflora* spp.) quanto à morte prematura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. 552-554, 2004.

SANTOS, Lucas Ferraz et al. Marcadores ISSR como ferramenta para avaliação da diversidade genética em *Passiflora*. **Biochemical Genetics**, v. 49, n. 7-8, p. 540-554, 2011.

SARTORETTO, Laudete Maria; MELLO-FARIAS, Poulo Celso. Diversidade genética e técnicas biotecnológicas. **Unoesc & Ciência-ACET**, v. 1, n. 2, p. 155-162, 2011.

SHIMIZU, Jarbas Y.; JAEGER, Peterson; SOPCHAKI, Simone A. Variabilidade genética em uma população remanescente de Araucária no Parque Nacional do Iguaçu, Brasil. **Embrapa Florestas-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2000.

SIMINSKI, Alexandre et al. Sucessão florestal secundária no município de São Pedro de Alcântara, litoral de Santa Catarina: estrutura e diversidade. **Ciência florestal**, v. 14, n. 1, 2004.

SOUZA, Vinicius; LORENZI, Harri. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2008.

TOPPA, Eder Victor Braganti; JADOSKI, Cléber Junior. O uso de marcadores moleculares no melhoramento genético de plantas. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 12, n. 1, p. 1-5, 2013.

TROPICOS.ORG. Missouri Botanical Garden. Shaw Boulevard - Saint Louis, Missouri.
Disponível em: Acesso em: 17 de dezembro de 2018.

ULMER, Torsten; MACDOUGAL, John M.; ULMER, Bettina. *Passiflora*: Passionflowers of the world. **Portland, Or.: Timber Press 430p.-illus., col. illus.. ISBN**, v. 881926485, 2004.

VANDERPLANK, J. Passion flowers. 3^a ed. Cambridge: The MIT Press. p. 224, 2000.

VIANA, Américo José Carvalho et al. Diversidade genética com base em características morfológicas e de marcadores moleculares (RAPD) em passifloras silvestres ornamentais. **Ornamental Horticulture**, v. 13, p. 479-482, 2007.

VIANA, Alexandre Pio et al. Diversidade genética entre genótipos comerciais de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de passifloras nativas determinada por marcadores RAPD. **Revista Brasileira de fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 489-493, 2003.

WANG, Zhiyong et al. Genetic diversity analysis of *Cynodon dactylon* (*bermudagrass*) accessions and cultivars from different countries based on ISSR and SSR markers. **Biochemical systematics and ecology**, v. 46, p. 108-115, 2013.

WILLIAMS, John GK et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic acids research**, v. 18, n. 22, p. 6531-6535, 1990.

ZAMBERLAN, Priscilla Mena. Filogenia de *Passiflora* L. (*Passifloraceae*): questões infra-subgenéricas. 2007.

CAPÍTULO I

CARACTERIZAÇÃO E SELEÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES ISSR EM ESPÉCIES DE *Passiflora* spp.

Nátilla Deyse Souza Costa¹, Larissa Neres Barbosa de Souza², Lucas Amorim Silveira³, Elisa Susilene Lisboa dos Santos⁴, Fábio Gelape Faleiro⁵, Messulan Rodrigues Meira⁶, Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva⁷.

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, BA, 45700-000; ²Departamento de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, BA, 45700-000

Autor para correspondência: C. B. M. Cerqueira-Silva
E-mail: csilva@uesb.edu.br

RESUMO. As espécies do gênero *Passiflora* são amplamente distribuídas no território brasileiro, sendo algumas delas utilizadas na indústria nos setores de ornamentação, farmacêutico e alimentício. Concomitante ao interesse econômico, o gênero, possui importância ecológica, devido à grande diversidade de espécies silvestres. Desta forma, o conhecimento molecular do maracujazeiro traz benefícios para os programas de melhoramento e conservação dessas espécies. Com finalidade de produzir dados e gerar subsídios em estudos genéticos de maracujazeiro, foram caracterizados e selecionados 23 iniciadores ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) para 79 espécies de *Passiflora* spp. e 12 cultivares (BRS). Foi utilizado gel de agarose a 2% e luz ultravioleta para amplificação e visualização dos produtos. Os iniciadores ISSR apresentaram resultados satisfatórios, dentre os 23 iniciadores, 21 obtiveram valores acima de 60% de eficiência na classificação como bom (presença de 2 marcas ou mais). Em decorrência dos resultados apresentados, pode-se atestar que, tais iniciadores são adequados para estudos de polimorfismo, estrutura e diversidade genética em espécies do gênero *Passiflora* L., além de, auxiliar programas de conservação e melhoramento.

Palavras-chave: Maracujazeiro, seleção de marcadores, ISSR.

INTRODUÇÃO

A família Passifloraceae encontra-se segmentada em duas tribos (*Paropsieae* e *Passiflorieae*) (CERVI, 2005). Representantes da tribo *Passiflorieae* são encontrados no Brasil e dispersos em quatro gêneros (*Ancistrothyrsus* Harms; *Dilkea* Mast.; *Mitostemma*

Mast. e *Passiflora* L.) dentre eles, o gênero *Passiflora* L. se destaca com maior número de espécies (CERVI, 2017).

As espécies do gênero *Passiflora* L. possuem características morfológicas marcantes, podendo se apresentar como trepadeiras ou arbustivas, com folhas alternadas e flores com cores fortes (IMIG, 2013). Devido à diversidade, propriedades químicas dos frutos, bem como as flores exuberantes destas plantas são amplamente utilizadas na indústria nos setores de ornamentação, farmacêutico e alimentício (ZAMBERLAN, 2007). Concomitante ao interesse econômico, o gênero, possui importância ecológica, devido à grande diversidade de espécies silvestres, onde são importantes pois compreendem a flora de determinadas regiões, fazendo parte dos sistemas bióticos que neles existem e por vez podem compor fonte de resistência a várias doenças que acometem os maracujazeiros (BERNACCI et al. 2005).

No Brasil, o gênero possui média de 140 espécies (CERVI, 2006). Algumas dessas estão conservadas em Bancos de Germoplasmas – BAG. O motivo pelo qual exemplares são mantidos em coleções, além da conservação, permitem pesquisas científicas de cunho agrônomo e biotecnológico aplicados ao melhoramento genético. Para obter sucesso nesses estudos, é preciso conhecer a diversidade genética existente entre as espécies (FERREIRA, 2005). Portanto, o uso de marcadores moleculares, são ferramentas da biotecnologia indispensáveis nessa etapa (PEREIRA, PEREIRA e VIANA, 2005).

Entre os marcadores moleculares mais utilizados estão AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), RGA (Resistance Genes Analogs), ISSR (Inter Simple Sequence Repeats), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SSR (Simple Sequence Repeats), além do SNP (Single Nucleotide Polymorphism) (MACIEL, 2014). Os primeiros, devido ao caráter dominante, não diferencia homozigotos de heterozigotos. Já os dois últimos, de posse do sequenciamento prévio do material genômico, possibilitam a distinção entre os genótipos (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998; FALEIRO, 2007). Por esse motivo, os marcadores do tipo ISSR são frequentemente utilizados em pesquisas com grande amostragem, pois além de não necessitar de conhecimento prévio do DNA, é uma técnica simples, de baixo custo e altamente reprodutível (BORGES, 2015).

Diante do exposto, objetivou-se caracterizar e selecionar iniciadores ISSR para diferentes espécies de *Passiflora*, a fim de disponibilizar ferramentas úteis na caracterização molecular das espécies e, contribuir em programas de conservação e melhoramento de espécies do gênero *Passiflora*.

MATERIAS E MÉTODOS

Coleta de DNA e armazenamento das amostras

A coleta do material biológico foi realizada em parceria com pesquisadores do Centro de Pesquisa Agropecuária Cerrados – Centro de Pesquisa Agronômica dos Cerrados (CPAC), situado em Brasília-DF sob as coordenadas geográficas (S-15.6041265; W-47.7119669). As caracterizações genéticas foram conduzidas majoritariamente no Laboratório de Genética Molecular Aplicada (LGMA), da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), *Campus Itapetinga-Ba*.

Foram coletados acessos representativos de espécies de maracujazeiros, presentes no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) “Flor da Paixão” da Embrapa Cerrados, totalizando 178 acessos de 79 espécies de *Passiflora* spp. e 12 cultivares, os quais tiveram seus DNAs extraídos pelo método *Cationic Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB) de acordo Faleiro et al. (2003) e quantificados por espectrofotometria utilizando o equipamento NanoDrop[®]. Posteriormente os acessos foram diluídos na proporção de 100 µL à 50ng/µL para padronização e, após procedimento foram condicionados a -20°C e conduzidos ao LGMA-UESB.

Ensaio de amplificação

Para os ensaios de amplificação foram utilizados 23 iniciadores ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*) (Tabela 1).

Tabela 1. Iniciadores ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*) utilizados no estudo e suas respectivas sequências de nucleotídeos.

INICIADORES	SEQUÊNCIA 5' - 3'
TriGGA3`RC	GGA GGA GGA GGA GGA RC
DiGA3`T	GAG AGA GAG AGA GAG AT
TriCAG3`RC	CAC CAC CAC CAC CAC RC
TriAAG3`RC	AAG AAG AAG AAG AAG RC
DiCA3`G	CAC ACA CAC ACA CAC AG
DiCA3`RG	CAC ACA CAC ACA CAC ARG
DiCA3`YG	CAC ACA CAC ACA CAC AYG
DiGA3`C	GAG AGA GAG AGA GAG AC
DiGA3` RC	GAG AGA GAG AGA GAG ARC

TriCAC3`RC	CAC CAC CAC CAC CAC RC
TriCAC3`YC	CAC CAC CAC CAC CAC YC
TriCAC5`CY	CAC CAC CAC CAC CAC CY
TriGTG3`YC	GTG GTG GTG GTG GTG YC
TriTGT3`YC	TGT TGT TGT TGT TGT YC
TriAAC3`RC	AAC AAC AAC AAC AAC RC
TriACG3`RC	ACG ACG ACG ACG ACG RC
TriAGA3`RC	AGA AGA AGA AGA AGA RC
TriTGG3`RC	TGG TGG TGG TGG TGG RC
TriCGA3`RC	CGA CGA CGA CGA CGA RC
TriCGC3`RC	CGC CGC CGC CGC CGC RC
TriGAC3`RC	GAC GAC GAC GAC GAC RC
TriGCA3`RC	GCA GCA GCA GCA GCA RC
TriGCC3`RC	GCC GCC GCC GCC GCC RC

As reações de PCR foram realizadas com um volume total de 16 μL , sendo 8 μL de DNA à 2 ng, 1 μL do iniciador, 0,11 μL Taq DNA Polimerase, 1 μL do mix de dNTP, 1 μL de Cloreto de Magnésio (MgCl_2), 1,7 μL de Tampão 10X, e 3,19 água milli-Q para completar o volume final da reação.

Os programas adotados para as reações de amplificação foram os seguintes: 95 °C por 5 minutos; seguido de 34 ciclos (94 °C por 50 segundos, 48°C por 50 segundos, 72°C por 1 minuto); e 5 minutos a 72°C. Os produtos de amplificação foram submetidos a sistema de eletroforese horizontal em gel de agarose a 2% (m/v) e tampão TBE 0.5X (Trisborate-EDTA) com voltagem de 120 por 2 horas. O Ladder 1 Kb (Invitrogen[®]) foi utilizado como padrão de peso molecular das marcas polimórficas obtidas. Posteriormente os géis foram expostos ao transluminador ultravioleta e fotografados em sistema de fotodocumentação Kodak.

Com base nos padrões de amplificações, o polimorfismo detectado foi classificado em Bom (A) para presença de duas ou mais bandas, Razoável (B) para presença de uma só banda e Inadequado (C) quando houve ausência de bandas de difícil visualização (Figura 3). E posteriormente foi confeccionou-se uma matriz de presença (1) e ausência (0) das bandas polimórficas.

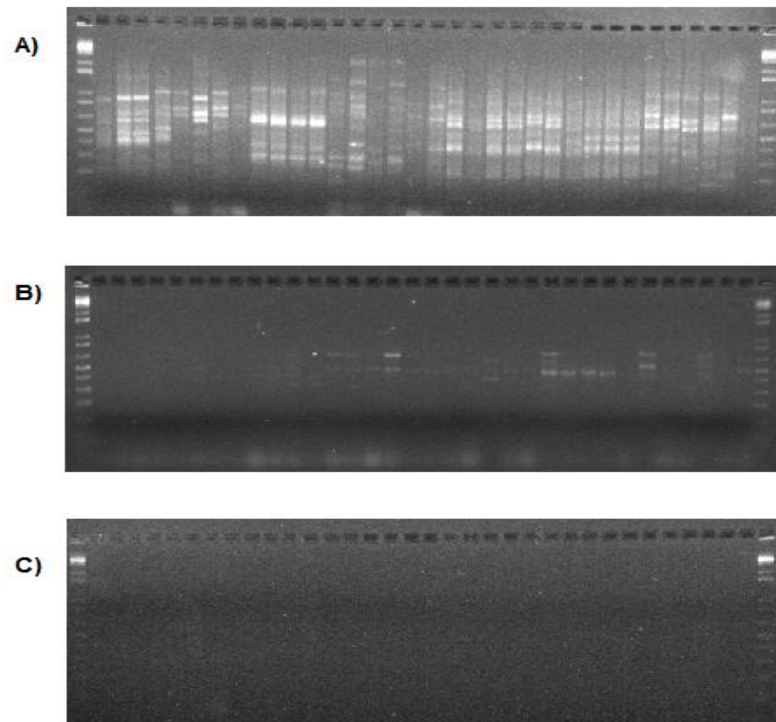


Figura 1: Parâmetro para avaliação da qualidade de marcas geradas pelos iniciadores sendo, (A) Bom, (B) Razoável ou (C) Inadequado.

Após a caracterização utilizando os critérios estabelecidos acima, foram calculados as porcentagens, para compor as tabelas da seguinte forma:

- (i) Para conhecer a porcentagem de espécies que foram classificadas como bom, razoável ou ruim para determinado marcador, possibilitando um estudo interespecífico;

$$\text{qualidade} = \frac{n^{\circ} \text{ espécies amplificada}}{n^{\circ} \text{ total espécies utilizada}} * 100$$

- (ii) Para conhecer a porcentagem de marcadores que foram eficientes em gerar marcas para determinadas espécies, desta forma, promovendo uma abordagem intraespecífica.

$$\% \text{ eficiência} = \frac{n^{\circ} \text{ iniciador eficiente por espécie}}{n^{\circ} \text{ total iniciador}} * 100$$

RESULTADOS

Os valores de marcas geradas a partir da amplificação foi $\geq 45\%$. Em que estas foram classificadas como Bom (Apêndice, tabela 6). Dentre os 23 iniciadores ISSR utilizados, o

iniciador TriGTG3`YC se destacou com 100% de eficiência (Tabela 2). Além desses, 21 iniciadores obtiveram valores acima de 45% de eficiência e, apenas os iniciadores DiCA3`G e DiCA3`YG foram considerados inadequados. Mas em geral, os iniciadores apresentaram percentuais adequados para classificar os marcadores ISSR. Os quais podem ser utilizados para estudos de seleção, caracterização e diversidade genética do gênero *Passiflora* spp.

Tabela 2: Classificação dos iniciadores mostrando o percentual de eficiência do marcador molecular ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*) em 79 espécies de *Passiflora*.

INICIADORES	CLASSIFICAÇÃO		
	BOM	RAZOÁVEL	INADEQUADO
TriGGA3`RC	59 (74,68%)	11 (13,92%)	9 (11,39%)
DiGA3`T	77 (97,46%)	-	2 (2,53%)
TriCAG3`RC	65 (82,27%)	8 (10,12%)	6 (7,59%)
TriAAG3`RC	56 (70,88%)	8 (10,12%)	15 (18,98%)
DiCA3`G	34 (43,03%)	8 (10,12%)	37 (46,83%)
DiCA3`RG	71 (89,87%)	5 (6,32%)	3 (3,79%)
DiCA3`YG	28 (35,44%)	12 (15,18%)	39 (49,36%)
DiGA3`C	54 (68,35%)	13 (16,45%)	12 (15,18%)
DiGA3`RC	61 (77,21%)	15 (18,98%)	3 (3,79%)
TriCAC3`RC	67 (84,81%)	7 (8,86%)	5 (6,32%)
TriCAC3`YC	58 (73,41%)	19 (24,05%)	2 (2,53%)
TriCAC5`CY	48 (60,75%)	-	31 (39,24%)
TriGTG3`YC	79 (100%)	-	-
TriTGT3`YC	69 (87,34%)	6 (7,59%)	4 (5,06%)
TriAAC3`RC	77 (97,46)	1 (1,26%)	1 (1,26%)
TriACG3`RC	61 (77,21%)	15 (18,98%)	3 (3,79%)
TriAGA3`RC	69 (87,34%)	9 (11,39%)	1 (1,26%)
TriTGG3`RC	52 (65,82%)	21 (26,58%)	6 (7,59%)
TriCGA3`RC	52 (65,82%)	17 (21,51%)	10 (12,65%)
TriCGC3`RC	68 (86,07%)	6 (7,59%)	5 (6,32%)
TriGAC3`RC	59 (74,68%)	18 (22,78%)	2 (2,53%)
TriGCA3`RC	73 (92,40%)	3 (3,79%)	3 (3,79%)
TriGCC3`RC	68 (86,07%)	5 (6,32%)	6 (7,59%)

As seis espécies com 100% de eficiência, foram *P. quadrangularis*, *P. amethystina*, *P. caerulea*, *P. organensis*, *P. quadrifaria*, *P. setacea* (Tabela 6). Levando em consideração, os critérios estabelecidos, os iniciadores ISSR foram classificados como bom para 79 espécies e cultivares avaliadas. E seis espécies e cultivares, os marcadores utilizados mostraram-se inadequados. Podendo destacar a maioria para as cultivares BRS. Dentre essas estão a BRS

Gigante amarelo (*P. edulis* X *P. edulis*), o BRS pérola do Cerrado (seleção de *P. setacea*) e BRS mel do cerrado (seleção de *P. alata*).

O fato pelo qual as cultivares obtiveram valores inferiores de um modo geral nas análises quando comparado com as espécies, esse fator pode estar associado ao processo de seleção em que são submetidos, tonando-os mais homogêneos.

Em relação à caracterização genética de todas as espécies, observou-se um grande percentual de polimorfismo, em que os iniciadores apresentaram boas características polimórficas com mais de duas bandas (Tabela 3).

Portanto, as observações feitas no presente estudo, tanto em nível de iniciador quanto em nível de espécies, mostrou que a genotipagem de passiflora por meio de ISSR, são promissoras na seleção de genótipos para cruzamento, objetivando a obtenção de genótipos superiores passíveis de melhoramento genético (Vide apêndices).

Tabela 3. Classificação de cada espécie apresentando o percentual de qualidade observado a partir do marcador molecular ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*).

Especies	Total (%)		
	BOM	RAZOÁVEL	INADEQUADO
<i>P. alata</i> Curtis	22 (95,65%)	-	1 (4,34%)
<i>P. cincinnata</i> Mast	20 (86,95%)	1 (4,34%)	2 (8,69%)
<i>P. edulis</i> Sims	22 (95,65%)	-	1 (4,34%)
<i>P. foetida</i> L.	21 (91,30%)	-	2 (8,69%)
<i>P. maliformis</i> Vell.	22 (95,65%)	-	1 (4,34%)
<i>P. nitida</i> Kunth	21 (91,30%)	-	2 (8,69%)
<i>P. quadrangularis</i> L.	23 (100%)	-	-
<i>P. amethystina</i> J. C Mikan	23 (100%)	-	-
<i>P. caerulea</i> L.	23 (100%)	-	-
<i>P. organensis</i> Gardiner	23 (100%)	-	-
<i>P. quadrifaria</i> Vanderpl	23 (100%)	-	-
<i>P. setacea</i> DC.	23 (100%)	-	-
<i>P. suberosa</i> L.	22 (95,65%)	-	1 (4,34%)
<i>P. tholozanii</i> Sacco	22 (95,65%)	-	1 (4,34%)
<i>P. vitifolia</i> Kunth	22 (95,65%)	-	1 (4,34%)
<i>P. actinia</i> Hook	22 (95,65%)	-	1 (4,34%)
<i>P. ambigua</i> Hemsl.	22 (95,65%)	-	1 (4,34%)
<i>P. capsularis</i> Lam.	22 (95,65%)	1 (4,34%)	-
<i>P. coccinea</i> Aubl.	22 (95,65%)	-	1 (4,34%)
<i>P. ferruginea</i> Mast.	21 (91,30%)	-	2 (8,69%)
<i>P. hatschbachii</i> Cervi	21 (91,30%)	1 (4,34%)	1 (4,34%)
<i>P. malacophylla</i> Mast.	21 (91,30%)	1 (4,34%)	1 (4,34%)
<i>P. mucronata</i> Lam.	22 (95,65%)	-	1 (4,34%)

<i>P. trintaiae</i> Sacco	21 (91,30%)	-	2 (8,69%)
<i>P. vespertilio</i> L.	21 (91,30%)	-	2 (8,69%)
<i>P. araujoi</i> Sacco	17 (73,91%)	2 (8,69%)	4 (17,39%)
<i>P. auriculata</i> Kunth	18 (78,26%)	3 (13,04%)	2 (8,69%)
<i>P. bahiensis</i> Klotzsch	21 (91,30%)	-	2 (8,69%)
<i>P. capparidifolia</i> Killip	21 (91,30%)	1 (4,34%)	1 (4,34%)
<i>P. cerradensis</i> Sacco	21 (91,30%)	1 (4,34%)	1 (4,34%)
<i>P. galbana</i> Mast	19 (82,60%)	3 (13,04%)	1 (4,34%)
<i>P. gardineri</i> Mast	18 (78,26%)	3 (13,04%)	2 (8,69%)
<i>P. haematostigma</i> Mart. Ex Mast.	21 (91,30%)	1 (4,34%)	1 (4,34%)
<i>P. hypoglauca</i> Harms	21 (91,30%)	1 (4,34%)	1 (4,34%)
<i>P. incarnata</i> L.	22 (95,65%)	-	1 (4,34%)
<i>P. kermesina</i> Link & Otto	21 (91,30%)	1 (4,34%)	1 (4,34%)
<i>P. laurifolia</i> L.	22 (95,65%)	-	1 (4,34%)
<i>P. loefgrenii</i> Vitta	21 (91,30%)	1 (4,34%)	1 (4,34%)
<i>P. mierssi</i> Mast	16 (69,56%)	5 (21,73%)	2 (8,69%)
<i>P. morifolia</i> Mast	20 (86,95%)	1 (4,34%)	2 (8,69%)
<i>P. pedata</i> L.	20 (86,95%)	1 (4,34%)	2 (8,69%)
<i>P. porophylla</i> Vell	22 (95,65%)	-	1 (4,34%)
<i>P. recurva</i> Mast.	22 (95,65%)	-	1 (4,34%)
<i>P. rubra</i> L.	21 (91,30%)	1 (4,34%)	1 (4,34%)
<i>P. sidifolia</i> M. Roem	18 (78,26%)	4 (17,39%)	1 (4,34%)
<i>P. triloba</i> Ruiz & Pav. Ex DC.	19 (82,60%)	2 (8,69%)	2 (8,69%)
<i>P. villosa</i> Vell	19 (82,60%)	3 (13,04%)	1 (4,34%)
<i>P. biflora</i> Lam.	18 (78,26%)	2 (8,69%)	3 (13,04%)
<i>P. boticarioana</i> Cervi	14 (60,86%)	6 (26,08%)	3 (13,04%)
<i>P. cerasina</i> Annonay & Feuillet	12 (52,17%)	5 (21,73%)	6 (26,08%)
<i>P. cervii</i> M. L. M. Azevedo	16 (69,56%)	2 (8,69%)	5 (21,73%)
<i>P. chlorina</i> L. K. Escobar	18 (78,26%)	3 (13,04%)	2 (8,69%)
<i>P. edmundoi</i> Sacco	14 (60,86%)	7 (30,43%)	2 (8,69%)
<i>P. eichleriana</i> Mast	15 (65,21%)	6 (26,08%)	2 (8,69%)
<i>P. elegans</i> Mast	13 (56,52%)	7 (30,43%)	3 (13,04%)
<i>P. gibertii</i> B. E. Br.	15 (65,21%)	5 (21,73%)	3 (13,04%)
<i>P. glandulosa</i> Cav.	11 (47,82%)	6 (26,08%)	6 (26,08%)
<i>P. jilekii</i> Wawra	1 (4,34%)	1 (4,34%)	21 (91,30%)
<i>P. junqueirae</i> Imig & Cervi	6 (26,08%)	4 (17,39%)	13 (56,52%)
<i>P. ligularis</i> Juss.	11 (47,82%)	8 (34,78%)	4 (17,39%)
<i>P. luetzelburgii</i> Harms	16 (69,56%)	4 (17,39%)	3 (13,04%)
<i>P. mendocaei</i> Harms	14 (60,86%)	7 (30,43%)	2 (8,69%)
<i>P. micropetala</i> Mart.	14 (60,86%)	7 (30,43%)	2 (8,69%)
<i>P. odontophylla</i> Harms	13 (56,52%)	5 (21,73%)	5 (21,73%)
<i>P. picturata</i> Ker Gawl.	10 (43,47%)	3 (13,04%)	10 (43,47%)
<i>P. phoenicea</i> Lindl.	13 (56,52%)	6 (26,08%)	4 (17,39%)
<i>P. pohlii</i> Mast	17 (73,91%)	2 (8,69%)	4 (17,39%)
<i>P. quadriglandulosa</i> Rodschied	12 (52,17%)	6 (26,08%)	5 (21,73%)
<i>P. racemosa</i> Brot.	15 (65,21%)	6 (26,08%)	2 (8,69%)

<i>P. rhamniiflora</i> Mast.	12 (52,17%)	7 (30,43%)	4 (17,39%)
<i>P. riparia</i> Mart. Ex Mast.	18 (78,26%)	4 (17,39%)	1 (4,34%)
<i>P. saxicola</i> Gontsch	15 (65,21%)	3 (13,04%)	5 (21,73%)
<i>P. sclerophylla</i> Harms	15 (65,21%)	6 (26,08%)	2 (8,69%)
<i>P. setulosa</i> Killip	15 (65,21%)	5 (21,73%)	3 (13,04%)
<i>P. speciosa</i> Gardner	12 (52,17%)	7 (30,43%)	4 (17,39%)
<i>P. subrotunda</i> Mast.	10 (43,47%)	7 (30,43%)	6 (26,08%)
<i>P. tenuifila</i> Killip	13 (56,52%)	8 (34,78%)	2 (8,69%)
<i>P. tricuspis</i> Mast	11 (47,82%)	8 (34,78%)	4 (17,39%)
<i>P. variolata</i> Poepp. & Endl.	9 (39,13%)	5 (21,73%)	9 (39,13%)
BRS céu do cerrado	9 (39,13%)	6 (26,08%)	8 (34,78%)
BRS estrela do cerrado	5 (21,73%)	4 (17,39%)	14 (60,86%)
BRS gigante amarelo	12 (52,17%)	4 (17,39%)	7 (30,43%)
BRS maracujá jabuticaba	8 (34,78%)	7 (30,43%)	8 (34,78%)
BRS mel do cerrado	8 (34,78%)	8 (34,78%)	7 (30,43%)
BRS pérola do cerrado	12 (52,17%)	3 (13,04%)	8 (34,78%)
BRS rosa púrpura	6 (26,08%)	5 (21,73%)	12 (52,17%)
BRS roseflora	6 (26,08%)	4 (17,39%)	13 (56,52%)
BRS rubi do cerrado	6 (26,08%)	4 (17,39%)	13 (56,52%)
BRS rubiflora	4 (17,39%)	4 (17,39%)	15 (65,21%)
BRS sol do cerrado	13 (56,52%)	5 (21,73%)	5 (21,73%)
BRS vitta	7 (30,43%)	6 (26,08%)	10 (43,47%)

No que diz respeito aos estudos inter e intraespecíficos, a (Tabela 2) avalia cada iniciador englobando todas as espécies do trabalho, caracterizando um estudo entre indivíduos de espécies diferentes (Estudo Interespecífico). Ao contrário da (Tabela 3), em que foca-se em cada espécie individualmente e como os marcadores moleculares se comportam em relação a essas espécies (Estudo Intraespecífico).

Essas avaliações podem ser aplicadas em pesquisas de melhoramento genético, podendo ser utilizados em cruzamentos com a possibilidade de obtenção de genótipos resistentes, visando o melhoramento da espécie e implementação da mesma no âmbito comercial. Os apêndices contidos no capítulo detalham todos esses resultados, auxiliando a quem deseja estudar de forma singular alguma das 79 espécies de *Passiflora*.

DISCUSSÃO

Os padrões de amplificação dos iniciadores ISSR apresentaram resultados satisfatórios. Para os acessos de *Passiflora edulis* Sims 22 (95,65%) dos 23 iniciadores utilizados foram eficientes (Tabela 3). Costa (2014) fez uso dos mesmos 23 iniciadores em acessos diferentes e observou alta capacidade informativa, em que com 22 iniciadores, foi possível observar um total de 326

marcas. Santos et. al. (2008), também caracterizaram e selecionar iniciadores em diferentes acessos da espécie e observaram que 33 dos 47, apresentaram fragmentos de DNA claros e bem distintos.

Nove dos iniciadores utilizados para a seleção das 79 espécies de *Passiflora*, também foram utilizados por Santana (2011), avaliando a diversidade genética de acessos de umbu-cajazeira, foram eles: o DiGA3`T, TriAAG3`RC, DiCA3`YG, DiGA3`C, DiGA3` RC, TriCAC3`RC, TriGTG3`YC, TriAAC3`RC e o TriCGA3`RC.

Assim como as espécies comerciais, as silvestres também apresentaram resultado satisfatório. Dos 23 iniciadores testados, 20 foram eficientes para *Passiflora cincinnata* Mast.. Em estudos recente com a espécie, foi observado 33,33% de relevância polimórfica, onde de 15 iniciadores, 5 apresentaram 100% de polimorfismo (ALMEIDA, 2017). Sendo o autor, a divergência genética apresentada, está atribuída à distância geográfica. Sousa et. al. (2015) aplicando esse estudo utilizando 31 marcadores em 25 espécies silvestres do maracujazeiro, observaram que 20 iniciadores apresentaram locos polimórficos. Diante dos estudos com os mesmos iniciadores em diferentes espécies do gênero, nota-se que esses marcadores, além de viabilizar estudos moleculares, também informam a divergência existente entre as espécies. Esta característica faz desse marcador uma ferramenta potencial para a seleção de táxons de espécies silvestres de *Passiflora* L..

Contudo a prévia seleção de marcadores deste estudo, possibilitou conhecer a viabilidade do iniciador nas amostras. Portanto a caracterização e seleção de marcador molecular envolvendo grande quantidade de espécies como nesta pesquisa, subsidiará outras espécies de maracujá com os mesmos primers. Assim, ampliando as informações acerca das espécies de maracujá presente no BAG do CPAC.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados apresentados durante o trabalho, os iniciadores ISSR mostraram grande eficiência nas análises com as espécies trabalhadas do gênero *Passiflora*. Dentre os 23 iniciadores ISSR utilizados, 21 foram classificados como Bom, ou seja, mais de 90% dos iniciadores foram mais que adequados para serem usados. Deste modo, estudos que visam a seleção e caracterização dos marcadores moleculares em espécies de *Passiflora*, contribuem como base e/ou estudos iniciais para trabalhos futuros mais específicos, como pesquisas que direcionam o conhecimento da diversidade e estrutura genética.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L. D. S. **Caracterização citogenética e aplicação de marcadores ISSR em diferentes acessos de *Passiflora cincinnata* Mast.** In *Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE)*. In: JORNADA DE INTEGRAÇÃO DA PÓS-GRADUAÇÃO DA EMBRAPA SEMIÁRIDO, 2., 2017, Petrolina. Anais... Petrolina: Embrapa Semiárido, 2017.
- BERNACCI, L. C.; MELETTI L. M. M.; SOARES-SCOTT, M D.; PASSOS, I. R. S.; JUNQUEIRA, N. T. V. (2005). **Espécies de maracujá: caracterização e conservação da biodiversidade.** In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.(Ed.). *Maracujá: germoplasma melhoramento genético*. Planaltina: Embrapa Cerrados. Cap. 22, p. 558- 586.
- BORGES, R. C. **Diversidade genética em sapucaia por meio de marcadores ISSR. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento).** Universidade Federal do Piauí. 2015.
- CERVI, A. C. **Espécies de *Passiflora* L. (*Passifloraceae*) publicadas e descritas nos últimos 55 anos (1950–2005) na América do Sul e principais publicações brasileiras.** *Estudos de Biologia*, v. 27, n. 61, 2017.
- CERVI, A. C. **O gênero *Passiflora* L. (*Passifloraceae*) no Brasil: espécies descritas após o ano de 1950.** *Real Jardín Botánico*, 2006.
- CERVI, A. C. **Espécies De *Passiflora* L. (*Passifloraceae*) Publicadas E Descritas Nos Últimos 55 Anos (1950–2005) Na América Do Sul E Principais Publicações Brasileiras.** *Estudos de Biologia*, v. 27, n. 61, 2005.
- COSTA, J. L. **Marcadores issr: diversidade genética e correlação com heterose em genótipos de *Passiflora edulis* sims.** 2014.
- FALEIRO, Fábio Gelape. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos.** Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007.
- FERREIRA, F. R. **Recursos genéticos de *Passiflora*. *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*, 41-50.** 2005.
- FERREIRA, Márcio Elias; GRATTAPAGLIA, Darío. **Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético.** Embrapa, 1998.
- IMIG, D. C. **Estudo taxonômico da família *Passifloraceae* Juss, no Distrito Federal, Brasil.** 2013.

PEREIRA, M. G., PEREIRA, T. N. S., & VIANA, A. P. **Marcadores moleculares aplicados ao melhoramento genético do maracujazeiro.** *Maracujá: Germoplasma e Melhoramento Genético*, 275-292. 2005.

SANTANA, Ivonilda Barbosa Brito et al. **Variabilidade genética entre acessos de umbu- cajazeira mediante análise de marcadores ISSR.** *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 33, n. 3, p. 868-876, 2011.

SOUSA, A. G. R. et al. **ISSR markers in wild species of *Passiflora L.*(Passifloraceae) as a tool for taxon selection in ornamental breeding.** *Genetics and Molecular Research*, v. 14, n. 4, p. 18534-18545, 2015.

ZAMBERLAN, P.M. **Filogenia de *Passiflora L.* (*Passifloraceae*): questões infra-subgenéricas.** Porto Alegre. 105f. Dissertação de Mestrado (Genética e Biologia Molecular). UFRGS. p. 1. 2007.

APÊNDICE

Tabela 4. Classificação de 23 iniciadores ISSR de acordo ao padrão de amplificação (bom, razoável e inadequado) utilizando em 79 espécies e 12 cultivares do gênero *Passiflora* spp.

ESPÉCIES	TriGGA3`RC	DiGA3`T	TriCAG3`RC	TriAAG3`RC	DiCA3`G	DiCA3`RG	DiCA3`YG	DiGA3`C	DiGA3` RC
<i>P. alata</i> Curtis	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. cincinnata</i> Mast	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. edulis</i> Sims	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. foetida</i> L.	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom
<i>P. maliformis</i> Vell.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom
<i>P. nitida</i> Kunth	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom
<i>P. quadrangularis</i> L.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. amethystina</i> J. C Mikan	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. caerulea</i> L.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. organensis</i> Gardiner	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. quadrifaria</i> Vanderpl	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. setacea</i> DC.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. suberosa</i> L.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom
<i>P. tholozanii</i> Sacco	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom
<i>P. vitifolia</i> Kunth	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom
<i>P. actinia</i> Hook	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom
<i>P. ambigua</i> Hemsl.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom
<i>P. capsularis</i> Lam.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Razoável	Bom
<i>P. coccinea</i> Aubl.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom
<i>P. ferruginea</i> Mast.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom
<i>P. hatschbachii</i> Cervi	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Razoável	Bom
<i>P. malacophylla</i> Mast.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Razoável	Bom

<i>P. mucronata</i> Lam.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom
<i>P. trintae</i> Sacco	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom
<i>P. vespertilio</i> L.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom
<i>P. araujoi</i> Sacco	Razoável	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. auriculata</i> Kunth	Razoável	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. bahiensis</i> Klotzsch	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. capparidifolia</i> Killip	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. cerradensis</i> Sacco	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. galbana</i> Mast.	Bom	Bom	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Razoável	Bom	Bom
<i>P. gardineri</i> Mast.	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom	Bom
<i>P. haematostigma</i> Mart. Ex Mast.	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Razoável	Bom	Bom
<i>P. hypoglauca</i> Harms	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Razoável	Bom	Bom
<i>P. incarnata</i> L.	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. kermesina</i> Link & Otto	Razoável	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. laurifolia</i> L.	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. loefgrenii</i> Vitta	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. mierssi</i> Mast,	Bom	Bom	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Razoável
<i>P. morifolia</i> Mast.	Bom	Bom	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom	Bom
<i>P. pedata</i> L.	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. porophylla</i> Vell.	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. recurva</i> Mast.	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. rubra</i> L.	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Razoável	Bom	Bom
<i>P. sidifolia</i> M. Roem	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. triloba</i> Ruiz & Pav. Ex DC.	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Razoável	Bom	Bom
<i>P. villosa</i> Vell	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Razoável	Razoável	Bom	Bom
<i>P. biflora</i> Lam.	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom	Bom

<i>P. boticarioana</i> Cervi	Razoável	Bom	Bom	Razoável	Inadequado	Razoável	Inadequado	Bom	Razoável
<i>P. cerasina</i> Annonay & Feuillet	Inadequado	Bom	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom	Inadequado
<i>P. cervii</i> M. L. M. Azevedo	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom	Bom
<i>P. chlorina</i> L. K. Escobar	Razoável	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. edmundoi</i> Sacco	Bom	Bom	Razoável	Bom	Razoável	Bom	Inadequado	Bom	Bom
<i>P. eichleriana</i> Mast.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Razoável
<i>P. elegans</i> Mast.	Bom	Bom	Bom	Bom	Razoável	Bom	Inadequado	Bom	Razoável
<i>P. gibertii</i> B. E. Br.	Razoável	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom	Bom
<i>P. glandulosa</i> Cav.	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom	Razoável
<i>P. jilekii</i> Wawra	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado
<i>P. junqueirae</i> Imig & Cervi	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado
<i>P. ligularis</i> Juss.	Razoável	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado	Razoável
<i>P. luetzelburgii</i> Harms	Inadequado	Bom	Bom	Inadequado	Razoável	Bom	Bom	Bom	Razoável
<i>P. mendocaei</i> Harms	Bom	Bom	Razoável	Bom	Bom	Bom	Razoável	Inadequado	Razoável
<i>P. micropetala</i> Mart.	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Razoável	Razoável	Razoável
<i>P. odontophylla</i> Harms	Razoável	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Razoável	Razoável	Bom
<i>P. picturata</i> Ker Gawl.	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Razoável
<i>P. phoenicea</i> Lindl.	Bom	Bom	Bom	Razoável	Bom	Bom	Inadequado	Razoável	Bom
<i>P. pohlii</i> Mast, <i>P. quadriglandulosa</i> Rodschied	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Razoável	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom
<i>P. racemosa</i> Brot.	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Razoável	Bom	Razoável	Bom	Razoável
<i>P. rhaminiflora</i> Mast.	Bom	Bom	Razoável	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Razoável	Razoável
<i>P. riparia</i> Mart. Ex Mast.	Bom	Bom	Razoável	Razoável	Bom	Bom	Bom	Razoável	Bom
<i>P. saxicola</i> Gontsch	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado	Razoável	Inadequado	Razoável	Bom
<i>P. sclerophylla</i> Harms	Bom	Bom	Razoável	Inadequado	Razoável	Bom	Razoável	Razoável	Bom

<i>P. hypoglauca</i> Harms	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. incarnata</i> L.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. kermesina</i> Link & Otto	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. laurifolia</i> L.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. loefgrenii</i> Vitta	Bom	Razoável	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. mierssi</i> Mast,	Bom	Razoável	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado
<i>P. morifolia</i> Mast.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. pedata</i> L.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Razoável
<i>P. porophylla</i> Vell.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. recurva</i> Mast.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. rubra</i> L.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. sidifolia</i> M. Roem	Bom	Razoável	Bom	Bom	Bom	Bom	Razoável
<i>P. triloba</i> Ruiz & Pav. Ex DC.	Bom	Razoável	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. villosa</i> Vell	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Razoável
<i>P. biflora</i> Lam.	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Razoável
<i>P. boticarioana</i> Cervi	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. cerasina</i> Annonay & Feuillet	Razoável	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Razoável
<i>P. cervii</i> M. L. M. Azevedo	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Razoável	Bom	Bom
<i>P. chlorina</i> L. K. Escobar	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. edmundoi</i> Sacco	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Razoável
<i>P. eichleriana</i> Mast.	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Razoável
<i>P. elegans</i> Mast.	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Razoável
<i>P. gibertii</i> B. E. Br.	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. glandulosa</i> Cav.	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Razoável	Bom	Razoável
<i>P. jilekii</i> Wawra	Inadequado	Razoável	Inadequado	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado
<i>P. junqueirae</i> Imig &	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom	Razoável

Cervi

<i>P. ligularis</i> Juss.	Razoável	Razoável	Inadequado	Bom	Razoável	Bom	Razoável
<i>P. luetzelburgii</i> Harms	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. mendocaei</i> Harms	Razoável	Bom	Inadequado	Bom	Razoável	Bom	Razoável
<i>P. micropetala</i> Mart.	Razoável	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. odontophylla</i> Harms	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Razoável
<i>P. picturata</i> Ker Gawl.	Razoável	Bom	Inadequado	Bom	Razoável	Bom	Bom
<i>P. phoenicea</i> Lindl.	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. pohlii</i> Mast,	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. quadriglandulosa</i> Rodschied	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Razoável
<i>P. racemosa</i> Brot.	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. rhaminiflora</i> Mast.	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. riparia</i> Mart. Ex Mast.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. saxicola</i> Gontsch	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. sclerophylla</i> Harms	Razoável	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. setulosa</i> Killip	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. speciosa</i> Gardner	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Razoável
<i>P. subrotunda</i> Mast.	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. tenuifila</i> Killip	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Razoável	Bom	Bom
<i>P. tricuspis</i> Mast.	Razoável	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Razoável	Bom
<i>P. variolata</i> Poepp. & <i>Endl.</i>	Inadequado	Razoável	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom	Bom
BRS céu do cerrado	Razoável	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
BRS estrela do cerrado	Razoável	Razoável	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom	Razoável
BRS gigante amarelo	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Razoável
BRS maracujá jabuticaba	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Razoável
BRS mel do cerrado	Razoável	Razoável	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom

<i>P. rubra</i> L.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. sidifolia</i> M. Roem	Razoável	Bom	Bom	Bom	Razoável	Bom	Bom
<i>P. triloba</i> Ruiz & Pav. Ex DC.	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. villosa</i> Vell	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. biflora</i> Lam.	Bom	Bom	Razoável	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. boticarioana</i> Cervi	Bom	Bom	Razoável	Bom	Razoável	Bom	Bom
<i>P. cerasina</i> Annonay & Feuillet	Bom	Bom	Razoável	Bom	Razoável	Bom	Razoável
<i>P. cervii</i> M. L. M. Azevedo	Bom	Bom	Inadequado	Razoável	Bom	Bom	Bom
<i>P. chlorina</i> L. K. Escobar	Razoável	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. edmundoi</i> Sacco	Razoável	Razoável	Razoável	Bom	Razoável	Bom	Bom
<i>P. eichleriana</i> Mast.	Razoável	Razoável	Bom	Bom	Razoável	Bom	Bom
<i>P. elegans</i> Mast.	Razoável	Inadequado	Razoável	Bom	Razoável	Bom	Bom
<i>P. gibertii</i> B. E. Br.	Bom	Razoável	Razoável	Razoável	Razoável	Bom	Bom
<i>P. glandulosa</i> Cav.	Razoável	Razoável	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Inadequado
<i>P. jilekii</i> Wawra	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado
<i>P. junqueirae</i> Imig & Cervi	Razoável	Razoável	Inadequado	Bom	Inadequado	Razoável	Inadequado
<i>P. ligularis</i> Juss.	Bom	Razoável	Bom	Bom	Bom	Razoável	Bom
<i>P. luetzelburgii</i> Harms	Bom	Razoável	Razoável	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. mendocaei</i> Harms	Bom	Bom	Bom	Razoável	Bom	Bom	Bom
<i>P. micropetala</i> Mart.	Bom	Razoável	Razoável	Bom	Razoável	Bom	Bom
<i>P. odontophylla</i> Harms	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Razoável	Bom	Bom
<i>P. picturata</i> Ker Gawl.	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Inadequado
<i>P. phoenicea</i> Lindl.	Bom	Razoável	Razoável	Inadequado	Bom	Inadequado	Razoável
<i>P. pohlii</i> Mast,	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. quadriglandulosa</i>	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Bom	Razoável	Razoável

Rodschied							
<i>P. racemosa</i> Brot.	Bom	Bom	Razoável	Bom	Razoável	Bom	Bom
<i>P. rhaminiflora</i> Mast.	Razoável	Razoável	Bom	Bom	Razoável	Bom	Bom
<i>P. riparia</i> Mart. Ex Mast.	Bom	Razoável	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. saxicola</i> Gontsch	Bom	Bom	Razoável	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. sclerophylla</i> Harms	Bom	Razoável	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. setulosa</i> Killip	Bom	Bom	Razoável	Razoável	Razoável	Bom	Inadequado
<i>P. speciosa</i> Gardner	Bom	Razoável	Razoável	Bom	Bom	Bom	Bom
<i>P. subrotunda</i> Mast.	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Razoável	Bom	Bom
<i>P. tenuifila</i> Killip	Razoável	Bom	Bom	Razoável	Razoável	Bom	Bom
<i>P. tricuspis</i> Mast.	Bom	Bom	Razoável	Razoável	Razoável	Bom	Bom
<i>P. variolata</i> Poepp. & Endl.	Bom	Razoável	Razoável	Bom	Razoável	Bom	Inadequado
BRS céu do cerrado	Razoável	Razoável	Inadequado	Razoável	Bom	Bom	Inadequado
BRS estrela do cerrado	Inadequado	Razoável	Bom	Inadequado	Bom	Inadequado	Inadequado
BRS gigante amarelo	Inadequado	Razoável	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom
BRS maracujá jabuticaba	Razoável	Razoável	Bom	Razoável	Bom	Bom	Inadequado
BRS mel do cerrado	Razoável	Razoável	Inadequado	Razoável	Razoável	Bom	Razoável
BRS pérola do cerrado	Bom	Razoável	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado
BRS rosa púrpura	Razoável	Razoável	Razoável	Razoável	Bom	Inadequado	Inadequado
BRS roseflora	Razoável	Razoável	Razoável	Razoável	Bom	Inadequado	Inadequado
BRS rubi do cerrado	Bom	Razoável	Razoável	Inadequado	Bom	Inadequado	Inadequado
BRS rubiflora	Bom	Razoável	Inadequado	Inadequado	Razoável	Inadequado	Inadequado
BRS sol do cerrado	Bom	Bom	Razoável	Bom	Bom	Bom	Bom
BRS vitta	Bom	Razoável	Inadequado	Inadequado	Razoável	Razoável	Razoável

Tabela 5. Classificação dos iniciadores ISSR considerando o padrão de bom e/ou razoável para potencial uso em espécies do gênero *Passiflora* spp.

INICIADORES	*ESPECIES												
	PE2	PE3	PE4	PG2	PG3	PJ1	PJ2	PL3	PL4	PM6	PM7	PO2	PP3
TriGGA3`RC	x	x	x	x	x			x		x	x	x	x
DiGA3`T	x	x	x	x	x		x		x	x	x	x	x
TriCAG3`RC	x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	
TriAAG3`RC	x	x	x	x	x		x	x		x	x	x	x
DiCA3`G	x	x	x					x	x	x			
DiCA3`RG	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	
DiCA3`YG									x	x	x	x	
DiGA3`C	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	
DiGA3`RC	x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x
TriCAC3`RC	x	x	x	x	x			x	x	x	x		x
TriCAC3`YC	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x		x
TriCAC5`CY													
TriGTG3`YC	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
TriTGT3`YC	x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x
TriAAC3`RC	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x
TriACG3`RC	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x
TriAGA3`RC	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x
TriTGG3`RC	x	x		x	x		x	x	x	x	x	x	
TriCGA3`RC	x	x	x	x				x	x	x	x	x	
TriCGC3`RC	x	x	x	x			x	x	x	x	x		
TriGAC3`RC	x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x
TriGCA3`RC	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x
TriGCC3`RC	x	x	x	x				x	x	x	x	x	

INICIADORES	*ESPÉCIES														Total
	PP4	PP5	PQ3	PR3	PR4	PR5	PS4	PS5	PS6	PS7	PS8	PT4	PT5	PV3	
TriGGA3`RC	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		70
DiGA3`T	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	77
TriCAG3`RC	x	x	x	x	x	x	x	x	x			x	x		73
TriAAG3`RC	x					x			x						64
DiCA3`G	x	x	x	x		x		x	x	x	x	x	x		42
DiCA3`RG	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	76
DiCA3`YG				x		x		x				x			40
DiGA3`C	x			x	x	x	x	x	x	x		x		x	67
DiGA3`RC	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	76
TriCAC3`RC	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x		74
TriCAC3`YC	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	77
TriCAC5`CY						x									48
TriGTG3`YC	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	79
TriTGT3`YC	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		75
TriAAC3`RC	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	78
TriACG3`RC	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	76
TriAGA3`RC	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	78
TriTGG3`RC	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	73
TriCGA3`RC	x	x		x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	69
TriCGC3`RC		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	74
TriGAC3`RC	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	77
TriGCA3`RC		x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	76
TriGCC3`RC	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x		73

* Código referente às espécies: **PA1:** *P. alata* Curtis; **PC1:** *P. cincinnata* Mast.; **PE1:** *P. edulis* Sims; **PF1:** *P. foetida* L ; **PM1:** *P. maliformis* Vell.; **PN1:** *P. nitida* Kunth; **PQ1:** *P. quadrangularis* L.; **PA2:** *P. amethystina* J. C Mikan; **PC2:** *P. caerulea* L.; **PO1:** *P. organensis* Gardiner; **PQ2:** *P. quadrifaria* Vanderpl; **PS1:** *P. setacea* DC; **PS2:** *P. suberosa* L.; **PT1:** *P. tholozanii* Sacco; **PV1:** *P. vitifolia* Kunth; **PA3:** *P. actinia* Hook; **PA4:** *P. ambigua* Hemsl.; **PC3:** *P. capsularis* Lam.; **PC4:** *P. coccinea* Aubl.; **PF2:** *P. ferruginea* J. C Mikan; **PH1:** *P. hatschbachii* Cervi; **PM2:** *P. malacophylla* Mast.; **PM3:** *P. mucronata* Lam.; **PT2:** *P. trintae* Sacco; **PV2:** *P. vespertilio* L.; **PA5:** *P. araujoi* Sacco; **PA6:** *P. auriculata* Kunth; **PB1:** *P. bahiensis* Klotzsch; **PC5:** *P. capparidifolia* Killip; **PC6:** *P. cerradensis* Sacco; **PG1:** *P. galbana* Mast; **PG2:** *P. gardineri* Mast.; **PH2:** *P. haematostigma* Mart. Ex Mast.; **PH3:** *P. hypoglauca* Harms; **PI1:** *P. incarnata* L.; **PK1:** *P. kermesina* Link & Otto; **PL1:** *P. laurifolia* L.; **PL2:** *P. loefgrenii* Vitta; **PM4:** *P. mierssi* Mast.; **PM5:** *P. morifolia* Mast.; **PP1:** *P. pedata* L.; **PP2:** *P. porophylla* Vell.; **PR1:** *P. recurva* Mast.; **PR2:** *P. rubra* L.; **PS3:** *P. sidifolia* M. Roem; **PT3:** *P. triloba* Ruiz & Pav. Ex DC.; **PV3:** *P. villosa* Vell.; **PB2:** *P. biflora* Lam.; **PB3:** *P. boticarioana* Cervi; **PC7:** *P. cerasina* Annonay & Feuillet; **PC8:** *P. cervii* M. L. M. Azevedo; **PC9:** *P. chlorina* L. K. Escobar; **PE2:** *P. edmundoi* Sacco; **PC3:** *P. eichleriana* Mast.; **PC4:** *P. elegans* Mast.; **PG2:** *P. gibertii* B. E. Br.; **PG3:** *P. glandulosa* Cav.; **PJ1:** *P. jilekii* Wawra; **PJ2:** *P. junqueirae* Imig & Cervi; **PL3:** *P. ligularis* Juss.; **PL4:** *P. luetzelburgii* Harms; **PM6:** *P. mendocaei* Harms; **PM7:** *P. micropetala* Mart.; **PO2:** *P. odontophylla* Harms; **PP3:** *P. picturata* Ker Gawl.; **PP4:** *P. phoenicea* Lindl.; **PP5:** *P. pohlii* Mast.; **PQ3:** *P. quadriglandulosa* Rodschied; **PR3:** *P. racemosa* Brot.; **PR4:** *P. rhaminiflora* Mast.; **PR5:** *P. riparia* Mart. Ex Mast.; **PS4:** *P. saxicola* Gontsch; **PS5:** *P. sclerophylla* Harms; **PS6:** *P. setulosa* Killip; **PS7:** *P. speciosa* Gardner; **PS8:** *P. subrotunda* Mast.; **PT4:** *P. tenuifila* Killip; **PT5:** *P. tricusps* Mast.; **PV3:** *P. variolata* Poepp. & Endl..

Tabela 6. Espécies do gênero *Passiflora* spp. classificadas quanto ao subgênero, origem e total de acessos utilizados no estudo.

	Especies	Total de Acessos	Subgênero	Origem	Aplicação
1	<i>P. alata</i> Curtis		<i>Passiflora</i>	Planaltina, Brasília - DF	Alimentícia/Medicinal
2	<i>P. cincinnata</i> Mast		<i>Passiflora</i>	PM GP CPAC	Ornamental
3	<i>P. edulis</i> Sims		<i>Passiflora</i>	Serra da Mesa - GO/Oliveira - MG	Alimentícia/Ornamental/Industrial
4	<i>P. foetida</i> L.		<i>Passiflora</i>	Mossoró - RN	Alimentícia/Medicinal
5	<i>P. maliformis</i> Vell.		<i>Passiflora</i>	PM GP CPAC	Alimentícia
6	<i>P. nitida</i> Kunth		<i>Passiflora</i>	PM GP CPAC	Alimentícia
7	<i>P. quadrangularis</i> L.		<i>Passiflora</i>	PM GP CPAC	Alimentícia/Medicinal
8	<i>P. amethystina</i> J. C Mikan	4	<i>Passiflora</i>	São Paulo/ Caeté - MG/ Monte Verde - MG	Ornamental
9	<i>P. caerulea</i> L.		<i>Passiflora</i>	Bento Gonçalves - RS	Ornamental
10	<i>P. organensis</i> Gardiner		<i>Decaloba</i>	Serra dos Orgãos - RJ	Alimentícia
11	<i>P. quadrifaria</i> Vanderpl		<i>Passiflora</i>	Rondônia/ Pará Redondo Miúdo - BA/ Manhaçú - MG/ Tapiramutá - BA	Medicina popular
12	<i>P. setacea</i> DC.		<i>Passiflora</i>	Brasília - DF/ Roráima	
13	<i>P. suberosa</i> L.		<i>Decaloba</i>		
14	<i>P. tholozanii</i> Sacco		<i>Passiflora</i>	Manaus - AM/ Girau - RO/ Marabá - PA	
15	<i>P. vitifolia</i> Kunth		<i>Passiflora</i>	Poconé - MT	
16	<i>P. actinia</i> Hook		<i>Passiflora</i>	-	Alimentícia/Ornamental
17	<i>P. ambigua</i> Hemsl.		<i>Passiflora</i>	-	Alimentícia/Ornamental
18	<i>P. capsularis</i> Lam.		<i>Decaloba</i>	Monte Verde - MG	Alimentícia/Ornamental
19	<i>P. coccinea</i> Aubl.	3	<i>Passiflora</i>	Pontes e Lacerda - MT/ Manaus - AM	Alimentícia/Ornamental
20	<i>P. ferruginea</i> Mast.		<i>Decaloba</i>	Manaus - AM/ Rondônia/ Amazonas	
21	<i>P. hatschbachii</i> Cervi		<i>Passiflora</i>	Cardoso Moreira - RJ	
22	<i>P. malacophylla</i> Mast.		<i>Passiflora</i>	Cardoso Moreira - RJ	

23	<i>P. mucronata</i> Lam.	<i>Passiflora</i>	Prado - BA/ Campo dos Goytacazes - RJ Rio Pardo - MG/ Norte de Minas, Cipó	Alimentícia/Ornamental
24	<i>P. trintae</i> Sacco	<i>Passiflora</i>	Candin	Ornamental
25	<i>P. vespertilio</i> L.	<i>Decaloba</i>	Manaus - AM	Ornamental
26	<i>P. araujoii</i> Sacco	<i>Passiflora</i>	Manaus - AM/ Serra do Orgãos - RJ	
27	<i>P. auriculata</i> Kunth	<i>Decaloba</i>	-	
28	<i>P. bahiensis</i> Klotzsch	<i>Passiflora</i>	Bahia	
29	<i>P. capparidifolia</i> Killip	<i>Passiflora</i>	Cametá - PA	Ornamental
30	<i>P. cerradensis</i> Sacco	<i>Astrophea</i>	Brasília - DF	
31	<i>P. galbana</i> Mast.	<i>Passiflora</i>	Ponte Nova - MG	
32	<i>P. gardineri</i> Mast.	<i>Passiflora</i>	Silvania - GO	
33	<i>P. haematostigma</i> Mart. Ex Mast.	<i>Astrophea</i>	Natividade - TO/ Caeté - MG	
34	<i>P. hypoglauca</i> Harms	<i>Passiflora</i>	Ouro Preto - MG	Alimentícia/Medicinal/Ornamental/I
35	<i>P. incarnata</i> L.	<i>Passiflora</i>	São Paulo	ndustrial
36	<i>P. kermesina</i> Link & Otto	<i>Passiflora</i>	São José do Laranjal - MG	Ornamental
37	<i>P. laurifolia</i> L.	<i>Passiflora</i>	Distrito Federal/ Picos - PI	Alimentícia/Medicinal/Ornamental
38	<i>P. loefgrenii</i> Vitta	<i>Passiflora</i>	Jacinto Machado - SC	Ornamental
39	<i>P. mierssi</i> Mast,	<i>Passiflora</i>	Monte Verde - MG/ Caeté - MG	
40	<i>P. morifolia</i> Mast.	<i>Decaloba</i>	Araponga - MG	Ornamental
41	<i>P. pedata</i> L.	<i>Passiflora</i>	Manaus - AM	
42	<i>P. porophylla</i> Vell.	<i>Decaloba</i>	Caeté - MG	
43	<i>P. recurva</i> Mast.	<i>Passiflora</i>	Rio Pardo - MG	
44	<i>P. rubra</i> L.	<i>Decaloba</i>	Camanducaia - MG	
45	<i>P. sidifolia</i> M. Roem	<i>Passiflora</i>	Espírito Santo	Ornamental
46	<i>P. triloba</i> Ruiz & Pav. Ex DC.	<i>Passiflora</i>	Cruzeiro do Sul - AC/ Guajaramirim - RO	Ornamental

47	<i>P. villosa</i> Vell		<i>Passiflora</i>	Ouro Preto - MG/ São Jorge	
48	<i>P. biflora</i> Lam.		<i>Decaloba</i>	Manaus - AM	
49	<i>P. boticarioana</i> Cervi <i>P. cerasina</i> Annonay & Feuillet		<i>Passiflora</i>	-	
50			<i>Passiflora</i>	Presidente Figueiredo - AM	Ornamental
51	<i>P. cervii</i> M. L. M. Azevedo		<i>Decaloba</i>	-	
52	<i>P. chlorina</i> L. K. Escobar		<i>Astrophea</i>	Caeté - MG	
53	<i>P. edmundoi</i> Sacco		<i>Passiflora</i>	Rio Pardo - MG	
54	<i>P. eichleriana</i> Mast.		<i>Passiflora</i>	-	
55	<i>P. elegans</i> Mast.		<i>Passiflora</i>	Extrema - MG	Ornamental
56	<i>P. gibertii</i> B. E. Br.		<i>Passiflora</i>	Poconé - MT	Alimentícia/Ornamental
57	<i>P. glandulosa</i> Cav.		<i>Passiflora</i>	Belém - PA	
58	<i>P. jilekii</i> Wawra		<i>Passiflora</i>	-	
59	<i>P. junqueirae</i> Imig & Cervi		<i>Passiflora</i>	Caparaó - MG	
60	<i>P. ligularis</i> Juss.	1	<i>Passiflora</i>	-	Alimentícia
61	<i>P. luetzelburgii</i> Harms		<i>Passiflora</i>	Petrolina - PE	
62	<i>P. mendocaei</i> Harms		<i>Passiflora</i>	Monte Verde - MG	
63	<i>P. micropetala</i> Mart.		<i>Decaloba</i>	Belém - PA	
64	<i>P. odontophylla</i> Harms		<i>Passiflora</i>	-	
65	<i>P. picturata</i> Ker Gawl.		<i>Passiflora</i>	-	
66	<i>P. phoenicea</i> Lindl.		<i>Passiflora</i>	-	Alimentícia/Ornamental
67	<i>P. pohlii</i> Mast, <i>P. quadriglandulosa</i>		<i>Decaloba</i>	Planaltina, Brasília - DF	
68	Rodschied		<i>Passiflora</i>	Cáceres - MT	
69	<i>P. racemosa</i> Brot.		<i>Passiflora</i>	Búzios - RJ	Alimentícia/Ornamental
70	<i>P. rhaminiflora</i> Mast.		<i>Astrophea</i>	-	
71	<i>P. riparia</i> Mart. Ex Mast.		<i>Passiflora</i>	Confresa - MT	
72	<i>P. saxicola</i> Gontsch		<i>Decaloba</i>	-	

73	<i>P. sclerophylla</i> Harms	<i>Astrophea</i>	Manaus - AM	
74	<i>P. setulosa</i> Killip	<i>Passiflora</i>	-	
75	<i>P. speciosa</i> Gardner	<i>Passiflora</i>	Manhaçú - MG	
76	<i>P. subrotunda</i> Mast.	<i>Passiflora</i>	Natal - RN	Ornamental
77	<i>P. tenuifila</i> Killip	<i>Passiflora</i>	-	
78	<i>P. tricuspis</i> Mast.	<i>Decaloba</i>	-	
79	<i>P. variolata</i> Poepp. & Endl.	<i>Passiflora</i>	Manaus - AM	
80	BRS céu do cerrado		PM GP CPAC	
81	BRS estrela do cerrado		PM GP CPAC	
82	BRS gigante amarelo		PM GP CPAC	
83	BRS maracujá jabuticaba		PM GP CPAC	
84	BRS mel do cerrado		PM GP CPAC	
85	BRS pérola do cerrado		PM GP CPAC	
86	BRS rosa púrpura		PM GP CPAC	
87	BRS roseflora		PM GP CPAC	
88	BRS rubi do cerrado		PM GP CPAC	
89	BRS rubiflora		PM GP CPAC	
90	BRS sol do cerrado		PM GP CPAC	
91	BRS vitta		PM GP CPAC	

CAPÍTULO II

CARACTERIZAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA INTERESPECÍFICA NO GÊNERO *Passiflora* spp. COM BASE EM MARCADORES ISSR (*INTER-SIMPLE SEQUENCE REPEAT*)

Nátilla Deyse Souza Costa¹, Larissa Neres Barbosa de Souza², Lucas Amorim Silveira³, Elisa Susilene Lisboa dos Santos⁴, Fábio Gelape Faleiro⁵, Messulan Rodrigues Meira⁶, Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva⁷.

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, BA, 45700-000; ²Departamento de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, BA, 45700-000

Autor para correspondência: C. B. M Cerqueira-Silva
E-mail: csilva@uesb.edu.br

RESUMO: Entre os membros pertencentes à família *Passifloraceae*, o gênero *Passiflora* possui destaque por ser o mais robusto em número de espécies e possuírem ampla distribuição geográfica, podendo ser encontradas na América do Norte, América do Sul e América Central. O melhoramento das *Passifloras* são importantes no ponto de vista econômico por obter amplo espaço no comércio, seja ele industrial (fabricação de medicamentos), alimentício (produção de sucos, polpas, licores) ou ornamental (venda das flores). Sendo assim, pesquisas a nível molecular, que visam a produção de informações agregando conhecimentos sobre as espécies de *Passifloras*, são viáveis a esses programas. Este estudo teve por finalidade, avaliar a diversidade interespecífica de 79 espécies do gênero *Pssiflora* e 12 cultivares existentes na coleção do CPAC da Embrapa Cerrados utilizando marcador molecular ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*), contribuindo assim, com programas de melhoramento das espécies em questão. Foram obtidas um total de 843 marcas a partir dos 23 iniciadores ISSR utilizados nas 79 espécies e 12 cultivares de *Passiflora*. A análise Bayesiana apontou uma estruturação em dois pools gênicos (Delta K acima de 150) e uma possível sub-estruturação em seis pools gênicos (Delta k abaixo de 50). As análises de Coordenadas Principais (PCoA) indicaram uma grande dispersão dos indivíduos estudados, porém alguns indivíduos se apresentaram bem próximos a outros. A Análise de Variância Molecular mostrou uma grande diversidade dentre os indivíduos estudados. Os possíveis comportamentos dos polinizadores das espécies de *Passiflora*, com hábitos voadores, podem explicar diversidade encontrada nos resultados. O presente estudo, pode servir como base para futuras pesquisas e como suplemento para bancos de germoplasmas das espécies, como também contribuirá para os programas de melhoramento do gênero.

Palavras-chave: Diversidade genética , marcadores moleculares, maracujazeiro.

INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* possui em média 530 espécies, com ampla distribuição geográfica. Suas espécies são encontradas nas Américas do Norte, do Sul e Central (DEGINANI, 2001; ULMER e MACDOUGAL, 2004). Está dividido em quatro subgêneros, são eles: *Astrophea* DC.Mast., *Deidamioides* Harms Killip, *Decaloba* DC. Rchb e *Passiflora*. Sendo este último o detentor de maior número de espécies catalogadas, estudadas e cultivadas em viveiros comerciais (ULMER e MACDOUGAL, 2004; DA COSTA et al. 2008).

Devido à grande expansão geográfica e diversidade de espécies que ocorre no Brasil, Os produtos *Passiflora*, fazem do país um dos centros de diversidade, produção e exportação, sendo uma das fontes de renda para os produtores e geração de emprego no mercado local (CERVI, 2006, NUNES, 2002, MELETTI, 2011, FERREIRA, 2005). Dentre o consumo das plantas pelo mercado está a indústria farmacêutica, a alimentícia, a cosmética e a paisagística (LORENZI, 2008; FARMACOPEIA, 2010; LAWINSCKY, 2010; CERQUEIRA-SILVA, 2012; CERQUEIRA-SILVA, 2014; OLIVEIRA, 2016).

Diante da crescente procura por produtos naturais, para suprir a demanda de mercado e manter a produção de qualidade de forma sustentável. Faz-se necessário conhecer a diversidade genética existente entre as espécies do gênero, pois a partir dessa caracterização, é possível estabelecer estratégias de conservação e subsidiar futuros programas de melhoramento genético (MELETTI, SANTOS e MINAMI, 2000).

Para viabilizar estudos dessa natureza, os marcadores moleculares como os iniciadores *ISSR* (*Inter-Simple Sequence Repeat*), tem contribuído com os estudos de caracterização genética de espécies silvestres pouco conhecidas. Estes marcadores são baseados em sequências repetidas de nucleotídeos, com tamanho total do primer de 200-2000 pb (FALEIRO, 2007). A principal vantagem desse marcador é não ser necessário o conhecimento prévio do genoma a ser estudado. Além de possibilitar a análise de *loci* múltiplos em uma única reação, apresenta alto polimorfismo, boa reprodutibilidade e baixo custo (TOPPA E JADOSKI, 2013).

Entretanto, estudos com espécies silvestres e de importância comercial utilizando esse marcador, tem apresentado resultados promissores para escolha de genitores com maior variabilidade genética em programas de melhoramento (BORBA et al. 2005, ALMEIDA, 2006). Desta forma, objetivou-se avaliar a diversidade interespecífica de 79 espécies do gênero *Passiflora* e 12 variedades existentes no Banco de Germoplasma do CPAC da Embrapa Cerrados, a partir de marcadores moleculares tipo ISSR.

MATERIAS E MÉTODOS

O material biológico foi coletado na EMBRAPA Cerrados – Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados – CPAC, Brasília - DF) sob as coordenadas geográficas (S15.6041265,W-47.7119669). a partir de parceria do grupo com pesquisadores do local. As reações de amplificações e a caracterização genética dos genótipos foram realizados no Laboratório de Genética Molecular Aplicada (LGMA) da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) - Itapetinga-Ba.

Coleta, extração de DNA e armazenamento das amostras

Coletou-se acessos de diferentes espécies do gênero *Passiflora* presentes no banco de germoplasma “Flor da Paixão” da Embrapa Cerrados totalizando 178. Dentre eles estão, 79 espécies e 12 variedades, as informações referente as espécies utilizadas podem ser encontradas na Tabela 1 do apêndice.

Os DNAs dos indivíduos foram extraídos no Laboratório de Fitopatologia (CPAC), utilizando o método CTAB (*Cationic Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide*) de acordo Faleiro et al. (2003). A quantificação foi por meio de espectrofotometria utilizando o NanoDrop[®]. Posteriormente o material genômico foi diluído na proporção de 100µl à 50ng.µl⁻¹ e identificados. Após identificação das amostras, todo o material foi condicionado em freezer -20, conduzido ao LGMA-UESB, onde foi mantido a temperatura até o momento das reações.

Ensaio de amplificações

Os ensaios de amplificações foram conduzidos fazendo uso de 23 iniciadores ISSR descritos na (Tabela 1). Todas as amplificações via PCR foram conduzidas obtendo um volume final de 16 µL, contendo 8 µL de DNA à 2 ng.µL⁻¹, 1 µL do iniciador, 0,11 µL da Taq DNA Polimerase, 1 µL do mix de dNTP, 1 µL de Cloreto de Magnésio (MgCl₂), 1,7 µL de Tampão 10X e 3,19 µL de água Milli-Q.

Tabela 1: Descrição dos 23 iniciadores ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*) utilizados para o presente estudo.

INICIADORES	SEQUÊNCIA 5' - 3'
TriGGA3`RC	GGA GGA GGA GGA GGA RC
DiGA3`T	GAG AGA GAG AGA GAG AT
TriCAG3`RC	CAC CAC CAC CAC CAC RC
TriAAG3`RC	AAG AAG AAG AAG AAG RC
DiCA3`G	CAC ACA CAC ACA CAC AG
DiCA3`RG	CAC ACA CAC ACA CAC ARG
DiCA3`YG	CAC ACA CAC ACA CAC AYG
DiGA3`C	GAG AGA GAG AGA GAG AC
DiGA3` RC	GAG AGA GAG AGA GAG ARC
TriCAC3`RC	CAC CAC CAC CAC CAC RC
TriCAC3`YC	CAC CAC CAC CAC CAC YC
TriCAC5`CY	CAC CAC CAC CAC CAC CY
TriGTG3`YC	GTG GTG GTG GTG GTG YC
TriTGT3`YC	TGT TGT TGT TGT TGT YC
TriAAC3`RC	AAC AAC AAC AAC AAC RC
TriACG3`RC	ACG ACG ACG ACG ACG RC
TriAGA3`RC	AGA AGA AGA AGA AGA RC
TriTGG3`RC	TGG TGG TGG TGG TGG RC
TriCGA3`RC	CGA CGA CGA CGA CGA RC
TriCGC3`RC	CGC CGC CGC CGC CGC RC
TriGAC3`RC	GAC GAC GAC GAC GAC RC
TriGCA3`RC	GCA GCA GCA GCA GCA RC
TriGCC3`RC	GCC GCC GCC GCC GCC RC

A programação do termociclador aderida para as reações de amplificação foram: 95 °C por 5 minutos; seguido de 34 ciclos (94 °C por 50 segundos, 48°C por 50 segundos, 72°C por 1 minuto); e 5 minutos a 72°C.

De posse do produto da amplificação, uma alíquota de 6 µL foi submetida a corrida eletroforética horizontal em gel de agarose a 2% (m/v) e tampão TBE 0,5x, a uma voltagem de 120W, por 2 horas. Além disso, no gel, foi utilizado Ladder 1Kb (Invitrogen®) como padrão de peso molecular das marcas geradas. Após a corrida de eletroforese, as marcas presente no gel, foram visualizadas em transluminador UV e fotografadas em sistema de fotodocumentação Kodak.

Genotipagem Molecular e estimativa da diversidade genética

As análises das imagens foram realizadas por dois pesquisadores, para se obter maior confiabilidade dos dados. O resultado da avaliação permitiu gerar uma matriz de dados

binários, no qual o zero (0) foi conferido para a ausência da marca e um (1) para a presença. Posteriormente foi estimada a estrutura e a diversidade genética das espécies.

Primeiramente, a matriz binária foi submetida à Análise de Variância Molecular (AMOVA). Para melhor atribuição da diversidade entre e dentro das amostras, realizou-se a análise das coordenadas principais (PCoA com base na matriz binária, primeiro critério e com base no polimorfismo gerado, segundo critério). Para estas análises utilizou-se o software livre GenAlEx 6.1 (PEAKALL E SMOUSE, 2012),

Para a análise Bayesiana foi utilizado o programa STRUCTURE (PRITCHARD et al. 2000). Alguns parâmetros foram assumidos para a análise, como: cinco interações para cada *pool* gênico (K) testado, sendo que estes variaram de 1 a 10 e as corridas foram de 10.000 a 100.000 (burnining). A fim de estimar qual seria o número de *pool* gênico (K) em que apresenta uma melhor representação da distribuição da diversidade, foi aplicado o resultado do STRUCTURE em uma plataforma *on line* STRUCTURE Harvester (EARL E VONHOLDT, 2012).

RESULTADOS

Dos 178 indivíduos avaliados, 7 fazem parte do subgêneo *Astrophea*, 31 do *Decaloba*, 128 do *Passiflora* e 12 das cultivares. Dos 4 subgêneros de *Passiflora*, apenas o *Deidamioides* não possui representantes nesse estudo. A Tabela 2 apresenta o total de marcas geradas e a porcentagem de polimorfismo para os três subgêneros e 12 cultivares de *Passiflora* a partir de 23 iniciadores ISSR utilizados neste estudo. Ao todo, foram geradas 843 marcas sendo que para *Astrophea* foram 322, no *Decaloba* gerou 666 e no *Passiflora* 802. As Cultivares foram as que obtiveram o menor número de linhas de leitura, com 201.

É notório no presente estudo que o número de espécies do subgênero *Passiflora* é maior quando comparado aos outros. Porém esse fator não justifica a diferença de números de marcas geradas em cada subgênero. Isso pode ser observado na porcentagem geral de marcas para cada subgênero (Tabela 2), onde mesmo o *Passiflora* sendo mais que o triplo de indivíduos contrastando ao gênero *Decaloba*, na porcentagem geral, com 40,28%* e 33,45%*, para *Passiflora* e *Decaloba*, percebe-se que os valores são próximos. Sendo assim, a quantidade de espécies do subgênero *Passiflora* não interfere nas análises dos dados gerados.

Com relação a porcentagem de polimorfismo gerada, os 23 iniciadores ISSR detectaram polimorfismo. Em se tratando dos subgêneros, todos foram 100% polimórficos, apenas as cultivares que, em cinco iniciadores (TriGGA3`RC, TriAAG3`RC, DiCA3`G, DiGA3`C, TriCAC5`CY), não apresentaram marcas. Desta forma, não foi possível avaliar o polimorfismo. O iniciador DiGA3`T apresentou marcas monomórficas para todas as cultivares, por isso, não foi informativo para este grupo de análise.

Avaliando separadamente os 23 iniciadores ISSR testados, nove geraram mais que 40 marcas (TriGGA3`RC, TriCAG3`RC, TriAAG3`RC, DiGA3` RC, TriACG3`RC, TriAGA3`RC, TriCGA3`RC, TriCGC3`RC, TriGCC3`RC), apenas um iniciador gerou abaixo de 20 (TriCAC3`YC). Mostrando que o ISSR é um marcador molecular eficiente para avaliar espécies do gênero *Passiflora*, capaz de produzir uma grande quantidade de marcas.

A tabela 3, obtida a partir dos dados binários (primeiro critério) representou em percentual a presença e a ausência de marcas nas 5 espécies de *Astrophea*, 15 de *Decaloba*, 59 de *Passiflora* e 12 cultivares. Portanto foi possível observar que em boa parte houve 100% de presença de marcas em determinados iniciadores, sendo que dos 23 iniciadores, apenas 4 (TriAAG3`RC, DiCA3`G, DiCA3`YG, TriCAC5`CY) não geraram 100% de marcas para algum dos subgêneros ou cultivares avaliados. Examinando os resultados e levando em consideração apenas os subgêneros em ordem de eficiência em gerar marcas, está o *Astrophea* em primeiro, seguido do *Decaloba* e *Passiflora*.

Em contrapartida, a partir dos mesmos dados (Tabela 3), foi possível observar que, dentre os quatro grupos estudados (*Astrophea*, *Decaloba*, *Passiflora* e Cultivares), as Cultivares foram as que apresentaram os menores valores em porcentagem quando avaliado a presença e ausência de marcas. Inclusive a porcentagem para cinco dos iniciadores (TriGGA3`RC, TriAAG3`RC, DiCA3`G, DiGA3`C, TriCAC5`CY) foi zero (0%). Embora as Cultivares tenham resultados inferiores quando comparado aos subgêneros, para a maioria dos 23 iniciadores, os resultados foram eficientes na avaliação da diversidade dos mesmos.

De modo geral, fica evidente que, dentre os 23 iniciadores, apenas 3 obtiveram uma porcentagem abaixo de 70% de marcas geradas (DiCA3`G, DiCA3`YG, TriCAC5`CY) (Tabela 3). Esses valores mostram claramente que os iniciadores ISSR são muito eficazes quando deseja se aprofundar nos estudos genético moleculares em espécies do gênero *Passiflora*.

Tabela 2: Total de marcas ISSR geradas e porcentagem de polimorfismo a partir de cada um dos 23 iniciadores para três subgêneros de *Passiflora*. O percentual em (*) é referente ao total de marcas geradas em cada subgênero.

	1 - TriGGA3`RC		2 - DiGA3`T		3 - TriCAG3`RC		4 - TriAAG3`RC		5 - DiCA3`G		6 - DiCA3`RG		7 - DiCA3`YG		8 - DiGA3`C	
	Total	%	Total	%	Total	%	Total	%	total	%	total	%	total	%	total	%
<i>Astrophea</i>	16	100	21	100	18	100	12	100	1	100	15	100	8	100	17	100
<i>Decaloba</i>	33	100	33	100	34	100	41	100	24	100	26	100	10	100	28	100
<i>Passiflora</i>	43	100	38	100	45	100	47	100	27	100	29	100	39	100	36	100
Cultivares T. de marcas	0	0	5	0	7	100	0	0	0	0	15	100	1	100	0	0
	50		39		45		48		27		29		39		36	

	9 - DiGA3` RC		10 - TriCAC3`RC		11 - TriCAC3`YC		12 - TriCAC5`CY		13 - TriGTG3`YC		14 - TriTGT3`YC		15 - TriAAC3`RC		16 - TriACG3`RC	
	total	%	total	%	total	%	total	%	total	%	total	%	total	%	total	%
<i>Astrophea</i>	14	100	11	100	6	100	21	100	24	100	19	100	19	100	9	100
<i>Decaloba</i>	37	100	17	100	14	100	23	100	32	100	26	100	31	100	35	100
<i>Passiflora</i>	43	100	24	100	18	100	30	100	32	100	32	100	32	100	37	100
Cultivares T. de marcas	14	100	11	100	5	100	0	0	17	100	13	100	21	100	12	100
	46		24		18		30		35		32		33		40	

	17 - TriAGA3`RC		18 - TriTGG3`RC		19 - TriCGA3`RC		20 - TriCGC3`RC		21 - TriGAC3`RC		22 - TriGCA3`RC		23 - TriGCC3`RC		Geral	
	total	%	total	%	total	%	total	%	total	%	total	%	total	%	total	%
<i>Astrophea</i>	14	100	7	100	10	100	19	100	11	100	13	100	17	100	322	16,17*
<i>Decaloba</i>	39	100	21	100	33	100	35	100	34	100	27	100	33	100	666	33,45*
<i>Passiflora</i>	44	100	28	100	37	100	42	100	33	100	29	100	37	100	802	40,28*
Cultivares T. de marcas	15	100	9	100	12	100	9	100	15	100	11	100	9	100	201	10,09*
	45		31		41		44		39		31		41		843	

Tabela 3: Avaliação da eficiência de cada um dos 23 marcadores ISSR considerando o número total de espécies com genoma amplificado para cada subgênero ou cultivares.

Subgêneros	TriGGA3`RC	DiGA3`T	TriCAG3`RC	TriAAG3`RC	DiCA3`G	DiCA3`RG	DiCA3`YG	DiGA3`C	DiGA3`RC
<i>Astrophea</i>	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)	3 (60%)	1 (20%)	5 (100%)	4 (80%)	5 (100%)	5 (100%)
<i>Decaloba</i>	15 (100%)	15 (100%)	15 (100%)	11 (73,3%)	7 (46,6%)	15 (100%)	6 (40%)	11 (73,3%)	15 (100%)
<i>Passiflora</i>	50 (87,7%)	57 (96,6%)	53 (90%)	50 (87,7%)	34 (57,6%)	56 (95%)	30 (51%)	51 (86,4%)	56 (95%)
Cultivares	0	12 (100%)	2 (16,6%)	0	0	7 (58,3%)	1 (8,3%)	0	8 (66,6%)
Total	70 (77%)	89 (98%)	75 (82,4%)	64 (70, 3%)	42 (46,1%)	83 (91,2%)	41 (45%)	67 (73,6%)	84 (92,3%)

Subgêneros	TriCAC3`RC	TriCAC3`YC	TriCAC5`CY	TriGTG3`YC	TriTGT3`YC	TriAAC3`RC	TriACG3`RC	TriAGA3`RC	TriTGG3`RC
<i>Astrophea</i>	5 (100%)	5 (100%)	2 (40%)	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)
<i>Decaloba</i>	14 (93,3)	15 (100%)	9 (60%)	15 (100%)	15 (100%)	15 (100%)	15 (100%)	15 (100%)	14 (93,3)
<i>Passiflora</i>	55 (93,2%)	57 (96,6%)	37 (62,7%)	59 (100%)	55 (93,2%)	58 (98,3%)	56 (95%)	58 (98,3%)	54 (91,5%)
Cultivares	8 (66,6%)	12 (100%)	0	11 (91,6%)	7 (58,3%)	12 (100%)	12 (100%)	10 (83,3%)	12 (100%)
Total	82 (90,1%)	89 (98%)	48 (52,7%)	90 (99%)	82 (90,1%)	90 (99%)	88 (96,7%)	88 (96,7%)	85 (93,4%)

Subgêneros	TriCGA3`RC	TriCGC3`RC	TriGAC3`RC	TriGCA3`RC	TriGCC3`RC
<i>Astrophea</i>	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)
<i>Decaloba</i>	14 (93,3)	15 (100%)	15 (100%)	15 (100%)	15 (100%)
<i>Passiflora</i>	50 (87,7%)	54 (91,5%)	57 (96,6%)	56 (95%)	53 (89,3%)
Cultivares	8 (66,6%)	8 (66,6%)	12 (100%)	7 (58,3)	4 (33,3%)
Total	77 (84,6%)	82 (90,1%)	89 (98%)	83 (91,2%)	77 (84,6%)

Em relação a estrutura genética, baseado nos resultados obtidos através do STRUCTURE, a análise Bayesiana indicou o provável número de *pools* gênicos considerando 79 espécies e 12 cultivares. Desta forma, foi possível observar a estruturação em dois níveis: primeiramente o $K = 2$ ($\Delta K > 150$) e uma subestruturação para $K = 6$ ($\Delta K < 50$) (Figura 1A). Além disso, a Figura 1B reafirma o resultado encontrado na Figura 1A, onde mostra os prováveis *pools* gênicos, nesse gráfico a forma de identificação do possível pool gênico é avaliando o ponto que se posiciona mais distante do outro. Porém esse método pode deixar margens para erro, sendo assim necessário avaliar a Figura 1A, para melhor interpretação e visualização dos *pools* gênicos presentes nas análises.

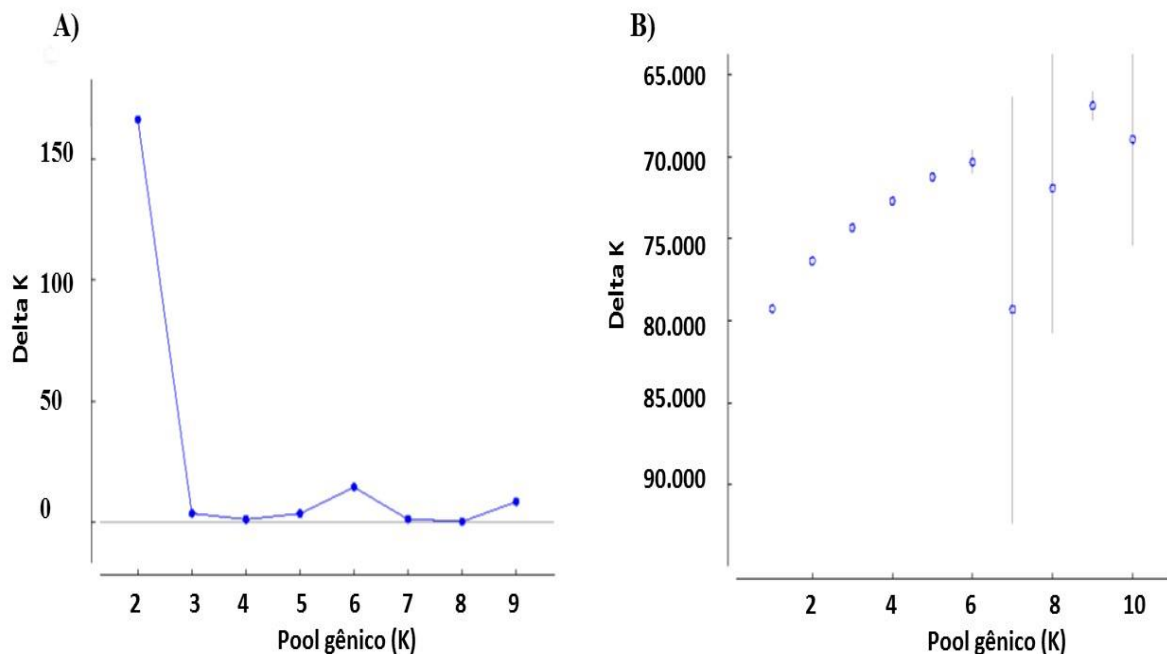


Figura 1: Número de *pools* gênicos mais provável para os 79 indivíduos de *Passiflora* e 12 cultivares, obtido através do: <http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>

A Figura 2A apresenta um histograma representativo da estruturação das espécies e cultivares deste estudo em dois *pools* gênicos ($K=2$), estando cada *pool* gênico representado na imagem pelas cores verde e vermelho. Em se tratando do subgênero *Astrophea* e as Cultivares, há uma predominância da cor verde, indivíduos que pertencem a esses subgêneros são: *P. cerradensis*, *P. haematostigma*, *P. chlorina*, *P. rhamniiflora* Mast, *P. sclerophylla* e BRS céu do cerrado, BRS estrela do cerrado, BRS gigante amarelo, BRS maracujá jaboticaba, BRS sol do cerrado, entre as outras cultivares.

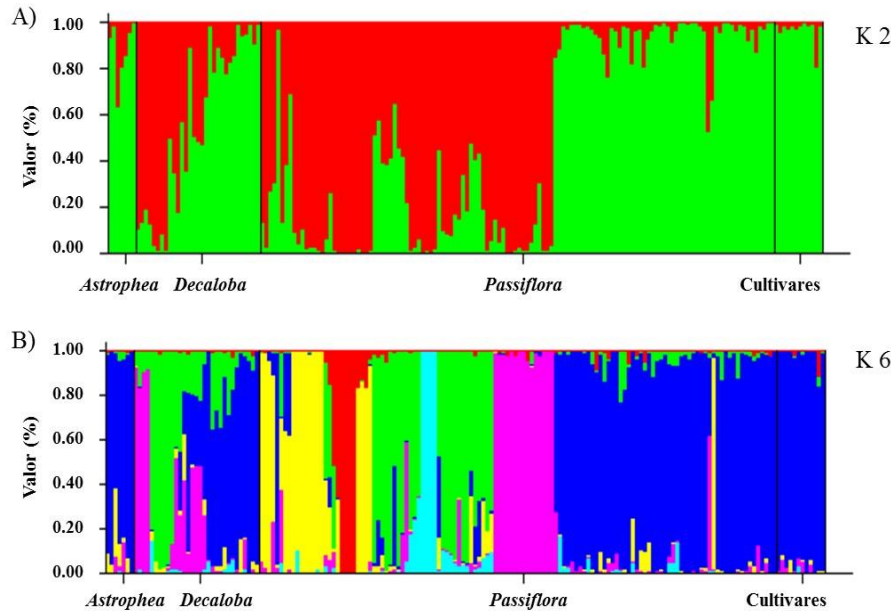


Figura 2: Histogramas obtidos a partir de 23 marcadores ISSR mostrando a estruturação com dois *pools* gênicos (K = 2) (A) e com seis *pools* gênicos (K = 6) (B), considerando 178 indivíduos de 79 espécies e 12 cultivares de três subgêneros e cultivares de *Passiflora* spp..

Dentre as espécies que compõem o subgênero *Astrophea*, apenas uma (*P. haematostigma*) possui valores consideráveis do *pool* gênico vermelho (pouco menos que 30%) quando comparado aos outros indivíduos desse subgênero.

Para a classificação da composição do indivíduo por determinado *pool* gênico, assumiu para tanto que, valores $\geq 60\%$ de um *pool* (uma cor) seria puro para um dos dois *pools* gênicos. *Decaloba* e *Passiflora* apresentam espécies que possuem maior parte do *pool* vermelho ou maior parte do *pool* verde. Ainda foi possível observar que espécies desses subgêneros não apresentam preferencialmente um ou outro *pool* gênico, havendo assim uma mistura de *pools*. Dentre os 31 indivíduos de *Decaloba*, foi possível observar no histograma (Figura 2; Apêndice Figura 1), que 5 deles (*P. capsularis*, *P. ferruginea* e três indivíduos de *P. vespertilio*) possuem porcentagens relevantes dos dois *pools* gênicos. Em se tratando do subgênero *Passiflora*, dos 128 indivíduos presentes no estudo, 10 deles também apresentaram valores pertinentes dos dois *pools*, são eles: dois indivíduos de *P. amethystina*, três de *P. caerulea*, *P. tholozanii*, três de *P. actinia* e um de *P. glandulosa*. Na figura 1 do apêndice deste capítulo pode ser encontrado a composição de cores de todos os indivíduos, podendo ser analisado individualmente a porcentagem do *pool* gênico de cada espécie. O K= 2 mostra que os indivíduos de *Passiflora* estão bem estruturados nesses dois *pools* gênicos.

O histograma (Figura 2B), onde se adota uma estruturação com 6 *pools* gênicos (K=6) tem a predominância da cor azul escuro. Com relação aos subgêneros, a cor azul escura predomina em *Astrophea* e *Decaloba*, além de predominar nas *Cultivares*. No segundo

subgênero (*Decaloba*), além do azul, o verde é também representativo. Para o subgênero *Passiflora* além do azul, que é o predominante, outras cores também estão presentes, alguns quase que exclusivamente nesse subgênero, como o azul claro (4 acessos de *P. setacea*) e o vermelho (1 acesso de *P. maliformis* e 4 de *P. nitida*). Mostrando assim, uma heterogeneidade na composição desse *pool* gênico.

Com base nos dados obtidos para dois *pool* gênicos (K=2), avaliando cada indivíduo, pôde-se criar a Figura 3 em que demonstra a quantidade de indivíduos de *Passifloras* e cultivares pertencentes a cada *pool* gênico, além de revelar quais deles apresentam mistura dos *pools* gênicos.

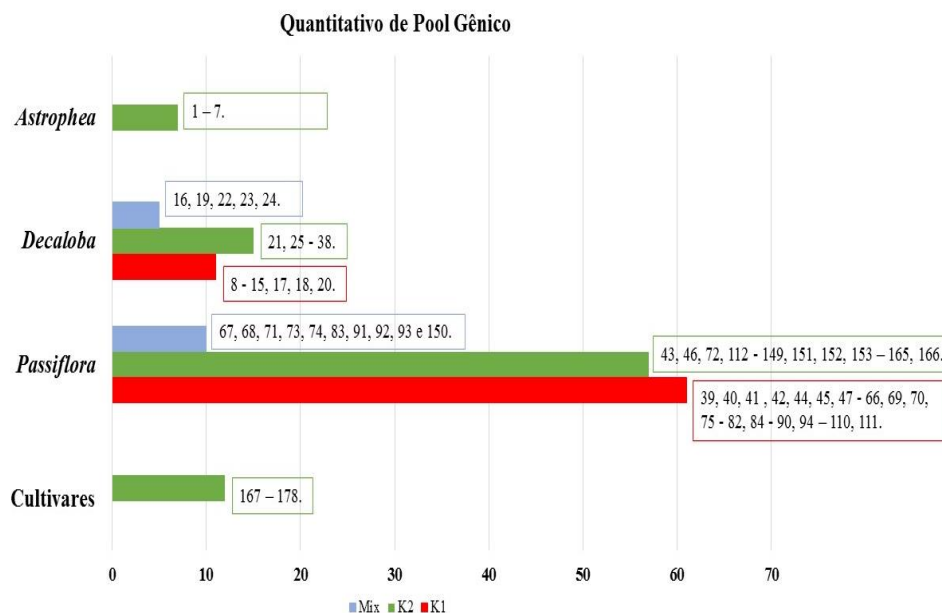


Figura 3: Gráfico baseado nos resultados obtidos através do *pool* gênico dois (K2), onde demonstra o quantitativo de indivíduos em cada *pool* gênico para os três subgêneros (*Passiflora*, *Decaloba* e *Atrophea*) e as Cultivares.

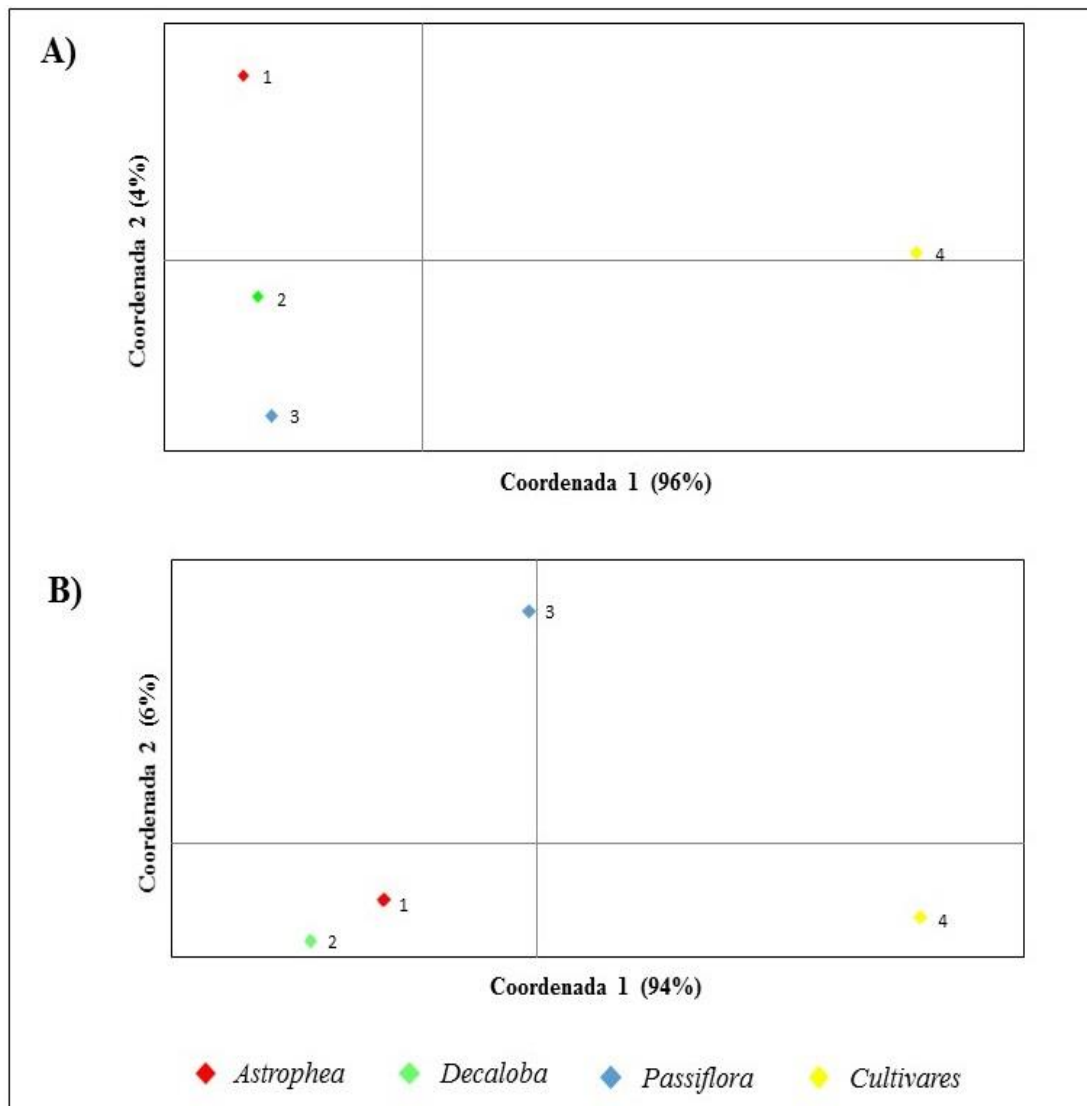
As cores da Figura 3 são referentes as cores da inferência Bayesiana, onde um dos *pools* está representado pela cor vermelha e o outro pela cor verde, e os indivíduos que não se enquadravam no valores, tendo por tanto, valores intermediários (< 60% de qualquer um dos *pools*) e por consequência obtendo as duas cores de forma considerável, estão na cor azul. Além disso, a figura mostra quais indivíduos compõem cada *pool* gênico e os mesmos podem ser identificados na Tabela 1 e Figura 1 do apêndice.

A Figura 3, auxilia na visualização dos resultados apresentados pela inferência Bayesiana, mostrando que as 7 espécies de *Atrophea* e os 12 indivíduos dos *Cultivares* são

majoritariamente do *pool* gênico verde, dessa forma, sendo estruturados em apenas um *pool*. Por outro lado, os subgêneros *Decaloba* e *Passiflora*, se mostraram divididos entre os dois *pools* (verde e vermelho), além dos indivíduos que possuem porcentagem com valores consideráveis dos dois *pools* gênicos, que nesse caso foi estabelecido em azul como mistura. Além dessas informações, como forma de facilitar a visualização dos resultados, o gráfico traz na lateral de cada *pool* gênico a referência de qual acesso pertencente ao mesmo, sendo possível verificar qual o indivíduo referente ao número na (Tabela 1) do apêndice.

A partir das tabelas de dados binários, com base no primeiro e segundo critério, foram desenvolvidas diversas análises gerando diferentes gráficos de coordenadas principais (PCoA). Para se obter uma visão geral dos resultados, foi avaliado a dispersão genética apenas dos três subgêneros e cultivar, como se fossem quatro populações (Figura 4). Examinando a dispersão dos dois gráficos, a fim de comparar a metodologia utilizada, foi possível notar alguns aspectos que serão destacadas a seguir. No caso das cultivares, o grupo permaneceu distante dos outros subgêneros (Figura 4A e B).

Em relação aos subgêneros *Astrophea*, *Decaloba* e *Passiflora*, foi possível observar que estes se apresentaram de forma diferente nos gráficos, onde *Astrophea* e *Decaloba*, estão mais distantes geneticamente (Figura 4A) contrastando com a Figura 4B no qual estão bem próximos. Em contrapartida, os subgêneros *Astrophea* e *Passiflora* estão distantes em ambos os gráficos. Em se tratando da comparação dos subgêneros *Decaloba* e *Passiflora*, estes estão próximos Figura 4A enquanto que na Figura 4B estão bastante distantes. Esses resultados, onde foi avaliado dois critérios de análises, dão indício de que pode ser necessário o emprego de mais de uma forma de exame na descoberta da diversidade genética.



Figura

4: Análise de Coordenadas Principais para a dispersão de três subgêneros de *Passiflora* (*Astrophea*, *Decaloba* e *Passiflora*) e cultivares.

Seguindo com as análises de PCoA e agora levando em consideração somente o primeiro critério, foram desenvolvidos cinco gráficos, um em que engloba todas as 79 espécies e 12 cultivares do gênero *Passiflora* (Figura 5). Os outros quatro gráficos estão agrupados em apenas uma imagem (Figura 6), onde avaliou-se os três subgêneros (*Astrophea*, *Decaloba* e *Passiflora*) e os 12 cultivares separadamente.

No que se refere ao gráfico geral desse critério (Figura 5), pode ser visto na imagem que os cultivares foram destacados (em amarelo) para mostrar que estes tendem a formar dois grupos.

O primeiro agrupamento, corresponde aos indivíduos BRS estrela do cerrado, BRS rosa púrpura, BRS roseflora, BRS rubi do cerrado e BRS rubiflora, indicando que estes são geneticamente mais próximos. O segundo agrupamento dos cultivares é composto pelos

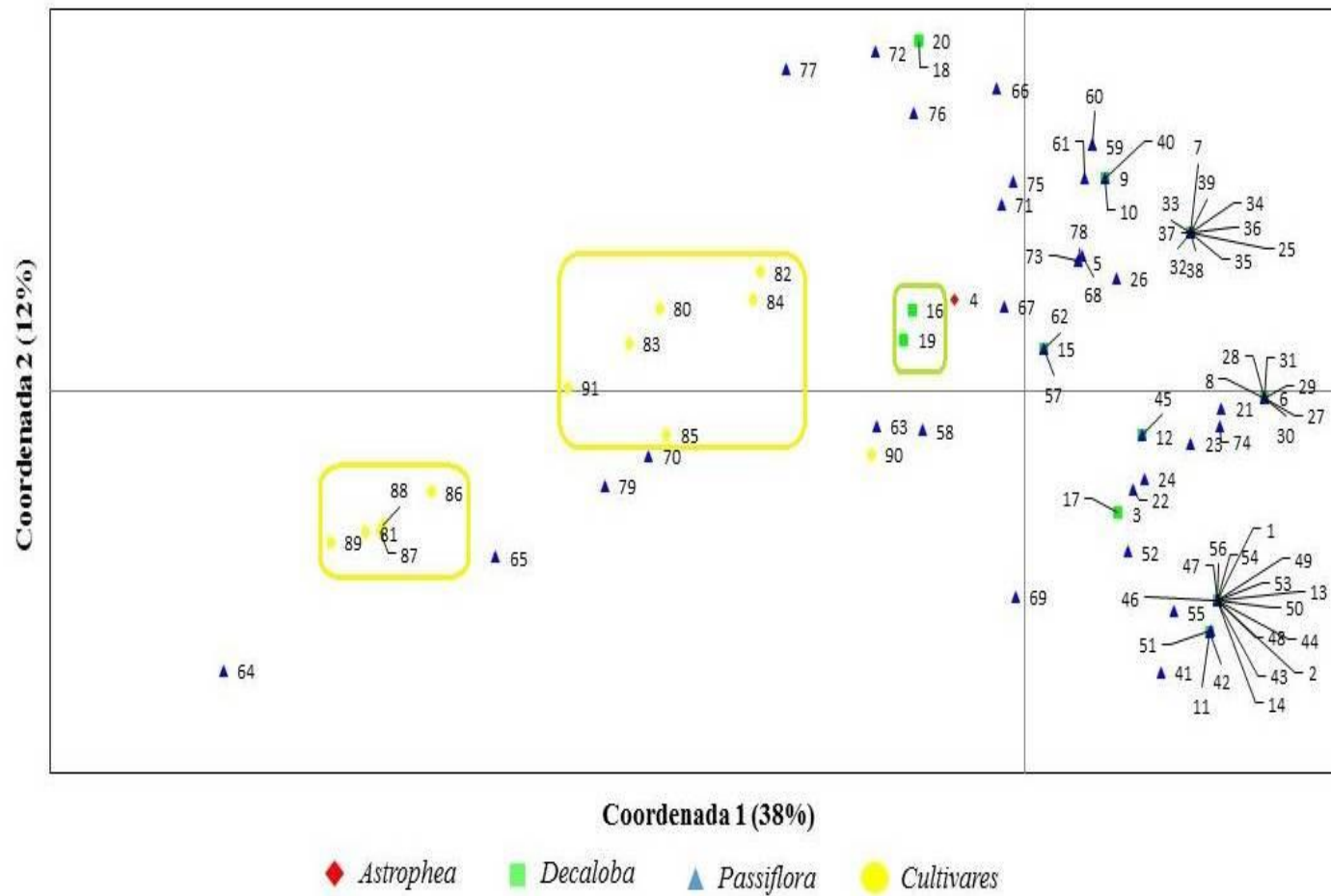
indivíduos BRS céu do cerrado, BRS gigante amarelo, BRS maracujá jabuticaba, BRS mel do cerrado, BRS pérola do cerrado e BRS vitta. Apenas um dos indivíduos dos cultivares nesse gráfico de PCoA, se apresentou fora dos dois grupos, que foi o BRS sol do cerrado, mostrando que ele é mais distante geneticamente dos demais. Em comparação aos dois grupos, esse indivíduo é, de certa forma, mais distante do primeiro grupo citado e mais próximo do segundo.

Os quadrados verdes (Figura 5) correspondem aos genótipos representativos do subgênero *Decaloba*, sendo possível observar que os mesmos estão bem dispersos no gráfico, com exceção de duas espécies *P. cervii* e *P. saxicola* Gontsch (pontos 16 e 19), que estão mais próximas entre si. Estes dados apontam para a ampla variabilidade entre as quinze espécies analisadas desse subgênero.

No tocante aos três subgêneros, a maioria das espécies que compoem cada um, aparentemente se dispersaram mais a direita do gráfico, mostrando que as mesmas estão mais próximas geneticamente. Algumas espécies do subgênero *Passiflora* se apresentaram bem distantes das demais e mais próximas das cultivares, sendo as seguintes: *P. picturata*, *P. variolata* e *P. junqueirae* (pontos 70, 79 e 65), apenas uma das espécies do subgênero *Passiflora* a *P. jilekii wawra* (ponto 64) se apresentou distante de forma considerável de todos os outros.

Um fator interessante nos resultados obtidos a partir dos iniciadores ISSR nas espécies de *Passiflora* é que vários indivíduos compartilharam do mesmo ponto, como pode ser verificado o histograma (Figura 5), até mesmo espécies de subgêneros diferentes, como do *Decaloba* e *Passiflora* nos pontos 40, 9 e 10 (correspondendo a *P. trintae*, *P. ferruginea* e *P. vespertilio*), mostrando que esses indivíduos são bastante semelhantes geneticamente entre si, o mesmo pode ser observado nos pontos 62, 15 e 57 (*P. gibertii*, *P. biflora* Lam. e *P. boticarioana* Cervi).

Figura 5: Gráfico bas-***eado nas análises de coordenadas principais (PCoA), avaliando a dispersão dos três subgêneros (*Astrophea*, *Decaloba* e *Passiflora*) e 12 cultivares em conjunto, levando em consideração o primeiro critério estabelecido (avaliando a presença (1) e a ausência (0) de marcas) na metodologia nas análises de PCoA.



Analisando os resultados do PCoA separadamente para cada subgênero, pode-se observar que o *Astrophea*, o *Decaloba* e as Cultivares estão mais dispersos, se apresentando nos quatro quadrantes do gráfico (Figura 6), aparentando ser mais distantes geneticamente.

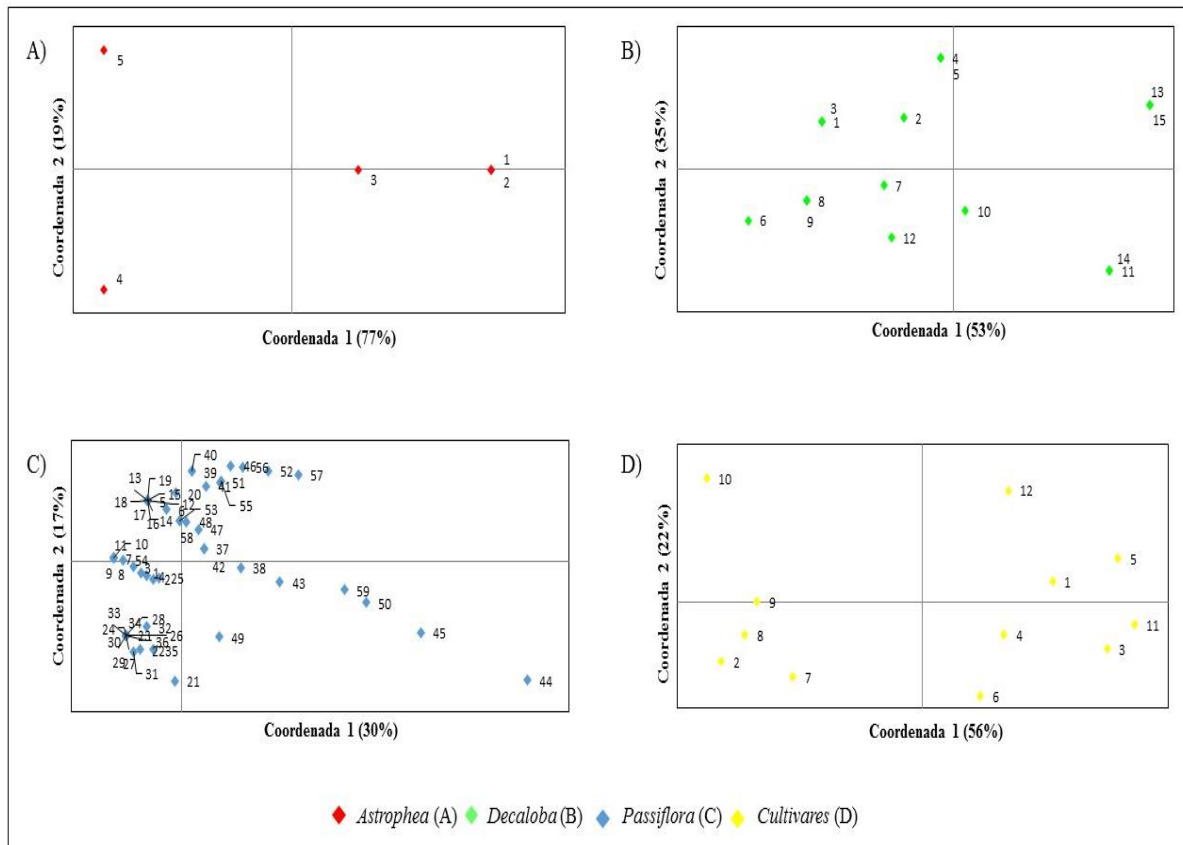


Figura 6: Gráfico baseado nas análises de coordenadas principais (PCoA), avaliando separadamente a dispersão dos três subgêneros (*Astrophea*, *Decaloba* e *Passiflora*) e 12 cultivares levando em consideração o primeiro critério estabelecido na metodologia das análises de PCoA.

Em se tratando de *Passiflora*, o gráfico mostrou uma tendência das espécies desse subgênero se agruparem em uma mesma região, da mesma forma que foi apresentado no gráfico PCoA geral, indicando que essas espécies são mais próximas, com exceção de *P. edmundoi* Sacco, *P. loefgrenii* Vitta, *P. gardineri* Mast e *P. galbana* Mast (pontos 59, 50, 45 e 44) que se apresentaram mais distantes, sendo que *P. galbana* Mast. mostrou-se a mais distante de todas as quatro.

Assim como foi visto no gráfico geral, agora de forma mais clara, pode ser visualizado as espécies que compartilham o mesmo ponto no gráfico. O subgênero *Astrophea*, que possui 5 espécies compondo-o nesse estudo, onde duas destas, *P. cerradensis* e a *P. haematostigma* compartilham o mesmo ponto no gráfico (1 e 2). No que concerne as 15 espécies analisadas

do *Decaloba*, foram dez das espécies que compartilharam o mesmo ponto em pares são: *P. organensis* e *P. capsularis*, *P. ferruginea* e *P. vespertilio*, *P. porophylla* Vell e *P. rubra* L., *P. cervii* e *P. saxicola* Gontsch, *P. pohlii* Mast e *P. tricuspis* Mast (1 - 3, 4 - 5, 9 - 8, 11 - 14 e 13 - 15). No que se refere as espécies do subgênero *Passiflora*, várias delas partilharam de pontos iguais, como pode ser visto no gráfico da (Figura 6), as espécies que correspondem aos números podem ser verificadas na (Tabela 1) do apêndice.

Embora a análise dos subgêneros separadamente seja uma ferramenta interessante para se analisar os dados e ter uma noção da dispersão das espécies de forma mais específica, o gráfico geral, onde contém todas as espécies do estudo, é de melhor visualização no âmbito de comparação geral da proximidade ou diferença genética das espécies e até mesmo dos subgêneros e cultivares nesse caso.

Quando analisado os resultados da genotipagem, considerando todos os 178 acessos seguindo o segundo critério (avaliando polimorfismo), foram gerados, da mesma forma que os anteriores, cinco gráficos: um geral (com os três subgêneros e cultivares) e quatro em que foram avaliados todos os subgêneros e cultivares de forma separada. Os resultados dessa análise PCoA geral obtiveram diferenças quando comparado ao do critério anterior, nesse caso os acessos ficaram bem mais dispersos no gráfico (Figura 7), principalmente as do subgênero *Passiflora*, que nos gráficos anteriores (Figura 5; Figura 6C) se apresentaram concentrados em uma região.

Outra diferença encontrada quando comparado os dois critérios utilizados para gerar o gráfico geral, foi a forma em que os cultivares se apresentaram. No gráfico da Figura 7 as cultivares se mantiveram agrupadas em apenas uma região, mostrando que nesse critério, eles são mais semelhantes geneticamente. A cultivar BRS sol do cerrado (ponto 90), permaneceu, como no primeiro critério, mais distante dos demais cultivares.

Em contrapartida, ao contrário das cultivares, os subgêneros não se agruparam em apenas uma região do gráfico, como é visto na Figura 7, as espécies de cada subgênero - *Astrophea*, *Decaloba* e *Passiflora*, estão dispersas nos quadrantes. Fazendo uso desse segundo critério, onde os acessos de uma espécie foram considerados com uma população. Para que contribuísse com a visualização da dispersão dos pontos no gráfico, foi possível notar a diminuição na quantidade de espécies que compartilham do mesmo ponto.

Em relação aos gráficos gerados para os subgêneros separadamente (Figura 8), é possível observar que para *Astrophea* (Figura 8A) os ponto 1 e 2 não compartilharam o mesmo local, embora estejam próximos. O subgênero *Decaloba* (Figura 8B) que no primeiro critério apresentou suas espécies bem dispersas, no segundo critério houve pontos bem

próximos (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 e 15) correspondendo às espécies *P. organensis*, *P. suberosa*, *P. capsularis*, *P. ferruginea*, *P. vespertilio*, *P. auriculata* Kunth, *P. morifolia* Mast, *P. saxicola* Gontsch e *P. tricuspis* Mast.

Para o subgênero *Passiflora* (Figura 8C) quando observado individualmente também está bem disperso, diferente das cultivares (Figura 8D) que na avaliação individual do primeiro critério obteve uma grande dispersão, no segundo critério os indivíduos se agruparam mais a esquerda do gráfico.

A análise de Coordenadas Principais é uma ferramenta importante no estudo de diversidade genética, pois permite visualizar a forma que as espécies irão se comportar no gráfico de acordo a sua diferença ou proximidade genética. O presente estudo permitiu além da avaliação da diversidade das 79 espécies de *Passiflora* e 12 cultivares, a comparação da diversidade dos subgêneros. Além disso, o presente trabalho permitiu realizar a comparação dos resultados por meio dos dois critérios utilizados para as análises de PCoA.

Ainda com base nos resultados da tabela de dados binários, foram desenvolvidos dois gráfico a partir da Análise de Variância Molecular (Figura 9). O primeiro exhibe a variância dos dados que seguiram o primeiro critério (Figura 9A), o segundo expõe a variância dos resultados do segundo critério (Figura 9B).

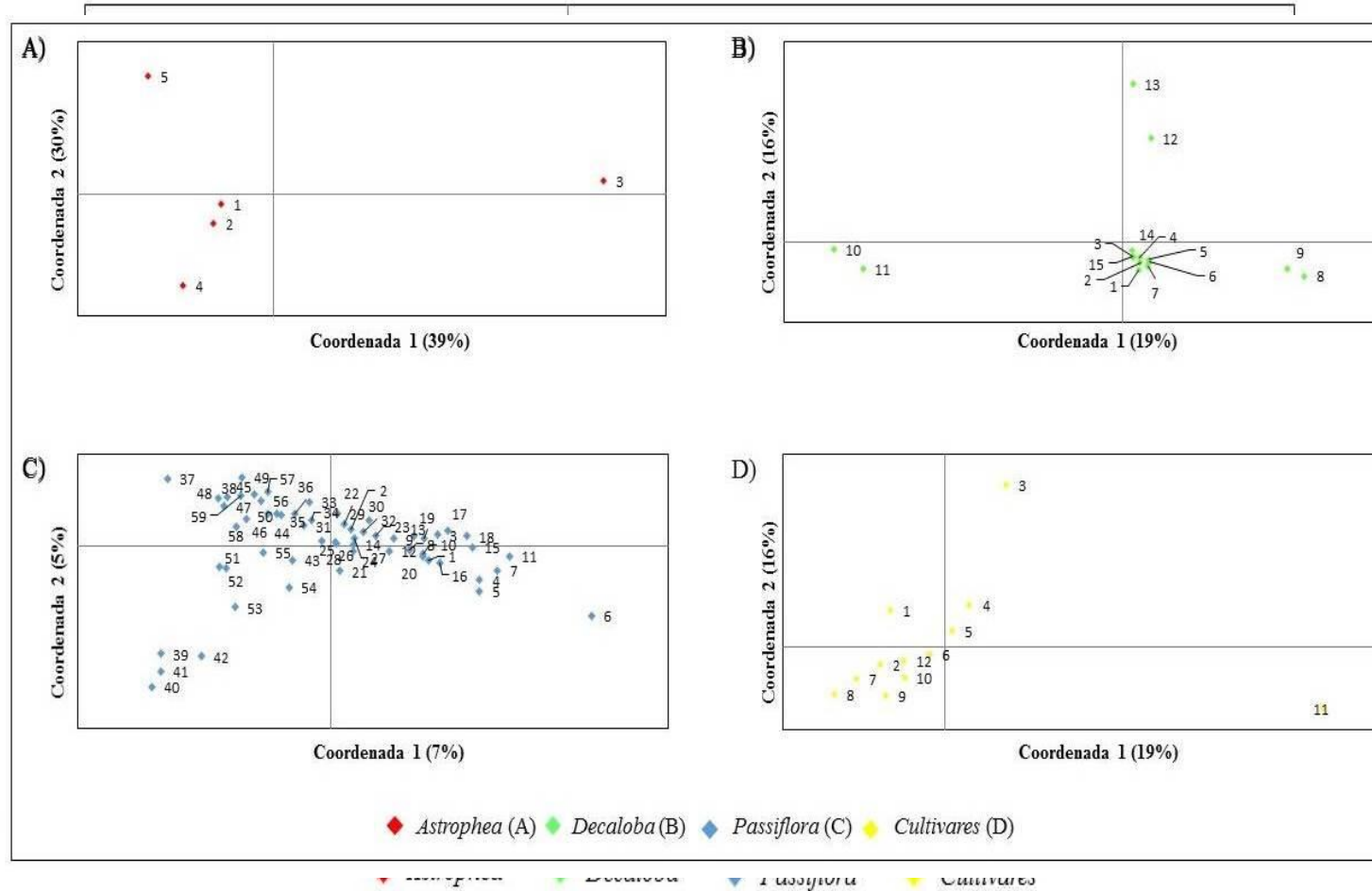


Figura 7: Gráfico baseado nas análises de coordenadas principais (PCoA), avaliando a dispersão dos três subgêneros (*Astrophea*, *Decaloba* e *Passiflora*) e 12 cultivares, levando em consideração o segundo critério estabelecido na metodologia.

Figura 8: Gráfico baseado nas análises de coordenadas principais (PCoA), avaliando separadamente a dispersão dos três subgêneros (*Astrophea*, *Decaloba* e *Passiflora*) e 12 cultivares levando em consideração o segundo critério estabelecido na metodologia.

Ainda com base nos resultados da tabela de dados binários, foram desenvolvidos dois gráficos a partir da Análise de Variância Molecular (Figura 9). O primeiro exibe a variância dos dados que seguiram o primeiro critério (Figura 9A), o segundo expõe a variância dos resultados do segundo critério (Figura 9B).

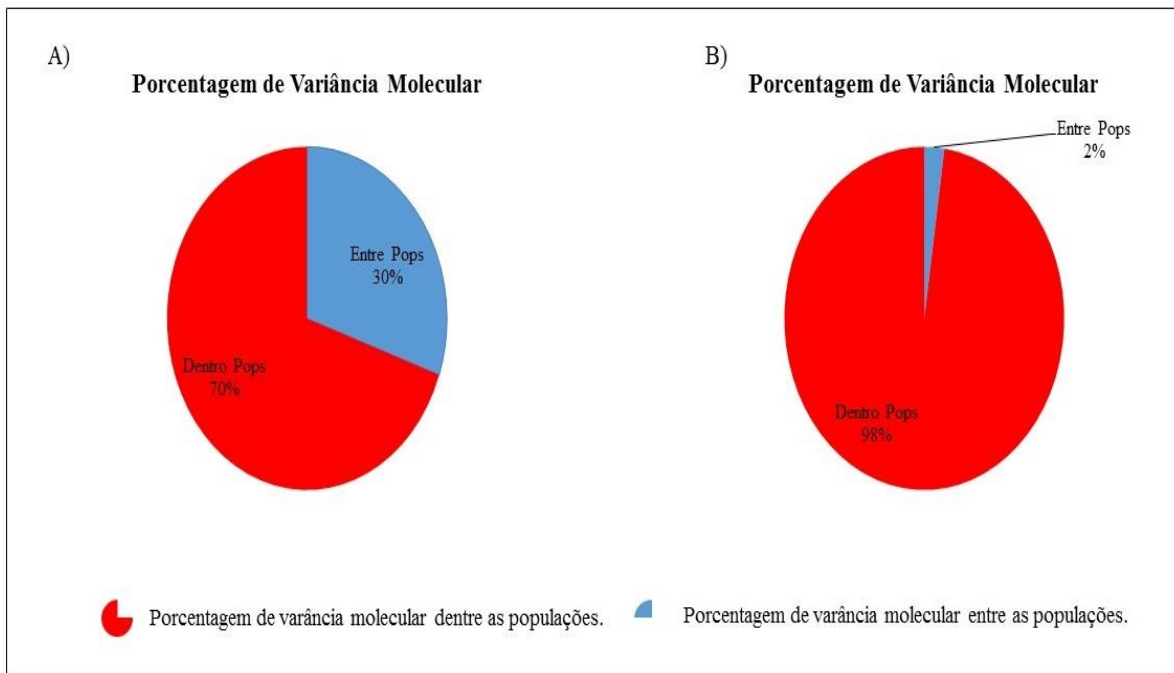


Figura 9: Gráfico onde mostra a porcentagem de variância molecular entre e dentro as populações de *Passiflora* spp. com os 23 iniciadores ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*).

O gráfico do primeiro critério certificou, com 70%, uma maior diversidade genética dentro das populações e entre as populações houve 30% de diversidade. Tendo o segundo critério como base, o gráfico de variância mostrou uma grande, quase total, diversidade genética dentro as populações com 98% e houve apenas 2% entre as populações.

Esses resultados da AMOVA corroboram com os obtidos na inferência Bayesiana, sendo o atual resultado apresenta uma diversidade maior dentro das populações, nos dois critérios, porém não corroboram com os resultados obtidos através das análises de PCoA, em que mostrou uma ampla distribuição dos acessos.

DISCUSSÃO

Apesar de existirem poucos estudos envolvendo os marcadores ISSR para uma quantidade tão grande de espécies do gênero *Passiflora*, em se tratando de polimorfismo,

resultados semelhantes foram encontrados para a espécie *P. edulis*, onde foram utilizados 23 iniciadores ISSR iguais as do presente estudo. Mesmo avaliando somente uma espécie do maracujazeiro, tais marcadores se mostraram eficientes para detectar polimorfismo e para gerar altos números de bandas, sendo que dos 23 iniciadores testados por Oliveira (2011), 22 exibiram polimorfismo.

Para avaliar diferentes acessos de *P. cincinnata*, Almeida (2017) fez uso de 15 iniciadores ISSR, dentre esses, 5 foram 100% polimórficos, 2 desses marcadores que apresentaram total polimorfismo, são iguais aos que foram utilizados no presente estudo (DiGA3`C, TriACG3`RC), que também foram 100% polimórficos para as 79 espécies de *Passiflora* e 12 cultivares. O grande número de marcas e polimorfismo gerados a partir desses iniciadores, revelaram a alta variabilidade genética interespecífica das espécies analisadas. Assim se caracterizando como um excelente marcador molecular para pesquisas que envolvam o interesse em avaliar a diversidade genética.

Altos valores de polimorfismo e a consequente diversidade genética, são reflexos de fatores biológicos e ecológicos das espécies como por exemplo, mecanismos de reprodução, polinização, e também a fragmentação do ambiente. Todos esses fatores podem afetar também a estrutura genética (KAGEYAMA, 1998). Além disso, a estrutura reprodutiva da espécie pode mencionar o tipo de visitante floral e a efetiva dispersão dos grãos de pólen, podendo aumentar ou diminuir a probabilidade de ocorrer diferenciação entre as populações (WADT, 2001).

Estudos da biologia reprodutiva de *P. cincinnata* mostram que a antese (abertura do botões florais) acontece durante o dia, neste momento, as anteras estão deiscentes e os grãos de pólen ficam acessíveis e viáveis, desta forma, facilitando a visita dos polinizadores, além de haver acúmulo de néctar na base da flor, aumentando a chance da flor ser visitada mais vezes e por animais diferentes (KILL et al. 2010). A maioria das espécies do gênero *Passiflora* são autoincompatíveis e a estrutura fisiológica das flores são diversas, essa característica permite que diferentes polinizadores sejam atraídos, como as abelhas, aves e morcegos (DUARTE, 2009).

Plantas que necessitam de insetos como polinizadores, tendem a possuir baixas taxas de fluxo gênico, devido à dificuldade de locomoção para distâncias maiores, acarretando na pouca diversidade genética e maior estruturação (MORELLATO, 1998; KELLER. 2017). No caso das espécies do gênero *Passiflora*, uma justificativa plausível para a diversidade encontrada nos resultados do PCoA e da AMOVA, seria pelo fato de possuir polinizadores

voadores, como foi dito acima, desta forma, o pólen é levado para plantas mais distantes aumentando o fluxo gênico. Todos esses fatores influenciam na estruturação da espécie.

Trabalhos que visam o estudo dos polinizadores nas espécies de plantas, são fundamentais para compor o conhecimento das espécies, juntamente com os estudos das mesmas em genética, uma vez que, são a partir deles que podemos associar os resultados obtidos através das análises genético molecular. Um exemplo disso, é a pesquisa de Yamamoto et al. 2009, em que avaliaram os tipos de polinizadores do maracujazeiro amarelo (*P. edulis*) no Triângulo Mineiro. Onde os autores observaram que 27 espécies de abelhas, beija – flores, vespas e borboletas fazem parte dos visitantes florais. Tipos de animais como esses, contribuem com a diversidade genética encontrada nas espécies do gênero *Passiflora*, como pode ser visto no presente trabalho. Afinal, são seres que percorrem distâncias polinizando plantas que talvez um inseto não teria tal capacidade.

Além de contribuir trazendo informações sobre espécies comerciais de *Passiflora*, como a espécie citada acima, na qual são altamente comercializadas e difundidas mundialmente, tanto no ramo alimentício, quanto no ornamental e farmacêutico, o atual estudo, por analisar uma alta quantidade de espécies, traz também dados sobre várias espécies silvestres, que possui grande valor ecológico e quem sabe futuramente, comercial. Dentro deste propósito, alguns trabalhos vem sendo desenvolvidos com as espécies silvestres de *Passiflora*. Como exemplo pode-se citar estudos conduzidos por Cerqueira-Silva et al. 2012 que analisaram a variabilidade genética da *Passiflora setacea* e Junqueira et al. 2008, que avaliaram o potencial de resistência a doenças em espécies silvestres do maracujazeiro.

Uma das espécies silvestres que compõe o estudo, mas que tem alto potencial de comercialização, inclusive seu fruto já vem sendo comercializado, é a *Passiflora cincinnata*. Tal espécie faz parte do subgênero *Passiflora*, que se destacou nos resultados dessa pesquisa, tanto na quantidade de marcas geradas quanto na sua diversidade. Do Carmo et al. 2017, avaliaram a diversidade genética de *P. cincinnata* fazendo uso de 12 iniciadores ISSR e detectaram em dois deles altos valores de polimorfismos, corroborando com o presente estudo.

O estudo da diversidade genética de espécies do gênero *Passiflora* contribuem com os bancos de germoplasmas e para a escolha de potenciais acessos para desenvolvimento de cultivares superiores. Os resultados obtidos neste estudo, almeja dar suporte e embasamento para posteriores pesquisas que visam o conhecimento do gênero, além de contribuir com programas de melhoramento das espécies.

Para a criação e conservação de um programa de melhoramento genético do maracujazeiro é necessário a construção de BAGs, onde o maior número possível de acessos de diferentes espécies deve estar presente. Além disso, é importante que haja acessos da mesma espécie de origens diferentes, para que possa garantir a posse da maior diversidade genética possível (FALEIRO, JUNQUEIRA E BRAGA, 2005).

Com esta pesquisa foi possível avaliar a diversidade de algumas espécies de *Passiflora* que fazem parte do BAG “Flor da Paixão” da Embrapa Cerrados. Sobretudo contribuiu com o manejo do banco, uma vez que apontou as espécies mais próximas geneticamente. Contudo esta pesquisa norteará a manutenção das espécies dentro do banco, propondo a redução da quantidade de espécies de maior diversidade, pois, somente assim, reduzirá recursos com mão de obra para a conservação do mesmo.

Se por acaso, desejar o manejo de uma determinada espécie. Para que haja maior precisão nos resultados, fica como sugestão, consultar as tabelas do apêndice. A partir das informações apresentadas neste estudo, facilitará a condução de análises de diversidade genética de outras espécies e cultivares que ainda não foram estudadas.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados apresentados, os 23 marcadores moleculares ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*) foram eficazes na obtenção de marcas polimórficas para os indivíduos de *Passiflora* estudados. Com relação aos resultados obtidos através da inferência Baysiana e valor de delta K, foi visto que os subgêneros e cultivares estão estruturados em pelo menos dois *pools* gênicos e sub-estruturados em 6 *pools* gênicos. As Análises de Coordenadas Principais (PCoA), mostraram que, quando avaliado apenas a presença e ausência de marcas na espécie (primeiro critério), as mesmas tenderam a se agrupar mais no gráfico, porém, quando avaliado cada acesso de todas as espécies e cultivares (segundo critério), os mesmo se dispersaram ainda mais. Os resultados da Análise de Variância Molecular mostrou que quando analisado o primeiro critério há uma porcentagem maior de diversidade entre as populações do que quando foi considerado o segundo critério. Em que a porcentagem de variabilidade dentre as populações nos dois critérios foram altas. Os resultados alcançados com este trabalho podem contribuir para o banco de dados sobre as espécies de *Passiflora*, dessa forma, subsidiando estudos ecológicos e programas de melhoramento genético das espécies.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) e ao programa de pós-graduação em Ciências Ambientais (PPGCA) pela concessão da bolsa de estudo.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, C. M. A. de. **Diversidade genética em populações de *Aechmea fulges Brong.* (Bromeliaceae) na Mata Atlântica de Pernambuco.** Recife: UFRPE. 55p (Tese mestrado). 2006.
- ALMEIDA, L. D. S. Caracterização citogenética e aplicação de marcadores ISSR em diferentes acessos de *Passiflora cincinnata* Mast. In ***Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE)***. In: JORNADA DE INTEGRAÇÃO DA PÓS-GRADUAÇÃO DA EMBRAPA SEMIÁRIDO, 2., 2017, Petrolina. Anais... Petrolina: Embrapa Semiárido, 2017.
- BRASIL. Farmacopeia Brasileira, volume 2 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 546p.
- BORBA, R. DA S.; GARCIA, M. S.; KOVALLESKI, A.; OLIVEIRA, A. C.; ZIMMER, P. D.; BRANCO, J. S. C.; MALONE, G. Dissimilaridade genética de linhagens de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) através de marcadores moleculares ISSR. ***Neotropical Entomology*** 34: 565-569. 2005.
- 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***. 2:1-5., 2014.
- 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., & CORRÊA, R. X. Genetic variation in a wild population of the ‘sleep’ passion fruit (*Passiflora setacea*) based on molecular markers. ***Genetics and molecular research***, 11(1), 731-738. 2012.
- CERVI, A. C. O gênero *Passiflora* (Passifloraceae) no Brasil, espécies descritas após o ano de 1950. ***Adumbrationes ad Summæ Editionem***, 16: 1-5. 2006.
- DA COSTA, A. D. F. S., DA COSTA, A. N., VENTURA, J. A., FANTON, C. J., DE MELO LIMA, I., CAETANO, L. C. S., & DE SANTANA, E. N. (Eds.). ***Recomendações técnicas para o cultivo do maracujazeiro***. Incaper. 2008
- DEGINANI, N.B. Las especies argentinas del género *Passiflora* (Passifloraceae). ***Darwiniana***, 39: 43-129. 2001.

DICE, Lee R. Measures of the amount of ecologic association between species. **Ecology**, v. 26, n. 3, p. 297-302, 1945.

DO CARMO, T. V. B., MARTINS, L. S. S., DOS SANTOS MUSSER, R., DA SILVA, M. M., & SANTOS, J. P. O. DIVERSIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE *Passiflora cincinnata* Mast. BASEADA EM DESCRITORES MORFOAGRONÔMICOS E MARCADORES MOLECULARES. **Revista Caatinga**, 30(1). 2017.

DUARTE, M. O., ALVES, M. F., Silva, L. O., YAMAMOTO, M., BARBOSA, A. A. A., OLIVEIRA, P. E. A. M., & SANO, S. M. Biologia reprodutiva de três espécies de *Passiflora L. Passifloraceae*) em Uberlândia, MG, Brasil. **CEB, São Lourenço**. 2009.

EARL, Dent A. et al. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation genetics resources**, v. 4, n. 2, p. 359-361, 2012.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. **Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: A simulation study**. Mol. Ecol. 14, 2611-2620. 2005.

FALEIRO, F. G.; FALEIRO, A. S. G.; CORDEIRO, M. C. R.; KARIA, C. T. **Metodologia para operacionalizar a extração de DNA de espécies nativas do cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003. (Comunicado Técnico, No.92).

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005.

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

FERREIRA, M.E.; RANGEL, P.H.N. Emprego de espécies silvestres no melhoramento genético vegetal: experiência em outras espécies com análise de retrocruzamento avançado de QTLs (AB-QTL). In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados. pp. 111-140. 2005

JAKOBSSON, M.; ROSENBERG, N.A. CLUMPP: **A cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure**. Bioinformatics, 23, 1801-1806. 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. **Maracujá: Germoplasma e melhoramento genético**, 79-108. 2005.

KAGEYAMA, P. Y., GANDARA, F. B., SOUZA, LMI de. Conseqüências genéticas da fragmentação sobre populações de espécies arbóreas. **Série Técnica IPEF**, v. 12, n. 32, p. 65-70, 1998.

KELLER, W. M. T. **Biologia floral, reprodutiva, polinizadores e viabilidade do pólen de Eugenia myrcianthes Nied**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2017.

KIILL, L. H. P., DE SIQUEIRA, K. M. M., DE ARAÚJO, F. P., TRIGO, S. P. M., FEITOZA, E. D. A., & LEMOS, I. B. BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Passiflora cincinnata* MAST.(PASSIFLORACEAE) NA REGIÃO DE PETROLINA-PE. *Oecologia Australis*, 14(1), 115-127. 2010.

LORENZI, H. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas / Harri Lorenzi, Francisco José de Abreu Matos; computação gráfica Henrique Martins Lauriano. – 2°. Ed. – Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.

LORENZONI, R. M. et al. Utilização de marcadores ISSR na avaliação da divergência genética entre acessos de biribazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 251-257, 2014.

MELETTI, L.M.M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 33 (E): 083-091. 2011.

MELETTI, L.M.M.; SANTOS, R.R.; MINAMI, K. Melhoramento do maracujazeiro-amarelo: Obtenção do ‘Composto IAC-27’. **Scientia Agricola, Piracicaba**, v. 56, p. 491-498, 2000.

MORELLATO, L. P. C. **Fenologia e sazonalidade de recursos para polinizadores e dispersores**. 1998.

NUNES, T.S. **A família Passifloraceae no estado da Bahia, Brasil**. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia. 190 p. . 2002.

OLIVEIRA, G., de OLIVEIRA, E. J., COSTA, J. L., & de JESUS, O. N. Variabilidade molecular em genótipos de passiflora edulis sims. In **Embrapa Mandioca e Fruticultura- Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 6., 2011, Búzios. Panorama atual e perspectivas do melhoramento de plantas no Brasil:[anais]. Búzios: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2011.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. **Bioinformatics** 28, 2537e2539. 2012.

PERRIER, X.; JACQUEMOUD-COLLET, J.P. **DARwin Software**. 2006.

PRITCHARD, Jonathan K.; STEPHENS, Matthew; DONNELLY, Peter. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945-959, 2000.

SAITOU, Naruya; NEI, Masatoshi. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular biology and evolution**, v. 4, n. 4, p. 406-425, 1987.

SANTOS E.S.L. **Diversidade genético-molecular de cacauzeiros descendentes das primeiras introduções ocorridas na Bahia.** Tese [Doutorado em Genética e Biologia Molecular] Universidade Estadual de Campinas. 2014.

TOPPA, E. V. B.; JADOSKI, C. J. O uso de marcadores moleculares no melhoramento genético de plantas. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 12, n. 1, p. 1-5, 2013.

ULMER, T. E MACDOUGAL, J. M. **Passiflora: Passiflowers of the world.** Cambridge, Timber Press. 2004

WADT, LH de O. **Estrutura genética de populações naturais de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) visando seu uso e conservação.** Embrapa Acre-Tese/dissertação (ALICE), 2001.

YAMAMOTO, M. **Polinizadores do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deneger, Passifloraceae) no Triângulo Mineiro: riqueza de espécies, frequência de visitas e a conservação de áreas naturais.** 2009.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O marcador molecular ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*) mostrou-se muito eficiente em gerar marcas polimórficas e na estimativa da estrutura genética, bem como em exibir a diversidade encontrada nas espécies do gênero *Passiflora*. Além disso, os indivíduos estudados estão estruturados em dois pools gênicos e possivelmente sub-estruturados em seis pools.

Os resultados que foram obtidos através das análises dos 23 iniciadores ISSR nas 79 espécies de *Passiflora* e 12 cultivares, podem auxiliar no conhecimento molecular desses indivíduos, onde muitos deles, que por se tratarem de espécies silvestres e não possuem um apelo comercial para ser estudado, ainda não há pesquisas detalhadas na área da genética. Esse estudo pode ser aplicado nos programas de melhoramento e em programas que visam a conservação de alguma espécie de *Passiflora* específica, visto que, o conhecimento da distribuição da diversidade contribui justamente com esses programas. Como indicação para trabalhos futuros, propõe-se o estudo da diversidade intraespecífica de uma espécie de interesse, fazendo uso de marcador molecular co-dominante, possibilitando resultados mais rebuscados.

APÊNDICE

Tabela 1: Espécies do gênero *Passiflora* utilizadas no estudo e seus respectivos subgêneros, código, origens e quantidade de acessos utilizada de cada uma.

	ESPÉCIES	SUBGÊNERO	CÓDIGO	ORIGEM
1	<i>P. cerradensis</i>	<i>Astrophea</i>	CPAC MJ -45-01	Brasília, DF
2	<i>P. cerradensis</i>	<i>Astrophea</i>	CPAC MJ-45-01	Brasília, DF
3	<i>P. haematostigma</i>	<i>Astrophea</i>	CPAC MJ-24-02	Natividade, TO
4	<i>P. haematostigma</i>	<i>Astrophea</i>	CPAC MJ-24-01	Caeté, MG
5	<i>P. chlorina</i>	<i>Astrophea</i>	CPAC MJ-89-01	Caeté, MG
6	<i>P. rhamniiflora</i> Mast	<i>Astrophea</i>	CPAC MJ-52-01	
7	<i>P. sclerophylla</i>	<i>Astrophea</i>	CPAC MJ-96-01	Manaus, AM
8	<i>P. organensis</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ -51-01	
9	<i>P. organensis</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-51-02	
10	<i>P. organensis</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-51-01	Serra dos Órgãos, RJ
11	<i>P. organensis</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-51-01	
12	<i>P. suberosa</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ -35-01	Brasília, DF
13	<i>P. suberosa</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-35-03	
14	<i>P. suberosa</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-35-02	Roraima
15	<i>P. suberosa</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-35-02	Roraima
16	<i>P. capsularis</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-29-01	
17	<i>P. capsularis</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-29-02	Monte Verde, MG
18	<i>P. capsularis</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-29-04	
19	<i>P. ferruginea</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-82-01	Manaus, AM

20	<i>P. ferruginea</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-82-01	Rondônia
21	<i>P. ferruginea</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-82-01	Amazonas
22	<i>P. vespertilio</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-79-01	Manaus, AM
23	<i>P. vespertilio</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-79-01	Manaus, AM
24	<i>P. vespertilio</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-79-01	Manaus, AM
25	<i>P auriculata Kunth</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ -61-01	
26	<i>P auriculata Kunth</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-61-01	
27	<i>P. morifolia Mast</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-48-01	Araponga, MG
28	<i>P. morifolia Mast</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-48-01	Araponga, MG
29	<i>P. porophylla Vell</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-93-01	Caeté, MG
30	<i>P. porophylla Vell</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-93-01	
31	<i>P. rubra L.</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-69-01	Camanducaia, MG
32	<i>P. rubra L.</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-69-01	Camanducaia, MG
33	<i>P. biflora Lam.</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-71-01	Manaus, AM
34	<i>P. cervii</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-84-01	
35	<i>P. micropetala Mart.</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-41-01	Belém, PA
36	<i>P. pohlii Mast</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-38-01	Planaltina, DF
37	<i>P. saxicola Gontsch</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-95-01	
38	<i>P. tricuspis Mast</i>	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-32-01	
39	<i>P. alata</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -02-17	Planaltina, Brasília-DF
40	<i>P. alata</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -02-09	Planaltina, Brasília-DF
41	<i>P. alata</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-02-09	Planaltina, Brasília-DF
42	<i>P. alata</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -02-19	...
43	<i>P. cincinnata</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -26-03 (PL1)	PMGP CPAC
44	<i>P. cincinnata</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -26-03 (PL2)	PMGP CPAC
45	<i>P. cincinnata</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -26-03 (PL3)	PMGP CPAC

46	<i>P. cincinnata</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -26-03 (PL4)	PMGP CPAC
47	<i>P. edulis</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-21-07	Serra da mesa
48	<i>P. edulis</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-21-07	Serra da mesa
49	<i>P. edulis</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-21-07	Serra da mesa
50	<i>P. edulis</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-21-06	Oliveira, MG
51	<i>P. foetida</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-28-05 PL1	Mossoró
52	<i>P. foetida</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-28-05 PL2	Mossoró
53	<i>P. foetida</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-28-05 PL3	Mossoró
54	<i>P. foetida</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-28-05 PL4	Mossoró
55	<i>P. maliformis</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -58-01 P41R3	PMGP CPAC
56	<i>P. maliformis</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -58-01 P1R5	PMGP CPAC
57	<i>P. maliformis</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -58-01 P2R1	PMGP CPAC
58	<i>P. maliformis</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -58-01 P5R2	PMGP CPAC
59	<i>P. nitida</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-M-20- L1P8	CPAC MJ-M-20- L1P8
60	<i>P. nitida</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-M-20- L1P7	CPAC MJ-M-20- L1P7
61	<i>P. nitida</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-M-20- L1P6	CPAC MJ-M-20- L1P6
62	<i>P. nitida</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-M-20- L1P5	CPAC MJ-M-20- L1P5
63	<i>P. quadrangularis</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-07-04 P1	PMGP CPAC
64	<i>P. quadrangularis</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-07-04 P2	PMGP CPAC
65	<i>P. quadrangularis</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-07-04 P3	PMGP CPAC
66	<i>P. quadrangularis</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-07-04 P4	PMGP CPAC
67	<i>P. amethystina</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-13-01	São Paulo
68	<i>P. amethystina</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-13-09	Caeté, MG
69	<i>P. amethystina</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-13-06	Monte Verde, MG
70	<i>P. amethystina</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-13-09	Caeté, MG
71	<i>P. caerulea</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -14-01	

72	<i>P. caerulea</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-14-03	Bento Gonçalves, RS
73	<i>P. caerulea</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-14-03	Bento Gonçalves, RS
74	<i>P. caerulea</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-14-03	Bento Gonçalves, RS
75	<i>P. quadrifaria</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-42-02	Pará
76	<i>P. quadrifaria</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-42-03	Rondônia
77	<i>P. quadrifaria</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-42-01	
78	<i>P. quadrifaria</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-42-01	
79	<i>P. setacea</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-12-04	Redondo miúdo, BA
80	<i>P. setacea</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-12-06	típico, flor branca
81	<i>P. setacea</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-12-06	Manhuaçu, MG
82	<i>P. setacea</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-12-04	mesclado, Tapiramutá, Ba
83	<i>P. tholozanii</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-65-03	Manaus, AM
84	<i>P. tholozanii</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-65-04	Rondônia, Girau
85	<i>P. tholozanii</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-65-01	Marabá, PA
86	<i>P. tholozanii</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-65-01	Marabá, PA
87	<i>P. vitifolia</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -46-01	Poconé, MT
88	<i>P. vitifolia</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -46-01	Poconé, MT
89	<i>P. vitifolia</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-46-02	Poconé, MT
90	<i>P. vitifolia</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-46-01	Poconé, MT
91	<i>P. actinia</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -04-03	
92	<i>P. actinia</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-04-03	
93	<i>P. actinia</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-04-03	
94	<i>P. ambigua</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -49-01	
95	<i>P. ambigua</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -49-01	
96	<i>P. ambigua</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -49-01	
97	<i>P. coccinea</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -08-05	Pontes e Lacerda, MT

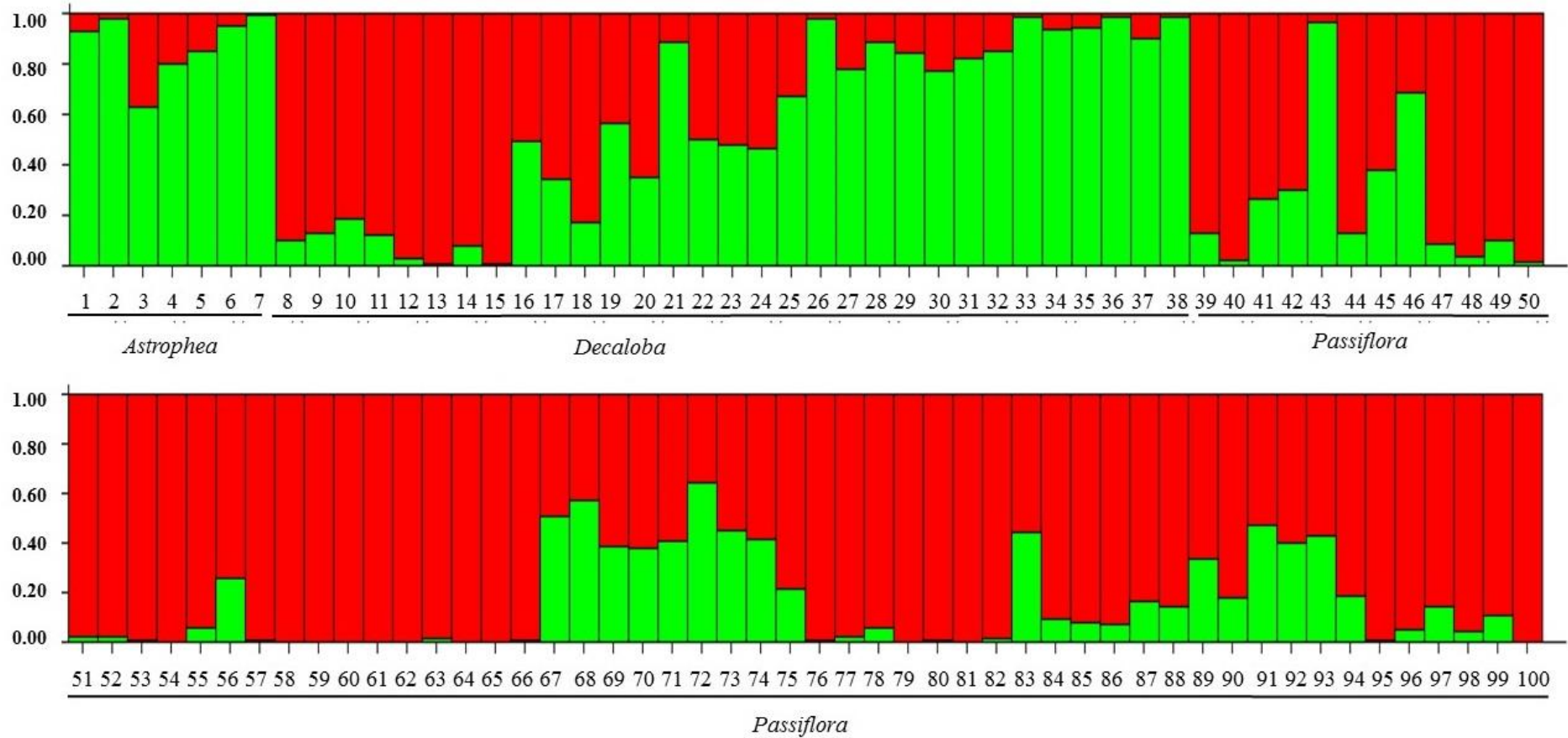
98	<i>P. coccinea</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -08-01	Manaus, AM
99	<i>P. coccinea</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-08-02	Manaus, AM
100	<i>P. hatschbachii</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -50-01	Cardoso Moreira, RJ
101	<i>P. hatschbachii</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-50-01	Cardoso Moreira, RJ
102	<i>P. hatschbachii</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-50-01	Cardoso Moreira, RJ
103	<i>P. malacophylla</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -43-01	
104	<i>P. malacophylla</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-43-02	Cardoso Moreira, RJ
105	<i>P. malacophylla</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-43-02	Cardoso Moreira, RJ
106	<i>P. mucronata</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-10-03	Prado, BA
107	<i>P. mucronata</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-10-05	Campos dos Goytacazes, RJ
108	<i>P. mucronata</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-10-04	Prado, BA
109	<i>P. trintae</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-40-02	
110	<i>P. trintae</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-40-02	Rio Pardo, MG
111	<i>P. trintae</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-40-03	Norte de Minas (cipó candin)
112	<i>P. araujoi Sacco</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-73-01	Manaus, AM
113	<i>P. araujoi Sacco</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-73-01	Serra dos Órgãos, RJ
114	<i>P. bahiensis</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -59-01	Bahia, Brasil
115	<i>P. bahiensis</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-59-01	Bahia, Brasil
116	<i>P. capparidifolia</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-68-01	Cametá, PA
117	<i>P. capparidifolia</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-68-01	Cametá, PA
118	<i>P. galbana Mast</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-06-08	Ponte Nova, MG
119	<i>P. galbana Mast</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-06-03	Ponte Nova, MG
120	<i>P. gardineri Mast</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -39-04	Silvânia, GO
121	<i>P. gardineri Mast</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-39-04	Silvânia, GO
122	<i>P. hypoglauca</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-19-02	Ouro Preto, MG
123	<i>P. hypoglauca</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-19-02	Ouro Preto, MG

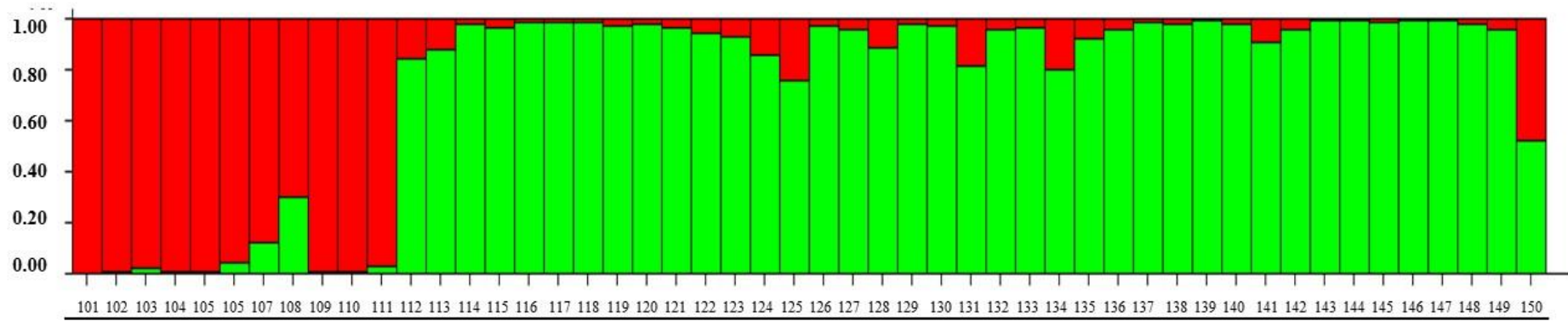
124	<i>P. incarnata</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-31-02	São Paulo
125	<i>P. incarnata</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-31-02	centrafaria
126	<i>P. kermesina</i> Link	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-75-01	(alba) São José do Laranjal, MG
127	<i>P. kermesina</i> Link	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-75-01	(alba) São José do Laranjal, MG
128	<i>P. laurifolia</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -03-02	Distrito Federal
129	<i>P. laurifolia</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-03-01	Picos, PI
130	<i>P. loefgrenii</i> Vitta	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-81-01	Jacinto Machado, SC
131	<i>P. loefgrenii</i> Vitta	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-81-01	Jacinto Machado, SC
132	<i>P. mierssi</i> Mast	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-34-01	Monte Verde, MG
133	<i>P. mierssi</i> Mast	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-34-01	Caeté, MG
134	<i>P. pedata</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-77-01	Manaus, AM
135	<i>P. pedata</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-77-01	Manaus, AM
136	<i>P. recurva</i> Mast	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-80-01	Rio Pardo, MG
137	<i>P. recurva</i> Mast	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-80-01	Rio Pardo, MG
138	<i>P. sidifolia</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -16-02	Espirito Santo
139	<i>P. sidifolia</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-16-01	Espirito Santo
140	<i>P. triloba</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-78-01	Cruzeiro do Sul, Acre
141	<i>P. triloba</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-78-02	Guajaramirim, RO
142	<i>P. villosa</i> vell	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-67-01	Ouro Preto, MG
143	<i>P. villosa</i> vell	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-67-01	São Jorge
144	<i>P. boticarioana</i> Cervi	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-87-01	
145	<i>P. cerasina</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-88-01	Presidente Figueiredo, AM
146	<i>P. edmundoi</i> Sacco	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-90-01	Rio Pardo, MG
147	<i>P. eichleriana</i> Mast	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-23-03	
148	<i>P. elegans</i> Mast	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-72-01	Extrema, MG
149	<i>P. gibertii</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-22-02	Poconé, MT

150	<i>P. glandulosa</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -05-01	Belém, PA
151	<i>P. jilekii wawra</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-91-01	
152	<i>P. junqueirae</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-66-01	Caparaó, MG
153	<i>P. lingularis</i> <i>P. luetzelburgii</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-57-01	
154	Harms	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-74-02	Petrolina, PE
155	<i>P. mendocai</i> Harms <i>P. odontophylla</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-92-01	Monte Verde, MG
156	Harms	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-09-02	
157	<i>P. picturata</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -47-01	
158	<i>P. phoenicea</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-53-01	
159	<i>P. quadriglandulosa</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -62-01	Cáceres, MT
160	<i>P. racemosa</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-76-04	Búzios, RJ
161	<i>P. riparia</i> Mart	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-63-02	Confresa, MT
162	<i>P. setulosa</i> Killip	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-25-01	
163	<i>P. speciosa</i> Gardner	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-20-03	Manhuaçu, MG
164	<i>P. subrotunda</i> Mast	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-17-01	Natal, RN
165	<i>P. tenuifila</i> Killip	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-30-01	
166	<i>P. variolata</i>	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-97-01	Manaus, AM
167	BRS céu do cerrado BRS estrela do cerrado	Variedade	BRS céu do cerrado	<i>P. incarnata</i> X <i>P. edulis</i>
168		Variedade	BRS estrela do cerrado	<i>P. coccinea</i> Aubl X <i>P. setacea</i> DC.
169	BRS gigante amarelo BRS maracujá	Variedade	BRS gigante amarelo BRS maracujá	<i>P. edulis</i> X <i>P. edulis</i>
170	jabuticaba	Variedade	jabuticaba	Seleção de <i>P. edulis</i>
171	BRS mel do cerrado BRS pérola do cerrado	Variedade	BRS mel do cerrado	Seleção de <i>P. alata</i>
172		Variedade	BRS pérola do cerrado	Seleção de <i>P. setacea</i>

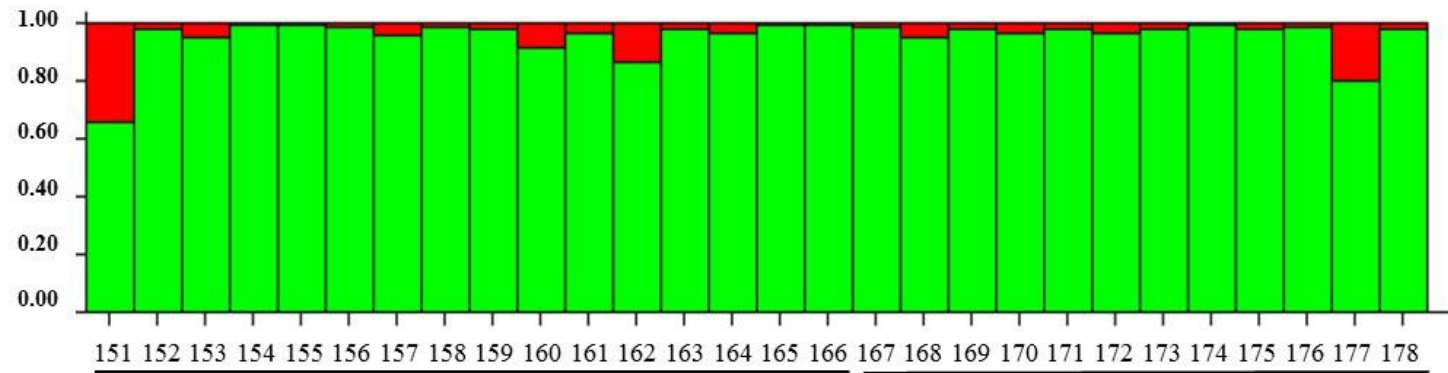
173	BRS rosa púrpura	Variedade	BRS rosa púrpura	<i>P. incarnata</i> X (<i>P. quadrifaria</i> X <i>P. setacea</i>) BRS Estrela do Cerrado com acessos selecionados de <i>P.</i> <i>coccinea</i> e <i>P. setacea</i>
174	BRS roseflora	Variedade	BRS roseflora	<i>P. edulis</i> X <i>P. edulis</i>
175	BRS rubi do cerrado	Variedade	BRS rubi do cerrado	BRS Estrela do Cerrado com acessos selecionados de <i>P.</i> <i>coccinea</i> e <i>P. setacea</i>
176	BRS rubiflora	Variedade	BRS rubiflora	<i>P. edulis</i> X <i>P. edulis</i>
177	BRS sol do cerrado	Variedade	BRS sol do cerrado	Seleção de <i>P. tenuifila</i>
178	BRS vitta	Variedade	BRS vitta	

Figura 1: Histograma descrevendo cada acesso, tendo por base os valores de Delta K2, mostrando a estruturação com dois pools gênicos, separando os três subgêneros e cultivares avaliados no estudo.





Passiflora



Passiflora

Cultivares