



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

**CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA EM ACESSOS DE *Passiflora*  
spp. COM BASE EM MARCADORES MOLECULARES**

Larissa Neres Barbosa de Souza

Itapetinga-Bahia  
Junho, 2018

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

**CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA EM ACESSOS DE *Passiflora*  
spp. COM BASE EM MARCADORES MOLECULARES**

Autora: Larissa Neres Barbosa de Souza  
Orientador: Prof. Dr. Carlos Bernard M. Cerqueira Silva  
Co-orientadora: Profa. Dra. Elisa S. Lisboa dos Santos

**“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 Souza, Larissa Neres Barbosa de.  
S716c Caracterização genética em acessos de *Passiflora* spp. com base em marcadores moleculares. / Larissa Neres Barbosa de Souza. - Itapetinga: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2018.  
103fl.

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 e coorientação de Prof. D. Sc. Elisa S. Lisboa dos Santos.

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

“Não temas, porque eu sou contigo;  
não te assombres, porque eu sou teu  
Deus; eu te fortaleço, e te ajudo, e te  
sustento com a destra da minha  
justiça”.

Isaías 41:10

## AGRADECIMENTOS

Inicialmente agradeço a DEUS pelas graças a mim concedida, me dando força e discernimento para trilhar minha trajetória profissional;

Aos meus pais, Raimundo e Lucineide por me instruírem para a vida, pelo amor, pela educação, pela paciência, por serem meus maiores exemplos, à minha irmã Letícia pela compreensão e aos demais familiares avós e avôs (in memoriam), tios (as) e primos (as);

Ao meu namorado Victor pelo apoio, incentivo, amor e companheirismo;

Ao Professor Calos Bernard pela oportunidade, confiança, orientação e, principalmente, por acreditar na minha capacidade;

Ao Pesquisador Fábio Faleiro e a EMBRAPA CERRADOS (CPAC) por me receber e me instruir durante o estágio e parte da coleta de dados do mestrado. Pela orientanda de Doutorado da UNB, Jamile, pelo auxílio e companheirismo durante as atividades realizadas;

Ao grupo BioGen e ao laboratório LGMA pelo coleguismo durante os experimentos, análises de dados, escrita... Obrigada a todos pelo apoio;

Aos amigos da graduação que seguiram no mestrado junto a mim e, que se tornaram pessoas essenciais na minha vida, Quirlan e Letícia. Aos amigos que o mestrado me deu a honra de conhecer, principalmente a Nátilla, minha companheira de dias inteiros no laboratório, aulas, viagens... E aos demais que tive o prazer de conviver durante esse período de grande aprendizado;

Às funcionárias do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais por estarem sempre dispostas a ajudar, Daniela e Nilza, obrigada;

Ao Programa de pós-graduação e a Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) pela oportunidade de realização do Mestrado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa que contribuiu na realização do mestrado;

A todos, meu sincero, Obrigada!

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
A FAMÍLIA PASSIFLORACEAE .....	3
O GÊNERO <i>Passiflora</i> L.....	4
Os subgêneros de <i>Passiflora</i> .....	4
IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E ECOLÓGICA DO GÊNERO <i>PASSIFLORA</i> .....	7
BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA (BAG).....	9
MARCADORES MOLECULARES .....	12
RGA ( <i>Resistance Gene Analog</i> ) .....	14
REFERÊNCIAS.....	16
CAPÍTULO I.....	23
CARACTERIZAÇÃO E SELEÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES RGAs EM ESPÉCIES DE <i>Passiflora</i> spp.....	23
INTRODUÇÃO.....	24
MATERIAIS E MÉTODOS .....	25
Coleta de DNA e armazenamento das amostras .....	25
Ensaio de amplificação .....	25
RESULTADOS .....	28
DISCUSSÃO.....	31
CONCLUSÃO .....	33
REFERÊNCIAS.....	34
APÊNDICE.....	37
CAPÍTULO II.....	52
CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE ACESSOS COMERCIAIS E SILVESTRES DE <i>Passiflora</i> spp. BASEADO EM MARCADORES RGA .....	52

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>53</b>
<b>MATERIAIS E METODOS .....</b>	<b>54</b>
<b>Coleta de DNA e armazenamento das amostras .....</b>	<b>54</b>
<b>Genotipagem com marcadores moleculares .....</b>	<b>54</b>
<b>Estimativa de diversidade genética.....</b>	<b>56</b>
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>57</b>
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>68</b>
<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>71</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>71</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>75</b>
<b>CONCLUSÃO GERAL .....</b>	<b>86</b>
<b>AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>86</b>

## LISTA DE ABREVIACOES

AFLP – Polimorfismo de tamanho de fragmento amplificado (*Amplified Fragment Length Polymorphism*)

AMOVA – Análise de Variância Molecular

BAG - Banco Ativo de Germoplasma

CPAC - Centro de Pesquisa Agropecuária do Cerrado

CTAB - Cetyl trimethylammonium bromide

DNA- Ácido Desoxirribonucleico

ISSR - (*Inter Simple Sequence Repeats*)

LGMA - Laboratório de Genética Molecular Aplicada

MgCl<sub>2</sub> - Cloreto de magnésio

NJ- Neighbor-Joining

PCR - Reação em Cadeia Polimerase (*Polymerase Chain Reaction*)

PCoA - Análise de Coordenadas Principais (*Principal Coordinates Analysis*)

RAPD - Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

RGA - Genes análogos de resistência (*Resistance for Genes Analogs*)

SSR - Sequências Simples Repetidas (*Simple Sequence Repeats*)

UESB - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

**Figura 1.** Banco Ativo de Germoplasma “Flor da Paixão” da Embrapa Cerrados, localizada no Distrito Federal – DF.....11

**Figura 2.** Esquema cronológico ilustrando os principais marcadores moleculares e sua referência inicial. (A) Início da utilização de marcadores moleculares e sua referência inicial. (B) Início da utilização de marcadores moleculares em estudos com o gênero *Passiflora*, e suas referenciais iniciais.....13

### CAPÍTULO I

**Figura 1.** Perfil de amplificação gerado a partir das combinações de iniciadores RGA utilizadas em espécies do gênero *Passiflora* sendo, A) Bom, B) Razoável e C) Inadequado.....27

### CAPÍTULO II

**Figura 1.** Análise de Coordenadas Principais considerando a distribuição genética dos subgêneros e variedades de forma agrupada. A) Considerando o critério I. B) Considerando o critério II.....59

**Figura 2.** Análise de Coordenadas Principais considerando o critério 1, sendo realizada para 91 acessos de *Passiflora* spp. mediante iniciadores RGA (*Resistance Genes Analog*). As espécies foram enumeradas de acordo ao acesso e identificadas de acordo ao subgênero ao qual pertence, como consta na legenda, esses dados estão presentes na Tabela 6 do apêndice.....60

**Figura 3.** Comparação de Análises de Coordenadas Principais considerando o critério I para os distintos subgêneros e variedades. Sendo, A) *Astrophea*, B) *Decaloba*, C) *Passiflora* e D) Variedades.....62

**Figura 4.** Análise de Coordenadas Principais considerando o critério II, sendo 178 acessos de *Passiflora* spp. mediante iniciadores RGA (*Resistance Genes Analog*). As espécies foram enumeradas de acordo ao acesso e identificadas de acordo ao subgênero ao qual pertencem como consta na legenda, esses dados estão presentes na Tabela 5 e 6 do apêndice.....63

**Figura 5.** Comparação de Análises de Coordenadas Principais considerando o critério II para os distintos subgêneros e variedades. Sendo, A) *Astrophea*, B) *Decaloba*, C) *Passiflora* e D) Variedades.....64

**Figura 6.** Gráfico ilustrando a estrutura genética dentro (within) e entre (among) as populações (subgêneros *Astrophea*, *Decaloba*, *Passiflora* e as variedades) do gênero

*Passiflora*, obtidas a partir da Análise Molecular de Variância (AMOVA). A) Considerando o critério I. B) Considerando o critério II.....65

**Figura 7.** Valores de delta K para o número de *pool gênico* (K) mais provável de grupos nas análises de estrutura e ancestralidade de 178 acessos do gênero *Passiflora*. A) Valores do delta K mais provável. B) Gráfico que corrobora com a análise do delta K.....66

**Figura 8.** Prováveis *pool gênicos* obtidos pelo método descrito por Evanno *et al.* 2006), a partir de iniciadores RGA para espécies do gênero *Passiflora*. A) Estruturação do delta K=2 contendo mix em dois acessos. B) Distribuição do delta K=5 estimado para espécies do gênero *Passiflora*.....66

**Figura 9.** Acessos distribuídos por grupos baseados nos valores do *pool gênico* K=2, representados como K1, K2 e MIX.....67

## LISTA DE TABELAS

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

**Tabela 1.** Classificação do agrupamento das espécies do gênero *Passiflora* L. em quatro subgêneros e informações complementares.....5

**Tabela 2.** Produção nacional de maracujá no Brasil em 2017.....7

### CAPÍTULO I

**Tabela 1.** Descrição das combinações de iniciadores RGA (*Resistance Genes Analog*) utilizadas no estudo e suas respectivas sequências de nucleotídeos.....26

**Tabela 2.** Classificação dos iniciadores de acordo com o percentual de eficiência de cada combinação dos iniciadores RGA (*Resistance Genes Analog*) nas 79 espécies do gênero *Passiflora* oriundos do Banco Ativo de Germoplasma Flor da Paixão-CPAC.....28

**Tabela 3.** Classificação por espécie e variedade, do percentual de eficiência das combinações de iniciadores RGA (*Resistance Genes Analog*).....29

### CAPÍTULO II

**Tabela 1.** Descrição das combinações de iniciadores RGA (*Resistance Genes Analog*) selecionadas previamente para uso no gênero *Passiflora*.....55

**Tabela 2.** Tabela construída a partir do critério I, avaliando a presença ou ausência do loco nas espécies dos subgêneros e variedades, para as 17 combinações de iniciadores RGA (*Resistance Genes Analog*).....57

**Tabela 3.** Tabela construída a partir do critério II, avaliando os marcadores moleculares gerados através das 17 combinações de iniciadores RGA (*Resistance Genes Analog*) nos subgêneros e variedades, assim como o percentual de polimorfismo dos mesmos.....58

**Tabla 4.** Amostragem do *pool gênico* mais provável, inferindo a ancestralidade por indivíduos devidamente alocados nos subgênero e variedade.....67

## TABELA DO APÊNDICE

### CAPÍTULO I

**Tabela 4.** Classificação de 17 combinações de iniciadores RGAs de acordo ao padrão de amplificação (bom, razoável e inadequado) utilizados em 79 espécies e 12 variedades do gênero *Passiflora* spp.....37

**Tabela 5.** Classificação das combinações de iniciadores RGAs considerando o padrão de bom e razoável para potencial uso em espécies do gênero *Passiflora* spp.....44

**Tabla 6.** Espécies do gênero *Passiflora* spp. classificadas quanto ao subgênero, origem e total de acessos utilizados no estudo.....48

### CAPÍTULO II

**Tabela 5.** Classificação das espécies de *Passiflora* quanto ao seu subgênero e origem.....75

**Tabela 6.** Padrão estabelecido para as análises de Coordenas Principais (PCoA).....81

## FIGURA DO APÊNDICE

### CAPÍTULO II

**Figura 10.** Gráfico de barras obtido pela análise Bayesiana, revelando dois *pool gênicos* (K) identificados pela análise (K=2). Os números na horizontal correspondem aos 178 acessos de espécies do gênero *Passiflora*, destacando os subgêneros e variedades.....85

## RESUMO

O gênero *Passiflora* (família *Passifloraceae*) reúne as espécies popularmente conhecidas como maracujazeiros, abrangendo cerca de 525 espécies distribuídas em regiões de clima tropical e subtropical. O Brasil é um dos maiores centros de diversidade do gênero *passiflora* e, se destaca como maior produtor e consumidor de maracujá do mundo. Porém, alguns fatores fitossanitários limitam a expansão da passicultura no país. Tendo em vista o potencial econômico e a importância ecológica das espécies de *Passiflora*, estudos genéticos são necessários para obter informações da diversidade e estrutura genética do gênero. Neste contexto, o conhecimento acerca dessas informações contribui para a elaboração de alternativas que visam contribuir em programas de melhoramento e conservação de maracujazeiros. De acordo com o exposto, objetivou-se com esse trabalho caracterizar e selecionar 17 combinações de iniciadores RGA (*Resistance Gene Analogs*) (Capítulo I), bem como estimar a diversidade e estrutura genética em acessos do gênero *Passiflora*, totalizando 79 espécies e 12 variedades (Capítulo II). Todas estas 17 combinações amplificaram e se mostraram adequadas para estudos intra e interespecíficos. As estimativas de diversidade e estrutura genética foram analisadas considerando dois critérios, sendo que no critério I avaliou-se a presença ou ausência do loco na imagem do gel, sem considerar o número de locos gerados por cada combinação de iniciadores, enquanto no critério II foi avaliada a presença ou ausência do loco na imagem do gel, porém considerando o número de locos gerados por cada combinação de iniciadores. De acordo com os resultados do critério I, foi possível constatar sete combinações de iniciadores RGA com números relevantes da presença de locos. Com base no critério II, verificou-se que as combinações de iniciadores RGA obtiveram 100% de marcadores moleculares polimórficos. A análise Bayesiana indicou como mais provável a estruturação em dois pools gênicos  $k=2$  e  $k=5$  (score Delta  $k \sim 550$  e  $k \sim 50$ , respectivamente). Na análise molecular de variância (AMOVA) foi possível verificar para o critério I e II maior diversidade dentro os subgêneros e variedades avaliados, o que indica baixa estruturação genética entre eles. Para além, as análises de coordenadas principais (PCoA), mostraram ampla distribuição dos acessos avaliados também nos dois critérios, indicando, assim como os dados da AMOVA, baixa estruturação. Tendo em vista o exposto, os iniciadores do tipo RGA apresentam dados polimórficos, informativos e eficientes, podendo ser utilizados para uma gama de estudos genéticos com espécies de *Passiflora*.

**Palavras-chave:** diversidade genética, maracujazeiros, RGA

## ABSTRACT

The genus *Passiflora* (family Passifloraceae) includes the species popularly known as passion fruit, sheltering about 525 species distributed in regions of tropical and subtropical climate. Brazil is one of the greatest centers of diversity of the *passiflora* genus and stands out as the largest producer and consumer of passion fruit. However, some phytosanitary factors limit expansion of pastoralism in the country. Considering the economic potential and ecological importance of the *Passiflora* species, genetic studies are necessary to obtain information about on diversity and genetic structure of the genus. In this context, the knowledge about this information contributes to the elaboration of alternatives that aim to contribute in programs of improvement and conservation of passion fruit trees. According to the above, this work aimed to characterize and select 17 combinations of RGA (*Resistance Gene Analogs*) primers (Chapter I), as well as to estimate the diversity and genetic structure in accessions of the genus *Passiflora*, totaling 79 species and 12 variedades (Chapter II). All these 17 combinations amplified and proved adequate for intra and interspecific studies. Estimates of diversity and genetic structure were analyzed considering two criteria, and in criterion I the presence or absence of the locus in the gel image was evaluated, without considering the number of loci generated by each combination of primers, while in criterion II evaluated the presence or absence of the locus in the gel image, however considering the number of loci generated by each combination of primers. According to the results of criterion I, was possible to verify seven combinations of RGA primers with relevant numbers of the presence of locos. Based on criterion II, it was found that combinations of RGA primers obtained 100% polymorphic molecular markers. Bayesian analysis indicated as most likely the structuring in two gene pools  $k = 2$  and  $k = 5$  (Delta  $k \sim 550$  and  $k \sim 50$ , respectively). Molecular analysis of variance (AMOVA) it was possible to verify for criterion I and II greater diversity among the subgenres and varieties evaluated, indicating low genetic structuring between them. In addition, the main coordinate analyzes (PCoA), showed a broad distribution of the accesses evaluated in both criteria, indicating, as well as the AMOVA data, low structuring. In view of the above, primers of the RGA type present polymorphic, informative and efficient data, and can be used for a range of genetic studies with *Passiflora* species.

**Key words:** genetic diversity, passion fruit, RGA

## INTRODUÇÃO GERAL

O gênero *Passiflora* reúne as espécies popularmente conhecidas como maracujazeiros. Sendo este o gênero mais abundante da família (PAIVA, 2013; BERNACCI *et al.*, 2003; ZAMBERLAN, 2007). Nesse gênero comporta-se cerca de 525 espécies distribuídas em regiões de clima tropical e subtropical das Américas e África. Onde o Brasil é considerado um dos maiores centros dessa diversidade, com aproximadamente 150 espécies nativas. Dentro deste contingente, 29 espécies ocorrem no estado da Bahia (CERVI; IMIG, 2013, ZAMBERLAN, 2007; FERREIRA, 2005; BERNACCI *et al.*, 2016; NUNES, 2002).

As espécies do gênero *Passiflora* se destacam no cenário econômico por sua ampla utilização, sendo estas, empregadas para fins alimentícios, ornamentais e medicinais (SOUZA E MELETTI, 1997). Devido ao grande número de espécies nativas, o Brasil é o maior produtor e consumidor de maracujá no mundo (BELLON *et al.*, 2000). A espécie chave para o *ranking* mundial de exportação é a espécie *Passiflora edulis* Sims (maracujá amarelo), a qual é a responsável majoritária pela cultura de maracujá no Brasil (BORGES *et al.*, 2005). Com 824 toneladas produzida em 2017 (AGRINUAL, 2017). Na região Nordeste a Bahia foi responsável por 60,92% da produção brasileira (IBGE, 2017). Porém, existem alguns fatores limitantes para expansão da passicultura no país, a exemplo, os problemas fitossanitários bem como as diversas doenças que acometem o maracujazeiro (JUNQUEIRA *et al.*, 2005).

A diversidade nativa de *Passiflora* se destaca devido sua importância ecológica. Assim, as espécies silvestres tornam-se ferramentas indispensáveis para o melhoramento genético de espécies de interesse, visto que, estas apresentam fonte de resistência em seus genes (BERNACCI *et al.*, 2005). A diversidade genética em espécies de *Passiflora* vem sendo perdida em função das modificações ambientais que levam ao declínio das populações, causando assim, a erosão genética (FERREIRA, 2005; MELETTI *et al.*, 2005; JUNQUEIRA *et al.*, 2005).

As alternativas para a conservação e caracterização de espécies do gênero *Passiflora* são necessárias. Ações de conservação dos recursos genéticos podem ser implementadas pelo estabelecimento de Bancos Ativos de Germoplasma que tem como intuito a conservação do material genético de diversos organismos por meio da conservação *ex situ*, contribuindo para manutenção da variabilidade genética de espécies de interesse e com programas de melhoramento genético (SOUSA, 2014; VEIGA, 2008).

Diante do potencial econômico e importância ecológica das espécies de *Passiflora*, existem poucos estudos sobre caracterização da variabilidade genética de grande parte das espécies de maracujazeiro silvestre pois, apenas as espécies com espaço consolidado no mercado são amplamente estudadas. Nesse contexto, há a necessidade de fornecer novas informações sobre estrutura e diversidade genética das *passifloras*. Assim, estudos estão sendo realizados mediante diferentes marcadores moleculares (BARBOSA, 2016).

Os marcadores moleculares são ferramentas importantes para avaliar, identificar e caracterizar os recursos genéticos, a exemplo dos marcadores baseados em PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) como os marcadores RGA (*Resistance Gene Analogs*). Esses marcadores são amplamente utilizados, por não necessitar de informações prévias sobre o genoma das espécies e possuem, maior reprodutibilidade em relação aos demais marcadores dominantes devido ao tamanho dos seus iniciadores o que torna a técnica automatizada e de fácil execução (BORÉM e CAIXETA, 2009).

Contudo, objetivou-se caracterizar e selecionar marcadores moleculares tipo RGAs (*Resistance Genes Analogs*), para estimar a diversidade e estrutura genética de espécies do gênero *Passiflora*, a fim de contribuir com futuras ações de conservação e melhoramento genético.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### A FAMÍLIA PASSIFLORACEAE

A família Passifloraceae pertence à ordem Malpighiales (APG III, 2009) possui vasta distribuição, compreendendo desde regiões de clima tropical e subtropical temperado quente das Américas e África (ZAMBERLAN, 2007). Estima-se que a família está distribuída em 18 gêneros e 630 espécies (MILWARD DE AZEVEDO E BAUMGRATZ, 2004). Contudo, estimativas do número de espécies devem ser continuamente revistas, devido à constante descoberta e descrição de novas espécies (WETZEL *et al.*, 2011).

O grupo ao qual a família Passifloraceae pertence, é considerado monofilético de acordo com estudos filogenéticos (APG II 2003; MUSCHNER *et al.*, 2003; JUDD *et al.*, 2009). Para tanto, a classificação como monofiletica é dada pela presença da corona nas flores. Tal característica morfológica é muito importante na descrição de novas espécies (JUDD *et al.*, 1999).

As plantas da família Passifloraceae são trepadeiras herbáceas ou lenhosas, com gavinhas axilares, ou subarbustos a árvores pequenas. São hermafroditas, dióicas ou andromonóicas; e seus ramos são cilíndricos, raramente angulados ou achatados (BERNACCI *et al.*, 2003; JUDD *et al.*, 2009; ZAMBERLAN, 2007; SOUSA, 2014). As folhas possuem tamanho e formas variadas, podendo ser alternadas, simples ou compostas, inteiras ou lobadas (BERNACCI *et al.*, 2003; JUDD *et al.*, 2009).

Possuem nectários no pecíolo, na lâmina da folha ou nas estípulas. As inflorescências são axilares cimosas ou racemosas, ou ainda, reduzidas a 1-2 flores por nó. As flores são completas, radiais, solitárias, axilares, pedunculadas e diclamídeas. O cálice e a corola são pentâmeros e podem apresentar cinco estames, arranjados em um pedúnculo unido ao gineceu, formando assim, o androginóforo, além disso, exibem grande variação morfológica, assim como, na coloração, variando nas cores brancas, verdes, azuis ou purpúreas (KLUGE, 1998; JUDD *et al.*, 2009).

Na reprodução apresentam diversos mecanismos que evitam a autofecundação, um exemplo, é o sistema de autocompatibilidade (PAIVA, 2013). O sistema de polinização adotado por estas plantas é majoritariamente realizado por abelhas (KLUGE, 1998; JUDD *et al.*, 2009).

## O GÊNERO *Passiflora* L.

O gênero *Passiflora* foi descrito por Linnaeu, em 1735 (VANDERPLANK, 2000) e, reúne as espécies popularmente conhecidas como maracujás (PAIVA, 2013). Os maracujazeiros são oriundos da América do Sul e tem no Centro-Norte do Brasil o seu maior centro de distribuição geográfica (LOPES, 1991).

O gênero *Passiflora* L. destaca-se na família Passifloraceae como o mais abundante em número de espécies, constituído por cerca de 525 espécies (CERVI; IMIG, 2013) distribuídas em 22 subgêneros (VANDERPLANK, 2000), restritas em menor número na Índia, China, Sudeste Asiático, Austrália, Ilhas da Oceania, Estados Unidos, Chile e Argentina. O Brasil e a Colômbia são os países detentores do maior número de espécies, com aproximadamente 150 e 170 espécies, respectivamente (BERNACCI *et al.*, 2003). No Estado da Bahia foram registradas 29 espécies do gênero (NUNES, 2002).

O gênero apresenta grande variação morfológica, podendo apresentar-se como trepadeiras herbáceas ou arbustivas e, geralmente com caule lenhoso cilíndrico ou quadrangular, suberificado, anguloso, ramificado, glabro ou piloso (VANDERPLANK, 2000). As espécies do gênero *Passiflora* possuem folhas diversificadas quanto a sua forma, podendo ser alternadas, simples ou compostas, inteiras ou lobadas e de forma variável (PÁDUA, 2001; FEUILLET E MACDOUGAL, 2007). As flores são caracterizadas por possuírem cinco sépalas, geralmente verdes nas bordas e cor intensa na porção central, e também, cinco pétalas membranáceas que aparecem na margem do tubo do cálice, as quais se alternam com as sépalas (VANDERPLANK, 2000; ULMER E MACDOUGAL, 2004; CERVI, 2006). Com relação aos frutos, são compostas de endocarpo ou polpa, sementes e casca, sendo esta composta por flavedo ou epicarpo, parte colorida; e albedo ou mesocarpo, parte esbranquiçada (REOLON, 2008; MONTEIRO *et al.*, 2010).

### Os subgêneros de *Passiflora*

Estudos de diversos autores corroboraram para conceber informações mais robustas com relação à organização sistemática das espécies de *Passiflora* desde a descrição taxonômica a avaliações filogenéticas e moleculares. O início da organização sistemática da família Passifloraceae foi proposto no estudo de KILLIP (1938) nomeado “The American Species of

Passifloraceae”, onde foi sugerida a subdivisão do gênero *Passiflora* em 22 subgêneros. Para além, foi adicionado outro subgênero na classificação proposta do KILLIP (1938) (ESCOBAR, 1989).

Em contrapartida MACDOUGAL E FEUILLET (2004), propuseram outra organização, baseada na taxonomia, ou seja, as características morfológicas, avaliando principalmente a estrutura floral, assim, agrupando as espécies em quatro subgêneros (Tabela 1): *Astrophea* (DC.), Mast., *Deidamioides* (Harms) Killip, *Decaloba* (DC.) Rchb. e *Passiflora* L.

**Tabela 1.** Classificação do agrupamento das espécies do gênero *Passiflora* L. em quatro subgêneros e informações complementares

	<b>Total de espécies</b>	<b>Distribuição geográfica</b>	<b>Características morfológicas</b>
<b>Subgênero <i>Passiflora</i> L.</b>	240	Sudoeste dos Estados Unidos, America do sul e America central	São lianas e herbáceas; flores grandes e coloridas; folhas são 3- 7 lobadas, com vegetação pinada ou palmada, 3- 5 nervuras principais. É o grupo que possui maior diferença morfológica das espículas, que podem ser inconspícuas, reniformes expandidas como folhas, ou segmentadas. Possui entre 2- 6 nectários peciolares, e quando presentes na lâmina foliar localizam-se nas margens, especialmente, entre os lobos das folhas trilobadas
<b>Subgênero <i>Decaloba</i></b>	214	Oceania e sudeste da Ásia	Caracterizam-se em trepadeiras herbáceas, plantas glabras e pubescentes, folhas geralmente 3-lobadas, raramente inteiras ou 5-lobadas, glândulas peciolares presentes, lâmina foliar com ocelo próximo a nervura principal, pedúnculos 1 a 20 flores, flores nascidas sobre uma gavinha, amarelo-esverdeadas,

			brancas ou avermelhadas, corona em 1-3 séries de filamentos, opérculo plicado, estiletos delgados, frutos pequenos, púrpureos ou negros, algumas vezes deiscentes, sementes reticuladas ou transversalmente sulcadas
<b>Subgênero <i>Astrophea</i></b>	57	América do Sul e América Central	São lianas lenhosas, folhas inteiras, duas glândulas peciolares próximo ao ápice do pecíolo, sésseis ou em forma de cicatriz, pedúnculos com 1-5- flores, brácteas pequenas, flores rosa a púrpuras, vermelhas a alaranjadas, corona amarela com um tubo floral proeminente, opérculo ereto ou expandido, não plicado, os frutos são usualmente amarelos, esverdeados com manchas avermelhadas
<b>Subgênero <i>Deidamiodes</i></b>	13	América do Sul e América Central, entre o México e a região sudoeste do Brasil, em áreas de mata atlântica	Apresentam estípulas delgadas, glândulas peciolares próximas à junção da lâmina foliar, folhas inteiras a 3-9- folioladas, com margem inteira, brácteas pequenas, pedúnculo terminando em uma gavinha, uma flor com articulação próxima ou bem abaixo da base da flor. As plantas jovens apresentam discos adesivos nas gavinhas, permitindo o hábito trepador das mesmas em florestas, facilitando o alcance do dossel das matas

\*Referências: KILLIP 1938; CERVI, 1997; ULMER E MACDOUGAL 2004; FEUILLET E MACDOUGAL 2003.

## IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E ECOLÓGICA DO GÊNERO *PASSIFLORA*

O gênero *Passiflora* apresenta grande importância econômica e social no Brasil, que por sua vez, se destaca como maior produtor e consumidor mundial de maracujá (GONÇALVES E SOUZA, 2006), tendo produzido em 2017 aproximadamente, 824 mil toneladas, em uma área colhida de 57 mil hectares (AGRIANUAL, 2017). A maior parte da produção nacional concentra-se na região Nordeste, sendo que em 2017, a região foi responsável por 337,881t da produção brasileira (Tabela 2) (IBGE, 2017). O Brasil destaque-se na produção mundial de maracujá devido também, às condições edafoclimáticas adequadas das regiões tropicais e subtropicais, que propiciam o cultivo do maracujazeiro (COSTA, 2008.)

**Tabela 2.** Produção nacional de maracujá no Brasil em 2017

<b>Região</b>	<b>Área colhida (ha)</b>	<b>Quantidade produzida (t)</b>	<b>Rendimento médio (t/ha)</b>
<b>Norte</b>	3,673	47,291	12,875
<b>Nordeste</b>	27,868	337,881	12,124
<b>Sudoeste</b>	5,025	81,480	16,215
<b>Sul</b>	3,643	72,029	19,777
<b>Centro-Oeste</b>	882	15,917	18,046
<b>Brasil</b>	41,090	554,598	13,497

**Fonte:** IBGE – Produção Agrícola Municipal, 2017.

As espécies de maracujazeiro possuem utilização diversificada na agricultura e horticultura, sendo empregada amplamente para fins alimentares, medicinais e ornamentais (SOUZA E MELETTI, 1997), sobretudo, no setor de fruticultura, devido à sua alta produtividade e aceitação no mercado, produzindo frutos que podem ser empregados como alimento *in natura* e processados pela indústria alimentícia (COSTA; TUPINAMBÁ, 2005). As espécies de *Passiflora* são utilizadas não somente na indústria alimentícia, mas também, são amplamente utilizadas para fins medicinais, sendo usadas, as folhas, flores, raízes e frutos para a produção de fármacos (COSTA; TUPINAMBÁ, 2005) e, são também amplamente utilizadas para fins ornamentais, visto que, as espécies do gênero se destacam com flores vistosas (BERNACCI *et al.*, 2003).

Dentre as espécies comerciais, o maracujá amarelo ou maracujá azedo (*Passiflora edulis*) é a espécie mais utilizada na indústria, sendo considerado de maior importância na família *Passifloraceae* do ponto de vista econômico (BERNACCI *et al.*, 2003). Devido ao potencial agrônomo as espécies mais cultivadas são, *P. edulis* (maracujá-azedo) e *P. alata* (maracujá-doce) (MELETTI *et al.*, 2005). De acordo BERNACCI *et al.* (2003) 95% dos pomares brasileiros é de cultivo da espécie *P. edulis*. Para tanto, espécies como, *P. quadrangularis*, *P. nítida*, *P. caerulea*, *P. laurifolia*, *P. cincinnata* e *P. setacea* também são cultivadas, entretanto, o cultivo é restrito apenas em algumas regiões do país (MELETTI *et al.*, 2005). Em virtude disso, as espécies silvestres têm menor participação no mercado econômico (SOARES, 2016).

Entretanto, o Brasil possui grande número de espécies da família *Passifloraceae*, despertando o interesse da diversidade nativa. Dessa forma, somado ao interesse econômico, a diversidade das espécies nativas ganham evidência devido sua importância ecológica. Uma vez que, os maracujazeiros estão sujeitos ao acometimento de pragas e patógenos, as espécies silvestres tornam-se um recurso importante, devido a estas, apresentarem fonte de resistência diferenciada a esses organismos que atacam os maracujazeiros (BERNACCI *et al.*, 2005).

A conservação das espécies nativas em seu ambiente natural é muito importante para a manutenção e aumento da produtividade das espécies comerciais cultivadas. A viabilidade econômica se dá a partir do melhoramento genético dos genes produtivos sob cultivo com os genes de resistência à doenças expressos em populações naturais (JUNQUEIRA *et al.* 2007). Dentro desse cenário pode-se citar as espécies silvestres *P. laurifolia*, *P. nitida*, *P. tenuifolia*, *P. mucronata*, *P. giberti*, *P. amethystina*, *P. quadrangularis*, *P. setacea*, *P. coccinea*, *P. caerulea*, as quais apresentaram em estudos preliminares, variabilidade genética suficiente para resistência das principais doenças do maracujazeiro (CUNHA *et al.*, 2002, SANTOS FILHO E JUNQUEIRA, 2003).

Os problemas fitossanitários como, as doenças e pragas que acometem a cultura do maracujazeiro estão entre os fatores que mais ameaçam a expansão e a própria manutenção da produção de maracujá, sendo as principais doenças: o endurecimento dos frutos (*Cowpea aphid-borne mosaic virus - CABMV*), a bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*), a murcha de *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f.sp. *passiflorae*), antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*), septoriose (*Septoria passiflorae*) e a verrugose (*Cladosporium* spp) (JUNQUEIRA *et al.*, 2005).

Acessos resistentes a doenças, como, antracnose, bacteriose, virose do endurecimento dos frutos e fusariose foram, dentre outros, identificados em várias espécies

silvestres de *Passiflora*. Essa diversidade disponibiliza grande potencial de genes de interesse para programas de melhoramento genético do maracujazeiro. Dentre as características a serem exploradas, destaca-se, a busca por resistência a doenças e a algumas pragas, bem como outras características interessantes, como: longevidade, período de florescimento ampliado, maior adaptação a condições climáticas adversas, maior concentração de componentes químicos interessantes para a indústria farmacêutica e outras potencialidades (JUNQUEIRA *et al.*, 2005; BELLON *et al.*, 2007; MELETTI *et al.*, 2005).

Estudos agronômicos em espécies silvestres mantidas em germoplasma mostraram potencial de espécies, como, *P. actinia*, *P. setacea*, *P. coccinea* para resistência a virose do endurecimento do fruto; outras espécies, como, *P. odontophylla*, *P. gibertii*, *P. carulea*, *P. serrato-digitata*, *P. actinea*, *P. mucronata* e alguns acessos de *P. edulis* e *P. nitida* para resistência a bacteriose, e das espécies *P. serrato-digitata*, *P. gibertii*, *P. coccinea*, *P. actinia*, *P. setacea*, *p. nitida*, *P. caerulea* e alguns de *P. edulis* com resistência a antracnose. Essas avaliações favoreceram o uso das espécies silvestres com características relevantes (resistências a doenças), podendo ser introduzidas no maracujazeiro comercial (FALEIRO *et al.*, 2012).

Foram avaliados e observados em estudos resultados promissores na hibridação intra e interespecífica (VANDERPLANK, 2000). BORGES *et al.*, (2003) constatou que em trabalho semelhante, obteve-se índices adequados de cruzamento entre espécies comerciais e algumas espécies silvestres como, *P. setacea*, *P. coccinea* e *P. caerulea*, espécies que apresentam resistência a várias doenças que afetam o desenvolvimento das espécies comerciais.

## **BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA (BAG)**

Os Bancos Ativos de Germoplasma são unidades conservadoras de material genético de uso imediato e com potencial para uso futuro, além disso, a conservação pode ser *in situ* (quando mantido no seu habitat natural) ou *ex situ* (quando mantido fora do seu habitat natural) e, têm por finalidade o manejo da variabilidade genética de espécies de interesse para corroborar com pesquisa em geral, sobretudo, para o melhoramento genético (SOUSA, 2014; VEIGA, 2008).

A caracterização das espécies e dos acessos pode ser morfológica, agronômica, molecular ou físico-química (SOUSA, 2014). As técnicas baseadas em análises moleculares se destacam, pois permite acessar a diversidade genética diretamente ao nível de DNA, sem a

interferência das influências ambientais ou do estágio de desenvolvimento, o que corrobora com estudos mais robustos para a comunidade científica (LACERDA *et al.* 2002; RABBANI *et al.* 1998).

As constantes modificações dos biomas decorrentes de ações antrópicas acarretam danos, muitas vezes, irreparáveis. Diversas espécies de vegetais são dizimadas sem ao menos obter-se conhecimento sobre tais, causando assim, declínio nas populações devido à erosão genética. A diversidade genética existente nas espécies de *Passiflora* vem sendo perdida (FERREIRA, 2005; MELETTI *et al.*, 2005; JUNQUEIRA *et al.*, 2005). Uma alternativa que contribui para a conservação de espécies de *Passiflora* silvestre está associada a ações de pré-melhoramento da passicultura, bem como, potenciais ações de conservação da diversidade genética, assim, a caracterização de genótipos, construção e manutenção de Bancos Ativos de Germoplasma (BAG) são essenciais (CERQUEIRA SILVA, 2009).

O Brasil é considerado centro de diversidade do gênero *Passiflora*, possuindo ampla distribuição em banco de germoplasma que, servem como subsídio para programas de conservação e melhoramento genético. Os programas de melhoramento buscam obter variedades resistentes a doenças e pragas. Essas características são incorporadas por meio da utilização de genes de resistência em variedades de importância econômica. Assim, após a hibridação interespecífica, obtêm-se variedades aperfeiçoados, tornando-se resistentes a um determinado patógeno que acometem os maracujazeiros. Com base nessas modificações genéticas, é possível diminuir o uso de defensivos agrícolas (MELETTI, 2011; CROCHEMORE *et al.* 2003; MELETTI *et al.* 2005; MEDEIROS *et al.* 2009).

O Banco Ativo de Germoplasma “Flor da Paixão”, administrado pela EMBRAPA Cerrados é, dentre outros, um exemplo de conservação dos recursos genéticos das espécies de *Passiflora* e contribui para a redução da erosão genética. Além disso, o BAG tem por finalidade auxiliar no melhoramento genético do maracujazeiro *P. edulis* (azedo) e *P. alata* (doce), assim, ampliando a base genética e, subsidiando na diversificação da produção de *Passifloras* ornamentais, funcionais e medicinais. Contribuindo na valoração do germoplasma e no conhecimento da rica biodiversidade brasileira de acessos silvestres (FALEIRO, 2007).



**Figura 1.** Banco Ativo de Germoplasma “Flor da Paixão” da Embrapa Cerrados, localizada no Distrito Federal – DF. Fonte: Acervo próprio.

Além do BAG da Embrapa Cerrados - DF, essas atividades são desenvolvidas também pela Embrapa Mandioca e Fruticultura localizada em Cruz das Almas - BA. Essas unidades realizam coleta, conservação, intercâmbio, documentação, caracterização e avaliação de germoplasma de áreas representativas dos diversos agrossistemas dentro de sua abrangência estadual, que, em conjunto, formam a principal coleção ativa do país. O BAG da Embrapa Mandioca e Fruticultura é constituído por 478 acessos do gênero *Passiflora*, em sua maioria, espécies de interesse imediato com potencial para o melhoramento genético do maracujazeiro (JESUS *et al.*, 2014)

A Universidade Estadual Santa Cruz (UESC) possui em sua unidade um Banco Ativo de Germoplasma, onde são desenvolvidas e realizadas pesquisas genético moleculares com o gênero *Passiflora* (SOUSA, 2014; PEREIRA, 2012; ABREU *et al.*, 2009). As unidades, referidas são exemplos de alguns centros de pesquisa que possuem BAG de *Passiflora*, porém existem no Brasil aproximadamente 67 espécies de *passifloras* distribuídas e mantidas em diferentes BAGs, a exemplo: CNPMF, UNESP, IAPAR, IAC, ESALQ, UENF, UFRRJ (FERREIRA, 2005).

## MARCADORES MOLECULARES

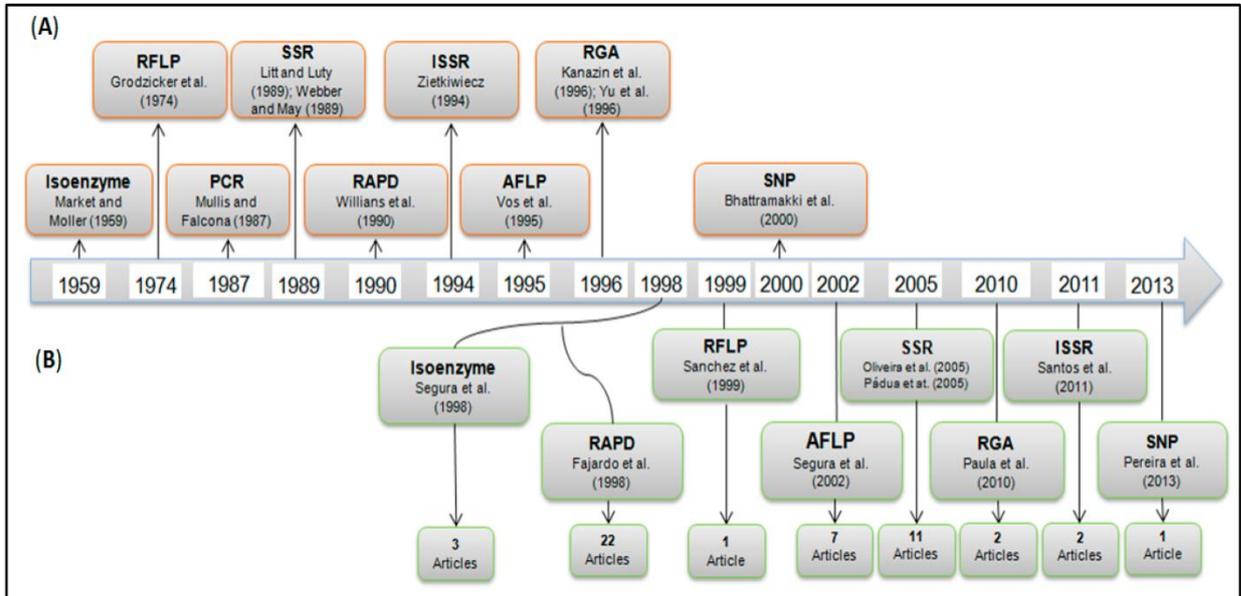
Os marcadores moleculares são ferramentas que permitem acessar o DNA e, assim, determinar as diferenças e semelhanças entre indivíduos geneticamente relacionados (BORÉM E MIRANDA, 2005). Essas informações genéticas podem ser obtidas através de várias técnicas moleculares. Os marcadores moleculares fornecem informações com relação à identidade genética, a diversidade, a frequência gênica e os relacionamentos filogenéticos dos recursos genéticos de determinado germoplasma. Essas informações moleculares, ou seja, informações do genótipo, quando associadas a outras, como, informações fenotípicas, podem se complementar, oferecendo subsídio para aumentar a eficiência dos processos desde a coleta e seus procedimentos, passado pelo planejamento de cruzamentos e, até a seleção de genótipos com características desejadas em programas de melhoramento (FALEIRO, 2007).

As técnicas moleculares possuem grande importância nos estudos genéticos de plantas, no melhoramento e na conservação das espécies. Assim, devido à diversidade do gênero *Passiflora* e a importância econômica e ecológica, diversos estudos estão sendo realizados na caracterização genética no gênero *Passiflora*, mediante diferentes marcadores moleculares (BARBOSA, 2016).

Dentre os marcadores baseados em PCR (*Poymerase Chain Reactions*) os mais utilizados são: marcadores dominantes (*Random Amplified Polymorphic DNA - RAPD*, *Inter Simple Sequence Repeat - ISSR*, *Resistance Genes Analogs - RGA*, *Amplified Fragment Length Polymorphism - AFLP*), quanto marcadores co-dominantes (*Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP*, *Simple Sequence Repeats - SSR*, *single nucleotide polymorphism - SNP*). (MACIEL, 2014). Podem ser definidos como, marcadores dominantes (sem distinção de homozigoto e heterozigoto) e/ou co-dominante (possibilidade de distinção entre homozigoto e heterozigoto) (FERREIRA E GRATTAPAGLIA, 1998; FALEIRO, 2007).

Para o gênero *Passiflora*, o primeiro registro de estudos mediante ao uso de marcadores moleculares para investigar diversidade genética, foi realizado por FAREJADO et al., (1998) com o marcador RAPD. No decorrer da história cronológica dos marcadores moleculares em estudos do gênero *Passiflora*, os marcadores mais recentes, são os, RGAs, ISSR e os SNPs, sendo sua utilização iniciada há 8, 7 e 5 anos, respectivamente (PAULA et al., 2010; SANTOS et al., 2011; PEREIRA et al., 2011). Um

esquema geral da cronologia evolutiva da história dos marcadores moleculares está apresentado na figura 2 (CERQUEIRA-SILVA et al., 2014).



**Figura 2.** Esquema cronológico ilustrando os principais marcadores moleculares e sua referência inicial. (A) Início da utilização de marcadores moleculares e sua referência inicial. (B) Início da utilização de marcadores moleculares em estudos com o gênero *Passiflora*, e suas referenciais iniciais. Fonte: CERQUEIRA-SILVA et al., 2014.

Os marcadores moleculares ISSR (*Inter Single Sequence Repeat*) são caracterizados por se tratar de uma técnica simples, rápida e eficiente. Passaram a ser utilizados para substituir os marcadores RAPD (ZIETKIEWICZ *et al.*, 1994). Além disso, são marcadores dominantes, e possuem maior confiabilidade devido a não apresentar problemas de reprodutibilidade e tem capacidade de detectar elevados níveis de polimorfismo (BORNET *et al.* 2002). O marcador molecular ISSR são fragmentos de DNA de 100 a 3000 pb, além do que, é uma das técnicas de *fingerprinting* que se baseia na PCR (*Polymerase Chain Reaction*), que para amplificar regiões entre sequências alvo, utiliza *primers* de sequência simples repetitiva. Essa técnica pode proporcionar um grande número de marcadores multiloci, com capacidade de serem aplicados para analisar qualquer organismo, mesmo os que possuem pouca ou nenhuma informação genética (ARCADE *et al.* 2000).

Os marcadores moleculares SNP apresentam variações únicas de nucleotídeos em determinadas sequências do genoma de indivíduos de uma dada população. Com base no

potencial desse marcador, diversos SNPs foram identificados e analisados. Os SNPs são encontrados em qualquer região do genoma ou seqüência de interesse, a exemplo, em exons de genes candidatos, podendo ter implicações diretas nas funções da proteína correspondente (REGINATO, 2001). Outras características importantes são a maior estabilidade, quando comparados aos marcadores microssatélites. Além da possibilidade de automação, são capazes de identificar polimorfismos em nível de um único nucleotídeo (PEREIRA et al., 2005).

### **RGA (*Resistance Gene Analog*)**

Os marcadores RGAs possuem regiões conservadas, denominadas motivos, os quais podem incluir regiões ricas em leucina (LRR – Leucine Rich Repeats), sítios de ligação a nucleotídeos (NBS – *Nucleotide Binding Sites*), estruturas complexas de NBS-LRR (*Nucleotide Binding Site Leucine Rich Repeat*) e proteínas quinase (HAMMOND-KOSACK E JONES, 1997). Essas regiões conservadas são de suma importância, podendo representar sítios de relevância biológica na expressão fenotípica dos genes de resistência, apresentando-se assim, como uma ferramenta útil para diferentes abordagens genéticas (BENT, 1996).

O domínio NBS-LRR em plantas possui sua função associada à resistência de doenças, principalmente se manifestada como uma resposta à hipersensibilidade. Já o domínio LRR é o responsável primário pelo reconhecimento, atuando assim, como guarda da maquinaria celular que é susceptível ao ataque de patógenos (JONES e DANGL, 2006).

Com base na conservação filogenética, diferentes primers foram desenvolvidos com o propósito de amplificar regiões análogas a genes de resistência (RGAs) (LEISTER *et al.*, 1996; KANAZIN *et al.*, 1996; YU *et al.*, 1996). Assim, esses marcadores possibilitam obter muito polimorfismo entre distintos acessos de uma mesma espécie ou gênero, podendo corroborar em sistemas de caracterização genética de acessos e variedades (HAMMOND-KOSACK E JONES, 1997).

O estudo realizado por Paula *et al.* (2010), utilizou marcadores moleculares análogos a genes de resistência (RGA – *Resistance Gene Analog*), para avaliar espécies de *passiflora* silvestre, e, por vez, obteve-se resultado que permitiu o desenho de marcadores RGAs. Essa variabilidade possibilita estabelecer níveis de similaridade genética entre os acessos. Além de

identificar sequências relacionadas a genes de resistência à doenças em plantas, que podem ser utilizadas em futuros cruzamentos.

A diversidade genética existente nas espécies de *Passiflora* é, dentre outros fatores, ferramenta valiosa para ações de melhoramento visando à obtenção de genótipos mais adequados para sistema de cultivo. Assim, é necessário o desenvolvimento de trabalhos relacionados à caracterização e avaliação das espécies, para posterior seleção de genes com caracteres de interesse (SANTOS *et al.* 2011).

## REFERÊNCIAS

- ABREU, S. P. M.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SOUZA, M. A. F. CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DE SEIS GENÓTIPOS DE MARACUJAZEIRO-AZEDO CULTIVADOS NO DISTRITO FEDERAL. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, p. 920-924, 2009.
- AGRIANUAL. **ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA**. São Paulo: FNP, 2006. p. 359-365. 2017.
- APG II (ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP). AN UPDATE OF THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP CLASSIFICATION FOR THE ORDERS AND FAMILIES OF FLOWERING PLANTS: **Botanical Journal of the Linnean Society**. 141: 399-436, 2003.
- APG III (ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP). AN UPDATE OF THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP CLASSIFICATION FOR THE ORDERS AND FAMILIES OF FLOWERING PLANTS: **Botanical Journal of the Linnean Society**, 161: 105–121. 2009.
- ARCADE, A. F.; ANSELIN, P.; FAIVRE, R. M. C.; LESAGE, L. E.; PRAT, D. APPLICATION OF AFLP, RAPD AND ISSR MARKERS TO GENETIC MAPPING OF EUROPEAN AND JAPANESE LARCH. **Theoretical and Applied Genetics**, v.100, p. 299-307, 2000.
- BARBOSA, N. C. S. ANATOMIA FOLIAR E DIVERSIDADE GENÉTICA EM *Passiflora* spp. (PASSIFLORACEAE L.) RESISTENTES AO Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV). BAHIA. 120f. **Dissertação de mestrado (Genética e Biodiversidade)**. UFBA. p. 15-26, 2016.
- BELLON G., FALEIRO F.G., JUNQUEIRA K.P., JUNQUEIRA N.T.V., SANTOS E.C., BRAGA M.F., GUIMARÃES C.T. VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS SILVESTRES E COMERCIAIS DE PASSIFLORA EDULIS SIMS. COM BASE EM MARCADORES RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 29: 124-127, 2007.
- BENT, A. F. PLANT DISEASE RESISTANCE GENES: FUNCTION MEETS STRUCTURE. **Plant Cell**, Rockville, v.8, p. 1757-1771, 1996.
- BERNACCI, L. C.; CERVI, A.C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A.; NUNES, T.S.; IMIG, D.C.; MEZZONATO, A.C.. **PASSIFLORACEAE. IN: LISTA DE ESPÉCIES DA FLORA DO BRASIL**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2016.
- BERNACCI, L. C.; MELETTI L. M. M.; SOARES-SCOTT, M D.; PASSOS, I. R. S.; JUNQUEIRA, N. T. V. 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, 2005.

BERNACCI, L.C.; VITTA, F.A.; BAKKER, Y.V. PASSIFLORACEAE. IN: WANDERLEY, M.G.L.; SHEPHERD, G.J.; GIULIETTI, A.M.; MELHEM, T.S. (Ed.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: RiMa/FAPESP, v. 3, p. 247- 274, 2003.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. MARCADORES MOLECULARES. **2ª Ed.** UFV, Viçosa, 532 p., 2009.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. MARCADORES MOLECULARES. IN: MELHORAMENTO DE PLANTAS. **4 ed.** Viçosa: UFV, cap. 30, p. 441-463, 2005.

BORGES, A. L.; RODRIGUES, M. G.; LIMA, A. A.; ALMEIDA, I. E.; CALDAS, R. C. PRODUTIVIDADE E QUALIDADE DE MARACUJÁ-AMARELO IRRIGADO, ADUBADO COM NITROGÊNIO E POTÁSSIO. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 25:259-262, 2003.

BORNET, B.; BRANCHARD, M. NONANCHORED INTER SIMPLE SEQUENCE REPEAT (ISSR) MARKERS: REPRODUCIBLE AND SPECIFIC TOOLS FOR GENOME FINGERPRINTING. **Plant Molecular Biology Report**, v. 19, p. 209–215, 2002.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M. AVALIAÇÕES BIOMÉTRICAS, GENÉTICAS E MOLECULARES VISANDO CONSERVAÇÃO E MELHORAMENTO DE *PASSIFLORA* SPP. **DISSERTAÇÃO (GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR)**. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. p. 6-8. 2009.

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 MICROSATELLITEMARKERS FOR WILD AND COMMERCIAL SPECIES OF *PASSIFLORA* (PASSIFLORACEAE) AND CROSS-AMPLIFICATION. **Applications in Plant Sciences** 2:1-5. 2014.

CERVI, A.C. O GÊNERO *PASSIFLORA* L. (PASSIFLORACEAE) NO BRASIL, ESPÉCIES DESCRITAS APÓS O ANO DE 1950. **Adumbrationes ad Summae Editionem**. 16: 1-5. 2006.

CERVI, A.C.; IMIG, D.C. A NEW SPECIES OF *PASSIFLORA* (PASSIFLORACEAE) FROM MATO GROSSO DO SUL, BRAZIL. **PHYTOTAXA**. 103(1): 46-50, 2013.

COSTA, A. F. S. Recomendações técnicas para o cultivo do maracujazeiro. Vitória: Incaper, 56p. 2008.

COSTA, A. M., TUPINAMBÁ, D. D. O MARACUJÁ E SUAS PROPRIEDADES MEDICINAIS – ESTADO DA ARTE. IN: FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V., BRAGA, M. F. (EDS.) MARACUJÁ: GERMOPLASMA E MELHORAMENTO GENÉTICO. Planaltina: **Embrapa Cerrados**, 475 – 508p, 2005.

CROCHEMORE, M.L.; MOLINARI, H. B.; STENZEL, N. M. C. Caracterização agromorfológica do maracujazeiro (*Passiflora* spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n. 1, p.5–10, 2003.

CUNHA, M. A. P.; BARBOSA, L. V.; JUNQUEIRA, N. T. V. ESPÉCIES DE MARACUJAZEIRO. IN: LIMA, A. A. (ED.). MARACUJÁ PRODUÇÃO: ASPECTOS

TÉCNICOS. BRASÍLIA, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, (Embrapa Informação Tecnológica. Frutas do Brasil; 15).104 p. 2002.

ESCOBAR, L.K. A NEW SUBGENUS AND FIVE NEW SPECIES IN PASSIFLORA (PASSIFLORACEAE) FROM SOUTH AMERICA. **Annals of Missouri Botanical Garden**, 76: 877-885, 1989.

FAJARDO, D.; ANGEL, F.; GRUM, M; TOHME, J.; LOBO, M; ROCA, WM; SANCHEZ, I. Análise da variação genética do gênero *Passiflora* L. utilizando marcadores RAPD. *Euphytica*. 101, 341-347. 1998.

FALEIRO, F. G. MARCADORES GENÉTICO-MOLECULARES APLICADOS A PROGRAMAS DE CONSERVAÇÃO E USO DE RECURSOS GENÉTICOS; PRINCIPAIS APLICAÇÕES DOS MARCADORES GENÉTICO-MOLECULARES NOS PROGRAMAS DE CONSERVAÇÃO E USO DE RECURSOS GENÉTICOS. Planaltina, DF: **Embrapa Cerrado**. p.40-41, 2007.

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.; COSTA, A.M. CONSERVAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES SILVESTRES DE MARACUJAZEIRO (*PASSIFLORA* SSP.) E UTILIZAÇÃO POTENCIAL NO MELHORAMENTO GENÉTICO, COMO PORTAENXERTOS, ALIMENTOS FUNCIONAIS, PLANTAS ORNAMENTAIS E MEDICINAIS- RESULTADOS DE PESQUISA. Documentos 312. **Embrapa Cerrados**. Outubro. p. 14-15, 2012.

FERREIRA, F. R. RECURSOS GENÉTICOS DE PASSIFLORA. IN: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (ED.). MARACUJÁ: GERMOPLASMA E MELHORAMENTO GENÉTICO. Planaltina: **Embrapa Cerrados**. cap. 2, p. 41- 51, 2005.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. INTRODUÇÃO AO USO DE MARCADORES MOLECULARES EM ANÁLISE GENÉTICA. 3. ed. Brasília: **EMBRAPA-CENARGEN**. p. 79 – 82, 1998.

FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J. M. PASSIFLORACEAE. IN: KUBITZI, K. THE FAMILIES AND GENERA OF VASCULAR PLANTS. **Springer**, v. IX. Berlin, p. 270-281, 2007.

GONÇALVES, J. S.; SOUZA, S. A. M. FRUTA DA PAIXÃO: PANORAMA ECONÔMICO DO MARACUJÁ NO BRASIL. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.36, n.12, p.29-35, 2006.

HAMMOND-KOSACK, K.E.; JONES, J.D.G. PLANT DISEASE RESISTANCE GENES. ANNUAL REVIEW OF PLANT PHYSIOLOGY AND PLANT MOLECULAR BIOLOGY, v.48, p.575-607, 1997.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **PRODUÇÃO AGRÍCOLA MUNICIPAL**. 2017. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pesquisas/pam/>. Acesso em 17/09/2018.

JESUS, O. N.; MACHADO, C. F.; SOARES, T. L.; JUNGHANS, T. G.; OLIVEIRA, E. J.; FALEIRO, F. G. Recursos genéticos de Passiflora em Embrapa Mandioca e Fruticultura. Artigo em Anais: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE *PASSIFLORA*. 2014.

JONES, J.; DANGL, J. THE PLANT IMMUNE SYSTEM. *Nature*, v.444, p.323-329, 2006.

JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOGG, E.A. E STEVENS, P.F. PLANT SYSTEMATICS: A PHYLOGENETIC APPROACH. **Sunderland, Sinauer Associates**. p. 462p, 1999.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; SETEVENS, P.F.; DONOGHUE, M.J. **SISTEMÁTICA VEGETAL: UM ENFOQUE FILOGENÉTICO**. 3ª ED. PORTO ALEGRE, RS: ARTMED. 612 p. 2009.

JUNQUEIRA, K. P., FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V., BELLON, G., RAMOS, J. D., SOUZA, L. S., SANTOS, E. C. OBTENÇÃO DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE *PASSIFLORA LAURIFOLIA* L. E *PASSIFLORA NÍTIDA* KUNTH. IN: 4º CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, São Lourenço. *Anais do 4º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas*. São Lourenço: UFLA. CD-ROM. 2007.

JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; BERNACCI, L. C. POTENCIAL DE ESPÉCIES SILVESTRES DE MARACUJAZEIRO COMO FONTE DE RESISTÊNCIA A DOENÇAS. IN: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M.F. (ED.). MARACUJÁ: GERMOPLASMA E MELHORAMENTO GENÉTICO. Planaltina: **Embrapa Cerrados**. cap. 4, p. 81-107. 2005.

KANAZIN, V.; FREDERICK, M.L.; SHOEMAKER, R.C. RESISTANCE GENE ANALOGS ARE CONSERVED AND CLUSTERED IN SOYBEAN. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U S A**, v.93, p.11746-11750, 1996.

KILLIP, E.P. THE AMERICAN SPECIES OF PASSIFORACEAE. PUBLICATION OF FIELD MUSEUM OF NATURAL HISTORY, **Botanical Series**, 19: 1-613, 1938.

KLUGE, R.A. MARACUJAZEIRO. IN: CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R.A. ECOFISIOLOGIA DE FRUTEIRAS TROPICAIS, São Paulo: Nobel. p. 111, 1998.

LACERDA, D. R.; ACEDO, M. D. P.; LEMOS FILHO, J. P.; LOVATO, M. B. A técnica de RAPD: uma ferramenta molecular em estudos de conservação de plantas. *Lundiana* 3 (2): 87-92. 2002.

LEISTER, D.; BALLVORA, A.; SALAMINI, F.; GEBHARDT, C. A. A PCR-BASED APPROACH FOR ISOLATING PATHOGEN RESISTANCE GENES FROM POTATO WITH POTENTIAL FOR WIDE APPLICATION IN PLANTS. **Nature Genetics**, v.14, p.421-429, 1996.

LOPES, S. C. CITOGENÉTICA DO MARACUJÁ, *PASSIFLORA* SPP. IN: SÃO JOSÉ, A. R. A CULTURA DO MARACUJÁ NO BRASIL. **Jaboticabal:FUNEP**. p. 201-209, 1991.

MACDOUGAL, J.M. & FEUILLET, C. Systematics. In: Ulmer, T. & MacDougal, J.M. (ed.), *Passiflora: passionflowers of the world*. Portland Oregon: Timber Press. p. 27-31. 2004.

MACIEL, C. C. DIVERSIDADE DE GENÓTIPOS DE MELÃO POR MEIO DE DESCRITORES MORFOLÓGICOS E MARCADOR RGA. **Dissertação de mestrado**. Universidade Estadual de Santa Cruz. 2014.

MEDEIROS, S. A. F. DE; YAMANISHI, O. K.; PEIXOTO, J. R.; PIRES, M. C.; JUNQUEIRA, V.; GALVARROS, J.; LOBO, B. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE PROGÊNIES DE MARACUJÁ-ROXO E MARACUJÁ-AZEDO CULTIVADOS NO DISTRITO FEDERAL. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal. v. 31, n.2, p.492–499, 2009.

MELETTI, L. M. M. AVANÇOS NA CULTURA DO MARACUJÁ NO BRASIL. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Volume Especial:83-91, 2011.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C. CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE TRÊS SELEÇÕES DE MARACUJAZEIRO-ROXO (*PASSIFLORA EDULIS* SIMS). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, p.268-72, 2005.

MELETTI, L. M.M., SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; PASSOS, I. R. S..MELHORAMENTO GENÉTICO DO MARACUJÁ: PASSADO E FUTURO. IN: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. MARACUJÁ: GERMOPLASMA E MELHORAMENTO GENÉTICO. Planaltina: **Embrapa Cerrados**, pp.55-78. 2005.

MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A., BAUMGRATZ, J. F. A. *PASSIFLORA* L. SUBGÊNERO DECALOBA (DC.) RCHB. (PASSIFLORACEAE) NA REGIÃO SUDESTE DO BRASIL. **Rodriguésia**. 55(85): 17 – 54. 2004.

MONTEIRO, L. B.; MENDONÇA, M. R.; ANDRADE, A. T.; CAMARGO, T.; SOUSA, K. M.; OI, R.; MORAES, M. S. M.; LIA, L. R. B.; MORAES JÚNIOR, D. CURVA DE SECAGEM DO MESOCARPO DO MARACUJÁ AMARELO. **Revista Ceciliana**, Santa Cecília, v. 2, n. 1, p. 42-44, 2010.

MUSCHNER, V.C.; LORENZ, A.P.; CERVI, A.C.; BONATTO, S.L.; SOUZA-CHIES, T.T.; SALZANO, F.M.; FREITAS, L.B. A FIRST MOLECULAR PHYLOGENETIC ANALYSIS OF *PASSIFLORA* (PASSIFLORACEAE). **American Journal of Botany**, 90(8): 1229-1238, 2003.

NUNES, T.S. A FAMÍLIA PASSIFLORACEAE NO ESTADO DA BAHIA, BRASIL. **Dissertação de mestrado**. Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia. p.190, 2002.

PÁDUA, J. G. ANÁLISES GENÉTICAS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *PASSIFLORA* ACEAE NA CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA, BRASIL. **Sitientibus, Série Ciências Biológicas**, v. 1, n. 1, p. 33-46, 2001.

PAIVA, C. L. DESCRITORES MORFOLÓGICOS E MARCADORES MICROSSATÉLITES NA CARACTERIZAÇÃO DEGERMOPLASMA DE *PASSIFLORA* spp. Rio de Janeiro . 60f. **Dissertação de Mestrado (Genética e Melhoramentode Plantas)**. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. p. 4, 2013.

PAULA, S. M. DA.; FONSECA, M. E. N. DE.; BOITEUX, L. S.; PEIXOTO, J. R. CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE ESPÉCIES DE *PASSIFLORA* POR MARCADORES MOLECULARES ANÁLOGOS A GENES DE RESISTÊNCIA. **Rer. Bras. Frut.**, Jaboticabal SP. v 32, n 1, p 222-229, 2010.

PEREIRA, A. S. GENÉTICA E PÓS-MELHORAMENTO EM VARIEDADES DE MARACUJAZEIRO AMARELO: VARIABILIDADE ACESSADA POR FERRAMENTAS BIOMÉTRICAS E MOLECULARES. **Dissertação de mestrado**. Universidade Estadual Santa Cruz (UESC), Ilheus – BA, 2012.

PEREIRA, D. A.; CORRÊA, R. X.; OLIVEIRA, A. C. MOLECULAR GENETIC DIVERSITY AND DIFFERENTIATION OF POPULATIONS OF ‘SOMNUS’ PASSION FRUIT TREES (*PASSIFLORA SETACEA* DC): IMPLICATIONS FOR CONSERVATION AND PRE-BREEDING. **Biochemical Systematics and Ecology**, **59**: 12-21, 2015.

PEREIRA, G.S. Desenvolvimento De Marcadores SSR, M-AFLP E SNP Visando à Integração De Mapas Genético-moleculares De Passiflora Alata Curtis. Universidade de São Paulo, 2011.

PEREIRA, M. G.; PEREIRA, T. N. S. ; VIANA, A. P. Marcadores moleculares aplicados ao melhoramento genético do maracujazeiro. In: Fábio Gelape Faleiros; Nilton Tadeu Vilela Junqueira; Marcelo Fidelis Braga;. (Org.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. 1ed. Brasília: EMBRAPA. v. 1, p. 277-294. 2005.

RABBANI, M. A.; IWABUCHI, A.; MURAKAMI, Y.; SUZUKI, T.; TAKAYANASHI, K. VARIATION AND THE RELATIONSHIP AMONG MUSTARD (*BRASSICA JUNCEA*) GERMPLASM FROM PAKISTAN. **Euphytica**, v. 101, p. 357-366, 1998.

REGITANO, L.C.A. Introdução a análise de marcadores moleculares. Pages 25-39 In: Regitano, L.C.A. and L.L. Coutinho (eds.). *Biologia molecular aplicada a produção animal*. EMBRAPA, Brasília, Brasil. 2001.

REOLON, C. A. FATORES DE INFLUÊNCIA NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E MINERAIS DA CASCA DO MARACUJÁ E SEU APROVEITAMENTO NA ELABORAÇÃO DE DOCE. 84 f. **Dissertação (Mestrado em Agronomia)** - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2008.

SANTOS FILHO, H. P.; JUNQUEIRA, N. T. MARACUJÁ: FITOSSANIDADE. BRASÍLIA: **Embrapa Informação Tecnológica**, Série Frutas do Brasil. p 86, 2003.

SANTOS, L.F.; OLIVEIRA, E.J.; SILVA, A.S.; CARVALHO, F.M.; COSTA, J.L.; PADUA, J.G. 2011. ISSR MARKERS AS A TOOL FOR THE ASSESSMENT OF GENETIC DIVERSITY IN *PASSIFLORA*. **BIOCHEMICAL GENETICS**, **V. 49**, **P. 540-554**, 2011.

SOARES, W. S. CARACTERIZAÇÃO DO GERMOPLASMA E ESTUDO DA COMPATIBILIDADE INTERESPECÍFICA EM *Passiflora* spp. do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento. **Dissertação (Magister Scientiae)**. Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais. 2016.

SOUSA, A. G. R. DIVERSIDADE GENÉTICA INTER E INTRAESPECÍFICA E ANÁLISE CITOGENÉTICA EM ESPÉCIES SILVESTRES DE PASSIFLORAS. BAHIA. 68f. **Dissertação de Mestrado (Produção Vegetal)**. UESC. p. 12. 2014.

SOUZA, J. S. I.; MELETTI, L. M. M. MARACUJÁ: ESPÉCIES, VARIEDADES, CULTIVO. **Piracicaba: FEALQ**. 179 p. 1997.

ULMER, T. E MACDOUGAL, J.M. PASSIFLORA: PASSIONFLOWERS OF THE WORLD. **Portland Oregon: Timber Press**. p.430, 2004.

VANDERPLANK, J. E. DISEASE RESISTANCE IN PLANTS. New York: **Academic Press**, 1968. 206 p.

VANDERPLANK, J. PASSION FLOWERS. 3<sup>a</sup> ed. **Cambridge: The MIT Press**. p. 224, 2000.

VEIGA, R.F. DE A. **BANCOS DE GERMOPLASMA**. 2008. Disponível em: <http://www.biota.org.br/pdf/v72cap04.pdf>.

WETZEL, M. M. V. S., GIMENES, M. A., PÁDUA, J. G., JOSÉ, S. C. B. R., NETO, L. G. P. CONSERVAÇÃO DE ESPÉCIES SILVESTRES COMPOTENCIAL DE UTILIZAÇÃO EM PROGRAMAS DE PRÉ-MELHORAMENTO NA COLEÇÃO BASE DA EMBRAPA. LOPES, M. A., FÁVERO, A. P., FERREIRA, M. A. J. F., FALEIRO, F. G., FOLLE, F. M., GUIMARÃES, E. P (EDS.). PRÉ-MELHORAMENTO DE PLANTAS: ESTADO DA ARTE E EXPERIÊNCIAS DE SUCESSO. **Embrapa Informações tecnológicas**, Brasília, DF. p. 102-122. 2011.

YU, Y.G.; BUSS, G.R.; SAGHAI MAROOF, M.A. ISOLATION OF A SUPER FAMILY OF CANDIDATE DISEASE-RESISTANCE GENES IN SOYBEAN BASED ON A CONSERVED NUCLEOTIDE-BINDING SITE. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v.93, p.11751-11756, 1996.

ZAMBERLAN, P.M. FILOGENIA DE PASSIFLORA L. (PASSIFLORACEAE): QUESTÕES INFRA-SUBGENÉRICAS. Porto Alegre, 105f. **Dissertação de Mestrado (Genética e Biologia Molecular)**. UFRGS. p. 11, 2007.

ZIETKIEWICZ E.; RAFALSKI A.; LABUDA D. GENOMIC FINGERPRINTING BY SIMPLE SEQUENCE REPEAT (SSR)-ANCHORED POLYMERASE CHAIN REACTION AMPLIFICATION. **Genomics**. v.20, p.176-183, 1994.

# CAPÍTULO I

Periódico pretendido para submissão: *Euphytica*

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

Larissa Neres Barbosa de Souza<sup>1</sup>, Nátilla Deyse Souza Costa Dias<sup>2</sup>, Lucas Amorim Silveira<sup>3</sup>, Vandrick de Oliveira Santana<sup>4</sup>, Messulan Rodrigues Meira<sup>5</sup>, Elisa Susilene Lisboa dos Santos<sup>6</sup>, Fábio Gelape Faleiro<sup>7</sup>, Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, BA, 45700-000; <sup>2</sup>Departamento 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:** Objetivou-se com essa pesquisa caracterizar o padrão de amplificação e selecionar combinações de iniciadores RGA (*Resistance Gene Analogs*) para subsidiar estudos genéticos em maracujazeiros. Para tanto, foram realizados testes de amplificação com o uso de 17 combinações de iniciadores RGAs em 79 espécies de *Passiflora* spp. e 12 variedades (BRS). Os produtos de amplificação foram visualizados a partir de corrida eletroforética, em gel de agarose a 2% com auxílio de um fotodocumentador Kodak. Dentre as 17 combinações de iniciadores RGAs testados, todos geraram produtos de amplificação. Tendo em vista os resultados apresentados, pode-se atestar que as combinações de iniciadores RGAs, são adequadas para subsidiar estudos intra e interespecífico de espécies do gênero *Passiflora* L., gerando informações importantes para programas de conservação e melhoramento genético.

**Palavras-chave:** maracujazeiro, seleção, RGA

## INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* é o mais representativo da família Passifloraceae, possuindo cerca de 525 espécies, sendo o Brasil um dos principais centros dessa diversidade genética (CERVI; IMIG, 2013), que, por sua vez, têm registros de aproximadamente 160 espécies, dentre estas, 87 são endêmicas (BERNACCI *et al.*, 2016). O Brasil se destaca também, por ser o maior produtor e consumidor de maracujá do mundo (GONÇALVES E SOUZA, 2006).

Os maracujazeiros apresentam grande variabilidade intra e interespecífica possuindo potencial para utilização diversificada nos setores alimentício, medicinal e ornamental. As espécies nativas e silvestres de maracujá não são utilizadas unicamente para o consumo *in natura*, mas também na produção de fármacos, plantas ornamentais e alimentos funcionais. Além disso, as espécies silvestres estão associadas à genes de resistência, sendo assim, fonte em potencial para o melhoramento genético das espécies comercializadas, com destaque para o maracujazeiro azedo (FALEIRO *et al.*, 2006; COSTA; TUPINAMBÁ, 2005; FALEIRO *et al.*, 2008; JESUS *et al.*, 2014).

Para reduzir o risco da erosão genética e aperfeiçoar o uso dos maracujazeiros, torna-se necessário o estabelecimento de estratégias efetivas de conservação *ex situ*, buscando-se resgatar a variabilidade existente, mantendo-a disponível para utilização em programas de melhoramento genético. Neste sentido, a conservação dos recursos genéticos do gênero *Passiflora* tem como alvo a caracterização, avaliação, intercâmbio e documentação de seu germoplasma (JESUS *et al.*, 2014).

O Brasil possui a maior coleção de acessos de *passifloras* distribuídos e conservados em Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) (MELETTI *et al.* 2005). Os BAGs são eficientes na conservação e manutenção das espécies de interesse e consequentemente dos recursos genéticos, tornando-o assim de extrema importância, visto que, com o aumento das ações antrópicas, as espécies sofrem ameaça em seu tamanho populacional, o que pode acarretar no processo de erosão genética, dessa forma, a conservação dos recursos genéticos corrobora em programas de conservação e melhoramento genético (FALEIRO, 2007; SOUSA, 2014).

A caracterização e avaliação dos materiais conservados quanto aos aspectos biológicos, agrônômicos e genéticos, é essencial no âmbito das ações de manejo e conservação dos maracujazeiros (FALEIRO, *et al.* 2011). Nesse contexto, diversos estudos de caracterização genética do gênero *Passiflora* estão sendo realizados mediante diferentes marcadores moleculares (VIANA *et al.*, 2003; BELLON *et al.*, 2007; COSTA *et al.*, 2010; PINHEIRO *et al.*, 2012; BARBOSA, 2016). Dessa forma, os marcadores moleculares

constituem uma ferramenta útil, possibilitando diferenciar indivíduos geneticamente relacionados (BORÉM E MIRANDA, 2005), gerando informações genotípicas, que quando associadas às informações de fenótipo com o meio ambiente, complementam-se, aumentando a eficiência dos estudos (FALEIRO, 2007). Dessa forma, objetivou-se caracterizar e selecionar o perfil de amplificação de marcadores moleculares RGAs (*Resistance Genes Analog*), que possibilitem estudos inter e intraespecíficos com maracujazeiros, contribuindo assim, para intensificar programas de conservação e melhoramento de espécies do gênero *Passiflora*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Coleta de DNA e armazenamento das amostras

O material genômico foi coletado na Embrapa Cerrados – Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados - CPAC, situada em Brasília-DF sob as coordenadas geográficas (S15.6041265,W-47.7119669). As caracterizações genéticas foram conduzidas 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, representativos de 79 espécies e 12 variedades. Destes acessos, foram considerados no presente estudo 91, garantindo-se amostras de todas as 79 espécies de *Passiflora* spp. e dos 12 variedades. Estes acessos foram avaliados de acordo o critério de presença e ausência do loco.

O DNA dos acessos encontravam-se previamente extraído pelo método *Cationic Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB) (FALEIRO *et al.* 2003) e quantificados por espectrofotometria utilizando o equipamento NanoDrop®. Posteriormente os acessos foram diluídos na proporção de 100µl à 50ng/µl para padronização e, após os procedimentos realizados, foram devidamente condicionados e conduzidos ao LGMA-UESB.

### Ensaio de amplificação

Para os ensaios de amplificação foram utilizadas 17 combinações de iniciadores RGAs (*Resistance Genes Analog*) (Tabela 1), previamente avaliados para espécies do gênero

*Passiflora* spp. (PEREIRA, 2012; PAULA *et al.*, 2010) e para a espécie *Cucumis melo* L. (MACIEL, 2014).

**Tabela 1.** Descrição das combinações de iniciadores RGA (*Resistance Genes Analog*) utilizadas no estudo e suas respectivas sequências de nucleotídeos

COMBINAÇÃO	INICIADORES	SEQUÊNCIA 5' - 3'
1	S1	GGTGGGGTTGGGAAGACAACG
	NBSr1	GGTGGGGTTGGGAAGACAACGYCT
2	S2	GGIGGIGTIGGIAAIACIAC
	As1	CAAGGCTAGTGGCAATCC
3	S2	GGIGGIGTIGGIAAIACIAC
	As2	IAAIGCIAGIGGIAAICC
4	NBSf1	GGAATGGGNGGNGTNGGNAARAC
	As2	IAAIGCIAGIGGIAAICC
5	S1	GGTGGGGTTGGGAAGACAACG
	As1	CAAGGCTAGTGGCAATCC
6	S1	GGTGGGGTTGGGAAGACAACG
	As2	IAAIGCIAGIGGIAAICC
7	S1	GGTGGGGTTGGGAAGACAACG
	As3	IAGIGCIAGIGGIAGICC
8	NBSf1	GGAATGGGNGGNGTNGGNAARAC
	NBSr1	GGTGGGGTTGGGAAGACAACGYCT
9	NBSf1	GGAATGGGNGGNGTNGGNAARAC
	As1	CAAGGCTAGTGGCAATCC
10	NBSf1	GGAATGGGNGGNGTNGGNAARAC
	As3	IAGIGCIAGIGGIAGICC
11	RGA1f	AGTTTATTATTYSATTGCT
	RGA2r	CACACGGTTTAAAATTCTCA
12	RGA1f	AGTTTATTATTYSATTGCT
	RGA5r	TCAATCATTCTTTGCACAA
13	RGA1f	AGTTTATTATTYSATTGCT
	RGA6r	AACTACATTTCTTGCAAGT
14	RGA1f	AGTTTATTATTYSATTGCT
	RGA8r	CCGAAGCATAAGTTGGTG
15	S2	GGIGGIGTIGGIAAIACIAC
	As3	IAGIGCIAGIGGIAGICC
16	As1	CAAGGCTAGTGGCAATCC
	As2	IAAIGCIAGIGGIAAICC
17	As1	CAAGGCTAGTGGCAATCC
	As3	IAGIGCIAGIGGIAGICC

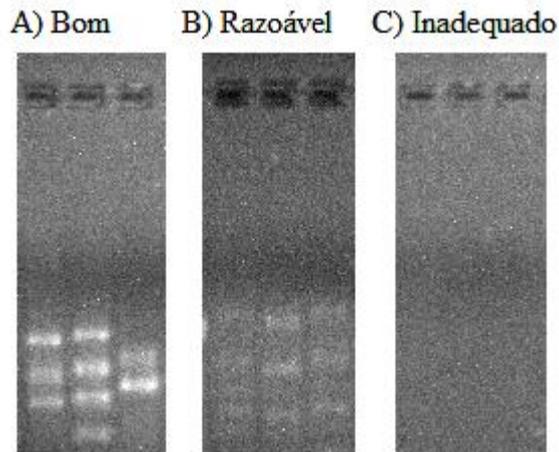
\*I= A/T/G/C; D= A/G/T; E=C/G; R= A/G; Y= C/T

As reações de amplificação foram conduzidas em plataforma PCR com um volume total de 16  $\mu\text{L}$ , sendo 8  $\mu\text{L}$  de DNA à 2 ng, 1  $\mu\text{L}$  de cada iniciador RGA, 0,11  $\mu\text{L}$  Taq DNA Polimerase, 1  $\mu\text{L}$  do mix de dNTP, 1  $\mu\text{L}$  de Cloreto de Magnésio ( $\text{MgCl}_2$ ), 1,7 de Tampão 10X, 2,19 de água milli-Q para completar o volume final da reação

Os programas adotados para as reações de amplificação consistiram para os iniciadores RGAs: 5 minutos a  $95^\circ\text{C}$ ; seguido de 34 ciclos (30 segundos a  $95^\circ\text{C}$ , 1 minuto a  $37^\circ\text{C}$ , 1 minuto e 20 segundos a  $72^\circ\text{C}$ ); e 10 minutos a  $72^\circ\text{C}$ . Todas as amplificações foram realizadas no LGMA da UESB.

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 120W por 2 horas. O Ladder 1 Kb (Invitrogen<sup>®</sup>) 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 amplificação foram utilizados os seguintes critérios para a caracterização da qualidade do perfil das amplificações obtidas com as diferentes combinações de iniciadores: (A) Bom - amplificações em todas as amostras e com fácil visualização; (B) Razoável- amplificação em partes das amostras e/ou com difícil visualização; e (C) Inadequado - ausência de produtos de amplificação visível (Figura 1).



**Figura 1.** Perfil de amplificação gerado a partir das combinações de iniciadores RGAs, utilizadas em espécie do gênero *Passiflora*, sendo classificadas como: A) Bom, B) Razoável e C) Inadequado.

De acordo com os dados obtidos através das amplificações a partir das 17 combinações de RGAs para as 79 espécies em 12 variedades (Tabelas 4 e 5 do Apêndice), realizou-se cálculos para determinar as sua eficiência conforme as equações:

$$A = \frac{q}{e} * 100 \quad \text{e} \quad B = \frac{e}{m} * 100$$

Onde na equação A, 'q' é a quantidade de marcadores que foram considerados bom, razoável e inadequado, 'e', é a quantidade de espécies avaliadas e 'x' é o resultado final. Na equação B, 'e' é a quantidade acessos de cada espécie que foram considerados bom, razoável e inadequado, 'm' é a quantidade de combinações de iniciadores utilizadas e 'x' é o resultado final, respectivamente. De acordo com os dados obtidos através dos cálculos mencionados acima, a fim de viabilizar as avaliações intra e interespecíficas, esses foram utilizados nas Tabelas 2 e 3.

## RESULTADOS

O percentual de eficiência dos iniciadores RGAs foram obtidos a partir da análise dos géis e, respeitando os critérios estabelecidos na Figura 1. De acordo os dados expostos na Tabela 2, foi possível observar que todos as combinações de iniciadores RGA funcionaram. Para estudos interespecífico com espécies do gênero *Passiflora* a Tabela 2 revela que todos os iniciadores podem ser amplamente utilizados para caracterizar e estimar a diversidade genética do gênero.

**Tabela 2.** Classificação dos iniciadores de acordo com o percentual de eficiência de cada combinação dos iniciadores RGAs (*Resistance Genes Analog*) nas 79 espécies do gênero *Passiflora* oriundos do Banco Ativo de Germoplasma Flor da Paixão - CPA

INICIADORES	CLASSIFICAÇÃO		
	BOM	RAZOÁVEL	INADEQUADO
<b>Combinação 1</b>	65 (82,27%)	12 (15,18%)	2 (2,53%)
<b>Combinação 2</b>	26 (32,91%)	7 (8,86%)	46 (58,22%)
<b>Combinação 3</b>	5 (6,32%)	12 (15,18%)	62 (78,48%)
<b>Combinação 4</b>	17 (21,51%)	5 (6,32%)	57 (72,15%)
<b>Combinação 5</b>	65 (82,27%)	12 (15,18%)	2 (2,53%)
<b>Combinação 6</b>	30 (37,97%)	21 (26,58%)	28 (35,44%)
<b>Combinação 7</b>	47 (59,49%)	14 (17,72%)	18 (22,78%)
<b>Combinação 8</b>	16 (20,25%)	19 (24,05%)	44 (55,69%)
<b>Combinação 9</b>	39 (49,36%)	13 (16,45%)	27 (34,17%)
<b>Combinação 10</b>	37 (46,83%)	12 (15,18%)	30 (37,97%)
<b>Combinação 11</b>	14 (17,72%)	14 (17,72%)	51 (64,55%)
<b>Combinação 12</b>	9 (11,39%)	7 (8,86%)	63 (79,74%)
<b>Combinação 13</b>	7 (8,86%)	6 (7,59%)	66 (83,54%)
<b>Combinação 14</b>	15 (18,98%)	5 (6,32%)	59 (74,68%)

<b>Combinação 15</b>	32 (40,50%)	4 (5,06%)	43 (54,43%)
<b>Combinação 16</b>	8 (10,12%)	6 (7,59%)	65 (82,27%)
<b>Combinação 17</b>	57 (72,15%)	16 (20,25%)	6 (7,59%)

Dentre as combinações de iniciadores RGA analisadas, todas amplificaram, porém o percentual de eficiência variou de acordo a espécie avaliada, apresentando assim, percentuais de baixa e alta eficiência. Esses percentuais expostos nas Tabelas 2 e 3, demonstram duas vertentes distintas de estudos. A Tabela 2 revela a eficiência do perfil de amplificação das combinações de iniciadores RGA nas 79 espécies do gênero *Passiflora*, podendo apresentar os três perfis de amplificação (A=Bom, B=Razoável e C=Inadequado). É válido destacar que, embora, algumas combinações de iniciadores RGA apresentem percentuais 'C' para algumas espécies estudadas, esse formato de análise pode ser utilizado em estudos interspecífico. Dentre os perfis de amplificação considerados 'A' e 'B', pode-se destacar algumas combinações de iniciadores RGA, a exemplo: Combinação 1, 5, 6, 7, 9, 10, 15 e 17.

Com base nas informações disponíveis na Tabela 3, é possível avaliar separadamente todos os acessos das 79 espécies e dos 12 variedades avaliados. Os resultados obtidos contemplam estudos intraespecíficos. Pode-se citar algumas espécies com percentuais classificados como tipo bom, 'A', a exemplo, das espécies *P. edulis*, *P. foetida*, *P. nitida*, *P. caerulea*, *P. ambigua*, *P. recurva*. No entanto, para algumas espécies e grande parte dos variedades obtiveram-se percentuais baixos. Entretanto, esse resultado não limita a utilização dos iniciadores com baixa eficiência, visto que, o estudo foi realizado com o propósito de classificar e selecionar os iniciadores mais adequados para estudos intra e interespecífico em espécies do gênero *Passiflora* spp.

**Tabela 3.** Classificação por espécie e variedade, do percentual de eficiência do iniciador RGA (*Resistance Genes Analog*)

Espécies	Total (%)		
	BOM	RAZOÁVEL	INADEQUADO
<i>P. alata</i> Curtis	7 (41,17%)	3 (17,64%)	7 (41,17%)
<i>P. cincinnata</i> Mast	6 (35,29%)	3 (17,64%)	8 (47,05 %)
<i>P. edulis</i> Sims	9 (52,94%)	3 (17,64%)	5 (29,41%)
<i>P. foetida</i> L.	11 (64,70%)	2 (11,76%)	4 (23,52%)
<i>P. maliformis</i> Vell.	12 (70,58%)	-	5 (29,41%)
<i>P. nitida</i> Kunth	11 (64,70%)	2 (11,76%)	4 (23,52%)
<i>P. quadrangularis</i> L.	10 (58,82%)	3 (17,64%)	4 (23,52%)
<i>P. amethystina</i> J. C Mikan	11 (64,70%)	2 (11,76%)	4 (23,52%)

<i>P. caerulea</i> L.	12 (70,58%)	2 (11,76%)	3 (17,64%)
<i>P. organensis</i> Gardiner	10 (58,82%)	2 (11,76%)	5 (29,41%)
<i>P. quadrifaria</i> Vanderpl	7 (41,17%)	2 (11,76%)	8 (47,05 %)
<i>P. setacea</i> DC.	10 (58,82%)	2 (11,76%)	5 (29,41%)
<i>P. suberosa</i> L.	6 (35,29%)	4 (23,52%)	7 (41,17%)
<i>P. tholozanii</i> Sacco	6 (35,29%)	2 (11,76%)	9 (52,94%)
<i>P. vitifolia</i> Kunth	7 (41,17%)	1 (5,88%)	9 (52,94%)
<i>P. actinia</i> Hook	8 (47,05 %)	2 (11,76%)	7 (41,17%)
<i>P. ambigua</i> Hemsl.	11 (64,70%)	1 (5,88%)	5 (29,41%)
<i>P. capsularis</i> Lam.	8 (47,05 %)	4 (23,52%)	5 (29,41%)
<i>P. coccinea</i> Aubl.	8 (47,05 %)	1 (5,88%)	8 (47,05 %)
<i>P. ferruginea</i> Mast.	4 (23,52%)	5 (29,41%)	8 (47,05 %)
<i>P. hatschbachii</i> Cervi	8 (47,05 %)	2 (11,76%)	7 (41,17%)
<i>P. malacophylla</i> Mast.	5 (29,41%)	4 (23,52%)	8 (47,05 %)
<i>P. mucronata</i> Lam.	6 (35,29%)	3 (17,64%)	8 (47,05 %)
<i>P. trintae</i> Sacco	3 (17,64%)	5 (29,41%)	9 (52,94%)
<i>P. vespertilio</i> L.	7 (41,17%)	1 (5,88%)	9 (52,94%)
<i>P. araujoi</i> Sacco	7 (41,17%)	1 (5,88%)	9 (52,94%)
<i>P auriculata</i> Kunth	7 (41,17%)	2 (11,76%)	8 (47,05 %)
<i>P. bahiensis</i> Klotzsch	6 (35,29%)	-	11 (64,70%)
<i>P. capparidifolia</i> Killip	8 (47,05 %)	3 (17,64%)	6 (35,29%)
<i>P. cerradensis</i> Sacco	8 (47,05 %)	1 (5,88%)	7 (41,17%)
<i>P. galbana</i> Mast	8 (47,05 %)	1 (5,88%)	8 (47,05 %)
<i>P. gardineri</i> Mast	6 (35,29%)	5 (29,41%)	6 (35,29%)
<i>P. haematostigma</i> Mart. Ex Mast.	8 (47,05 %)	3 (17,64%)	6 (35,29%)
<i>P. hypoglauca</i> Harms	6 (35,29%)	3 (17,64%)	8 (47,05 %)
<i>P. incarnata</i> L.	7 (41,17%)	3 (17,64%)	7 (41,17%)
<i>P. kermesina</i> Link E Otto	8 (47,05 %)	3 (17,64%)	6 (35,29%)
<i>P. laurifolia</i> L.	8 (47,05 %)	1 (5,88%)	8 (47,05 %)
<i>P. loefgrenii</i> Vitta	7 (41,17%)	5 (29,41%)	5 (29,41%)
<i>P. mierssi</i> Mast.	1 (5,88%)	11 (64,70%)	5 (29,41%)
<i>P. morifolia</i> Mast.	9 (52,94%)	-	8 (47,05 %)
<i>P. pedata</i> L.	9 (52,94%)	-	8 (47,05 %)
<i>P. porophylla</i> Vell	7 (41,17%)	7 (41,17%)	3 (17,64%)
<i>P. recurva</i> Mast.	9 (52,94%)	2 (11,76%)	6 (35,29%)
<i>P. rubra</i> L.	8 (47,05 %)	1 (5,88%)	8 (47,05 %)
<i>P. sidifolia</i> M. Roem	10 (58,82%)	-	7 (41,17%)
<i>P. triloba</i> Ruiz E Pav. Ex DC.	6 (35,29%)	3 (17,64%)	8 (47,05 %)
<i>P. villosa</i> Vell	7 (41,17%)	3 (17,64%)	7 (41,17%)
<i>P. biflora</i> Lam.	4 (23,52%)	2 (11,76%)	11 (64,70%)
<i>P. boticarioana</i> Cervi	6 (35,29%)	2 (11,76%)	9 (52,94%)
<i>P. cerasina</i> Annonay E Feuillet	5 (29,41%)	1 (5,88%)	11 (64,70%)
<i>P. cervii</i> M. L. M. Azevedo	4 (23,52%)	3 (17,64%)	10 (58,82%)
<i>P. chlorina</i> L. K. Escobar	4 (23,52%)	3 (17,64%)	10 (58,82%)
<i>P. edmundoi</i> Sacco	5 (29,41%)	2 (11,76%)	11 (64,70%)
<i>P. eichleriana</i> Mast	5 (29,41%)	-	12 (70,58%)

<i>P. elegans</i> Mast	4 (23,52%)	1 (5,88%)	12 (70,58%)
<i>P. gibertii</i> B. E. Br.	3 (17,64%)	4 (23,52%)	10 (58,82%)
<i>P. glandulosa</i> Cav.	3 (17,64%)	-	14 (82,35%)
<i>P. jilekii</i> Wawra	-	-	17 (100%)
<i>P. junqueirae</i> Imig E Cervi	5 (29,41%)	1 (5,88%)	11 (64,70%)
<i>P. lingularis</i> Juss.	6 (35,29%)	2 (11,76%)	9 (52,94%)
<i>P. luetzelburgii</i> Harms	4 (23,52%)	2 (11,76%)	11 (64,70%)
<i>P. mendocai</i> Harms	6 (35,29%)	-	11 (64,70%)
<i>P. micropetala</i> Mart.	3 (17,64%)	2 (11,76%)	12 (70,58%)
<i>P. odontophylla</i> Harms	4 (23,52%)	3 (17,64%)	10 (58,82%)
<i>P. picturata</i> Ker Gawl.	4 (23,52%)	3 (17,64%)	10 (58,82%)
<i>P. phoenicea</i> Lindl.	4 (23,52%)	3 (17,64%)	10 (58,82%)
<i>P. pohlii</i> Mast	3 (17,64%)	2 (11,76%)	12 (70,58%)
<i>P. quadriglandulosa</i> Rodschied	5 (29,41%)	-	12 (70,58%)
<i>P. racemosa</i> Brot.	4 (23,52%)	1 (5,88%)	12 (70,58%)
<i>P. rhaminiflora</i> Mast.	4 (23,52%)	3 (17,64%)	10 (58,82%)
<i>P. riparia</i> Mart. Ex Mast.	3 (17,64%)	6 (35,29%)	8 (47,05 %)
<i>P. saxicola</i> Gontsch	2 (11,76%)	4 (23,52%)	11 (64,70%)
<i>P. sclerophylla</i> Harms	3 (17,64%)	1 (5,88%)	13 (76,47%)
<i>P. setulosa</i> Killip	5 (29,41%)	2 (11,76%)	10 (58,82%)
<i>P. speciosa</i> Gardner	3 (17,64%)	2 (11,76%)	12 (70,58%)
<i>P. subrotunda</i> Mast.	3 (17,64%)	3 (17,64%)	11 (64,70%)
<i>P. tenuifila</i> J. C Mikan	5 (29,41%)	2 (11,76%)	10 (58,82%)
<i>P. tricuspis</i> Mast	4 (23,52%)	3 (17,64%)	10 (58,82%)
<i>P. variolata</i> Poepp. E Endl.	4 (23,52%)	3 (17,64%)	10 (58,82%)
BRS céu do cerrado	5 (29,41%)	1 (5,88%)	11 (64,70%)
BRS estrela do cerrado	5 (29,41%)	1 (5,88%)	11 (64,70%)
BRS gigante amarelo	5 (29,41%)	3 (17,64%)	9 (52,94%)
BRS maracujá jabuticaba	5 (29,41%)	1 (5,88%)	11 (64,70%)
BRS mel do cerrado	4 (23,52%)	2 (11,76%)	11 (64,70%)
BRS pérola do cerrado	3 (17,64%)	2 (11,76%)	12 (70,58%)
BRS rosa púrpura	1 (5,88%)	4 (23,52%)	12 (70,58%)
BRS roseflora	3 (17,64%)	-	14 (83,35%)
BRS rubi do cerrado	3 (17,64%)	1 (5,88%)	13 (76,47%)
BRS rubiflora	3 (17,64%)	1 (5,88%)	13 (76,47%)
BRS sol do cerrado	3 (17,64%)	-	14 (83,35%)
BRS vitta	3 (17,64%)	-	14 (83,35%)

## DISCUSSÃO

Conforme os resultados obtidos da caracterização e seleção dos iniciadores RGA para uso em espécies de *Passiflora* spp., foi possível destacar como bom e razoável os iniciadores 1 (S1 +NBSr1), 5 (S1 +As1), 7 (S1 + As3), 9 (NBSf1 + As1), 10 (NBSf1 + As3) e

17 (As1 + As3), devido ao desempenho em um maior número de espécies. Dentre as combinações de iniciadores selecionados para avaliação, o iniciador 17 (As1 + As3), foi utilizado por Maciel (2014) na caracterização de melão (*Cucumis melo* L.), porém não foi selecionado como um bom iniciador, entretanto, para espécies de maracujazeiros obteve-se percentual de amplificação considerado eficiente.

No estudo realizado por Paula et al (2010), foram utilizados seis combinações de iniciadores RGA em oito espécies de *Passiflora*, dos quais três foram caracterizados no presente estudo, sendo estes, combinação 2 (S2 + As1), 3 ( S2 + As2) e 15 (S2 + As3).

Além disso, para Paula et al. (2010) os iniciadores RGAs podem ser amplamente utilizados no estudo de diversas espécies. Destacando também, que a classe das combinações de iniciadores do tipo RGA possui potencial para estudos mais detalhados de caracterização genética de maracujazeiros. Podendo assim, contribuir na obtenção de material resistente a doenças, sistemas de caracterização de variedades e organização de bancos de germoplasma.

Em estudo realizado por Pereira (2012), 85% das combinações de iniciadores RGAs testados amplificaram nos variedades de maracujazeiro amarelo, além disso, para um total de 15 combinações de iniciadores, cinco apresentaram um maior número de regiões de leitura com nítida visualização, dentre essas estão as combinações S1 + NBSr1, S1 + AS1 e S1 + AS3, correspondentes à 1, 5 e 7 no presente estudo, as quais foram classificadas como Bom 'A'. Apenas as combinações de iniciadores S1 + As2 e RGA1f + RGA2r testadas por Pereira (2012), correspondentes à 6 e 11 nesse estudo, não apresentaram nenhum produto de amplificação. Em *P. setaceae* Pereira et al. (2015) testaram quatro combinações e obtiveram 100% de polimorfismo de alta qualidade. Essas reportagens evidenciam que a eficiência dos marcadores varia de acordo a planta, uma vez que para algumas espécies de maracujá, a amplificação com diferentes níveis de eficiência, afirmam que as combinações RGA são promissoras em estudos interespecíficos de *Passiflora*.

Para os 12 variedades (BRS), observou-se que a maioria dos iniciadores RGAs foram classificados como inadequados. De acordo Leister *et al.* (1996) os iniciadores RGAs são *primers* degenerados desenhados para marcar e sequenciar regiões conservadas NBS ("Nucleotide Binding Site"), o que auxilia na caracterização e manipulação de potenciais genes de resistência. Assim, infere-se que tal classificação, inadequada 'C', corresponda à expressão de genes de resistência dessas variedades para algum tipo de doença.

A seleção prévia de iniciadores tem sido empregada como etapa preliminar em estudos genéticos para diferentes espécies de plantas e animais. Exemplo dessa natureza, pode-se citar as pesquisas de Silva *et al* (2018); Pereira et al. (2015) e Pereira (2012), em que

avaliaram os mesmos iniciadores RGAs e ISSR utilizados no presente estudo para a investigação das espécies *Croton linearifolius* e *Passiflora*. No primeiro estudo, foram selecionados e caracterizados 14 combinações de iniciadores RGA e 16 iniciadores ISSR. Já no segundo estudo, os autores obtiveram 100% de polimorfismo para 12 populações de *P. setaceae*, em que tanto ISSR quanto RGA apresentaram alta eficiência na caracterização dos genótipos. Por último, o quarto estudo, comparou a genotipagem de 186 indivíduos de *Passiflora* spp. por meio dos marcadores AFLP, M-AFLP, SSR, TRAP e RGA e observaram que todos os tipos de marcadores moleculares apresentaram uma média de 20,3% de polimorfismo entre os genótipos parentais, sugerindo a mesma eficiência equipara entre eles.

Diante do exposto, os resultados apresentados na presente pesquisa, são muito importante para a caracterização e triagem genética para o maracujá. Uma vez que existem poucas pesquisas com combinações de RGA para a família passiflora, o que faz deste estudo pioneiro e eficiente para subsidiar futuros estudos no banco de germoplasma flor da paixão (SILVA *et al.*, 2018; PEREIRA *et al.*, 2015).

## **CONCLUSÃO**

Observou-se eficiência nas amplificações realizadas com as combinações de iniciadores RGA para estudos entre e intraespecífica no gênero *Passiflora* spp. Nesse sentido, estudos de seleção e caracterização de marcadores moleculares são de extrema importância para o estabelecimento de um acervo mais completo das sequências das combinações de iniciadores eficientes em estudo de espécies de *Passiflora*. Estudos dessa natureza podem contribuir para estudos de polimorfismo, estimativas de estrutura e diversidade genética, bem como na identificação e associação de alguns iniciadores com genes de resistência.

## **AGRADECIMENTOS**

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao programa de pós-graduação em Ciências Ambientais (PPGCA) pela concessão da bolsa de estudo.

## REFERÊNCIAS

- BARBOSA, N. C. S. ANATOMIA FOLIAR E DIVERSIDADE GENÉTICA EM PASSIFLORA SPP. (PASSIFLORACEAE L.) RESISTENTES AO COWPEA APHID-BORNE MOSAIC VIRUS (CABMV). Bahia, 120f. **Dissertação De Mestrado** (Genética E Biodiversidade). Ufba. P. 15-26. 2016.
- BELLON G., FALEIRO F.G., JUNQUEIRA K.P., JUNQUEIRA N.T.V., SANTOS E.C., BRAGA M.F., GUIMARÃES C.T. VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS SILVESTRES E COMERCIAIS DE PASSIFLORA EDULIS SIMS. COM BASE EM MARCADORES RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 29: 124-127, 2007.
- BERNACCI, L. C.; CERVI, A.C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A.; NUNES, T.S.; IMIG, D.C.; MEZZONATO, A.C. 2016. **PASSIFLORACEAE. IN: LISTA DE ESPÉCIES DA FLORA DO BRASIL**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: Acesso em: 13 Fev. 2017.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. MARCADORES MOLECULARES. IN: MELHORAMENTO DE PLANTAS. **4 Ed**. Viçosa: Ufv. Cap. 30, P. 441-463. 2005.
- CERVI, A.C.; IMIG, D.C. A NEW SPECIES OF PASSIFLORA (PASSIFLORACEAE) FROM MATO GROSSO DO SUL, BRAZIL. **PHYTOTAXA**. 103(1): 46-50, 2013.
- COSTA, A. M., TUPINAMBÁ, D. D. O MARACUJÁ E SUAS PROPRIEDADES MEDICINAIS – ESTADO DA ARTE. IN: FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V., BRAGA, M. F. (EDS.) MARACUJÁ: GERMOPLASMA E MELHORAMENTO GENÉTICO. Planaltina: **Embrapa Cerrados**, 475 – 508p, 2005.
- COSTA, J. L.; OLIVEIRA, E. J.; JESUS, O. N. DE; OLIVEIRA, G. A. F.; NEVES, C. G.; CASTRO, J. A. ESTUDO DE DIVERSIDADE GENÉTICA EM PASSIFLORA EDULIS SIMS COM O USO DE MARCADORES ISSR. **Embrapa Mandioca e Fruticultura (CNPMPF)**. 2010.
- FALEIRO, F. G. MARCADORES GENÉTICO-MOLECULARES APLICADOS A PROGRAMAS DE CONSERVAÇÃO E USO DE RECURSOS GENÉTICOS; PRINCIPAIS APLICAÇÕES DOS MARCADORES GENÉTICO-MOLECULARES NOS PROGRAMAS DE CONSERVAÇÃO E USO DE RECURSOS GENÉTICOS. Planaltina, Df: **Embapa Cerrado**. P.40-41. 2007.
- 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.
- FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **MARACUJÁ: DEMANDAS PARA A PESQUISA**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 54p. 2006.
- FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. **CARACTERIZAÇÃO DE GERMOPLASMA E MELHORAMENTO GENÉTICO DO MARACUJAZEIRO ASSISTIDOS POR MARCADORES MOLECULARES:**

**RESULTADOS DE PESQUISA 2005-2008.** Planaltina: Embrapa Cerrados, (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Nº 207), 59 p. 2008.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N.T. V.; BRAGA, M. F.; OLIVEIRA, E. J.; PEIXOTO, J. R., COSTA, A. M. Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro: histórico e perspectivas. Planaltina, DF: **Embrapa Cerrados**, 2011.

GONÇALVES, J. S.; SOUZA, S. A. M. FRUTA DA PAIXÃO: PANORAMA ECONÔMICO DO MARACUJÁ NO BRASIL. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.36, n.12, p.29-35, 2006.

JESUS, O. N.; MACHADO, C. F.; SOARES, T. L.; JUNGHANS, T. G.; OLIVEIRA, E. J.; FALEIRO, F. G. Recursos genéticos de Passiflora em Embrapa Mandioca e Fruticultura. Artigo em Anais: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE *PASSIFLORA*. 2013.

LEISTER, D.; BALLVORA, A.; SALAMINI, F. E GEBHARDT, C. A. A PCR-BASED APPROACH FOR ISOLATING PATHOGEN RESISTANCE GENES FROM POTATO WITH POTENTIAL FOR WIDE APPLICATION IN PLANTS. **Nature Genetics**, V.14, P.421-429, 1996.

MACIEL, C. C. DIVERSIDADE DE GENÓTIPOS DE MELÃO POR MEIO DE DESCRITORES MORFOLÓGICOS E MARCADOR RGA. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual De Santa Cruz. 2014.

MELETTI, L. M.M., SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; PASSOS, I. R. S.. MELHORAMENTO GENÉTICO DO MARACUJÁ: PASSADO E FUTURO. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. Maracujá: Germoplasma E Melhoramento Genético. Planaltina: Embrapa **Cerrados**, Pp.55-78. 2005.

PAULA, S. M. DA.; FONSECA, M. E. N. DE.; BOITEUX, L. S.; PEIXOTO, J. R. CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE ESPÉCIES DE *PASSIFLORA* POR MARCADORES MOLECULARES ANÁLOGOS A GENES DE RESISTÊNCIA. **Rev. Bras. Frut.**, Jaboticabal Sp. V 32, N 1, P 222-229, 2010.

PEREIRA, A. S. GENÉTICA E PÓS-MELHORAMENTO EM VARIEDADES DE MARACUJAZEIRO AMARELO: VARIABILIDADE ACESSADA POR FERRAMENTAS BIOMÉTRICAS E MOLECULARES. **Dissertação De Mestrado**. Universidade Estadual Santa Cruz (Uesc), Ilheus – Ba, 2012.

PEREIRA, D. A.; CORRÊA, R. X.; OLIVEIRA, A. C. Molecular genetic diversity and differentiation of populations of ‘somnus’ passion fruit trees (*Passiflora setacea* DC): Implications for conservation and pre-breeding. **Biochemical Systematics E Ecolog**, vol. 59 p.12-22. 2015

PINHEIRO, L.R. *ET AL.* GENETIC DIVERSITY AND POPULATION STRUCTURE IN THE BRAZILIAN CATTLEYA LABIATA (ORCHIDACEAE) USING RAPD AND ISSR MARKERS. **Plant Systematics and Evolution**, v. 12, p.1815-1828, 2012.

SILVA, T.S.S.; FREITAS, J.S.; DOS SANTOS, E.S.L.; CARDOSO, T.DOS.S.; CERQUEIRA-SILVA, C.B.M. CARACTERIZAÇÃO E SELEÇÃO DE MARCADORES

MOLECULARES EM *CROTON LINEARIFOLIUS*. Mull. Arg. Como Subsídio Para Estudos Genéticos. **Multi-Science Journal**, V. 1, N. 10, P. 4-8, 2018.

SOUSA, A. G. R.; SOUZA, M.M.; MELO, C.A.F.; SODRÉ, G.A. 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.

VIANA, A.P.; PEREIRA, T.N.S.; PEREIRA, M.G.; SOUZA, M.M.; ALDONADO, J.F.M.; AMARAL JR, A.T. GENETIC DIVERSITY AMONG YELLOW PASSION FRUIT COMERCIAL 76 GENOTYPES AND AMONG PASSIFLORA SPECIES USING RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.3, p. 489-493, 2003.

## APÊNDICE

**Tabela 4.** Classificação de 17 combinações de iniciadores RGAs de acordo o padrão de amplificação (bom, razoável e inadequado) utilizando 79 espécies e 12 variedades do gênero *Passiflora* spp.

ESPÉCIES	S1 + NBSr1	S2 + As1	S2 + As2	NBSf1 + As2	S1 + As1	S1 + As2	S1 + As3	NBSf1 + NBSr1	NBSf1 + As1
<i>P. alata</i> Curtis	Inadequado	Bom	Razoável	Bom	Razoável	Inadequado	Razoável	Bom	Bom
<i>P. cincinnata</i> Mast	Razoável	Bom	Inadequado	Razoável	Bom	Inadequado	Razoável	Inadequado	Bom
<i>P. edulis</i> Sims	Bom	Bom	Razoável	Bom	Bom	Inadequado	Razoável	Razoável	Bom
<i>P. foetida</i> L.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Razoável	Bom	Bom
<i>P. maliformis</i> Vell.	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom
<i>P. nitida</i> Kunth	Bom	Bom	Razoável	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom
<i>P. quadrangularis</i> L.	Bom	Bom	Razoável	Bom	Bom	Razoável	Razoável	Bom	Inadequado
<i>P. amethystina</i> J. C Mikan	Razoável	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom
<i>P. caerulea</i> L.	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Bom	Razoável	Bom
<i>P. organensis</i> Gardiner	Razoável	Bom	Razoável	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom
<i>P. quadrifaria</i> Vanderpl	Bom	Bom	Razoável	Bom	Bom	Razoável	Inadequado	Inadequado	Inadequado
<i>P. setacea</i> DC.	Bom	Bom	Razoável	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado	Razoável	Bom
<i>P. suberosa</i> L.	Razoável	Bom	Razoável	Bom	Razoável	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado
<i>P. tholozanii</i> Sacco	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Razoável	Inadequado	Inadequado	Razoável	Inadequado
<i>P. vitifolia</i> Kunth	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado	Razoável	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado
<i>P. actinia</i> Hook	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Razoável	Inadequado	Inadequado	Bom	Razoável
<i>P. ambigua</i> Hemsl.	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Razoável	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom
<i>P. capsularis</i> Lam.	Bom	Bom	Inadequado	Razoável	Bom	Razoável	Inadequado	Razoável	Bom
<i>P. coccinea</i> Aubl.	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom	Razoável	Inadequado	Inadequado	Bom
<i>P. ferruginea</i> Mast.	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Razoável	Razoável	Inadequado	Inadequado	Bom
<i>P. hatschbachii</i> Cervi	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Razoável	Inadequado	Inadequado	Bom
<i>P. malacophylla</i> Mast.	Razoável	Bom	Inadequado	Razoável	Bom	Razoável	Inadequado	Inadequado	Bom

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

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

<i>P. variolata</i> Poepp. <i>E</i> <i>Endl.</i>	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado
BRS céu do cerrado	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado
BRS estrela do cerrado	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado
BRS gigante amarelo	Bom	Inadequado	Razoável	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado
BRS maracujá jabuticaba	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado
BRS mel do cerrado	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Razoável	Inadequado	Inadequado
BRS pérola do cerrado	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Razoável	Inadequado	Inadequado	Inadequado
BRS rosa púrpura	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Razoável	Razoável	Razoável	Inadequado	Inadequado
BRS roseflora	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado
BRS rubi do cerrado	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Razoável	Inadequado	Inadequado
BRS rubiflora	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Razoável	Inadequado	Inadequado
BRS sol do cerrado	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado
BRS vitta	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado

<b>ESPÉCIES</b>	<b>NBSf1 + As3</b>	<b>RGA1f + RGA2r</b>	<b>RGA1f + RGA5r</b>	<b>RGA1f + RGA6r</b>	<b>RGA1f + RGA8r</b>	<b>S2 + As3</b>	<b>As1 + As2</b>	<b>As1 + As3</b>
<i>P. alata</i> Curtis	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. cincinnata</i> Mast	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. edulis</i> Sims	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom
<i>P. foetida</i> L.	Bom	Razoável	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. maliformis</i> Vell.	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. nitida</i> Kunth	Razoável	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. quadrangularis</i> L.	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. amethystina</i> J. C Mikan	Bom	Bom	Razoável	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Bom
<i>P. caerulea</i> L.	Bom	Razoável	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. organensis</i> Gardiner	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. quadrifaria</i> Vanderpl	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom
<i>P. setacea</i> DC.	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom	Bom

<i>P. suberosa</i> L.	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Razoável	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. tholozanii</i> Sacco	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. vitifolia</i> Kunth	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. actinia</i> Hook	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. ambigua</i> Hemsl.	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. capsularis</i> Lam.	Bom	Razoável	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. coccinea</i> Aubl.	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom
<i>P. ferruginea</i> Mast.	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Razoável	Inadequado	Inadequado	Razoável
<i>P. hatschbachii</i> Cervi	Razoável	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom
<i>P. malacophylla</i> Mast.	Inadequado	Bom	Inadequado	Inadequado	Razoável	Inadequado	Inadequado	Bom
<i>P. mucronata</i> Lam.	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Razoável
<i>P. trintae</i> Sacco	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Razoável	Bom
<i>P. vespertilio</i> L.	Inadequado	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom
<i>P. araujoii</i> Sacco	Bom	Inadequado	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. auriculata</i> Kunth	Bom	Inadequado	Inadequado	Razoável	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. bahiensis</i> Klotzsch	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. capparidifolia</i> Killip	Bom	Inadequado	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. cerradensis</i> Sacco	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. galbana</i> Mast.	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. gardineri</i> Mast.	Inadequado	Razoável	Bom	Bom	Inadequado	Bom	Razoável	Bom
<i>P. haematostigma</i> Mart. Ex Mast.	Bom	Inadequado	Bom	Inadequado	Inadequado	Razoável	Razoável	Bom
<i>P. hypoglauca</i> Harms	Razoável	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. incarnata</i> L.	Inadequado	Inadequado	Bom	Razoável	Inadequado	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. kermesina</i> Link E Otto	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Bom
<i>P. laurifolia</i> L.	Bom	Inadequado	Inadequado	Razoável	Inadequado	Bom	Bom	Bom
<i>P. loefgrenii</i> Vitta	Bom	Inadequado	Razoável	Bom	Inadequado	Razoável	Bom	Razoável
<i>P. mierssi</i> Mast,	Razoável	Razoável	Razoável	Razoável	Inadequado	Bom	Razoável	Inadequado
<i>P. morifolia</i> Mast.	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Bom	Inadequado	Bom
<i>P. pedata</i> L.	Bom	Bom	Bom	Inadequado	Inadequado	Inadequado	Bom	Inadequado







<b>NBSf1 + As2</b>	X		x	x	x	x	x	x										
<b>S1 + As1</b>	X	X	x	x	x			x	x	X	x	x	x	x	x	x	x	x
<b>S1 + As2</b>	X	X	x	x	x	x	x	x	x	X			x	x				x
<b>S1 + As3</b>								x	x	X	x	x	x	x	x	x	x	x
<b>NBSf1+NBSr1</b>	X						x						x	x	x	x	x	x
<b>NBSf1+As1</b>	X	X	x	x	x	x	x				x	x		x	x	x	x	x
<b>RGA1f + As3</b>	X	X	x	x			x			X	x		x	x	x			x
<b>RGA1f + RGA2r</b>	X		x	x				x										x
<b>RGA1f + RGA5r</b>										X			x					x
<b>RGA1f + RGA6r</b>											x		x		x	x		
<b>RGA1f + RGA8r</b>	X	X	x	x	x													
<b>S2 + As3</b>	X						x			X	x	x	x	x	x	x	x	x
<b>As1 + As2</b>								x									x	x
<b>As1 + As3</b>	X	X	x	x	x	x	x	x	x	X	x	x	x	x	x	x	x	x

COMBINAÇÕES	*ESPÉCIES																	
	PI1	PK1	PL1	PL2	PM4	PM5	PP1	PP2	PR1	PR2	PS3	PT3	PV3	PB2	PB3	PC7	PC8	PC9
<b>S1 + NBSr1</b>	x	X	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<b>S2 + As1</b>																x	x	x
<b>S2 + As2</b>	x	X			x			x			x							
<b>NBSf1 + As2</b>																		
<b>S1 + As1</b>	x	X	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<b>S1 + As2</b>		X	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
<b>S1 + As3</b>	x	X	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<b>NBSf1+NBSr1</b>	x	X		x	x			x				x	x	x				
<b>NBSf1+As1</b>	x	X		x	x	X	x	x	x	x	x	x	x		x			
<b>RGA1f + As3</b>			x	x	x	X	x	x		x	x	x	x		x		x	x
<b>RGA1f + RGA2r</b>					x		x		x	x		x						x

<b>RGA1f + RGA5r</b>	x	X		x	x		x	x	x			x					
<b>RGA1f + RGA6r</b>	x		x	x	x			x	x		x	x					
<b>RGA1f + RGA8r</b>						X		x									
<b>S2 + As3</b>	x	X	x	x	x	X		x	x		x						x
<b>As1 + As2</b>		X	x	x	x		x	x	x	x	x						
<b>As1 + As3</b>	x	X	x	x		X		x	x	x	x		x	x	x	x	x

COMBINAÇÕES	*ESPÉCIE													
	PE2	PE3	PE4	PG2	PG3	PJ1	PJ2	PL3	PL4	PM6	PM7	PO2	PP3	
<b>S1 + NBSr1</b>	X	x	x	X	x		X	x	x	x	x	x	x	
<b>S2 + As1</b>				X										
<b>S2 + As2</b>														
<b>NBSf1 + As2</b>														
<b>S1 + As1</b>	X	x	x	X	x		X	x	x	x	x	x	x	
<b>S1 + As2</b>	X	x					X	x	x	x	x	x	x	
<b>S1 + As3</b>	x	x	x	X	x		X	x	x	x	x	x	x	
<b>NBSf1+NBSr1</b>				X				x	x			x		
<b>NBSf1+As1</b>	x						X	x		x		x	x	
<b>RGA1f + As3</b>			x	X									x	
<b>RGA1f + RGA2r</b>								x						
<b>RGA1f + RGA5r</b>														
<b>RGA1f + RGA6r</b>														
<b>RGA1f + RGA8r</b>														
<b>S2 + As3</b>														
<b>As1 + As2</b>														
<b>As1 + As3</b>	x	x	x	X			X	x	x	x	x	x	x	

COMBINAÇÕES	*ESPÉCIE														Total
	PP4	PP5	PQ3	PR3	PR4	PR5	PS4	PS5	PS6	PS7	PS8	PT4	PT5	PV3	
S1 + NBSr1	x	x	x	x	X	x	x	X	x	x	x	x	x	x	77
S2 + As1						x									33
S2 + As2															17
NBSf1 + As2															22
S1 + As1	x	x	x	x	X	x	x	X	x	x	x	x	x	x	77
S1 + As2	x	x	x	x		x	x		x			x	x	x	51
S1 + As3	x	x	x		X	x	x	X		x	x	x	x	x	61
NBSf1+NBSr1															35
NBSf1+As1	x			x	X			X	x	x	x	x			52
RGA1f + As3	x				X				x		x				49
RGA1f + RGA2r					X		x		x			x	x	x	28
RGA1f + RGA5r						x							x	x	17
RGA1f + RGA6r															13
RGA1f + RGA8r															20
S2 + As3						x									36
As1 + As2															14
As1 + As3	x	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 E 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 E Pav. Ex DC.; **PV3**: *P. villosa* Vell.; **PB2**: *P. biflora* Lam.; **PB3**: *P. boticarioana* Cervi; **PC7**: *P. cerasina* Annonay E 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 E 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* Roodschied; **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. tricuspis* Mast.; **PV3**: *P. variolata* Poepp. E 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.	4	<i>Passiflora</i>	PM GP CPAC	Alimentícia/Medicinal
8	<i>P. amethystina</i> J. C Mikan		<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/	
12	<i>P. setacea</i> DC.		<i>Passiflora</i>	Tapiramutá - BA	Medicina popular
13	<i>P. suberosa</i> L.		<i>Decaloba</i>	Brasília - DF/ Roraíma	

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.		<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	3	<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. araujoi</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.	2	<i>Astrophea</i>	Natividade - TO/ Caeté - MG	
34	<i>P. hypoglauca</i> Harms		<i>Passiflora</i>	Ouro Preto - MG	Alimentícia/Medicinal/Ornamental/I ndustrial
35	<i>P. incarnata</i> L.		<i>Passiflora</i>	São Paulo	Ornamental
36	<i>P. kermesina</i> Link E Otto		<i>Passiflora</i>	São José do Laranjal - MG	Alimentícia/Medicinal/Ornamental
37	<i>P. laurifolia</i> L.		<i>Passiflora</i>	Distrito Federal/ Picos - PI	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 E 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>Passiflora</i>	-	
50	<i>P. cerasina</i> Annonay E Feuillet		<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.	1	<i>Passiflora</i>	Belém - PA	
58	<i>P. jilekii</i> Wawra		<i>Passiflora</i>	-	
59	<i>P. junqueirae</i> Imig E Cervi		<i>Passiflora</i>	Caparaó - MG	
60	<i>P. ligularis</i> Juss.		<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>Decaloba</i>	Planaltina, Brasília - DF	

68	<i>P. quadriglandulosa</i> Rodschied	<i>Passiflora</i>	Cáceres - MT	
69	<i>P. racemosa</i> Brot.	<i>Passiflora</i>	Búzios - RJ	Alimentícia/Ornamental
70	<i>P. rhamniiflora</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. E 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

Periódico pretendido para submissão: *Euphytica*

### CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE ACESSOS COMERCIAIS E SILVESTRES DE *Passiflora* spp. BASEADO EM MARCADORES RGA

Larissa Neres Barbosa de Souza<sup>1</sup>, Nátilla Deyse Souza Costa Dias<sup>2</sup>, Lucas Amorim Silveira<sup>3</sup>, Rafaela Almeida Soares<sup>4</sup>, Thamires Oliveira dos Santos<sup>5</sup>, Elisa Susilene Lisboa dos Santos<sup>6</sup>, Fábio Gelape Faleiro<sup>7</sup>, Thalana Souza Santos Filho<sup>8</sup>, Messulan Rodrigues Meira<sup>9</sup>, Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva<sup>10</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, BA, 45700-000; <sup>2</sup>Departamento 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:** Considerando a ampla variabilidade observada no gênero *Passiflora*, pouco se conhece acerca da diversidade genética da maioria das espécies deste gênero. Entretanto, tais informações são de suma importância para a implementação de estratégias de conservação e melhoramento genético. Para tanto, foi avaliada a diversidade e estrutura genética em espécies comerciais e silvestres de *Passiflora*, totalizando 178 acessos, a partir da análise do perfil de amplificação de 17 combinações de iniciadores RGA (*Resistance Gene Analogs*) selecionados previamente. Os resultados foram analisados considerando os critérios estabelecidos, sendo que no critério I avaliou-se a presença ou ausência do loco na imagem do gel, sem considerar o número de locos gerados por cada combinação de iniciadores, enquanto no critério II foi avaliada a presença ou ausência do loco na imagem do gel, porém considerando o número de locos gerados por cada combinação de iniciadores. De acordo com os resultados do critério I, foi possível constatar sete combinações de iniciadores RGA com números relevantes da presença de locos. Com base no critério II, verificou-se que os iniciadores RGA obtiveram 100% de marcadores moleculares polimórficos. A análise Bayesiana indicou como mais provável a estruturação em dois pools gênicos  $k=2$  e subestruturação menos provável em 5 pools gênicos  $k=5$  (escore Delta  $k \sim 550$  e  $k \sim 50$ , respectivamente). Com base na análise molecular de variância (AMOVA) foi possível verificar para o critério I e II maior diversidade dentre os subgêneros e variedades avaliados, o que indica baixa estruturação genética entre eles. Para além, as Análises de coordenadas principais (PCoA), mostraram ampla distribuição dos acessos avaliados também nos dois critérios, indicando, assim como os dados da AMOVA baixa estruturação, a associação dessas análises podem ser sustentadas pela riqueza existente no gênero *Passiflora*. Os iniciadores do tipo RGA apresentaram dados polimórficos, informativos e eficientes.

**Palavras-chave:** diversidade genética, maraujazeiros, recurso genético

## INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* é o mais importante da família abrangendo cerca de 525 espécies (CERVI; IMIG, 2013), além disso, dispõe de ampla variabilidade inter e intraespecífica (NUNES e QUEIROZ, 2006; VIANA, 2009). O Brasil é o detentor de grande diversidade de *Passifloras*, sendo considerando um dos centros de origem do gênero, com amplo acervo de espécies distribuídas e conservadas em bancos de germoplasma (MELETTI, 2011; MELETTI *et al.* 2005). Dentre as espécies descritas para esse gênero, aproximadamente 150 são encontradas no Brasil, sendo 87 endêmicas (BERNACCI *et al.*, 2016; NUNES e QUEIROZ, 2006; VIANA, 2009).

As doenças e pragas que acometem a cultura do maracujazeiro estão entre os fatores que mais ameaçam a expansão e a própria manutenção da produção de maracujá (JUNQUEIRA *et al.* 2005).

As espécies de *Passiflora* silvestres existentes no Brasil possuem características de interesse que podem ser introduzidas nas espécies comerciais, através do melhoramento genético (JUNQUEIRA *et al.* 2007). Espécies silvestres do gênero *Passiflora* como, *P. laurifolia*, *P. nitida*, *P. tenuifilla*, *P. mucronata*, *P. giberti*, *P. amethystina*, *P. quadrangularis*, *P. setacea*, *P. coccinea*, *P. caerulea*, entre outras, dispõe com base em estudos preliminares, variabilidade para resistência às principais doenças do maracujazeiro (CUNHA *et al.* 2002, SANTOS FILHO E JUNQUEIRA, 2003).

Acessos resistentes a doenças, como, antracnose, bacteriose, virose do endurecimento dos frutos e fusariose, dentre outras, foram identificados em várias espécies silvestres de *Passiflora* (JUNQUEIRA *et al.* 2005). Assim, os programas de melhoramento com espécies de *Passiflora*, visam à obtenção de variedades e/ou variedades resistentes a doenças e pragas. Essas características são obtidas por meio da introdução de genes de resistência múltipla nas espécies de interesse econômico, produzindo assim, híbridos interespecíficos, o que pode potencializar o uso de recursos naturais, contribuindo na diminuição do uso de defensivos agrícolas (CROCHEMORE *et al.* 2003; MEDEIROS *et al.* 2009).

Devido à diversidade e importância econômica, diversos estudos estão sendo realizados na caracterização genética no gênero *Passiflora*, mediante diferentes marcadores moleculares (BARBOSA, 2016). Os marcadores RGAs acessam regiões conservadas presentes em genes de resistência, podendo assim, se apresentar como uma ferramenta útil para diferentes abordagens genéticas (HAMMOND-KOSACK E JONES, 1997). Esses

marcadores possibilitam obter polimorfismo entre distintos acessos de uma mesma espécie e/ou gênero, podendo contribuir em sistemas de caracterização genética de acessos e variedades (HAMMOND-KOSACK E JONES, 1997). Além disso, os marcadores RGA são pouco utilizados em estudos com o gênero *Passiflora* a exemplo dos estudos de Paula et al (2010) e Pereira (2012), ou seja, dados provenientes desse marcador molecular pode gerar novas informações a respeito destas espécies.

Diante das questões apresentadas, objetivou-se com o trabalho caracterizar as espécies do gênero *Passiflora* mediante marcadores RGAs para obter informações da distribuição genética entre diferentes espécies de maracujazeiro, de forma a contribuir e subsidiar programas de conservação e melhoramento genético.

## **MATERIAIS E METODOS**

### **Coleta de DNA e armazenamento das amostras**

O experimento foi realizado em parceria com o Centro de Pesquisa Agropecuária Cerrados (CPAC) de Brasília-DF. Um total de 178 acessos composto de 79 espécies e 12 variedades foram selecionados do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) “Flor da Paixão” da Embrapa Cerrados para o estudo (Tabela 6; Apêndice I).

O DNA genômico desses acessos foi extraído pelo método *Cationic Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB) de acordo Faleiro *et al.* (2003) e quantificados por espectrofotometria utilizando o equipamento NanoDrop®. De posse do material genômico, esse foi diluído nas concentrações de 100µl à 50ng e condicionado em freezer -20 até o momento do transporte para o Laboratório de Genética Molecular Aplicada (LGMA), da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), *Campus* Itapetinga-Ba, onde foi realizado a caracterização genética.

### **Genotipagem com marcadores moleculares**

Para os ensaios de amplificação foram utilizadas 17 combinações dos iniciadores RGAs (*Resistance Genes Analog*) (Tabela 1), previamente avaliadas para espécies do gênero *Passiflora* spp. (PEREIRA, 2012; PAULA et al., 2010) e para *Cucumis melo* L. (MACIEL, 2014).

**Tabela 1.** Descrição das combinações de iniciadores RGA (*Resistance Genes Analog*) selecionadas previamente para uso no gênero *Passiflora*

COMBINAÇÃO	INICIADORES	SEQUÊNCIA 5' - 3'
1	S1	GGTGGGGTTGGGAAGACAACG
	NBSr1	GGTGGGGTTGGGAAGACAACGYCT
2	S2	GGIGGIGTIGGIAAIACIAC
	As1	CAAGGCTAGTGGCAATCC
3	S2	GGIGGIGTIGGIAAIACIAC
	As2	IAAIGCIAGIGGIAAICC
4	NBSf1	GGAATGGGNGGNGTNGGNAARAC
	As2	IAAIGCIAGIGGIAAICC
5	S1	GGTGGGGTTGGGAAGACAACG
	As1	CAAGGCTAGTGGCAATCC
6	S1	GGTGGGGTTGGGAAGACAACG
	As2	IAAIGCIAGIGGIAAICC
7	S1	GGTGGGGTTGGGAAGACAACG
	As3	IAGIGCIAGIGGIAGICC
8	NBSf1	GGAATGGGNGGNGTNGGNAARAC
	NBSr1	GGTGGGGTTGGGAAGACAACGYCT
9	NBSf1	GGAATGGGNGGNGTNGGNAARAC
	As1	CAAGGCTAGTGGCAATCC
10	NBSf1	GGAATGGGNGGNGTNGGNAARAC
	As3	IAGIGCIAGIGGIAGICC
11	RGA1f	AGTTTATTATTYSATTGCT
	RGA2r	CACACGGTTTAAAATTCTCA
12	RGA1f	AGTTTATTATTYSATTGCT
	RGA5r	TCAATCATTCTTTGCACAA
13	RGA1f	AGTTTATTATTYSATTGCT
	RGA6r	AACTACATTCTTTGCAAGT
14	RGA1f	AGTTTATTATTYSATTGCT
	RGA8r	CCGAAGCATAAGTTGGTG
15	S2	GGIGGIGTIGGIAAIACIAC
	As3	IAGIGCIAGIGGIAGICC
16	As1	CAAGGCTAGTGGCAATCC
	As2	IAAIGCIAGIGGIAAICC
17	As1	CAAGGCTAGTGGCAATCC
	As3	IAGIGCIAGIGGIAGICC

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

As reações de amplificação foram realizadas no LGMA da UESB. As quais foram conduzidas em volume de 16 µL, contendo 8 µL de DNA à 2 ng, 1 µL de cada iniciador RGA,

0,11 µL Taq DNA Polimerase, 1 µL do mix de dNTP, 1 µL de Cloreto de Magnésio (MgCl<sub>2</sub>), 1,7 de Tampão 10X e 2,19 de água milli-Q.

As reações de amplificação foram realizadas adotando o programa adequado para os iniciadores RGA que consistiram de 34 ciclos após desnaturação inicial 95°C por 5 minutos. Cada ciclo consistiu de 30 segundos a 95°C, 1 minuto a 37°C, 1 minuto e 20 segundos a 72°C. Ao final de 34 ciclos, foi realizada uma extensão final de 10 minutos a 72°C. A reação de PCR para todos os iniciadores RGA foram realizados em termociclador Applied Biosystems® – Veriti® 96-Well Thermal Cycler. Os produtos de amplificação foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2% (m/v), utilizando tampão de corrida TBE-0.5X, em uma voltagem de 120 por 2 horas. O DNA do fago lambda Invitrogen®(λ) de 100 bp foi usado como marcador de peso molecular. Os géis foram corados com 2% p/v do intercalante Gel Red Invitrogen®, visualizados sob luz UV e fotodocumentados em câmera digital, acoplada em fotodocumentador Gel Logic 112 IMAGING – KODAK.

### **Estimativa de diversidade genética**

De posse da imagem dos géis e com base nos padrões de amplificação foram adotados dois critérios para as análises:

(I) Critério 1: Avaliação do padrão de amplificação das 17 combinações de iniciadores RGA, com base na identificação da presença ou ausência do loco na imagem do gel, sem considerar o número de locos gerados por cada combinação de iniciadores. Nessa análise foi considerada a avaliação das espécies, sem considerar os acessos, sendo 79 espécies e 12 variedades, totalizando 91 acessos, distribuídos no: subgênero *Astrophea* com 5 espécies, *Decaloba* com 15, *Passiflora* com 59 e as Variedades com 12 BRS.

(II) Critério 2: Avaliação do padrão de amplificação das 17 combinações de iniciadores RGA, com base na identificação da presença ou ausência do loco na imagem do gel, considerando o número de locos gerados por cada combinação de iniciadores. Nessa análise foram consideradas todos os acessos, totalizando 178, distribuídos no: subgênero *Astrophea* com 7 espécies, *Decaloba* com 31, *Passiflora* com 128 e as Variedades com 12 BRS.

A partir dos critérios I e II, foi obtido a análise da variabilidade com base na estrutura genética. Para a estimativa da diversidade genética foi utilizado o software GENALEX onde

foram geradas as Análises de Coordenadas Principais (PCoA) utilizando o coeficiente de JACCARD (PEAKALL E SMOUSE, 2012). Foram realizadas análises de estimativa da estrutura populacional adotando o método Bayesiano implementado no software STRUCTURE (PRITCHARD *et al.* 2000). Sobretudo, adotando critérios de análises já padronizados pelo grupo de pesquisa BioGen em estudos anteriores, respeitando assim, a particularidade do marcador utilizado (CERQUEIRA-SILVA *et al.*, 2014). Após foi realizada a determinação do K mais provável, mediante a metodologia ad hoc (EVANNO *et al.*, 2005).

## RESULTADOS

Com base nos critérios I e II, os acessos investigados nesse estudo estão distribuídos em 3 subgêneros (*Astrophea*, *Decaloba* e *Passiflora*) e em um grupo formado pelas variedades BRS (Tabela 2). De posse dessa distribuição, observou-se que as espécies alocadas nos diferentes subgêneros, bem como as variedades BRS, pertencem a grupos distintos.

Nessa avaliação, observou-se que dentre as 17 combinações dos iniciadores RGA (*Resistance Genes Analog*), pode-se destacar as combinações 1, 5, 6, 7, 9, 10 e 17 como, aquelas que obtiveram o maior número e/ou percentual da presença do loco (>50 marcas). Além disso, foi possível avaliar as combinações por subgênero e variedade, as quais obtiveram dados distintos, onde o subgênero *Passiflora* apresentou maior número de presença de loco.

**Tabela 2.** Tabela construída a partir do critério I, avaliando a presença ou ausência do loco nas espécies dos subgêneros e variedades, para as 17 combinações dos iniciadores RGA (*Resistance Genes Analog*)

Combinações	*Subgênero 1	*Subgênero 2	*Subgênero 3	Variedades	Total
1	5 (100%)	15 (100%)	57 (96,6%)	12 (100%)	89 (97,8%)
2	1 (20%)	7 (46,6%)	25 (42,3%)	0	33 (36,2%)
3	0	3 (20%)	14 (23,7%)	1 (8,3%)	18 (19,7%)
4	0	5 (33,3%)	17 (28,8%)	0	22 (24,1%)
5	5 (100%)	15 (100%)	57 (96,6%)	12 (100%)	89 (97,8%)
6	2 (40%)	13 (86,6%)	36 (61%)	7 (58,3%)	58 (63,7%)
7	5 (100%)	11 (73,3%)	45 (76,2%)	8 (66,6%)	69 (75,8%)
8	2 (40%)	5 (33,3%)	28 (47,4%)	0	35 (34%)
9	4 (80%)	7 (46,6%)	41 (69,4%)	0	52 (57,1%)
10	4 (80%)	9 (60%)	36 (61%)	0	49 (53,8%)
11	2 (40%)	5 (33,3%)	21 (35,5%)	6 (50%)	34 (37,3%)

12	1 (20%)	2 (13,3%)	14 (23,7%)	2 (16,6%)	19 (20,8%)
13	0	2 (13,3%)	11 (18,6%)	0	13 (14,2%)
14	0	6 (40%)	14 (23,7%)	0	20 (21,9%)
15	3 (60%)	6 (40%)	27 (45,7%)	0	36 (39,5%)
16	1 (20%)	2 (13,3%)	11 (18,6%)	0	14 (15,3%)
17	4 (80%)	15 (100%)	54 (91,5%)	11 (95,6%)	84 (92,3%)
Total	31	107	446	48	
Média	1,8 (5,7%)	6,3 (5,8%)	26,2 (5,9%)	2,8 (5,8%)	

\*Subgênero 1: *Astrophea*; \*Subgênero 2: *Decaloba*; \*Subgênero 3: *Passiflora*

De acordo com os dados construídos com base no critério II (Tabela 3), foi possível observar um total de 506 marcadores gerados após as reações de amplificação em 178 acessos de *Passiflora* spp. Esses 506 marcadores foram distribuídos da seguinte forma: 74 para o subgênero *Astrophea*, 146 para o subgênero *Decaloba*, 243 para o subgênero *Passiflora* e 43 para as variedades.

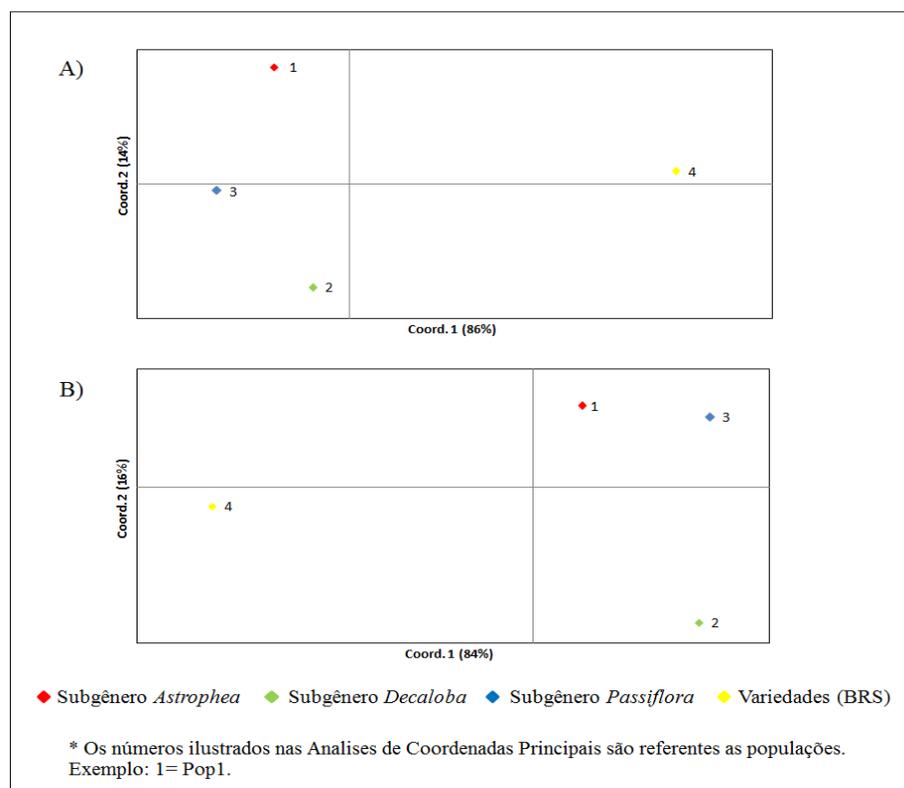
**Tabela 3.** Tabela construída a partir do critério II, avaliando os marcadores moleculares gerados através das 17 combinações de iniciadores RGA (*Resistance Genes Analog*) nos subgêneros e variedades, assim como o percentual de polimorfismo dos mesmos

Combinações	*Subgênero 1	*Subgênero 2	*Subgênero 3	Variedades	*Total
1	8	13	17	11	17
2	4	17	25	0	25
3	0	4	8	1	11
4	0	8	9	0	11
5	13	16	17	9	18
6	6	13	16	5	16
7	5	7	10	3	13
8	4	8	15	0	15
9	8	13	19	0	19
10	6	7	17	0	17
11	3	4	17	1	18
12	2	2	9	1	11
13	0	3	8	0	8
14	1	6	16	0	17
15	4	11	15	0	16
16	1	6	8	0	9
17	9	8	17	12	20
Total	31	107	446	48	506
%	(28,2%)	(55,7%)	(92,7%)	(16,2%)	

\*Subgênero 1: *Astrophea*; \*Subgênero 2: *Decaloba*; \*Subgênero 3: *Passiflora*; \*Total: Total de marcadores moleculares.

Após triagem dos dados, verificou-se que 100% dos iniciadores RGA foram polimórficos. As 17 combinações de iniciadores RGAs utilizadas produziram o maior número de marcadores para o subgênero *Passiflora*, totalizando 446 marcas (Tabela 3). Cujo resultado é devido ao fato de o subgênero abranger o maior número de espécies com conseqüente diversidade genética.

A diversidade genética entre os acessos com base nos critérios estabelecidos pode ser observada na análise da componente principal (PCoA) (Figura 1).



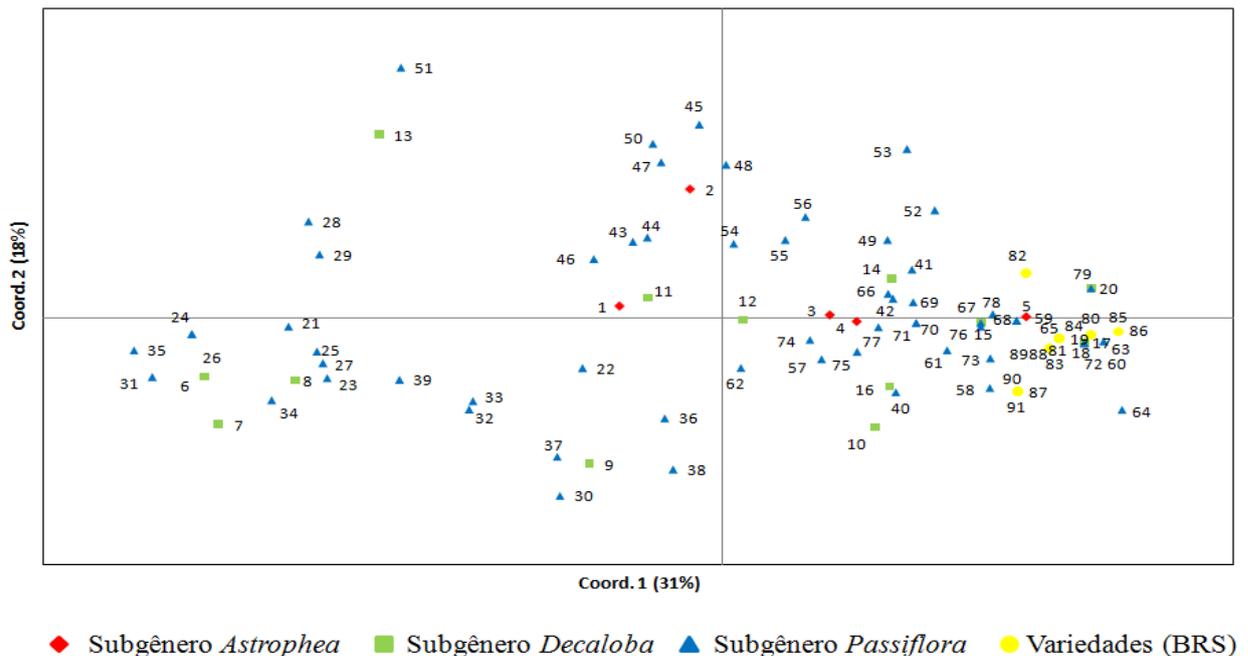
**Figura 1.** Análise de Coordenadas Principais considerando a distribuição genética dos subgêneros e variedades de forma agrupada. A) Considerando o critério I. B) Considerando o critério II.

A distribuição genética observada na PCoA, é referente aos subgêneros e variedades de forma isolada. Embora a PCoA ilustre a distribuição dos mesmos elementos, que por vez, estão bem dispersos na imagem, os resultados observados são distintos. As quatro populações referem aos três subgêneros e a variedade BRS, enfatizam que existe uma ampla distribuição genética. Ao analisar os gráficos de acordo os critérios I (gráfico A) e II (gráfico B) (Figura 1), observou-se que os subgêneros estão mais próximos entre si, enquanto as variedades mais

distantes. Uma explicação para esse resultado pode ser devido às modificações realizadas pelo melhoramento genético nas variedades. Portanto, o melhoramento revela que embora a distribuição genética aponte similaridade entre os acessos, esses estão distantes geneticamente de seus genitores.

A princípio, os critérios I e II foram estabelecidos para determinar qual dos dois critérios apresentaria o melhor arranjo para os estudos de distribuição e diversidade genética.

Ao considerar o critério I, a PCoA mostrou que existe uma ampla diversidade entre os acessos (Figura 2). E que a diversidade observada está majoritariamente distribuída no subgênero *Passiflora L.* com 59 acessos, seguida dos subgêneros *Decaloba* e *Astrophea* com 15 e 5 acessos. Além dos subgêneros, as 12 variedades (BRS), híbridos do gênero *Passiflora* que também foram inseridas análise.



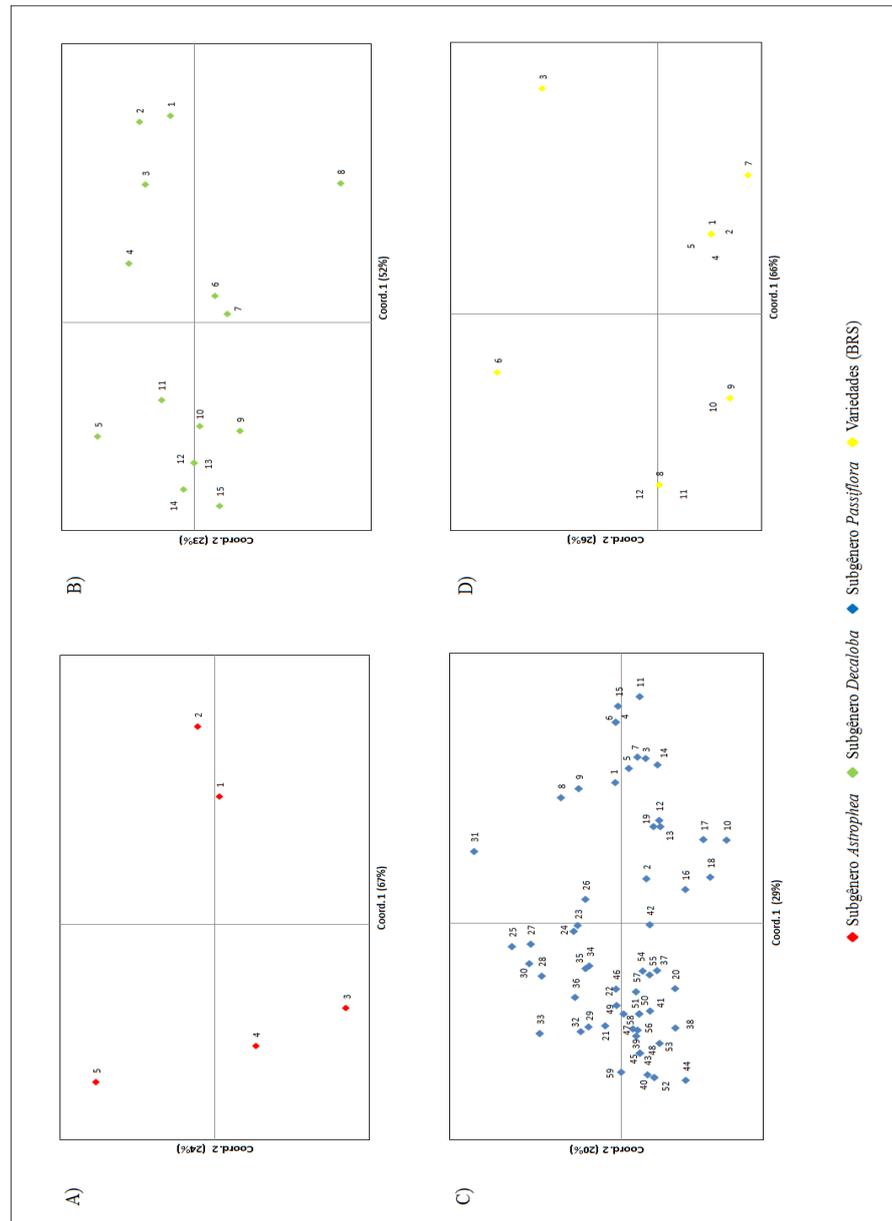
**Figura 2.** Análise de Coordenadas Principais considerando o critério I, sendo 91 acessos de *Passiflora* spp. mediante iniciadores RGA (*Resistance Genes Analog*). As espécies foram enumeradas de acordo ao acesso e identificadas de acordo ao subgênero que pertencem, como consta na legenda, esses dados estão presentes na Tabela 6 do apêndice.

O fato de os acessos terem ocupado os quatro quadrantes do histograma, mostra que existe uma grande diversidade genética entre os gêneros da família Passifloraceae. Pode-se destacar na Figura 2 que as Variedades (80 ao 91) estão próximas quanto à sua distribuição. Essa distribuição já era esperada devido à sua estruturação em espécies hibridadas.

Considerando a hibridação interespecífica, é possível observar que muitas espécies de gêneros distintos estão próximas geneticamente. Tal observação é muito importante para subsidiar diretamente programas de melhoramento e indiretamente programas de conservação genética. Uma vez que, espécies geneticamente próximas possuem maior compatibilidade genética, dispondo de recursos para possíveis processos de hibridação que podem gerar variedades de interesse agrônomico. Além disso, esse resultado revela baixo nível de estruturação, o que evidencia a existência de fluxo gênico entre as espécies.

Ainda na figura 2, pode-se observar 2 que espécies inseridas no subgênero *Passiflora* como, *P. alata* (21), *P. setacea* (31), *P. edulis* (23) e *P. coccinea* (26) dentre outras, estão próximas entre si. O que justifica a utilização das espécies desse subgênero como matrizes para procedimento de hibridação. Assim, contribuindo para obtenção de híbridos com descritores agrônomicos potenciais.

Na Figura 3, é possível observar separadamente a diversidade genética dos três subgêneros: *Astrophea* (A), *Decaloba* (B) e *Passiflora* (C) e das variedades BRS (D). Cujos acessos estão bem distribuídos geneticamente. A distribuição apresentada nestes quatro histogramas, é muito importante para a manutenção e perpetuação evolutiva das espécies.

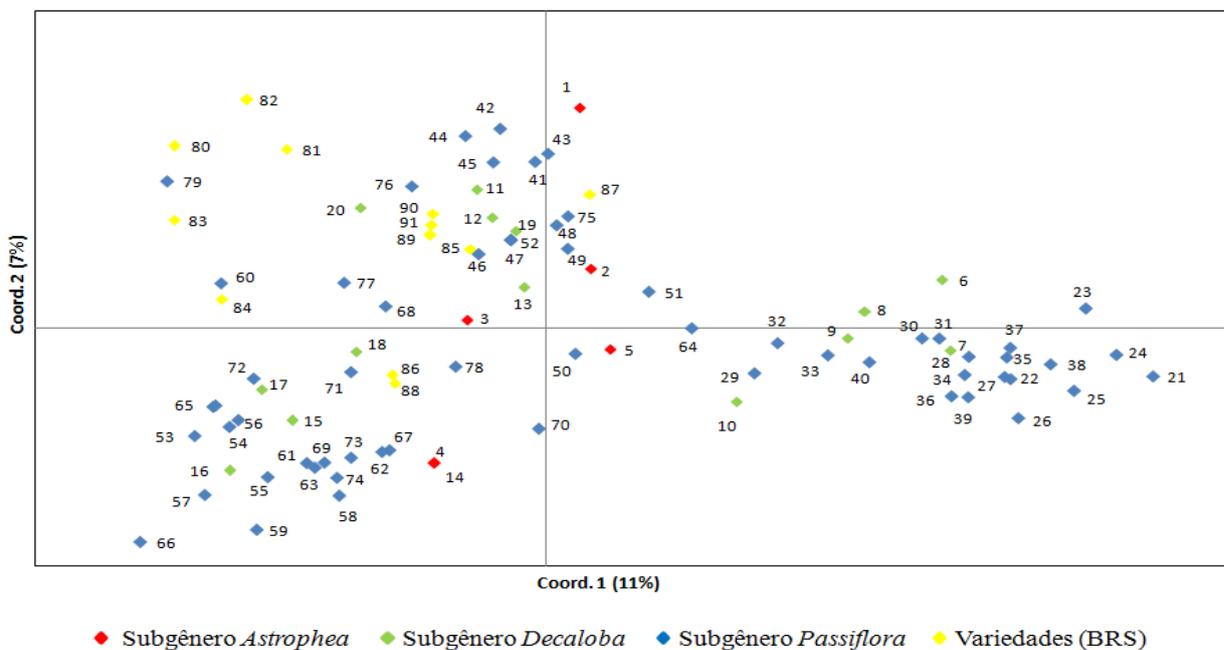


**Figura 3.** Comparação de Análise de Coordenadas Principais considerando o critério I para os distintos subgêneros e variedades. Sendo A) *Astrophea*, B) *Decaloba*, C) *Passiflora* e D) Variedades

A dispersão observada nas figuras 2 e 3 com relação às espécies avaliadas, ilustra que as espécies inseridas no subgênero *Passiflora* são em sua maioria, as mais conhecidas e estudadas. Dentre elas, destaca-se as espécies *P. edulis*, *P. alata*, *P. cincinnata*, *P. setacea* e *P. coccíne*. A maior popularidade dessas espécies, se deve ao seu espaço consolidado no mercado, em que são amplamente utilizadas nas indústrias. Embora, as espécies comumente mencionadas são utilizadas comercialmente, o subgênero *Passiflora* dispõe de uma grande diversidade tanto de espécies comerciais, quanto de espécies silvestres.

Pode-se verificar também, que as espécies inseridas nos subgêneros menos representativos, compõem em sua maioria espécies silvestres, como, *P. organensis*, *P. suberosa*, *P. cerradensis* e *P. chlorina*, estas e outras espécies silvestres, também apresentam grande relevância para programas de melhoramento genético, visto que, as espécies silvestres apresentam fonte de resistência a diversas doenças que acometem os maracujazeiros.

Considerando o critério 2 para a Análise de Coordenadas Principais (PCoA) (Figura 4), verificou-se também grande dispersão dos acessos, confirmando, sobretudo, o subgênero *Passiflora* como o mais abundante e disperso, conforme mencionado nas figuras 1, 2 e 3. O subgênero *Passiflora* compõe 128 acessos, em seguida, os subgêneros *Decaloba* e *Astrophea* com 31 e 7 acessos e as variedades compondo 12 acessos, respectivamente. Para melhor visualização e compreensão da PCoA, nesta análise, os acessos foram agrupados por espécie, sendo assim, considerados como população.



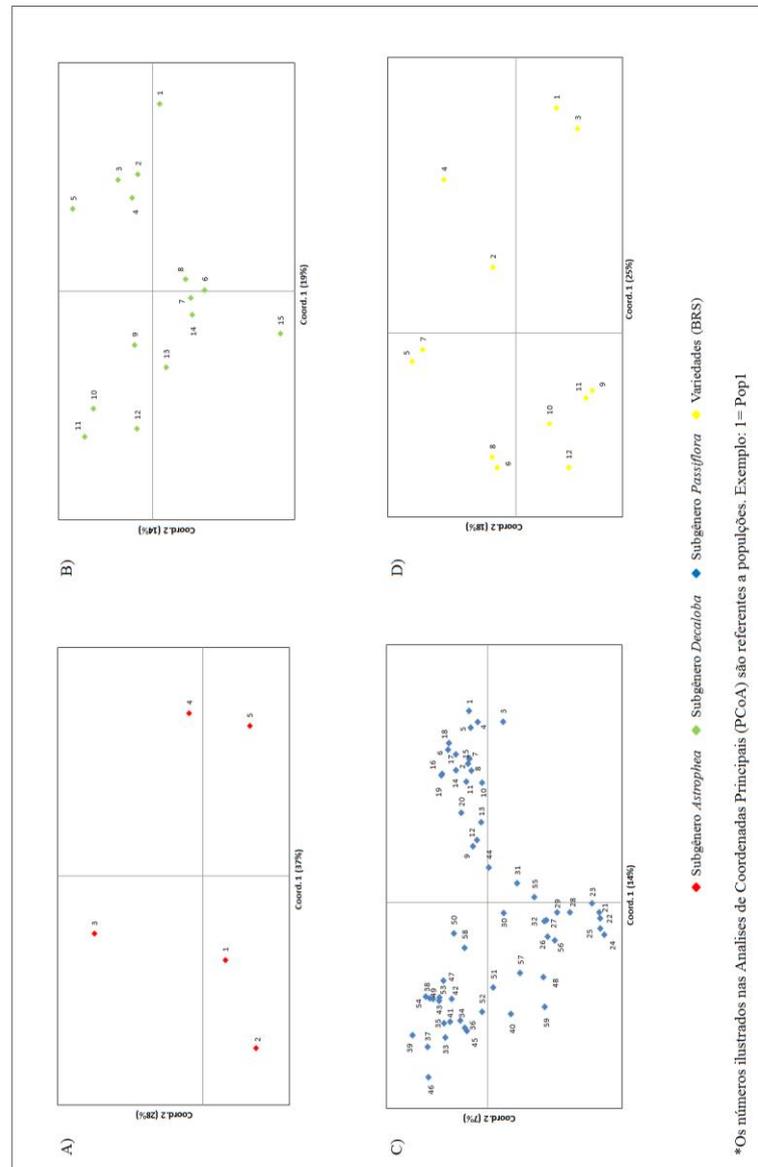
\*Os números ilustrados na Análise de Coordenadas Principais são referentes as populações. Exemplo: 1= Pop1

**Figura 4.** Análise de Coordenadas Principais considerando o critério II, sendo 178 acessos de *Passiflora* spp. mediante iniciadores RGA (*Resistance Genes Analog*). As espécies foram enumeradas de acordo ao acesso e identificadas de acordo ao subgênero que pertencem, como consta na legenda, esses dados estão presentes na Tabela 5 e 6 do apêndice.

Avaliando a distribuição desta PCoA (Figura 4), pode-se observar um grupo em destaque onde estão inseridas espécies geneticamente próximas, além disso, no mesmo grupo estão as variedades. Assim como a primeira análise do PCoA, observa-se que as variedades

estão próximas dos seus genitores, corroborando para a confiabilidade da pesquisa (Figuras 1 e 4).

Na análise da PCoA dos subgêneros em separado, é possível analisar a distribuição dos acessos de forma distinta (Figura 5).

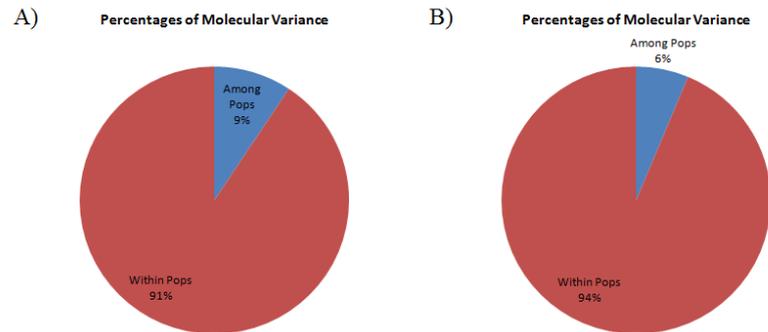


**Figura 5.** Comparação de Análise de Coordenadas Principais considerando o critério II para os distintos subgêneros e variedades. Sendo A) *Astrophea*, B) *Decaloba*, C) *Passiflora* e D) Variedades.

Dessa forma, é possível verificar maior distância genética entre os subgêneros *Decaloba* e *Astrophea*. Para tanto, como o subgênero *Passiflora* abrange uma maior

quantidade de espécies, nota-se que a distribuição está mais homogênea e concomitantemente dispersa.

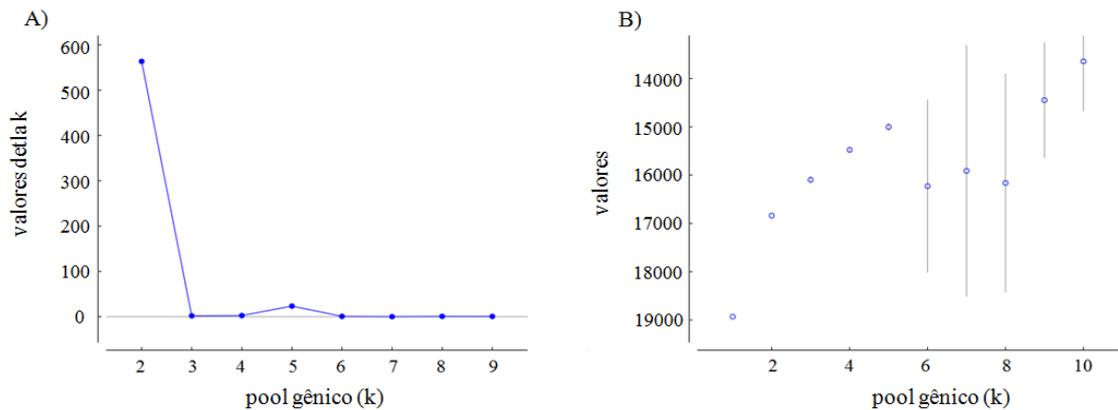
Na análise de coordenadas principais (PCoA), com enfoque para diversidade entre e dentro as populações, pode-se observar que a distribuição foi praticamente a mesma (Figuras 6A e 6B).



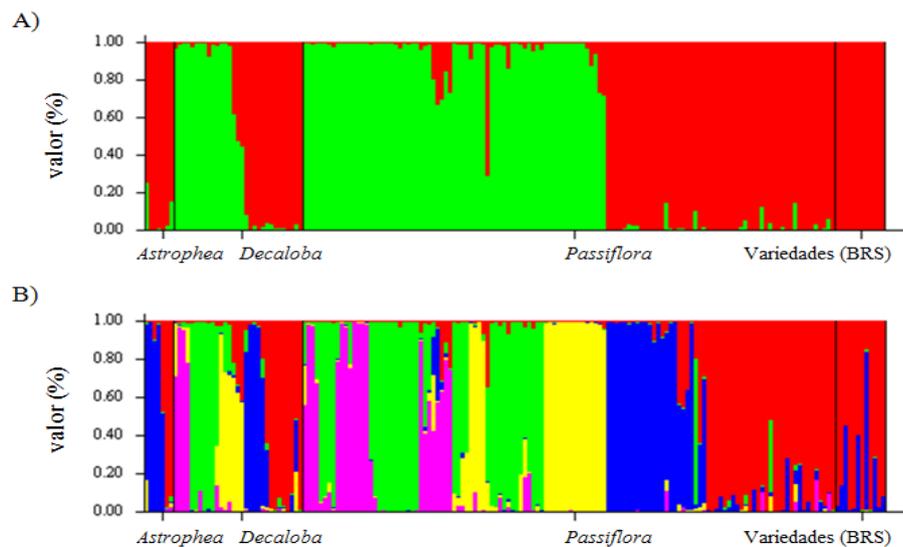
**Figura 6.** Gráfico ilustrando a estrutura genética dentro (*Within*) e entre (*Among*) as populações (subgêneros *Astrophea*, *Decaloca*, *Passiflora* e as Variedade) do gênero de *Passiflora*, obtidas a partir da Análise Molecular de Variância (AMOVA). A) Considerando o Critério I. B) Considerando o Critério II.

Para a Análise de Variância Molecular (AMOVA), tanto o critério I quanto o critério II, as diversidades entre as espécies é maior do que dentre elas. Essa observação já era de se esperar quando a população encontra-se em equilíbrio e possui alta variabilidade genética conforme já apresentado. Esse resultado indica baixa estrutura dos subgêneros, evidenciando elevada diversidade dentro em relação a diversidade entre.

Quanto a inferência Bayesiana com base na estimativa de delta K (Figuras 7 e 8), observou-se que a estimativa indicou estruturação baseada em dois *pools* gênicos e subestruturação em 5 *pools* gênicos, para K=2 e K=5 como os *pools* gênicos mais prováveis para os 178 acessos de *Passiflora*.



**Figura 7.** Valores de delta K para o número de *pool gênico* (K) mais provável de grupos nas análises de estrutura e ancestralidade de 178 acessos de *Passiflora*. A) Valores do delta K mais provável K=2. B) Gráfico inferindo a maior distância, que corrobora com resultado da (Figura 1A).



**Figura 8.** Prováveis *pools gênicos* obtidos de acordo com o método descrito por Evanno *et al.* (2006), a partir de marcadores RGA para espécies do gênero *Passiflora*. A) Estruturação de delta K=2 contendo mix em 2 indivíduos. B) Distribuição do K=5 estimado para espécies do gênero *Passiflora*.

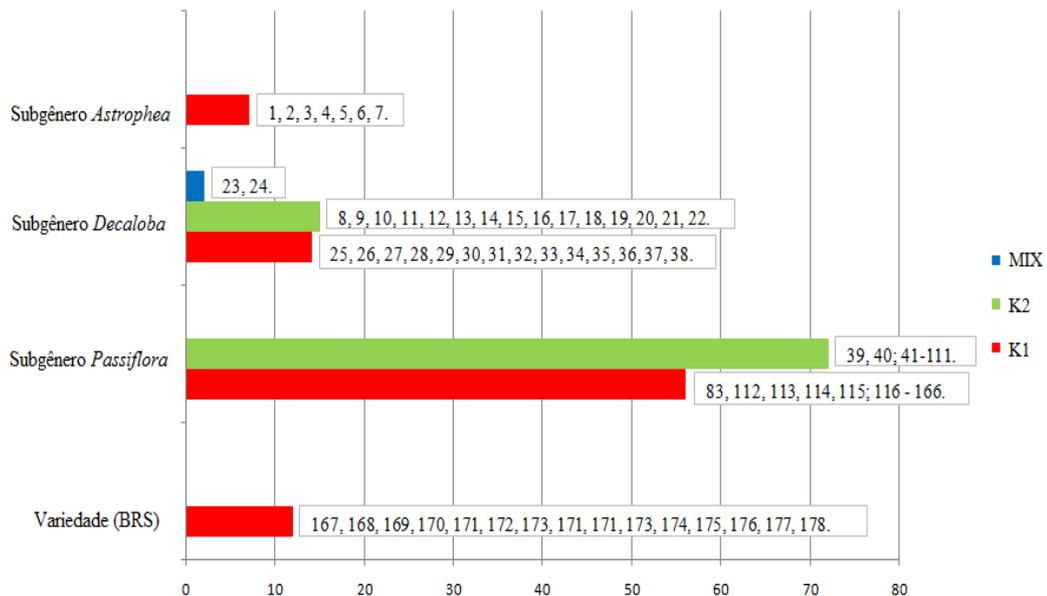
O histograma ilustra o nível de estruturação dos subgêneros *Astrophea*, *Decaloba*, *Passiflora* e das Variedades (BRS), mostrando a representação de dois e cinco *pools* gênicos (Figura 8 A e B). Na primeira figura, é notória a predominância do *pool* gênico representado pela cor vermelha e na estruturação das espécies existe uma mudança na composição dos *pools* gênicos (Tabela 4).

**Tabela 4.** Amostragem do *pool* gênico mais provável inferindo a ancestralidade por indivíduos devidamente alocados nos subgênero e variedades

	K 1	K2	MIX
Subgênero <i>Astrophea</i>	7	0	0
Subgênero <i>Decaloba</i>	14	15	2
Subgênero <i>Passiflora</i>	56	72	0
Variedade (BRS)	12	0	0

Considerando os valores do delta K, foi possível verificar a partir do histograma dois *pools* gênicos representados na (Tabela 4) como K1, K2 e MIX. O padrão de estruturação nos subgêneros e variedades avaliados no estudo, mostraram que apenas no subgênero *Decaloba* houve mistura (MIX), para os demais observou-se estruturação.

A Figura 9 corrobora com os dados apresentados na (Tabela 4), porém, exibe o número de cada acesso que compõe o *pool* gênico K=2, inferindo os resultados do *pool* gênico K1 e K2 para os subgêneros e variedades avaliadas. Considerando os dados ilustrados, pode-se observar que os subgêneros estão estruturados geneticamente, apresentados apenas duas espécies amostragem de mistura (MIX).



**Figura 9.** Acessos distribuídos por grupos baseados nos valores do *pool* gênico K=2, representativamente K1, K2 e MIX.

## DISCUSSÃO

Os estudos com iniciadores RGA para o gênero *Passiflora* são escassos, o mesmo é utilizado amplamente para outros tipos de cultura, a exemplo, na caracterização de acessos de feijão (MUTL *et al.*, 2005), cebola (VALÊNCIO, 2005) e melão (MACIEL, 2014).

Por isso as combinações de iniciadores RGA utilizados no presente estudo foram as mesmas utilizadas por Paula *et al.* (2010) e Pereira (2012). Esses autores também constataram a eficiência dos iniciadores e ressaltaram a importância destes para acessar regiões conservadas NBS na caracterização e manipulação de potenciais genes de resistência.

Foram utilizados no trabalho de Paula *et al.* (2010) seis combinações de iniciadores RGA, a citar S2+As1, S2+As2, S2+As3, S2+LM637, F1+As2 e S2+R1, em oito espécies, sendo estas *P. setacea*, *P. nitida*, *P. serratodigitata*, *P. caerulea*, *P. gibertii*, *P. odontophylla*, *P. edulis* nativo e *P. coccínea*, e um híbrido interespecífico (*P. setacea* x *P. coccínea*), os primeiros autores obtiveram um total de 99 marcas, sendo a maioria polimórficas.

Pereira (2012), utilizou no seu estudo 18 combinações de iniciadores RGA para avaliar 98 indivíduos de maracujazeiros amarelo (*P. edulis*), em que apenas as combinações *s1+as2* e *RGA1f+RGA2r* não apresentaram nenhum produto de amplificação.

É válido ressaltar, que os iniciadores RGAs utilizados no presente estudo foram selecionados previamente e majoritariamente, considerando os estudos de Paula *et al.* (2010) e Pereira (2012), estes são, exemplos dos poucos estudos realizados mediante o uso de iniciadores RGA, sobretudo, para o gênero *Passiflora*.

Levando em consideração a cronologia do uso dos marcadores moleculares em estudos com o gênero *Passiflora*, Cerqueira-Silva *et al.* (2014a) relata o trabalho de Paula *et al.* (2010), como o primeiro a usar o iniciador RGA para espécies de *Passiflora*, portanto é um iniciador relativamente recente em estudos desse aspecto.

Em estudos baseados com outros marcadores dominantes, pode-se citar o estudo realizado por Viana *et al.*, (2003) onde foram utilizados iniciadores RAPD em espécies de *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. alata* e *P. maliformis*, constatando a partir dos resultados que a diversidade interespecífica revelou elevado polimorfismo nos genótipos estudados, possuindo em sua maioria materiais divergentes em virtude do vasto número utilizado de espécies de

maracujazeiros. Estudos baseados em iniciadores RAPD foram realizados também, por Cerqueira-Silva *et al* (2010), em 18 genótipos de *P. trintae*, obtendo através das reações de amplificação um total de 112 marcas, revelando 94 (84%) marcas polimórficas e 18 (16%) marcas observadas monomórficas.

Em relação aos resultados da tabela 3 verificou-se o total de marcadores nos subgêneros e variedades de acordo, a cada combinações de iniciadores RGA, bem como, o total de marcadores para cada subgênero e variedade particularmente, avaliando todos os iniciadores utilizados no estudo. Além disso, foi analisado o percentual de polimorfismo dos acessos, possuindo assim, majoritariamente, marcadores moleculares 100% polimórficos. O trabalho realizado por Paula (2006) confirma os resultados apresentados acima, onde verificou-se a predominância de 96,96% de marcas polimórficas, indicando grande diversidade genética das espécies avaliadas pelo iniciador do tipo RGA. Resultados relatados por Pereira (2012) foram similares, os cinco iniciadores RGA utilizados produziram um total de 97 produtos de amplificação, dos quais 79 foram polimórficos, perfazendo 83% de polimorfismo.

Considerando os critérios estabelecidos para avaliar qual análise mais consistente para o estudo, foi possível verificar que o critério II (18%) foi o mais adequado devido à variação gráfica das coordenadas, revelando um valor inferior, quando comparado ao critério I (49%). A análise da diversidade genética dos subgêneros *Astrophea*, *Decaloba* e *Passiflora* e, as variedades do gênero *Passiflora* revelaram, que os dados obtidos através das Análises de Coordenadas Principais (PCoA) considerando os critérios 1 e 2, corroboram com dados existentes na literatura, ao sugerir o subgênero *Passiflora* como o mais rico e diverso. Segundo Ulmer e Macdougall, (2004), o subgênero *Passiflora L.* possui um total de 236 espécies. Em seguida está o subgênero *Decaloba* com 214 espécies, na sequência, o subgênero *Astrophea* com 57 espécies (FEUILLET E MACDOUGAL 2003). Dentre as espécies avaliadas, é possível destacar a importância das espécies comerciais, bem como, a utilização de espécies silvestres com característica de interesse em programas de melhoramento genético. Espécies como, *P. setacea*, *P. coccínea*, *P. caerulea*, *P. glandulosa*, *P. mucronata* e *P. galbana* dispõem de dados preliminares da variabilidade de genes de interesse, as quais cruzam bem com espécies como, *P. edulis* e *P. alata*, gerando híbridos interespecíficos viáveis (FALEIRO *et al*, 2005). Com base nos resultados de Soares (2016), verificou-se a possibilidade de cruzamento interespecífico, porém é necessário mais critério na escolha das espécies e das plantas, pois só assim é possível garantir resultados bem

sucedidos no cruzamento, como é o caso da *P. edulis* X *P. cincinnata*, *P. alata* X *P. cincinnata*.

A hibridação interespecífica em espécies de *Passiflora*, no Brasil, está prioritariamente relacionada com a transferência de caracteres favoráveis de espécies silvestres para a espécie comercial *Passiflora edulis*, especialmente genes que conferem resistência (VIANA, et. al., 2003). As 12 variedades do presente estudo, em sua maioria resultou de cruzamentos da espécie *P. edulis* com espécies comerciais ou silvestres. Tendo como fruto desse cruzamento as variedades de *P. setacea*, *P. coccínea*, *P. alata*, *P. incarnata*, *P. quadrifaria* e *P. tenuifolia*.

A Análise de Variância Molecular (Figura 6) revelou para os critérios I e II resultados semelhantes, ressaltando assim, que a diversidade está distribuída majoritariamente dentre as populações (subgêneros e variedades), em contraste, com um percentual notadamente inferior de distribuição entre as populações, destacando que existe baixo nível de estruturação nos subgêneros e variedades avaliados, evidenciando grande diversidade genética. Foi observado compatibilidade entre os resultados das Análises de Coordenadas Principais (PCoA) e Análises de Variância Molecular (AMOVA). A caracterização da variabilidade genética de maracujazeiros fornece fonte de informações para serem aplicados em programas de melhoramento em maracujazeiros comerciais (MELETTI *et al.*, 1997).

Embora, as Análises Bayesianas, Análises de Coordenadas Principais e Análise de Variância Molecular, serem obtidas mediante iniciadores RGA e, avaliarem distribuição genética, é importante ressaltar a importância da caracterização genética com base em marcadores dominantes não necessitam de estudos prévios acerca do genoma da espécie, podendo ser amplamente empregado em estudos de diversos organismos (FALEIRO, 2007).

Com base na análise Bayesiana foram revelados o delta K mais provável, sendo estes, K=2 (score ~ 550) e K=5 (score ~ 50), sendo o K=2 o mais relevante, podendo assim, observar o grau de estruturação dos subgêneros e variedades do gênero *Passiflora*, verificando apenas dois acessos com mistura. Avaliando estritamente o *pool gênico* K=2, foi possível detectar a variação de *pools gênicos* em cada subgênero indicando estruturação dos acessos. Os dados do *Structure* mostram que o subgênero *Astrophea* possui presença majoritária de um *pool gênico*, e os subgêneros *Passiflora* e *Decaloba* com dois *pools gênicos*, e as variedades com apenas um *pool gênico*. Maciel (2014) inferiu que existem limitações com relação ao programa *Structure*, visto que, os resultados das Análises de coordenadas Principais foram conflitantes quando os resultados da análise Bayesiana.

## CONCLUSÃO

Conclui-se com a pesquisa, que o iniciador do tipo RGA apresenta dados polimórficos, informativos e eficientes. Sobretudo, alcançou resultados agregadores quanto ao gênero *Passiflora*, que apresentou grande diversidade genética distribuídos nos subgêneros *Passiflora* L, *Decaloba* e *Astrophea*. Dentre as espécies avaliadas, algumas já dispõem de estudos potenciais para a hibridação interespecífica, podendo contribuir para ações de melhoramento genético e em programas de conservação. Sendo assim, estudos acerca dessa diversidade se fazem necessário.

## AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao programa de pós-graduação em Ciências Ambientais (PPGCA) pela concessão da bolsa de estudo.

## REFERÊNCIAS

- BARBOSA, N. C. S. ANATOMIA FOLIAR E DIVERSIDADE GENÉTICA EM *Passiflora* spp. (PASSIFLORACEAE L.) RESISTENTES AO Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV). BAHIA. 120f. **Dissertação de mestrado (Genética e Biodiversidade)**. UFBA. p. 15-26, 2016.
- BERNACCI, L. C.; CERVI, A.C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A.; NUNES, T.S.; IMIG, D.C.; MEZZONATO, A.C. 2016. **PASSIFLORACEAE. IN: LISTA DE ESPÉCIES DA FLORA DO BRASIL**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em:Acesso em: 13 Fev. 2016.
- CERQUEIRA-SILVA, C.B.M., JESUS, O.N., SANTOS, E.S.L., CORRÊA, R.X., SOUZA, A.P. GENETIC BREEDING AND DIVERSITY OF THE GENUS PASSIFLORA: PROGRESS AND PERSPECTIVES IN MOLECULAR AND GENETIC STUDIES. **International Journal of Molecular Sciences**. 15, 14122-14152. 2014a.
- CERQUEIRA-SILVA, C. B. M., SANTOS, E. S. L., VIEIRA, J. G. P., MORI, G. M., JESUS, O. N., CORRÊA, R. X., SOUZA, A. P. NEW MICROSATELLITEMARKERS FOR WILD AND COMMERCIAL SPECIES OF PASSIFLORA (PASSIFLORACEAE) AND CROSS-AMPLIFICATION. **Applications in Plant Sciences** 2:1. 2014b.
- CERQUEIRA-SILVA, C.B.M., CARDOSO-SILVA, C.B., SANTOS, E.S.L., CONCEIÇÃO, L.D.H.C.S. PEREIRA A.S., OLIVEIRA A.C., CORRÊA, R.X. GENETIC DIVERSITY IN WILD SPECIES OF PASSION FRUIT (*PASSIFLORA TRINTAE*) BASED ON MOLECULAR MARKERS. **Genet. Mol. Res.** 2010.

CERVI, A.C.; IMIG, D.C. A NEW SPECIES OF PASSIFLORA (PASSIFLORACEAE) FROM MATO GROSSO DO SUL, BRAZIL. **PHYTOTAXA**. 103(1): 46-50, 2013.

CROCHEMORE, M.L.; MOLINARI, H. B.; STENZEL, N. M. C. Caracterização agromorfológica do maracujazeiro (*Passiflora* spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n. 1, p.5–10, 2003.

CUNHA, M. A. P.; BARBOSA, L. V.; JUNQUEIRA, N. T. V. ESPÉCIES DE MARACUJAZEIRO. IN: LIMA, A. A. (ED.). MARACUJÁ PRODUÇÃO: ASPECTOS TÉCNICOS. BRASÍLIA, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, (Embrapa Informação Tecnológica. Frutas do Brasil; 15).104 p. 2002.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. **Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: A simulation study**. *Mol. Ecol.* 2005, 14, 26112620.

FEUILLET, C. MACDOUGAL, J. M. A NEW INFRAGENERIC CLASSIFICATION OF PASSIFLORA L. (PASSIFLORACEAE). *Passiflora* 13: 34-38).

FALEIRO, F. G. MARCADORES GENÉTICO-MOLECULARES APLICADOS A PROGRAMAS DE CONSERVAÇÃO E USO DE RECURSOS GENÉTICOS; PRINCIPAIS APLICAÇÕES DOS MARCADORES GENÉTICO-MOLECULARES NOS PROGRAMAS DE CONSERVAÇÃO E USO DE RECURSOS GENÉTICOS. PLANALTINA, DF: **Embrapa Cerrado**. p.40-41. 2007.

FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V., BRAGA, M. F. Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro – Desafios da pesquisa. In: Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Braga, M.F. (Eds.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina, DF: **Embrapa Cerrados**, 187-210 p. 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.

HAMMOND-KOSACK, K.E.; JONES, J.D.G. PLANT DISEASE RESISTANCE GENES. ANNUAL REVIEW OF PLANT PHYSIOLOGY AND PLANT MOLECULAR BIOLOGY, v.48, p.575-607, 1997.

JUNQUEIRA, K. P., FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V., BELLON, G., RAMOS, J. D., SOUZA, L. S., SANTOS, E. C. OBTENÇÃO DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE *PASSIFLORA LAURIFOLIA* L. E *PASSIFLORA NÍTIDA* KUNTH. IN: 4º CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, São Lourenço. *Anais do 4º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas*. São Lourenço: UFLA. CD-ROM. 2007.

JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; BERNACCI, L. C. POTENCIAL DE ESPÉCIES SILVESTRES DE MARACUJAZEIRO COMO FONTE DE RESISTÊNCIA A DOENÇAS. IN: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M.F. (ED.). MARACUJÁ: GERMOPLASMA E MELHORAMENTO GENÉTICO. Planaltina: **Embrapa Cerrados**. cap. 4, p. 81-107. 2005.

MACIEL, C. C. DIVERSIDADE DE GENÓTIPOS DE MELÃO POR MEIO DE DESCRITORES MORFOLÓGICOS E MARCADOR RGA. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual De Santa Cruz. 2014.

MEDEIROS, S. A. F. DE; YAMANISHI, O. K.; PEIXOTO, J. R.; PIRES, M. C.; JUNQUEIRA, V.; GALVARROS, J.; LOBO, B. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE PROGÊNIES DE MARACUJÁ-ROXO E MARACUJÁ-AZEDO CULTIVADOS NO DISTRITO FEDERAL. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal. v. 31, n.2, p.492–499, 2009.

MELETTI, L. M. M. AVANÇOS NA CULTURA DO MARACUJÁ NO BRASIL. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Volume Especial:83-91, 2011.

MELETTI, L. M.M., SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; PASSOS, I. R. S..MELHORAMENTO GENÉTICO DO MARACUJÁ: PASSADO E FUTURO. IN: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. MARACUJÁ: GERMOPLASMA E MELHORAMENTO GENÉTICO. Planaltina: **Embrapa Cerrados**, pp.55-78. 2005.

MELETTI, L.M. & MAIA, M.L. MARACUJÁ: PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO. Campinas, **Instituto Agrônomo**, 64p, 1996.

MUTLU, N.; MIKLAS, P. N. E COYNE, D. P. RESISTANCE GENE ANALOG POLYMORPHISM (RGAP) CO-LOCALIZE WITH DISEASE RESISTANCE AND QTLIN COMMON BEAN. **Molecular Breeding**, v.17, p. 127-135, 2005.

NUNES, T.S.; QUEIROZ, L.P. FLORA DA BAHIA: PASSIFLORACEAE. **Sitientibus**, v.6, n.3, p.194- 226, 2006

PAULA, M. S. DIVERSIDADE GENÉTICA E REAÇÃO DE PASSIFLORA SP. A *MELOIDOGYNE INCOGNITA* E A *MELOIDOGYNE JAVANICA*. **Dissertação de mestrado**. Universidade de Brasília. 2006.

PAULA, S. M. DA.; FONSECA, M. E. N. DE.; BOITEUX, L. S.; PEIXOTO, J. R. CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE ESPÉCIES DE *PASSIFLORA* POR MARCADORES MOLECULARES ANÁLOGOS A GENES DE RESISTÊNCIA. **Rer. Bras. Frut.**, Jaboticabal SP. v 32, n 1, p 222-229, 2009.

PEAKALL, R. E SMOUSE PE (2012) GenAIEx 6.5: ANÁLISE GENÉTICA NO EXCEL. SOFTWARE GENÉTICO POPULACIONAL PARA ENSINO E PESQUISA - UMA ATUALIZAÇÃO. **Bioinformática** 28, 2537-2539.

PEREIRA, G. S. Desenvolvimento de marcadores SSR, M-AFLP e SNP visando à integração de mapas genético-moleculares de *Passiflora alata* Curtis. Piracicaba : Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. **Dissertação de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas**.2011.

PEREIRA, A. S. GENÉTICA E PÓS-MELHORAMENTO EM VARIEDADES DE MARACUJAZEIRO AMARELO: VARIABILIDADE ACESSADA POR FERRAMENTAS BIOMÉTRICAS E MOLECULARES. **Dissertação de mestrado**. Universidade Estadual Santa Cruz (UESC), Ilheus – BA, 2012.

PEREIRA, D. A.; CORRÊA, R. X.; OLIVEIRA, A. C. MOLECULAR GENETIC DIVERSITY AND DIFFERENTIATION OF POPULATIONS OF ‘SOMNUS’ PASSION FRUIT TREES (*PASSIFLORA SETACEA* DC): IMPLICATIONS FOR CONSERVATION AND PRE-BREEDING. **Biochemical Systematics and Ecology**, **59**: 12-21, 2015.

PRITCHARD, J. K; STEPHENS, M; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**. 155: 945–959. 2000.

SANTOS FILHO, H. P.; JUNQUEIRA, N. T. MARACUJÁ: FITOSSANIDADE. BRASÍLIA: **Embrapa Informação Tecnológica**, Série Frutas do Brasil. p 86, 2003.

SOARES, W. S. CARACTERIZAÇÃO DO GERMOPLASMA E ESTUDO DA COMPATIBILIDADE INTERESPECÍFICA EM *Passiflora* spp. do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento. **Dissertação (Magister Scientiae)**. Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais. 2016.

ULMER, T. E MACDOUGAL, J.M. PASSIFLORA: PASSIONFLOWERS OF THE WORLD. **Portland Oregon: Timber Press**. p.430, 2004.

VALÊNCIO, A. G. R. B. IDENTIFICAÇÃO DE POLIMORFISMO ENTRE VARIEDADES DE CEBOLA POR MEIO DE MARCADORES MOLECULARES DO TIPO ‘RGAS’ (RESISTANCE GENES ANALOGS). 112p. **Dissertação de Mestrado**. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2005.

VIANA, A. J. C. ; AHNERT D. ; CORRÊA R. X. ; ARAÚJO I. S. ; BERNACCI, L.C. ; LAWINSCKY, P. R. ; SOUZA, M. M. . CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E POLÍNICA EM *Passiflora edulis* e *Passiflora cacaoensis* PARA UTILIZAÇÃO COMO GENITORAS EM HIBRIDAÇÕES INTERESPECÍFICAS. In: **5º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**, Guarapari-ES. 2009.

VIANA, A.P.; PEREIRA, T.N.S.; PEREIRA, M.G.; SOUZA, M.M.; ALDONADO, J.F.M.; AMARAL JR, A.T. GENETIC DIVERSITY AMONG YELLOW PASSION FRUIT COMERCIAL 76 GENOTYPES AND AMONG PASSIFLORA SPECIES USING RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.3, p. 489-493, 2003.

## APÊNDICE

**Tabela 5.** Classificação das espécies de *Passiflora* quanto ao seu subgênero e origem

Nº	ESPÉCIES	SUBGÊNERO	CÓDIGO	ORIGEM
1	<i>P. cerradensis</i> Sacco	<i>Astrophea</i>	CPAC MJ -45-01	Brasília, DF
2	<i>P. cerradensis</i> Sacco	<i>Astrophea</i>	CPAC MJ-45-01	Brasília, DF
3	<i>P. haematostigma</i> Mart. Ex Mast.	<i>Astrophea</i>	CPAC MJ-24-02	Natividade, TO
4	<i>P. haematostigma</i> Mart. Ex Mast.	<i>Astrophea</i>	CPAC MJ-24-01	Caeté, MG
5	<i>P. chlorina</i> L. K. Escobar	<i>Astrophea</i>	CPAC MJ-89-01	Caeté, MG
6	<i>P. rhamniflora</i> Mast.	<i>Astrophea</i>	CPAC MJ-52-01	
7	<i>P. sclerophylla</i> Harms	<i>Astrophea</i>	CPAC MJ-96-01	Manaus, AM
8	<i>P. organensis</i> Gardiner	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ -51-01	
9	<i>P. organensis</i> Gardiner	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-51-02	
10	<i>P. organensis</i> Gardiner	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-51-01	Serra dos Órgãos, RJ
11	<i>P. organensis</i> Gardiner	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-51-01	
12	<i>P. suberosa</i> L.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ -35-01	Brasília, DF
13	<i>P. suberosa</i> L.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-35-03	
14	<i>P. suberosa</i> L.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-35-02	Roraíma
15	<i>P. suberosa</i> L.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-35-02	Roraíma
16	<i>P. capsularis</i> Lam.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-29-01	
17	<i>P. capsularis</i> Lam.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-29-02	Monte Verde, MG
18	<i>P. capsularis</i> Lam.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-29-04	
19	<i>P. ferruginea</i> Mast.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-82-01	Manaus, AM
20	<i>P. ferruginea</i> Mast.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-82-01	Rondônia
21	<i>P. ferruginea</i> Mast.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-82-01	Amazonas
22	<i>P. vespertilio</i> L.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-79-01	Manaus, AM
23	<i>P. vespertilio</i> L.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-79-01	Manaus, AM

24	<i>P. vesperilio</i> L.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-79-01	Manaus, AM
25	<i>P. auriculata</i> Kunth	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ -61-01	
26	<i>P. auriculata</i> Kunth	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-61-01	
27	<i>P. morifolia</i> Mast.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-48-01	Araponga, MG
28	<i>P. morifolia</i> Mast.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-48-01	Araponga, MG
29	<i>P. porophylla</i> Vell	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-93-01	Caeté, MG
30	<i>P. porophylla</i> Vell	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-93-01	
31	<i>P. rubra</i> L.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-69-01	Camanducaia, MG
32	<i>P. rubra</i> L.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-69-01	Camanducaia, MG
33	<i>P. biflora</i> Lam.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-71-01	Manaus, AM
34	<i>P. cervii</i> M. L. M. Azevedo	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-84-01	
35	<i>P. micropetala</i> Mart.	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-41-01	Belém, PA
36	<i>P. pohlii</i> Mast	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-38-01	Planaltina, DF
37	<i>P. saxicola</i> Gontsch	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-95-01	
38	<i>P. tricuspis</i> Mast	<i>Decaloba</i>	CPAC MJ-32-01	
39	<i>P. alata</i> Curtis	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -02-17	Planaltina, Brasília-DF
40	<i>P. alata</i> Curtis	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -02-09	Planaltina, Brasília-DF
41	<i>P. alata</i> Curtis	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-02-09	Planaltina, Brasília-DF
42	<i>P. alata</i> Curtis	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -02-19	...
43	<i>P. cincinnata</i> Mast	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -26-03 (PL1)	PMGP CPAC
44	<i>P. cincinnata</i> Mast	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -26-03 (PL2)	PMGP CPAC
45	<i>P. cincinnata</i> Mast	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -26-03 (PL3)	PMGP CPAC
46	<i>P. cincinnata</i> Mast	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -26-03 (PL4)	PMGP CPAC
47	<i>P. edulis</i> Sims	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-21-07	Serra da mesa
48	<i>P. edulis</i> Sims	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-21-07	Serra da mesa
49	<i>P. edulis</i> Sims	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-21-07	Serra da mesa
50	<i>P. edulis</i> Sims	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-21-06	Oliveira, MG
51	<i>P. foetida</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-28-05 PL1	Mossoró

52	<i>P. foetida</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-28-05 PL2	Mossoró
53	<i>P. foetida</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-28-05 PL3	Mossoró
54	<i>P. foetida</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-28-05 PL4	Mossoró
55	<i>P. maliformis</i> Vell.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -58-01 P41R3	PMGP CPAC
56	<i>P. maliformis</i> Vell.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -58-01 P1R5	PMGP CPAC
57	<i>P. maliformis</i> Vell.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -58-01 P2R1	PMGP CPAC
58	<i>P. maliformis</i> Vell.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -58-01 P5R2	PMGP CPAC
59	<i>P. nitida</i> Kunth	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-M-20- L1P8	CPAC MJ-M-20- L1P8
60	<i>P. nitida</i> Kunth	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-M-20- L1P7	CPAC MJ-M-20- L1P7
61	<i>P. nitida</i> Kunth	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-M-20- L1P6	CPAC MJ-M-20- L1P6
62	<i>P. nitida</i> Kunth	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-M-20- L1P5	CPAC MJ-M-20- L1P5
63	<i>P. quadrangularis</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-07-04 P1	PMGP CPAC
64	<i>P. quadrangularis</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-07-04 P2	PMGP CPAC
65	<i>P. quadrangularis</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-07-04 P3	PMGP CPAC
66	<i>P. quadrangularis</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-07-04 P4	PMGP CPAC
67	<i>P. amethystina</i> J. C Mikan	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-13-01	São Paulo
68	<i>P. amethystina</i> J. C Mikan	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-13-09	Caeté, MG
69	<i>P. amethystina</i> J. C Mikan	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-13-06	Monte Verde, MG
70	<i>P. amethystina</i> J. C Mikan	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-13-09	Caeté, MG
71	<i>P. caerulea</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -14-01	
72	<i>P. caerulea</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-14-03	Bento Gonçalves, RS
73	<i>P. caerulea</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-14-03	Bento Gonçalves, RS
74	<i>P. caerulea</i> L.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-14-03	Bento Gonçalves, RS
75	<i>P. quadrifaria</i> Vanderpl	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-42-02	Pará
76	<i>P. quadrifaria</i> Vanderpl	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-42-03	Rondônia
77	<i>P. quadrifaria</i> Vanderpl	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-42-01	
78	<i>P. quadrifaria</i> Vanderpl	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-42-01	
79	<i>P. setacea</i> DC.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-12-04	Redondo miúdo, BA

80	<i>P. setacea</i> DC.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-12-06	típico, flor branca
81	<i>P. setacea</i> DC.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-12-06	Manhuaçu, MG
82	<i>P. setacea</i> DC.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-12-04	mesclado, Tapiramutá, Ba
83	<i>P. tholozanii</i> Sacco	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-65-03	Manaus, AM
84	<i>P. tholozanii</i> Sacco	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-65-04	Rondônia, Girau
85	<i>P. tholozanii</i> Sacco	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-65-01	Marabá, PA
86	<i>P. tholozanii</i> Sacco	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-65-01	Marabá, PA
87	<i>P. vitifolia</i> Kunth	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -46-01	Poconé, MT
88	<i>P. vitifolia</i> Kunth	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -46-01	Poconé, MT
89	<i>P. vitifolia</i> Kunth	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-46-02	Poconé, MT
90	<i>P. vitifolia</i> Kunth	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-46-01	Poconé, MT
91	<i>P. actinia</i> Hook	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -04-03	
92	<i>P. actinia</i> Hook	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-04-03	
93	<i>P. actinia</i> Hook	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-04-03	
94	<i>P. ambigua</i> Hemsl.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -49-01	
95	<i>P. ambigua</i> Hemsl.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -49-01	
96	<i>P. ambigua</i> Hemsl.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -49-01	
97	<i>P. coccinea</i> Aubl.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -08-05	Pontes e Lacerda, MT
98	<i>P. coccinea</i> Aubl.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -08-01	Manaus, AM
99	<i>P. coccinea</i> Aubl.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-08-02	Manaus, AM
100	<i>P. hatschbachii</i> Cervi	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -50-01	Cardoso Moreira, RJ
101	<i>P. hatschbachii</i> Cervi	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-50-01	Cardoso Moreira, RJ
102	<i>P. hatschbachii</i> Cervi	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-50-01	Cardoso Moreira, RJ
103	<i>P. malacophylla</i> Mast.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -43-01	
104	<i>P. malacophylla</i> Mast.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-43-02	Cardoso Moreira, RJ
105	<i>P. malacophylla</i> Mast.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-43-02	Cardoso Moreira, RJ
106	<i>P. mucronata</i> Lam.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-10-03	Prado, BA
107	<i>P. mucronata</i> Lam.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-10-05	Campos dos Goytacazes, RJ

108	<i>P. mucronata</i> Lam.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-10-04	Prado, BA
109	<i>P. trintae</i> Sacco	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-40-02	
110	<i>P. trintae</i> Sacco	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-40-02	Rio Pardo, MG
111	<i>P. trintae</i> Sacco	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-40-03	Norte de Minas (cipó candin)
112	<i>P. araujoii</i> Sacco	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-73-01	Manaus, AM
113	<i>P. araujoii</i> Sacco	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-73-01	Serra dos Órgãos, RJ
114	<i>P. bahiensis</i> Klotzsch	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -59-01	Bahia, Brasil
115	<i>P. bahiensis</i> Klotzsch	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-59-01	Bahia, Brasil
116	<i>P. capparidifolia</i> Killip	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-68-01	Cametá, PA
117	<i>P. capparidifolia</i> Killip	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-68-01	Cametá, PA
118	<i>P. galbana</i> Mast	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-06-08	Ponte Nova, MG
119	<i>P. galbana</i> Mast	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-06-03	Ponte Nova, MG
120	<i>P. gardineri</i> Mast	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -39-04	Silvânia, GO
121	<i>P. gardineri</i> Mast	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-39-04	Silvânia, GO
122	<i>P. hypoglauca</i> Harms	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-19-02	Ouro Preto, MG
123	<i>P. hypoglauca</i> Harms	<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 E Otto	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-75-01	(alba) São José do Laranjal, MG
127	<i>P. kermesina</i> Link E Otto	<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> M. Roem	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -16-02	Espirito Santo
139	<i>P. sidifolia</i> M. Roem	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-16-01	Espirito Santo
140	<i>P. triloba</i> Ruiz E Pav. Ex DC.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-78-01	Cruzeiro do Sul, Acre
141	<i>P. triloba</i> Ruiz E Pav. Ex DC.	<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> Annonay E Feuillet	<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> B. E. Br.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-22-02	Poconé, MT
150	<i>P. glandulosa</i> Cav.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -05-01	Belém, PA
151	<i>P. jilekii</i> Wawra	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-91-01	
152	<i>P. junqueirae</i> Imig E Cervi	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-66-01	Caparaó, MG
153	<i>P. lingularis</i> Juss.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-57-01	
154	<i>P. luetzelburgii</i> Harms	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-74-02	Petrolina, PE
155	<i>P. mendocai</i> Harms	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-92-01	Monte Verde, MG
156	<i>P. odontophylla</i> Harms	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-09-02	
157	<i>P. picturata</i> Ker Gawl.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -47-01	
158	<i>P. phoenicea</i> Lindl.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-53-01	
159	<i>P. quadriglandulosa</i> Rodschied	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ -62-01	Cáceres, MT
160	<i>P. racemosa</i> Brot.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-76-04	Búzios, RJ
161	<i>P. riparia</i> Mart. Ex Mast.	<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> J. C Mikan	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-30-01	
166	<i>P. variolata</i> Poepp. E Endl.	<i>Passiflora</i>	CPAC MJ-97-01	Manaus, AM
167	BRS céu do cerrado	Variedade	BRS céu do cerrado	<i>P. incarnata</i> X <i>P. edulis</i>
168	BRS estrela do cerrado	Variedade	BRS estrela do cerrado	<i>P. coccinea</i> Aubl X <i>P. setacea</i> DC.
169	BRS gigante amarelo	Variedade	BRS gigante amarelo	<i>P. edulis</i> X <i>P. edulis</i>
170	BRS maracujá jabuticaba	Variedade	BRS maracujá jabuticaba	Seleção de <i>P. edulis</i>
171	BRS mel do cerrado	Variedade	BRS mel do cerrado	Seleção de <i>P. alata</i>
172	BRS pérola do cerrado	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 X ( <i>P. 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 X ( <i>P. 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	<i>P. edulis</i> X <i>P. edulis</i>
178	BRS vitta	Variedade	BRS vitta	Seleção de <i>P. tenuifila</i>

**Tabela 6.** Padrão estabelecido para as Análises de Coordenadas Principais (PCoA)

Nº	ESPÉCIES	SUBGÊNERO
1	<i>P. cerradensis</i> Sacco	<i>Astrophea</i>
2	<i>P. haematostigma</i> Mart. Ex Mast.	<i>Astrophea</i>
3	<i>P. chlorina</i> L. K. Escobar	<i>Astrophea</i>
4	<i>P. rhamniiflora</i> Mast.	<i>Astrophea</i>
5	<i>P. sclerophylla</i> Harms	<i>Astrophea</i>
6	<i>P. organensis</i> Gardiner	<i>Decaloba</i>
7	<i>P. suberosa</i> L.	<i>Decaloba</i>
8	<i>P. capsularis</i> Lam.	<i>Decaloba</i>

9	<i>P. ferruginea</i> Mast.	<i>Decaloba</i>
10	<i>P. vespertilio</i> L.	<i>Decaloba</i>
11	<i>P. auriculata</i> Kunth	<i>Decaloba</i>
12	<i>P. morifolia</i> Mast.	<i>Decaloba</i>
13	<i>P. porophylla</i> Vell.	<i>Decaloba</i>
14	<i>P. rubra</i> L.	<i>Decaloba</i>
15	<i>P. biflora</i> Lam.	<i>Decaloba</i>
16	<i>P. cervii</i> M. L. M. Azevedo	<i>Decaloba</i>
17	<i>P. micropetala</i> Mart.	<i>Decaloba</i>
18	<i>P. pohlii</i> Mast,	<i>Decaloba</i>
19	<i>P. saxicola</i> Gontsch	<i>Decaloba</i>
20	<i>P. tricuspis</i> Mast.	<i>Decaloba</i>
21	<i>P. alata</i> Curtis	<i>Passiflora</i>
22	<i>P. cincinnata</i> Mast	<i>Passiflora</i>
23	<i>P. edulis</i> Sims	<i>Passiflora</i>
24	<i>P. foetida</i> L.	<i>Passiflora</i>
25	<i>P. maliformis</i> Vell.	<i>Passiflora</i>
26	<i>P. nitida</i> Kunth	<i>Passiflora</i>
27	<i>P. quadrangularis</i> L.	<i>Passiflora</i>
28	<i>P. amethystina</i> J. C Mikan	<i>Passiflora</i>
29	<i>P. caerulea</i> L.	<i>Passiflora</i>
30	<i>P. quadrifaria</i> Vanderpl	<i>Passiflora</i>
31	<i>P. setacea</i> DC.	<i>Passiflora</i>
32	<i>P. tholozanii</i> Sacco	<i>Passiflora</i>
33	<i>P. vitifolia</i> Kunth	<i>Passiflora</i>
34	<i>P. actinia</i> Hook	<i>Passiflora</i>
35	<i>P. ambigua</i> Hemsl.	<i>Passiflora</i>
36	<i>P. coccinea</i> Aubl.	<i>Passiflora</i>

37	<i>P. hatschbachii</i> Cervi	<i>Passiflora</i>
38	<i>P. malacophylla</i> Mast.	<i>Passiflora</i>
39	<i>P. mucronata</i> Lam.	<i>Passiflora</i>
40	<i>P. trintae</i> Sacco	<i>Passiflora</i>
41	<i>P. araujoi</i> Sacco	<i>Passiflora</i>
42	<i>P. bahiensis</i> Klotzsch	<i>Passiflora</i>
43	<i>P. capparidifolia</i> Killip	<i>Passiflora</i>
44	<i>P. galbana</i> Mast.	<i>Passiflora</i>
45	<i>P. gardineri</i> Mast.	<i>Passiflora</i>
46	<i>P. hypoglauca</i> Harms	<i>Passiflora</i>
47	<i>P. incarnata</i> L.	<i>Passiflora</i>
48	<i>P. kermesina</i> Link E Otto	<i>Passiflora</i>
49	<i>P. laurifolia</i> L.	<i>Passiflora</i>
50	<i>P. loefgrenii</i> Vitta	<i>Passiflora</i>
51	<i>P. mierssi</i> Mast,	<i>Passiflora</i>
52	<i>P. pedata</i> L.	<i>Passiflora</i>
53	<i>P. recurva</i> Mast.	<i>Passiflora</i>
54	<i>P. sidifolia</i> M. Roem	<i>Passiflora</i>
55	<i>P. triloba</i> Ruiz E Pav. Ex DC.	<i>Passiflora</i>
56	<i>P. villosa</i> Vell	<i>Passiflora</i>
57	<i>P. boticarioana</i> Cervi	<i>Passiflora</i>
58	<i>P. cerasina</i> Annonay E Feuillet	<i>Passiflora</i>
59	<i>P. edmundoi</i> Sacco	<i>Passiflora</i>
60	<i>P. eichleriana</i> Mast.	<i>Passiflora</i>
61	<i>P. elegans</i> Mast.	<i>Passiflora</i>
62	<i>P. gibertii</i> B. E. Br.	<i>Passiflora</i>
63	<i>P. glandulosa</i> Cav.	<i>Passiflora</i>
64	<i>P. jilekii</i> Wawra	<i>Passiflora</i>

65	<i>P. junqueirae</i> Imig E Cervi	<i>Passiflora</i>
66	<i>P. ligularis</i> Juss.	<i>Passiflora</i>
67	<i>P. luetzelburgii</i> Harms	<i>Passiflora</i>
68	<i>P. mendocaei</i> Harms	<i>Passiflora</i>
69	<i>P. odontophylla</i> Harms	<i>Passiflora</i>
70	<i>P. picturata</i> Ker Gawl.	<i>Passiflora</i>
71	<i>P. phoenicea</i> Lindl.	<i>Passiflora</i>
72	<i>P. quadriglandulosa</i> Rodschied	<i>Passiflora</i>
73	<i>P. racemosa</i> Brot.	<i>Passiflora</i>
74	<i>P. riparia</i> Mart. Ex Mast.	<i>Passiflora</i>
75	<i>P. setulosa</i> Killip	<i>Passiflora</i>
76	<i>P. speciosa</i> Gardner	<i>Passiflora</i>
77	<i>P. subrotunda</i> Mast.	<i>Passiflora</i>
78	<i>P. tenuifila</i> Killip	<i>Passiflora</i>
79	<i>P. variolata</i> Poepp. E Endl.	<i>Passiflora</i>
80	BRS céu do cerrado	Variedade
81	BRS estrela do cerrado	Variedade
82	BRS gigante amarelo	Variedade
83	BRS maracujá jabuticaba	Variedade
84	BRS mel do cerrado	Variedade
85	BRS pérola do cerrado	Variedade
86	BRS rosa púrpura	Variedade
87	BRS roseflora	Variedade
88	BRS rubi do cerrado	Variedade
89	BRS rubiflora	Variedade
90	BRS sol do cerrado	Variedade
91	BRS vitta	Variedade

---



**Figura 10.** Gráfico de barras obtido pela análise bayesiana, revelando dois *pool* gênico (K) identificados pela análise (k=2). Os números na horizontal correspondem aos 178 acessos de espécies do gênero *Passiflora*, destacando os subgêneros e variedades.

## CONCLUSÃO GERAL

Os resultados obtidos com base em pesquisas de publicações científicas apontaram diversos estudos acerca do gênero *Passiflora*, porém muita da diversidade desse gênero é escassa de estudos. As informações geradas contribuem para proposição e condução de novos estudos genético-moleculares associados ao gênero *Passiflora*.

A seleção previa do iniciador a ser utilizado em estudo é de extrema importância, influenciando diretamente na qualidade das análises. Tendo em vista essa questão, a seleção e caracterização dos iniciadores RGA revelaram resultados satisfatórios nas ampliações com espécies do gênero *Passiflora*, podendo ser amplamente utilizado em estudo intra e interespecífico e gerar informações interessantes no âmbito do melhoramento genético.

Nas análises de caracterização da diversidade e estrutura genética os resultados foram obtidos mediante a utilização de iniciadores RGA. Avaliações quanto ao polimorfismo desse iniciador, revelou um percentual de 100%. As espécies analisadas foram organizadas de acordo com os subgêneros aos quais pertencem e um grupo com variedades. Análises de coordenadas principais e de Variância Molecular revelaram ampla distribuição dos subgêneros e variedades. As análises do Structura revelaram que as espécies estudadas estão estruturadas.

Os resultados obtidos contribuem com o conhecimento genético-molecular do gênero *Passiflora*, o que pode auxiliar nas estratégias aplicadas ao manejo e conservação da espécie.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da pesquisa.