

TIAGO VINÍCIUS BATISTA DO CARMO

**AVALIAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E MOLECULAR DE GENÓTIPOS DE
MARACUJÁ-DO-MATO NO AGRESTE PERNAMBUCANO**

**RECIFE
2014**

TIAGO VINÍCIUS BATISTA DO CARMO

**AVALIAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E MOLECULAR DE GENÓTIPOS DE
MARACUJÁ-DO-MATO NO AGRESTE PERNAMBUCANO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia “Melhoramento Genético de Plantas”, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Agronomia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Prof^a. Dr^a. Luiza Suely Semen Martins – Orientadora – UFRPE

Prof. Dr. Mairon Moura da Silva – Co-orientador – UFRPE

**RECIFE
2014**

Ficha Catalográfica

C287a Carmo, Tiago Vinícius Batista do
Avaliação morfoagronômica e molecular de genótipos
de maracujá-do-mato no agreste pernambucano / Tiago
Vinícius Batista do Carmo. – Recife, 2014.
48 f. : il.

Orientadora: Luiza Suely Semen Martins.
Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético de
Plantas) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Agronomia, Recife, 2014.
Inclui referências e anexo(s).

1. Recursos genéticos 2. Melhoramento genético
3. ISSR 4. Passifloraceae 5. *Passiflora cincinnata* Mast.
I. Martins, Luiza Suely Semen, orientadora II. Título

CDD 581.15

**AVALIAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E MOLECULAR DE GENÓTIPOS DE
MARACUJÁ-DO-MATO NO AGRESTE PERNAMBUCANO**

TIAGO VINÍCIUS BATISTA DO CARMO

Dissertação defendida e aprovada pela banca examinadora em: ____/____/____

ORIENTADOR:

Prof^a. Dra. Luiza Suely Semen Martins
UFRPE/DB

EXAMINADORES:

Dr^a. Rosimar dos Santos Musser
UFRPE/DEPA

Dr^a. Angélica Virginia Valóis Montarroyos
UFRPE/DEPA

RECIFE-PE, BRASIL
Agosto, 2014

Aos meus companheiros de Pernambuco

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por estar sempre ao meu lado me proporcionando crescimento pessoal, profissional e iluminando sempre meu caminho.

À Professora Luiza pela orientação, dedicação e confiança em mim depositada.

Ao pesquisador do Instituto Agrônomo de Pernambuco: José Peroba Oliveira dos Santos, pelo apoio durante a realização deste trabalho.

Ao Professor Mairon Moura da Silva e à Rosimar dos Santos Musser pelo apoio e pela orientação na execução do projeto.

À Professora Angélica Valóis pelo auxílio na realização de toda parte laboratorial do projeto e confiança.

Ao Professor, José Luiz Sandes de Carvalho Filho pelos ensinamentos e palavras de apoio.

À Walma Guimarães e Maria Luciene da Silva pelo apoio e ajuda no projeto.

Ao apoio institucional e financeiro da Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico – CNPq pelo apoio ao Projeto.

À Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco pela concessão da bolsa de mestrado.

Aos pesquisadores, instituições e a Coopercuc que forneceram as sementes.

Ao Instituto Agrônomo de Pernambuco-IPA, pelo apoio institucional concedido.

Aos funcionários da Estação Experimental de Brejão pelo apoio no campo.

Aos professores da Pós-graduação em Melhoramento Genético de Plantas pelos conhecimentos transmitidos, os quais permitiram meu aperfeiçoamento profissional.

À secretária do Programa de Pós-graduação Bernadete Pinto de Lemos pela paciência, atenção e ajuda fornecida durante o mestrado.

A minha família e aos meus amigos pela confiança, apoio e incentivo em todos os momentos.

Aos colegas da pós-graduação Rebeca, Luciana, Marília, Amaro, Paulo Rocha, Tamires, Rafaela, Lenivânia (NI), Cláudia, Horace, Natália, Thiago Prates,

Ricardo, Alysson, João, Stella, Allan e Paulo Ricardo. pela amizade e pelos momentos de descontração durante o Mestrado.

Ao Romildo pela grande ajuda, pelas conversas e por fazer companhia na longa jornada de trabalho. Força Romildo! O próximo a defender será você.

À Ana Luísa, que foi essencial para a conclusão dessa etapa. Ela é como a haste fina, que qualquer brisa verga, mas nenhuma espada corta. Não mexe comigo, que eu não ando só...

A família Rep. Do Tio, que eu amo tanto e sinto saudades, principalmente da cota negra.

Aos amigos Júlio, Mariote, Aurinha, Wêslley, Inaldo, Camila, Tharcio, Marcos e Rodolpho.

Aos amigos do ITEP\Suape Ana Paula, Ângela Maria, Bruna, Clademir, Lilian, Sônia, Zaponi e Zildomar.

E a todos que, diretamente e indiretamente, contribuíram para esta dissertação.

Muito Obrigado!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	1
1 INTRODUÇÃO	2
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS E ORIGEM DO MARACUJAZEIRO	4
2.2 <i>Passiflora cincinnata</i> MAST.	6
2.3 CARACTERES MORFOAGRONÔMICOS	8
2.4 MARCADOR MOLECULAR NO MELHORAMENTO GENÉTICO DE PLANTAS	8
2.5 MARCADOR ISSR	9
REFERÊNCIAS	12
CAPÍTULO II - ARTIGO	20
DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE MARACUJÁ-DO-MATO POR MEIO DE DESCRITORES MORFOAGRONÔMICOS E MARCADOR MOLECULAR	21
RESUMO	21
ABSTRACT	22
INTRODUÇÃO	23
MATERIAL E MÉTODOS	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS	43
ANEXO - NORMAS DA REVISTA	46

LISTA DE FIGURAS

**CAPÍTULO II - DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE MARACUJÁ-
DO-MATO POR MEIO DE DESCRITORES MORFOAGRONÔMICOS
E MARCADOR MOLECULAR**

- Figura 1. Dendograma de similaridade genética de genótipos de *Passiflora cincinnata* Mast. obtido por meio de análise ISSR, utilizando o complemento do índice de similaridade de Jaccard e o método de agrupamento UPGMA. Brejão-PE, 2014..... 40

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II - DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE MARACUJÁ- DO-MATO POR MEIO DE DESCRITORES MORFOAGRONÔMICOS E MARCADOR MOLECULAR

Tabela 1. Temperatura média, umidade relativa e precipitação registrada na área experimental durante o período de fevereiro de 2013 a fevereiro de 2014. Brejão-PE, 2014	25
Tabela 2. Caracterização das folhas de genótipos de <i>Passiflora cincinnata</i> Mast. quanto à margem da folha, ao número de lóbulos e ao segmento central. Brejão-PE, 2014.....	30
Tabela 3. Tratamentos, formas dos filamentos externos e cores das sépalas, das pétalas e dos filamentos nas três séries (externa, intermediária e interna) das flores de genótipos de <i>Passiflora cincinnata</i> Mast. Brejão-PE, 2014.....	31
Tabela 4. Caracterização das brácteas e das estípulas dos genótipos de <i>Passiflora cincinnata</i> Mast. avaliados. Brejão-PE, 2014.....	32
Tabela 5. Resumo da análise de variância de 23 caracteres avaliados em 07 genótipos de <i>Passiflora cincinnata</i> Mast. no delineamento de blocos ao acaso. Brejão-PE, 2014.....	33
Tabela 6. Valor médio e desvio padrão dos descritores morfológicos de <i>Passiflora cincinnata</i> Mast. Brejão-PE, 2014.....	36
Tabela 7. Contribuição relativa das características para a divergência entre os genótipos de <i>Passiflora cincinnata</i> Mast. avaliados, seguindo método de Singh (1981). Brejão-PE, 2014.....	38
Tabela 8. Nome e sequência dos primers de ISSR selecionados, temperaturas de anelamento adotadas, número de ciclos, número de fragmentos amplificados e número de fragmentos polimórficos amplificados em estudos de genótipos de <i>Passiflora cincinnata</i> Mast.. Brejão-PE, 2014.....	39
Tabela 9. Conteúdo da informação de polimorfismo (PIC), poder de resolução do primer (RP) e Índice do marcador (MI) dos primers utilizados em estudos de genótipos de <i>Passiflora cincinnata</i> Mast. Brejão-PE, 2014.....	41

RESUMO

A espécie *Passiflora cincinnata* Mast. vem se popularizando no mercado e tem sido considerada uma das espécies silvestres que possuem grande potencial para contribuir com o melhoramento genético do maracujazeiro comercial. Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo avaliar genótipos de maracujá-do-mato (*P. cincinnata*) por meio de descritores morfológicos e descritores agrônômicos, além de marcadores moleculares do tipo ISSR, visando identificar variabilidade genética. O delineamento experimental foi em blocos casualizados em esquema simples com cinco repetições, com duas plantas por parcela. Para caracterização morfoagronômica foram avaliadas 22 características quantitativas e 13 características qualitativas. Para caracterização molecular foram testados 12 primers de ISSR. De acordo com os quadrados médios obtidos das análises de variância para as 21 características avaliadas pode-se ressaltar as diferenças significativas ($p < 0,01$) entre as médias dos genótipos para todos os caracteres avaliados. Verificou-se que para os 21 descritores morfológicos avaliados, o que mais contribuiu para a diversidade foi o MI (média internódio) com 43,12%, seguido por DH5 (diâmetro das hastes a 5 centímetros do solo) e LS (largura da sépala). A similaridade média encontrada foi 68%. Os primers UBC 887 e UBC 841 se destacaram com os valores mais altos para os atributos dos marcadores observados, demonstrando aptidão para serem utilizados em pesquisas de diversidade em *P. cincinnata*. Foi diagnosticada baixa variabilidade genética entre os genótipos avaliados. Os genótipos possuem potencial para serem utilizados em programas de melhoramento, principalmente os que exploram a obtenção de passifloras ornamentais.

Palavras-chave: Recursos genéticos; Melhoramento genético; ISSR, Passifloraceae; *Passiflora cincinnata* Mast.

ABSTRACT

The *Passiflora cincinnata* Mast. species is gaining popularity in the market and it has been considered a wild species that has great potential to contribute to the genetic improvement of commercial passion fruit. This study aims to evaluate the genotypes of wild passion fruit (*P. cincinnata*) by using morphological descriptors, agronomic traits and molecular markers ISSR. The experimental was randomized blocks in simple scheme with five replications and two plants per plot. For morphoagronomic characterization were evaluated 22 quantitative traits and 13 qualitative characteristics. For molecular characterization 12 ISSR primers were tested. According to the mean squares obtained from the analyzes of the variance to 21 traits evaluated, it can be highlighted that the significant differences ($p < 0.01$) among the means of the genotypes for all traits. It was found that for the 21 morphological traits measured, which contributed most to the diversity was the MI (internode mean) with 43.12%, followed by DH5 (diameter stems to 5 cm of soil) and LS (spread sepal). The average similarity found was 68%. UBC 887 and UBC 841 primers stood out with the highest values for the attributes of the markers observed, demonstrating suitability to use in researches of different types of *P. cincinnata*. It was diagnosed low genetic variability among genotypes. The genotypes have potential to be used in breeding programs, especially those exploiting obtaining ornamental passiflora.

Keywords: Genetic resources; Breeding; ISSR; Passifloraceae; *Passiflora cincinnata* Mast.

CAPÍTULO I

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 INTRODUÇÃO

Maracujazeiros são plantas da família *Passifloraceae*, que podem ser cultivadas para produção de frutos, fins ornamentais e produtos farmacológicos. O gênero *Passiflora* engloba um grande número de espécies, ultrapassando 400, sendo 120 oriundas do Brasil (BERNACCI, 2003). Apesar do número de espécies alto, o cenário comercial de maracujá fundamenta-se nas espécies: maracujá-amarelo ou azedo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener), maracujá-roxo (*Passiflora edulis* Sims) e maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryand).

O fruto do maracujá é bastante apreciado e é rico em sais minerais e vitaminas, principalmente vitamina A e C. Seu suco possui aroma e sabor agradáveis e tem grande aceitação em diversos mercados. O fruto ainda pode ser utilizado para fabricação de geleias e outros doces, e também, são exploradas suas propriedades farmacológicas: extração de maracujina, passiflorine e calmofilase, utilizadas como sedativo e antiespasmódicos (LIMA, 2002).

O Brasil destaca-se no cultivo de maracujá, com uma produção de 714.000 t em 2012. Do total produzido, a região Nordeste contribui com 73% da produção, cerca de 524.000 t. Percebe-se um aumento considerável na produtividade no Nordeste, considerando-se que em 1996 contribuía com apenas 44% da produção nacional. Grande parte do aumento dá-se pela adoção de tecnologia adequada e implantação de irrigação, destacando-se a produção nos Estados da Bahia, Ceará e Sergipe, que obtiveram, respectivamente, 317.000, 129.000 e 47.000 t de frutos produzidos em 2012 (AGRIANUAL, 2012).

Passiflora cincinnata Mast. é uma espécie silvestre que vem se popularizando no mercado, considerada umas das espécies silvestres que possuem grande potencial para contribuir com o melhoramento genético do maracujazeiro comercial (MELETTI et al., 2005). Essa espécie ainda pode ser usada na produção de porta-enxertos, pois apresenta resistência a doenças causadas por bactérias e nematóides e tolerância à seca (MELETTI et al., 2002; ARAÚJO, 2007).

Conhecida popularmente como maracujá-do-mato, *P. cincinnata* Mast. é uma espécie polimorfa, com frutos de forma e tamanho variáveis e distribuição ampla no Brasil, sendo bastante apreciado no Nordeste (OLIVEIRA e RUGGIERO, 2005). Apesar de não possuir tanta importância comercial, a espécie é consumida in natura, sendo comercializada em feiras livres, principalmente no sertão de Pernambuco e na Bahia, sendo também utilizada no preparo de doces e geleias. As plantas são

vigorosas, apresentando alguns genes de resistência a estresses bióticos e abióticos (COELHO, 2009).

Segundo Araújo (2007), ao coletar genótipos de diferentes regiões geográficas, é importante realizar uma avaliação em um mesmo ambiente, desta forma pode-se selecionar acessos com características potenciais para determinados fins. Para tanto, o estudo da divergência genética entre os acessos precisa ser realizado. Oliveira Júnior et. al (2010) cita a enorme diversidade de espécies nativas de Passifloraceae no Brasil, dentre elas é possível identificar quais possuem potencial uso na produção de defensivo, produtos farmacêuticos e em programas de melhoramento genético.

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar genótipos de maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.) por meio de descritores morfológicos, descritores agrônômicos e marcadores moleculares do tipo ISSR.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS E ORIGEM DO MARACUJAZEIRO

Vanderplank (2000) identificou as espécies de maracujazeiro como pertencentes à ordem Violales, tribo Passiflorae, família Passifloraceae, com 18 gêneros e cerca de 630 espécies, distribuídas essencialmente em regiões tropicais, sendo 95% delas predominantes na América do Sul e o restante na Ásia, Austrália e América do Norte. Entretanto, Judd et al. (1999), utilizando-se dados moleculares, identificaram a família Passifloraceae como pertencente à ordem Malpighiales.

Segundo Vanderplank (1996), muitas espécies selvagens foram introduzidas nas Américas do Norte e do Sul, na Índia Ocidental, nas ilhas Galápagos, África, Austrália e Filipinas. O local de origem de pelo menos 95% das espécies de maracujá é a América do Sul. Nicolai L. Vavilov indica *Passiflora ligularis* Juss. como originária do sub-centro Peruano, Equatoriano e Boliviano, e *P. edulis* Sims do sub-centro Brasileiro-Paraguaio, ambos do centro de origem Sul-americano.

A divisão da família Passifloraceae, proposta por Escobar (1988), compõe-se de 20 gêneros, esta adotada também por Cervi (1997). A tribo Paropsieae conta com seis gêneros e 26 espécies, todos da África e Madagascar, e a tribo Passiflorieae é representada por quatorze gêneros e cerca de 400 espécies no Novo Mundo e dez gêneros e, aproximadamente, 160 espécies no Velho Mundo. Para Bernacci (2003), a família Passifloraceae é composta de 19 gêneros.

O sistema de classificação mais utilizado é o de Killip (1938), que cita quatro gêneros para o Novo Mundo (*Dilkea*, *Mitostemma*, *Tetrastylis* e *Passiflora*) e oito para o Velho Mundo (*Adenia*, *Crossostemma*, *Deidamia*, *Hollrungia*, *Machadoa*, *Schlechterina*, *Tetrapathaea* e *Tryphostemma*). Desses, o gênero *Passiflora* é o mais representativo da família, com cerca de 400 a 500 espécies, das quais 100 a 200 são autóctones do Brasil (LOPES, 1994). Feuillet e MacDougal (1999) sugeriram alterações no sistema de classificação de Killip (1938), propondo uma nova classificação infragenérica para *Passiflora* e recomendando a utilização de apenas quatro subgêneros no lugar dos 22 propostos. Os autores relataram que a nova divisão define melhor as relações filogenéticas dentro do gênero *Passiflora*, sendo os subgêneros de Killip (1938) reorganizados da seguinte maneira: *Astrophea*, com cerca de 60 espécies e não modificado em relação à sua classificação original; *Deidamioides*, com 16 espécies agrupando três subgêneros, uma seção e o gênero

Tetrastylis; Decaloba, com mais de 200 espécies incluindo sete dos subgêneros de Killip, compreendendo, principalmente, espécies com o número básico de cromossomos 6 ($x = 6$) e Passiflora, com mais de 220 espécies pertencentes aos subgêneros Adenosepala, Tacsoniopsis, Rathea, Tacsonia, Granadillastrum, Distephana, Calopathanthus, Tacsonioides, Passiflora, Dysosmia e Dysosmioides do sistema de Killip e representadas, principalmente, por espécies com $x = 9$.

As espécies de *Passiflora* estão agrupadas segundo o número básico de cromossomos, sendo x igual a 6, 9 ou 10. Números de cromossomos ($2n$) iguais a 12, 18, 20, 22, 24, 36 e 84. Isto indica a ocorrência de mecanismos evolutivos por aneuploidia ($2n+2=22$) e poliploidia ($2n=4x=36$). Alguns autores sugerem que as espécies com $2n=12$ seriam as mais primitivas, ou ancestrais dos maracujazeiros, enquanto as espécies do grupo $2n=18$ seriam originárias de uma possível triploidização do número básico $x=6$ (LIMA, 2004). Todas as espécies comerciais pertencem ao grupo cariológico, com $2n = 18$ e 72.

O gênero *Passiflora* compreende trepadeiras herbáceas ou arbustivas, raramente eretas. Possui caules cilíndricos, angulosos ou quadrangulares, estriados longitudinalmente, muito ramificadas, suberificadas, glabras, que em algumas espécies, podem apresentar-se pilosas e atingir 5 a 10m de comprimento, composto de 22 subgêneros divididos em seções e/ou séries. As trepadeiras apresentam estruturas denominadas de gavinhas, que são modificações foliares, utilizada para prender a planta a suportes, mas em algumas espécies são ausentes. As raízes são do tipo axial e 73 a 85 % de todas as suas ramificações estão concentradas entre 15 e 45 cm de profundidade (KILLIP, 1938, VANDERPLANK, 1996).

As folhas são alternas, geralmente simples, inteiras ou lobadas, raramente compostas. Os pecíolos podem ou não apresentar glândulas nectaríferas que variam de tamanho, número e forma. Esta glândula ocorre na margem da bráctea ou na parte dorsal da folha, sendo uma característica importante para a classificação taxonômica. As estípulas são variáveis quanto a forma e bordo e também são úteis para classificar a espécie (VANDERPLANK, 1996).

A flor é muito característica do gênero, nascem das axilas das folhas em brotações novas, tendo cinco estames, cinco pétalas e cinco sépalas, androginóforo ereto com estames de extremidades livres e três estigmas. O ovário é unilocular, multiovulado, sobre o qual se encontra um estilete com estigma, geralmente, tripartido (MATSUMOTO e SÃO JOSÉ, 1991). Popularmente a flor é considerada

como a flor da paixão, devido a sua forma: coroa de espinhos, cinco chagas, três pregos com que Jesus Cristo foi crucificado (GONÇALVES e SOUZA, 2007).

Os estigmas estão na extremidade dos estiletes e, de acordo com a curvatura destes, encontram-se três tipos de flores, as quais foram classificadas como de estiletes totalmente curvos, parcialmente curvos e sem curvatura. Entretanto, as flores com estiletes sem curvatura não frutificam, mesmo com a polinização manual e controlada, isso ocorre devido à inviabilidade dos óvulos; no entanto, o pólen é viável quando transferido para outros tipos de flor (RUGGIERO et al., 1976).

Na maioria das espécies, as flores de *Passiflora* apresentam heterostilia, autoincompatibilidade e protandria, que favorecem a polinização cruzada (REGO et al., 1999). Desta forma, a polinização do gênero é predominantemente dependente de agentes polinizadores, como abelhas de grande porte, beija-flores, mamangavas, vespas, mariposas, borboletas e morcegos (SAZIMA; SAZIMA, 1978; OLIVEIRA, 1980; VARASSIN et al., 2001).

O maracujá apresenta pericarpo carnoso, indeiscente e várias sementes que o caracteriza como uma baga e não dividido em lóculos. As sementes são compridas lateralmente, com testa reticulada ou verrucosa, cobertas por arilo saciforme, succulento e colorido, de origem funicular (VANDERPLANK, 1996).

Dentro do gênero *Passiflora* encontram-se 50 a 60 espécies que produzem frutos comestíveis (MARTIN e NAKASONE, 1970; PEREIRA et al., 1971). Dentre estas, as principais espécies são: *P. edulis Sims f. flavicarpa Deg.*, *P. edulis Sims*, *P. alata*, *P. maliformis*, *P. setacea*, *P. nitida*, *P. macrocarpa*, *P. caerulea*, *P. cincinnata Mast.*, *Passiflora sp.*, *P. coccinea*, *P. laurifolia*, *P. mixta*, *P. quadrangularis* e *P. vitifolia*. *Passiflora edulis* é a espécie mais cultivada em todo o mundo, seguida por *P. alata* e *P. quadrangulares* (MANICA, 1981; OLIVEIRA et al., 1994).

2.2 *Passiflora cincinnata* MAST.

A espécie *P. cincinnata* é facilmente encontrada nos países da América do Sul, como Paraguai, Argentina, Brasil, Bolívia e Venezuela. No Brasil tem distribuição ampla podendo ser encontrada em São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Pará, Piauí, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Alagoas e Bahia (WONDRACEK, 2009).

Planta comumente glabra, com caule cilíndrico ou subanguloso, folhas palmadas lobadas ou partidas, com lobos ou segmentos oblongos ou ovalado-oblongos, com ápice arredondado ou agudo, geralmente mucronado, serrulados. Apresenta segmento terminal de base arredondada, peciolado, os laterais oblíquos na base, flores são axilares, de coloração azul-rosadas ou violáceas com fruto ovoide ou globoso (CORRÊA, 1984).

A espécie é polimórfica, aspecto morfológico com ampla variação, os frutos podem ser grandes ou pequenos, havendo variação, também, na coloração da flor e da polpa. Diferente do maracujá amarelo, a casca do fruto permanece verde após o amadurecimento, os frutos apresentam-se em formatos ovoides ou oblongos com 5-6 cm de comprimento por 3-4 cm de largura. A polpa comumente apresenta coloração creme, as sementes são ovais com 0,5-0,6 cm de comprimento por 0,4 cm de largura, foveoladas (WONDRACEK, 2009).

P. cincinnata é uma espécie silvestre, de importância comercial regional, popularmente conhecida como maracujá-mochila, maracujá-do-mato ou maracujá-tubarão (BERNACCI et al., 2003). Seus frutos podem ser facilmente encontrados em feiras livres e mercados municipais do sertão de Pernambuco e Bahia, sendo explorada apenas para subsistência e de forma extrativista (COELHO, 2009; KILL et al., 2010), porém nos municípios de Curaçá, Uauá e Canudos no Estado da Bahia, já observa-se unidades de produção, onde o fruto é produzido, beneficiado e processado na forma de geleia, muito apreciada pelo mercado internacional, principalmente na Alemanha e Itália (ARAÚJO, 2007).

Oliveira Júnior et al. (2010) citam que o maracujá-do-mato é encontrado em Goiás, Minas Gerais e Bahia. E que na região Nordeste é comercializado na entressafra do maracujá-amarelo, tornando-se uma fonte alternativa de renda para pequenos agricultores.

Nos programas de melhoramento genético de maracujá, *P. cincinnata* destaca-se como promissora, por ser tolerante a bactéria *Xanthomonas campestris* e algumas espécies de nematóides. Possui período de florescimento ampliado, androginóforo mais curto, compatível para utilização como porta-enxerto e apresenta resistência à seca (ARAÚJO, 2007; MELETTI et al., 2002). Apesar da ampla diversidade e distribuição no Brasil, Araújo (2007) evidencia que dos 599 acessos de *Passiflora* armazenados nos bancos de germoplasma brasileiros, apenas 21 são da espécie *P. cincinnata*.

2.3 CARACTERES MORFOAGRONÔMICOS

É de extrema importância caracterizar diferentes genótipos coletados, o que posteriormente permitirá um correto uso em programas de melhoramento e utilização por agricultores, possibilitando assim maiores ganhos genéticos (COELHO, 2007). Além disso, a caracterização fornece subsídio para um melhor manejo dos acessos, conservação e preservação (TORRES FILHO, 2008).

A caracterização morfológica e agrônômica de germoplasma é baseada no uso de descritores que visam individualizar fenotipicamente cada genótipo (RODRIGUES e ANDO, 2002). A descrição e o registro de características morfológicas, citogenéticas, bioquímicas ou moleculares do material biológico, cuja expressão pode ou não ser influenciada pelo ambiente, favorece a utilização adequada dos recursos genéticos no melhoramento da espécie (FREIRE et al., 1999).

Araújo (2007) indica que as características mais importantes para discriminação entre acessos de maracujazeiro (*P. cincinnata*) são o diâmetro das hastes, número de glândulas foliares, número de glândulas por bráctea, viabilidade de pólen, massa do fruto, massa da semente e massa total de frutos. Por serem características influenciadas pelo ambiente, as avaliações devem ser feitas em mais de um ambiente.

Melo (2009) realizou a caracterização morfoagronômica de oito genótipos de maracujá azedo utilizando o número de frutos por planta, produtividade, peso médio do fruto, rendimento de polpa, teor de sólidos solúveis totais, diâmetro equatorial e longitudinal, relação entre diâmetro equatorial e longitudinal, espessura da casca, pH, acidez total titulável e relação entre teor de sólidos solúveis e acidez titulável.

2.4 MARCADOR MOLECULAR NO MELHORAMENTO GENÉTICO DE PLANTAS

A biotecnologia é uma ferramenta tecnológica valiosa na atualidade. Suas funcionalidades contribuem para a estruturação de novos sistemas econômicos e sociais, o desenvolvimento dos países, especialmente a partir da manipulação das menores estruturas que compõem os seres vivos. A biotecnologia envolvendo plantas é um ramo milenar e processos biotecnológicos vêm sendo utilizados desde antiguidade, quando o ser humano já buscava a melhoria de plantas através de cruzamentos (BRASIL, 2010).

A biotecnologia é conceituada como um conjunto de técnicas de manipulação de seres vivos ou parte destes, para fins econômicos. Esse conceito inclui técnicas já bastante utilizadas na agricultura, como a cultura de tecidos, a fixação biológica de nitrogênio, controle biológico de pragas e utilização de marcadores moleculares (OLIVEIRA et al., 2012).

Com o advento das tecnologias modernas de genética e biologia molecular, vários tipos de marcadores moleculares, que verificam o polimorfismo genético diretamente no DNA, estão sendo utilizados. As principais vantagens da utilização desses marcadores são a possibilidade de identificação direta pelo genótipo e identificação de polimorfismo (independente do estágio de desenvolvimento da planta). Além disso, o emprego dos marcadores moleculares permite estudos de evolução, de diversidade genética inter e intraespecífica de identidade, origem genética e identificação de novas variantes, tornando-se assim bastante importante em programas de melhoramento genético (FALEIRO, 2007).

As principais tecnologias disponíveis são: Isoenzimas; RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*); RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*); Microssatélites; AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*); Minissatélites, CAPS (*Cleaved Amplified Polymorphic Sequence*); SSCP (*Single-Strand Conformation Polymorphism*); ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*); PCR-*Sequencing*; Marcadores Baseados em Retrotransposons; Marcadores Baseados em Genômica Funcional e SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) (FALEIRO, 2007).

É crescente a utilização de marcadores moleculares de DNA para auxiliar os procedimentos de seleção e melhoramento de diversas espécies. Essa ferramenta possibilita analisar a variabilidade genética, identificar genótipos ou genes específicos e detectar possíveis associações entre marcadores e as características fenotípicas (VIEIRA et. al, 2005).

Marcadores genéticos moleculares abrangem inúmeras vantagens, destacando-se pelo fato de não estarem influenciados pelo ambiente e serem independentes do estágio de desenvolvimento da planta, consistindo em uma importante ferramenta aos programas de melhoramento genético (ZIETKIEWICZ et al., 1994).

2.5 MARCADOR ISSR

A utilização de marcadores moleculares ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) tem aplicabilidade para diversos fins tais como: análise de diversidade genética, “fingerprinting” e seleção assistida (COSTA et al., 2010), estudos taxonômicos para delimitação de espécies complexas (SCHNEIDER, 2009; RODRIGUES, 2010; MICHELAN et al., 2012), caracterização de cultivares (ALMEIDA et al., 2009) e estudos populacionais (MERRILL et al., 2012).

Os marcadores ISSR são marcadores moleculares semiarbitrários, dominantes, amplificados via PCR em presença de um primer complementar a um microssatélite (SOUZA et al., 2005). A desvantagem desse marcador é que apresenta menos polimorfismo, se comparado aos marcadores SSR (BUSSELL et al., 2005). Por tratar-se de um marcador dominante, não diferenciam os indivíduos homocigotos dos heterocigotos, porém, apresentam vantagens em relação a outros marcadores moleculares por analisar *locos* múltiplos em uma única reação (GOULÃO e OLIVEIRA, 2001).

O método de ISSR é baseado em microssatélite e fornece resultados de alta reprodutibilidade gerando polimorfismo em muitos sistemas. É uma técnica de desenvolvimento simples e os procedimentos laboratoriais podem ser transferidos para qualquer espécie vegetal (BARTH et al., 2002). Nesta técnica os primers são formados por regiões de microssatélite de 16 a 25 pb, tidas como longas, o que a torna mais segura que o RAPD (REDDY et al., 2002). O produto de amplificação apresenta de 200 a 2000 pb e necessitam de temperaturas elevadas durante o anelamento por possuírem maior superfícies de ancoragem (COSTA, et al. 2010).

Variabilidade é uma característica do gênero *Passiflora*, visto que a maioria das espécies são alógamas, auto-incompatíveis e se cruzam facilmente (VIANA, 2002). De acordo com Santos et al. (2009), estes marcadores mostraram dentro e entre acessos de maracujazeiro uma ampla variabilidade revelando ser uma fator positivo para a caracterização molecular de germoplasma.

Costa et al. (2012) evidenciam o potencial uso do marcador ISSR na determinação do polimorfismo molecular em maracujazeiro amarelo e identificou que a intensa atividade para o melhoramento genético da espécie tem reduzido a sua variabilidade genética. Ao estudar a diversidade genética intraespecífica da espécie, agruparam-se acessos de acordo com a origem genética, diante disso pode-se identificar possíveis cruzamentos buscando maior variabilidade.

Santos et al. (2011) ao avaliarem a variação genética entre acessos de maracujá doce, roxo e amarelo utilizando primers ISSR, salientam que marcadores

ISSR podem ser úteis para estudos de diversidade genética, para fornecer informações práticas na seleção dos pais e a fim de auxiliar nas estratégias de reprodução e conservação da espécie.

Costa et al. (2010) visando determinar a variabilidade genética presente em acessos do banco de germoplasma e em acessos melhorados do programa de melhoramento genético do maracujazeiro da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, com o uso de marcadores ISSR, encontraram grande quantidade de bandas polimórficas e um dendograma dividido em dois grande grupos. O estudo realizado conclui que os marcadores ISSR mostrou-se uma ferramenta valiosa para estudo de diversidade genética dentro de *P. edulis*. A variabilidade presente nos acessos que compõe os Bancos de Germoplasma poderá ser utilizada para geração de novas populações de melhoramento. E a heterogeneidade presente na população de meios irmãos poderá ser de grande utilidade para seleção dos indivíduos que irão compor os novos ciclos de recombinação na seleção recorrente.

O uso de marcadores moleculares em melhoramento de plantas é bastante amplo (MOULIN et al., 2012), vai desde culturas de importância econômica a espécies silvestre (ALMEIDA, 2006). Vários estudos realizados têm demonstrado sua eficiência (ROSSI et. al., 2009) na seleção de genótipos a serem usados futuramente como genitores de novas cultivares (COSTA et al., 2010).

REFERÊNCIAS

AGRIBUS 2012: Anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP, p. 349-350. 2012.

ALMEIDA, C. M. A. **Diversidade genética em populações de *Aechmea fulges* Brong. (Bromeliaceae) na Mata Atlântica de Pernambuco.** 2006, 56 f. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético de Plantas) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 2006.

ALMEIDA, C. M. A.; LIMA, S. E. N.; LIMA, G. S. A.; BRITO, J. Z.; DONATO, V. M. T. S.; SILVA, M. G. Caracterização Molecular de Cultivares de cana-de-açúcar utilizando marcadores ISSR. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, p. 1771-1776, 2009.

ARAÚJO, F. P. **Caracterização da variabilidade morfoagronômica de maracujazeiro (*Passiflora cincinnata* Mast.) no semi-árido brasileiro.** 2007. 94 f. Tese (Doutorado em Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

BARTH, S.; MELCHINGER, A. E.; LUBBERSTEDT, T. L. Genetic diversity in *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. investigated by cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. **Molecular Ecology**, Viena, v.11, p. 495–505, 2002.

BERNACCI, L. C. Passifloraceae. In: WANDERLEY, M. L.; SHEPHERD, G. J.; GIULIETT, A. M.; MELHEM, T. S. (Coord.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo.** São Paulo: FAPESP: RiMa. v. 3, p. 247-248, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Boletim técnico de biotecnologia agropecuária – ações do MAPA/EMBRAPA.** Brasília: 2010. 72 p.

BUSSELL, J. D.; WAYCOTT, M.; CHAPPILL, J. A. Arbitrarily amplified DNA markers as characters for phylogenetic inference. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* vol. 07, p. 3 – 26, 2005.

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

COELHO, C. M. M.; COIMBRA, J. L. M.; SOUZA, C. A.; GUIDOLIN, A. F. Diversidade genética em acessos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.5, p.1241-1247, 2007.

COELHO, M. S. E. **Caracterização citogenética de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. *P. cincinnata* Mast. e seu híbrido interespecífico**. 2009. 67 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB, 2009.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, 6 v. 1984.

COSTA, J. L.; JESUS, O. N.; OLIVEIRA, G. A. F.; OLIVEIRA, E. J. Effect of selection on genetic variability in yellow passion fruit. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 12, p. 253-260, 2012.

COSTA, J. L.; OLIVEIRA, E. J.; JESUS, O. N.; OLIVEIRA, G. A. F.; NEVES, C. G. Marcadores moleculares como ferramenta para estruturação da diversidade genética em 12 genótipos de maracujazeiro. **Jornada Científica** – Embrapa Mandioca e Fruticultura. 2010.

ESCOBAR, L. K. **Passifloracea**: Flora de Colômbia, Bogotá, n. 10, p. 1-138. 1988.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.

FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J. M. A new infrageneric classification of *Passiflora*. In: INTERNATIONAL BOTANICAL CONGRESS, 16., 1999, St. Louis. **Anais**. St. Louis: Mc Graw Hill; Yale University Press, 1999.

FREIRE, S. M.; MORALES, E. A. V.; BATISTA, M. F. Diversidade genética. In: VIEIRA, N. R. A.; SANTOS, A. B.; SANT'ANA, E. P. **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. Cap. 20, p. 559-581.

GONÇALVES, J. S.; SOUZA, S. A. M. Fruta da paixão: panorama econômico do maracujá no Brasil. **Informações Econômicas**. São Paulo, V.36, n.12, 2007.

GOULÃO, L.; OLIVEIRA, C.M. Molecular characterization of cultivars of apple (*Malus x domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. **Euphytica**, vol. 122, p. 81-89, 2001.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. **Plant systematics**: a phylogenetic approach: New York, Press, 1999. 464 p.

KILL, L. H. P.; SIQUEIRA, K. M.; ARAUJO M., TRIGO, F. P., FEITOZA, S. P. M., LEMOS, E. A. Biologia reprodutiva de *Passiflora cincinnata* Mast. (Passifloraceae) na região de Petrolina (Pernambuco, Brazil). **Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 1, p. 115-127, 2010.

KILLIP, E. P. **The American species of Passifloraceae**. Chicago: Field Museum of Natural History, 1938. 613 p.

LIMA, A. A. **Maracujá produção**: aspectos técnicos. Brasília: Embrapa, 2002.104 p.

LIMA, A. A. **Maracujá**: produção e qualidade na passicultura. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 396 p.

LOPES, S.C. Citogenética do maracujazeiro *Passiflora spp.* In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.) **Maracujá**: produção e mercado. Vitória da Conquista: UESB, 1994. cap. 01, p. 19–23.

MANICA, I. **Fruticultura tropical**: maracujá. São Paulo: Agronômica Ceres, 1981.

MARTIN, F. W.; NAKASONE, H. Y. The edible species of *Passiflora*. **Economic Botany**, New York, v. 24, p. 333-343, 1970.

MATSUMOTO, S. N.; SÃO JOSÉ, A. B. **A cultura do maracujá no Brasil**. Jaboticabal: Funep-Unesp, 1991. p. 110-127.

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

MELETTI, L.M.M.; FURLANI, P.R.; ALVAREZ, V.; SOARES-SCOTT, M.D.; BERNACCI, L.C.; AZEVEDO-FILHO, J.A. Novas tecnologias melhoram a produção de mudas de maracujá. **O Agrônomo**, Campinas, v.54, n.1, p.30-33, 2002.

MELO, F., M., R.; **Caracterização agrônômica e molecular de oito genótipos de maracujá azedo no agreste meridional pernambucano**. Recife: UFRPE, 2009. 58 f. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético de Plantas) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009

MERRIL, K. R.; MEYER, S. E.; COLEMAN, C. E. Population genetic analysis of *Bromus tectorum* (Poaceae) indicates recent range expansion may be facilitated by specialist genotypes. **American Journal of Botany**, St. Louis, v.99, n.3, p. 529-537, 2012.

MICHELAN, V. S.; TREVISAN, R.; SILVA, C. R. M.; SOUZA, R. F.; LUCEÑO, M.; VANZELA, A.L.L. Morphological and genomic characterization of *Rhynchospora tenuis* complex (Cyperaceae) and its taxonomic implications. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v.63, n.4, p.775-784, 2012.

MOULIN, M. M.; RODRIGUES, R.; GONÇALVES, L. S. A.; SUDRÉ, C. P.; GONZAGA, M. P. A comparison of RAPD and ISSR markers reveals genetic

diversity among sweet potato landraces (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). **Acta Scientiarum**. Agronomy, Maringá. Vol. 34, p. 139-147, 2012.

OLIVEIRA JÚNIOR, M. X.; JOSÉ, A. R. S.; REBOUÇAS, T. N. H.; MORAIS, O. M.; DOURADO, F. W. N. Superação de dormência de maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata* MAST.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, p.584-590, 2010.

OLIVEIRA, A. M. X.; SANTOS, R. S.; BARBOSA, M. S. A biotecnologia aplicada ao melhoramento genético vegetal: controvérsias e discussões. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 10, n. 1, p. 339-361, 2012.

OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. Espécies de maracujá com potencial agrônômico. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p.143-158.

OLIVEIRA, J. C. de. **Melhoramento genético de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. visando aumento de produtividade**. 1980. 133 f. Tese (Livre Docência em Melhoramento Vegetal) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 1980.

OLIVEIRA, J. C. de; NAKAMURA, K.; MAURO, A. O.; CENTURION, M. A P. C. Aspectos gerais do melhoramento do maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.). **Maracujá: produção e mercado**. Vitória da Conquista: UESB, 1994. cap. 02, p. 27-37.

PEREIRA, A. L. C.; CAMPACCI, C. A.; CIANCIULLI, P, L. Maracujá: seu cultivo, espécies e moléstias. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 1., 1971, Campinas. **Anais...** Campinas: SBF, v. 2, p. 641-658.

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

REGO, M. M.; BRUCKNER, C. H.; SILVA, E. A. M.; FINGER, F. L.; SIQUEIRA, D. L.; FERNANDES, A. A. Self incompatibility in passion fruit: evidence of two locus genetic control. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 98, p. 564-568, 1999.

RODRIGUES, J. F. **Delimitação de espécies e diversidade genética no complexo *Cattleya coccinea* Lindl. e *C. mantiqueirae* (Fowlie) van den Berg (Orchidaceae) baseada em marcadores moleculares ISSR**. 2010. 81 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo, 2010.

RODRIGUES, L. R. F.; ANDO, A. Caracterização e avaliação de três grupos de arroz-de-sequeiro de diferentes procedências por meio da sensibilidade à radiação gama. **Bragantia**, Campinas, v. 61, n. 1, p. 17-23, 2002.

ROSSI, A. A. B.; OLIVEIRA, L. O.; VENTURINI, B. A.; SILVA, R. S. Genetic diversity and geographic differentiation of disjunct atlantic Amazonian populations of *Psychotria ipecacuanha* (Rubiaceae). **Genética (The Hague)**, Amsterdam, vol. 136, n.1, p. 57-67, 2009.

RUGGIERO, C.; LAM-SANCHES, A.; CARVALHO, R. P. L. Ocorrência de diferentes tipos de flores de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.). **Cientifica**, Jaboticabal, v.4, p.82-86, 1976.

SANTOS, L. F.; OLIVEIRA, E. J.; COSTA, J. L. Variabilidade genética de acessos de maracujazeiro com o uso de marcadores ISSR, In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 5., 2009, Guarapari. O melhoramento e os novos cenários da agricultura: **anais...** Vitória: Incaper, 2009. [Incaper. Documento, 011]. 01 CD-ROM.

SANTOS, L. F.; OLIVEIRA, E. J.; SANTOS, S. A.; CARVALHO, F. M.; COSTA, J. L.; PÁDUA, J. G. ISSR markers as a tool for the assessment of genetic diversity in *Passiflora*. **Biochemical Genetics**, Kansas City, v.49, n. 8, p. 540-554, 2011.

SAZIMA, I.; SAZIMA, M. Bat pollination of the passion flower, *Passiflora mucronata*, in Southeastern Brazil. **Biotropica**, Washington, v. 10, p. 100-109, 1978.

SCHNEIDER, A. A. **Estudo Taxonômico de *Baccharis* L. sect. *Caloupterae* DC. (Asteraceae: Astereae) no Brasil.** 2009. 197 f. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

SOUZA, V. Q.; PEREIRA, A. S.; KOPP, M. M.; COIMBRA, J. L. M.; CARVALHO, F. I. F.; LUZ, V. K.; OLIVEIRA, A. C. Dissimilaridade genética em mutantes de aveia tolerantes e sensíveis a ácidos orgânicos. **Bragantia**, Campinas, v.64, p. 569-575, 2005.

TORRES FILHO, J. **Caracterização morfo-agronômica, seleção de descritores e associação entre a divergência genética e a heterose em meloeiro.** 2008. 150 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2008.

VANDERPLANK, J. *Passion flowers*. 3. ed. Cambridge: Mit Press, 2000. 224 p.

VANDERPLANK, J. *Passion flowers*. Massachusetts: Mit Press, 1996. 224 p.

VARASSIN, I. G.; TRIGO, J.; SAZIMA, M. The role of néctar production, flower pigments and odour in the pollination of four species of *Passiflora* (Passifloraceae) in South-Eastern Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 136, p. 139-152, 2001.

VIANA, A. P. Diversidade morfoagronômica em populações de maracujazeiro. In: III Reunião Técnica de Pesquisa em Maracujazeiro. 2002. Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 2002. p. 160 - 163.

VIEIRA, M.L.C. et al. Métodos biotecnológicos aplicados ao melhoramento genético do maracujá In: **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético** v. 1, p.411-453, 2005.

WONDRACEK, D. C. **Caracterização e diversidade genética de acessos de maracujá do cerrado com base no perfil de carotenoides.** 2009. 101 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

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

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25

CAPÍTULO II

Artigo científico a ser enviado a Revista Caatinga para publicação.

26 **DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE MARACUJÁ-DO-MATO POR**
27 **MEIO DE DESCRITORES MORFOAGRONÔMICOS E MARCADOR MOLECULAR¹**

28
29

30 TIAGO VINÍCIUS BATISTA DO CARMO^{2*}, LUIZA SUELY SEMEN
31 MARTINS³, ROSIMAR DOS SANTOS MUSSER⁴, MAIRON MOURA DA SILVA⁵, JOSÉ
32 PEROBA OLIVEIRA SANTOS⁶

33

34 **RESUMO** – A espécie *Passiflora cincinnata* Mast. vem se popularizando no mercado e tem sido
35 considerada uma das espécies silvestres que possui grande potencial para contribuir com o
36 melhoramento genético do maracujazeiro comercial. Diante do exposto, este trabalho tem como
37 objetivo avaliar genótipos de maracujá-do-mato (*P. cincinnata*) por meio de descritores
38 morfológicos, descritores agronômicos e marcadores moleculares do tipo ISSR visando
39 identificar variabilidade genética. O delineamento experimental foi em blocos casualizados em
40 esquema simples com cinco repetições, com duas plantas por parcela. Para caracterização
41 morfoagronômica foram avaliadas 22 características quantitativas e 13 características
42 qualitativas. Para caracterização molecular foram testados 12 primers de ISSR. De acordo com os
43 quadrados médios obtidos das análises de variância para as 21 características avaliadas pode-se
44 ressaltar as diferenças significativas ($p < 0,01$) entre as médias dos genótipos para todos os
45 caracteres avaliados. Verificou-se que para os 21 descritores morfológicos avaliados, o que mais

* Autor para correspondência.

¹ Recebido para publicação em; aceito em

Parte da dissertação de mestrado em Agronomia\Melhoramento Genético de Plantas do primeiro autor

² Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil. E-mail: tvinibatista@gmail.com

³ Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.

⁴ Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.

⁵ Departamento de Agronomia, Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, Brasil.

⁶ Unidade Experimental Fazenda Vista Alegre, Instituto Agrônomo de Pernambuco, Brejão, Brasil.

46 contribuiu para a diversidade foi o MI (média internódio) com 43,12%, seguido por DH5
47 (diâmetro das hastes a 5 centímetros do solo) e LS (largura da sépala). A similaridade média
48 encontrada foi 68%. Os primers UBC 887 e UBC 841 se destacaram com os valores mais altos
49 para os atributos dos marcadores observados, demonstrando aptidão para serem utilizados em
50 pesquisas de diversidade em *P. cincinnata*. Foi diagnosticada baixa variabilidade genética entre
51 os genótipos avaliados. Os genótipos possuem potencial para serem utilizados em programas de
52 melhoramento, principalmente os que exploram a obtenção de passifloras ornamentais.

53
54 **Palavras-chave:** Recursos genéticos. Melhoramento genético. ISSR. Passifloraceae. *Passiflora*
55 *cincinnata* Mast..

56
57
58 **GENETIC DIVERSITY AMONG WILD PASSION FRUIT GENOTYPES THROUGH**
59 **DESCRITORES MORFOAGRONÔMICOS AND GENETIC MARKER**

60
61 **ABSTRACT**– The *Passiflora cincinnata* Mast. species is gaining popularity in the market and it
62 has been considered a wild species that has great potential to contribute to the genetic
63 improvement of commercial passionfruit. This study aims to evaluate the genotypes of wild
64 passion fruit (*P. cincinnata*) by using morphological descriptors, agronomic traits and molecular
65 markers ISSR to identify the genetic variability. The experimental was randomized blocks in
66 simple scheme with five replications and two plants per plot. For morphoagronomic
67 characterization were evaluated 22 quantitative traits and 13 qualitative characteristics. For
68 molecular characterization 12 ISSR primers were tested. According to the mean squares obtained
69 from the analyzes of variance for 21 traits evaluated, it can be highlighted the significant
70 differences ($p < 0.01$) among the means of the genotypes for all traits. It was found that for the 21
71 morphological traits measured, which contributed most to the diversity was the MI (internode
72 mean) with 43.12%, followed by DH5 (diameter stems to 5 cm of soil) and LS (spread sepal).
73 The average similarity found was 68%. UBC 887 and UBC 841 primers stood out with the
74 highest values for the attributes of the markers observed, demonstrating suitability to use in
75 researches of different types of *P. cincinnata*. It was diagnosed low genetic variability among

76 genotypes. The genotypes have potential to use in breeding programs, especially those exploiting
77 obtaining ornamental passiflora.

78

79

80 **Keywords:** Genetic resources. Breeding. ISSR. Passifloraceae. *Passiflora cincinnata* Mast.

81

82 INTRODUÇÃO

83

84 O maracujá, pertencente ao gênero *Passiflora* faz parte da família Passifloraceae que é
85 constituída por 18 gêneros e mais de 630 espécies (MILWARD-DE-AZEVEDO;
86 BAUMGRATZ, 2004). O Brasil é identificado como centro de diversidade genética do gênero, já
87 que cerca de 150 espécies são encontradas no território brasileiro, sendo 87 endêmicas (CERVI et
88 al., 2010).

89 As espécies do gênero *Passiflora* são utilizadas na indústria farmacêutica para retirada de
90 passiflorina, dentre outras substâncias; no agronegócio de plantas ornamentais, devido à
91 incomparável beleza de suas flores, que apresenta multiplicidade de cores e formatos; e na
92 produção de frutos para o mercado de consumo in natura ou para a indústria de sucos (ABREU et
93 al., 2009; MELETTI et al., 2005) .

94 A produção de frutos é o foco principal da cultura, na espécie *Passiflora edulis* f.
95 *flavicarpa*, gerando mais de 200 mil empregos diretos e indiretos. São 61.842 hectares plantados
96 em todo Brasil possibilitando a produção de 923.035 toneladas de frutos. O rendimento é, em
97 média, 14,92 toneladas por hectare, registrado no ano de 2012. O Brasil é o maior produtor
98 mundial de maracujá, sendo a região Nordeste detentora da maior produção da cultura, com uma
99 área colhida de 44.932 hectares, com produção de 563.346 toneladas de frutos, dispondo assim
100 72,59% da produção nacional. Destacam-se os Estados da Bahia, Ceará e Sergipe, Pernambuco
101 está no nono lugar no ranking nacional, com 1.224 hectares plantados, produzindo 14.512
102 toneladas de frutos (MELETTI, 2011; IBGE, 2012).

103 As espécies que detém maior importância comercial são *Passiflora edulis* Sims. f.
104 *flavicarpa* (maracujá-azedo) e *P. alata* Curtis (maracujá-doce). Sendo que, aproximadamente,
105 90% da produção nacional é constituída pelo cultivo de maracujá-azedo. Algumas outras

106 espécies, também, merecem destaque, porém só possuem visibilidade regional, sendo essas:
107 ‘maracujá-melão’ (*P. quadrangularis* L.), ‘maracujá-suspiro’ (*Passiflora nítida* Kunth.),
108 ‘maracujá-azul’ (*P. caerulea* L.) e ‘maracujá-do-mato’ (*P. cincinnata* Mast.) (MELETTI et al.,
109 2005).

110 As espécies do gênero *Passiflora* vêm sendo utilizadas em diversos estudos com objetivo
111 de verificar o potencial agrônomo e a qualidade físico-química de seus frutos, a fim de serem
112 exploradas e possibilitarem o fornecimento de genes relacionados à qualidade dos frutos e
113 resistência a doenças. A diversidade de características encontradas nessas espécies permite a
114 adoção de diferentes espécies em variados programas de melhoramento, pois possuem potencial
115 para atender a distintos nichos de mercado.

116 A espécie *P. cincinnata* vem se popularizando no mercado e tem sido considerada uma
117 das espécies silvestres que possuem grande potencial para contribuir com o melhoramento
118 genético do maracujazeiro amarelo (MELETTI et al., 2005). Essa espécie apresenta
119 compatibilidade na produção de porta-enxertos, resistência a doenças causadas por bactérias e
120 nematóides e tolerância à seca. Conhecida popularmente como maracujá-do-mato, *P. cincinnata*
121 é uma espécie polimorfa, com frutos de formas e tamanhos variáveis e distribuição ampla no
122 Brasil, sendo bastante apreciado na região nordeste (ARAÚJO et al., 2008). Diante disso, é
123 importante conhecer a variabilidade genética do gênero *Passiflora*, pois as informações
124 disponíveis ainda são incipientes. Estudos básicos relacionados à caracterização e à avaliação do
125 germoplasma do referido gênero, com uso de descritores morfológicos, agrônômicos e
126 moleculares devem ser incentivados, pois são de grande valia em programas de melhoramento
127 genético da cultura (FREITAS et al., 2011).

128 A caracterização de genótipos de maracujá-do-mato torna-se fundamental já que vem se
129 popularizando e sendo utilizado em diversas linhas de programas de melhoramento, pois possui
130 potencial florístico e de uso como porta-enxerto, além de contribuir para a diversificação do
131 consumo in natura de frutos.

132 Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo avaliar genótipos de maracujá-do-
133 mato (*P. cincinnata*) por meio de descritores morfológicos, agrônômicos e marcadores
134 moleculares do tipo ISSR visando identificar variabilidade genética.

135

136
 137 **MATERIAL E MÉTODOS**
 138
 139 O experimento foi conduzido, no período de fevereiro de 2013 a fevereiro de 2014, na
 140 Estação Experimental-Fazenda Vista Alegre, situada no município de Brejão, Agreste Meridional
 141 do Estado de Pernambuco, distante 255 km de Recife, e pertencente ao Instituto Agrônomo de
 142 Pernambuco (IPA). A sede localiza-se na altitude aproximada de 788 m, nas coordenadas
 143 geográficas de 09° 01' 49 S e 36° 34' 07 W. O clima é classificado, segundo Köppen, como Cs'a,
 144 mesotérmico com verão seco e quente continental. A estação chuvosa se inicia em
 145 janeiro/fevereiro com término em setembro, podendo se prolongar até outubro (LAMEPE/ITEP,
 146 2011). Na tabela seguinte observam-se os índices de temperatura média, umidade relativa e
 147 precipitação registrada na área experimental durante o período de realização do experimento.

148
 149 Tabela 1. Temperatura média, umidade relativa e precipitação registrada na área experimental
 150 durante o período de fevereiro de 2013 a fevereiro de 2014. Brejão-PE, 2014

Ano	Meses	Temperatura média (°C)	Umidade relativa (%)	Precipitação (mm)
2013	Fevereiro	23.4	84.5	3.7
	Março	24.7	84	4.4
	Abril	22.15	92.5	123.2
	Mai	20.9	95	81.4
	Junho	21.58	93.5	146.6
	Julho	19.53	96.25	199.6
	Agosto	20.75	87	144
	Setembro	22.28	82	33.7
	Outubro	25.2	70	53
	Novembro	20.7	92	34
	Dezembro	22.65	81.25	58.6
	2014	Janeiro	23.75	43.5
Fevereiro		23.95	85	32.9

151 Adaptado de APAC, 2014.

152
 153 As sementes dos diferentes genótipos de *P. cincinnata* utilizadas neste trabalho foram
 154 oriundas de: Genótipo 01 - Instituição Doadora (ID): Coopercuc (Uauá/Bahia), Genótipo 02 -
 155 Coleta (LC): Chã Grande/PE, Genótipo 03- ID: EMBRAPA (Banco de Germoplasma de
 156 Passiflora (BPG) - 268), Genótipo 04- LC: Viçosa/MG, Genótipo 05- LC: Jaboticabal/SP,
 157 Genótipo 06- LC: Jaboticabal/SP e Genótipo 07-ID: EMBRAPA (BPG-016).

158 Para quebra de dormência das sementes utilizou-se o regulador de crescimento ácido
159 giberélico GA4+7 e N-(fenilmetil)-1H-6-aminopurina a 1,8%, sendo então as sementes
160 submetidas à imersão por 24 horas. Foram semeadas três sementes por tubete contendo 55 cm³ de
161 substrato comercial Plantmax® e mantidos em casa de vegetação, sendo regados diariamente.

162 À medida que as mudas alcançavam três pares de folhas, essas eram repicadas para sacos
163 plásticos pretos de polietileno de 28 x 14 cm, contendo substrato comercial Plantmax®. As
164 necessidades nutricionais dos genótipos na fase de mudas foram supridas com solução nutritiva
165 contendo os macro e micronutrientes essenciais, sendo aplicada semanalmente. Após as mudas
166 atingirem 25 cm de altura, cerca de 50 dias após o plantio, foram transplantadas para o local
167 definitivo, na área experimental. Foi utilizado o delineamento de blocos casualizados em
168 esquema simples, o experimento foi composto de sete linhas, tendo sido duas consideradas
169 bordaduras, as cinco linhas restantes constituíram os blocos. Consideraram-se sete tratamentos
170 (genótipos), cinco repetições com duas plantas por parcela, com espaçamento 2 m entre linhas e 4
171 m entre plantas. O sistema de sustentação foi em espaldeira vertical com um fio de arame liso nº
172 12 a 1,7 m de altura.

173 As dimensões das covas de plantio foram 40x40x40 cm, sendo as adubações realizadas de
174 acordo com análise de solo e seguindo as recomendações de adubação para o Estado de
175 Pernambuco, o sistema de irrigação utilizado foi microaspersão.

176 Foram avaliadas as seguintes características quantitativas:

177 Em relação à folha: Área foliar (AF) medida com aparelho (*Area Meter AM300*) digital de
178 leitura direta em mm²; Média do pecíolo (MP) média de cinco pecíolos e Glândulas foliares (GF)
179 contadas na parte abaxial de cinco folhas. As medições foram realizadas com o auxílio de
180 paquímetro digital obtidas em milímetros.

181 Em relação à flor: Comprimento das brácteas (CB), obtido a partir de cinco brácteas na
182 pré-antese das flores; Número de glândulas nas brácteas (NGB) foram obtidos de cinco brácteas
183 na pré-antese das flores; Diâmetro das flores (DF), a partir dos pontos extremos da flor; Diâmetro
184 da corona (DC), a partir dos pontos extremos dos filamentos da corona; Comprimento da série
185 externa dos filamentos (CSEF) e Comprimento da série interna dos filamentos (CSIF), a partir da
186 inserção no receptáculo da flor até o ápice; Comprimento médio dos filamentos (CMF);
187 Comprimento da pétala (CP), desde a inserção na flor até o ápice; largura da pétala (LP), na

188 maior dimensão; Comprimento da sépala (CS), desde a inserção na flor até o ápice; Largura da
189 sépala (LS), na maior dimensão; Comprimento do pedúnculo floral (CPF), a partir do receptáculo
190 da flor até a inserção no caule e Largura da bráctea (LB) na maior dimensão. Foram avaliadas
191 cinco flores em duas plantas nos cinco blocos, totalizando 50 flores por genótipo para
192 caracterização morfológica floral, cujas avaliações iniciaram por ocasião do florescimento de
193 cada genótipo. As medições foram realizadas com o auxílio de paquímetro digital obtidas em
194 milímetros.

195 Em relação à planta: Diâmetro das hastes a 5 centímetros do solo (DH5) e a 10
196 centímetro do solo (DH10), tomado na parte basal do caule com auxílio de paquímetro digital e
197 expressa em mm; Média Internódio (MI) medido até a altura de 1,0m do colo das plantas,
198 realizada com auxílio de fita métrica obtido em centímetros; Número de dias para alcançar a
199 espaladeira (NDAE), número de dias desde o transplântio até o ramo principal alcançar a
200 espaladeira; Número de folhas por ramo (NF), número de folhas no ramo principal ao atingir a
201 espaladeira e Brotação da planta proveniente da raiz (BNR), determinado pela contagem das
202 plantas novas brotadas dentro das covas ao redor da planta matriz e transformado em
203 porcentagem.

204 Dentre os caracteres qualitativos foram avaliados: Cor da Sépala; Cor da Pétala e Cor dos
205 filamentos internos, externo e intermediário, onde foi utilizada a Carta de Cores de Munsell para
206 Tecido Vegetal. A forma da bráctea, margem da folha, lóbulos, segmento central, ápice da folha,
207 forma da estípula e forma dos filamentos foram avaliados seguindo descrição de Cervi (1997).

208 Os descritores morfoagronômicos utilizados foram os comumente empregados para
209 Passifloráceas e os descritores oficiais de Passifloras ornamentais (BRASIL, 2012), porém foram
210 acatadas modificações propostas por Araújo et al. (2008) e algumas foram modificados conforme
211 necessidade. Os dados em porcentagens foram transformados em arco seno $\sqrt{(x/100)}$.

212 As análises moleculares foram efetuadas no Laboratório de Biotecnologia Vegetal do
213 Departamento de Agronomia da UFRPE. O DNA foi extraído de cerca de três gramas de folha
214 macerado em nitrogênio líquido, segundo metodologia proposta por Doyle e Doyle (1990), com
215 modificações. Foi adicionado 5 μ L de tampão de extração (4 % CTAB; 100 mM Tris HCL; β
216 mercaptoetanol) ao material macerado. As amostras foram submetidas a banho-maria, a 60 °C
217 por 10 minutos, para solubilização e homogeneização da suspensão. Para a remoção das proteínas

218 foi realizada uma lavagem com clorofórmio etanol (24:1) e centrifugada a 14.000 rpm por 10
219 minutos. O sobrenadante foi submetido à segunda lavagem com clorofórmio etanol e novamente
220 centrifugado. A fase aquosa foi recuperada e a ela adicionada álcool isopropílico na proporção de
221 2/3 do volume inicial, para a precipitação dos ácidos nucleicos. Após duas horas de repouso, a
222 solução foi centrifugada por 10 minutos a 14.000 rpm. O “pellet” seco foi resuspenso em
223 tampão TE (Tris 50 mM + EDTA 10 mM, pH 8,0) contendo RNase (10 ng/mL), a 37 °C, por
224 uma hora. Ao DNA reprecipitado, foi adicionando NaCl 5M na proporção 1:10 (NaCl:DNA
225 resuspenso) e 2/3 do volume de isopropanol, incubando a 20° C por três horas, para em seguida
226 ser centrifugado por 10 minutos a 14.000 rpm. O precipitado de DNA seco foi, outra vez, re-
227 suspenso em tampão TE. Ao fim da extração, cada uma das amostras foi quantificada (ng/μL) no
228 quantificador NanoVue Plus (GE healthcare®) e armazenadas a -20 °C. A concentração de cada
229 amostra foi padronizada para 50 ng/μL.

230 Foram testados 12 primers de ISSR, sendo selecionados de um conjunto produzido pela
231 *University of British Columbia*, Vancouver, Canadá, para *Sphagnum angermanicum* Melin e
232 *Pogonatum dentatum* (Brid.). As reações de amplificação foram realizadas para um volume final
233 de 15 μL, contendo 1 μL do DNA molde, 0,3 μL de Taq DNA polimerase (Invitrogen), 10 μL de
234 H₂O deionizada, 1,5 μL de MgCl₂, 0,3 μM de cada dNTPs e 1 μM de primer. As amplificações
235 do DNA foram realizadas em termociclador MJ Reseach, Inc., PTC100 Programmable Thermal
236 Controller (Watetown,USA), nas seguintes condições: 15 minutos a 95° C (desnaturação inicial);
237 seguido por 30 ou 35 ciclos de 30 segundos a 94° C (desnaturação); 45 segundos a 49 ou 58° C
238 (anelamento); 2 minutos a 72° C (extensão) e 7 minutos a 72° C (extensão final). O número de
239 ciclos e a temperatura de anelamento adotados variaram de acordo com o primer utilizado.

240 Os produtos das amplificações foram separados em gel de agarose 2,0% e corado com
241 SYBR Gold (Invitrogen), utilizando-se o marcador de peso molecular de 100 pb (Invitrogen),
242 sendo visualizados sobre luz ultravioleta e registrados no fotodocumentador digital Vilber
243 Lourmat. Os produtos das amplificações foram tabulados como 1 (presença) e 0 (ausência) de
244 bandas para os sete genótipos. A similaridade entre todos os genótipos foi calculada através do
245 *Simple Matching* (SM). O cálculo da similaridade foi feito utilizando o programa computacional
246 NTSYSpc versão 2.01, o qual gerou a matriz de distância genética entre os genótipos. Para

247 construção do dendrograma, a partir da matriz, foram gerados grupos através do método da média
248 aritmética não ponderada UPGMA (*Unweighted pair Group Method with Arithmetic Average*).

249 O poder discriminatório dos primers foi determinado através dos seguintes parâmetros: PIC
250 (*Polymorphism Information Content* – conteúdo da informação de polimorfismo), MI (*Marker*
251 *Index* – índice do marcador) e RP (*Resolution Power* – poder de resolução). O valor do PIC para
252 cada primer foi obtido por meio da fórmula $PIC_i = 2 f_i (1-f_i)$, PIC_i igual ao conteúdo de
253 informação do polimorfismo do marcador i , f_i referente a frequência de fragmentos presentes do
254 marcador por acesso e $1-f_i$, a frequência de fragmentos ausentes. Em seguida obteve-se a média
255 dos valores de PIC dos fragmentos de cada primer. O MI foi obtido por meio da expressão: $MI =$
256 $PIC \times n \times n_p / (n_p + n_m)$, sendo n o número médio de fragmentos por primer, n_p o número de
257 fragmentos polimórficos e n_m o número de fragmentos monomórficos. Utilizando a fórmula $RP =$
258 ΣI_b , encontrou-se o poder de resolução de cada primer, onde I_b é o nível de informação de cada
259 fragmento. O I_b é dado em uma escala de 0 - 1 utilizando a fórmula: $I_b = 1 - (2 \times |0,5 -$
260 $f_i|)$ (VARSHNEY et al., 2007). A correlação entre os índices obtidos foi testada pelo coeficiente
261 de Pearson utilizando o programa BioEstat 5.0.

262

263 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

264

265 Os caracteres morfológicos das folhas, apresentados na Tabela 2, agrupam dois genótipos
266 com folhas pentalobadas de margem e segmento central serrilhado e ápice da folha obtuso. Esses
267 genótipos são oriundos de Chã Grande/PE e Viçosa/MG. O segundo grupo, com cinco genótipos,
268 apresenta dois genótipos de Jaboticabal/SP (05 e 06), um genótipo de Uauá/BA (01) e dois
269 genótipos oriundos do Banco de Germoplasma da Embrapa (07 e 03). O único caráter
270 relacionado a características morfológicas das folhas que diferiu entre os genótipos foi o ápice da
271 folha.

272

273

274

275

276

277

278

279 Tabela 2. Caracterização dos genótipos de *Passiflora cincinnata* Mast. quanto à margem da folha,
 280 ao número de lóbulos e ao segmento central. Brejão-PE, 2014

Genótipos	Margem da folha	Ápice da folha	Número de lóbulos	Segmento central
01- ID: Coopercuc (Uauá/Bahia)	Serrilhada	Arredondado	Pentalobado	Serrilhado
02- LC: Chã Grande/PE	Serrilhada	Obtuso	Pentalobado	Serrilhado
03- ID: EMBRAPA (BPG-268)	Serrilhada	Arredondado	Pentalobado	Serrilhado
04- LC: Viçosa/MG	Serrilhada	Obtuso	Pentalobado	Serrilhado
05- LC: Jaboticabal/SP	Serrilhada	Arredondado	Pentalobado	Serrilhado
06- LC: Jaboticabal/SP	Serrilhada	Arredondado	Pentalobado	Serrilhado
07- ID: EMBRAPA (BPG-016)	Serrilhada	Arredondado	Pentalobado	Serrilhado

281 Instituição Doadora (ID); Local da Coleta (LC); Banco de Germoplasma de Passiflora (BPG).
 282

283 Quanto à forma dos filamentos externos, observa-se a formação de dois grupos, um grupo
 284 com cinco genótipos com filamentos externos da flor ligulados e o outro com dois genótipos com
 285 filamentos externos da flor filiformes (Tabela 03).

286 A variação de cores dos filamentos da flor nas três séries, coloração da sépala e pétala não
 287 permitiu a determinação de agrupamentos (Tabela 3). Essas cores foram obtidas de acordo com a
 288 escala de cores de tecidos da carta de Munsell. Essa variabilidade de cores encontrada destaca o
 289 grande potencial ornamental da espécie.

290 Em relação ao número de estigmas, diferente da variação encontrada por Araújo et al.
 291 (2008), todos os genótipos apresentaram três estigmas, não foram observados variantes.

292

293

294

295

296

297

298

299

300

301

302

303 Tabela 3. Tratamentos, formas dos filamentos externos e cores das sépalas, das pétalas e dos
 304 filamentos nas três séries (externa, intermediária e interna) das flores de genótipos de *Passiflora*
 305 *cincinnata* Mast. Brejão-PE, 2014

Genótipos	Formas dos filamentos da flor	Cor dos filamentos da flor nas três séries			Cor da sépala	Cor da pétala
		Externa	Intermediária	Interna		
01- ID: Coopercuc (Uauá/Bahia)	Ligulados	10P 6/12	5RP 6/18	7.5RP 3/12	5RP 8/10	10P 6/4
02- LC: Chã Grande/PE	Ligulados	10P 8/4	10P 9/6	10RP 3/12	5RP 9/4	10P 9/4
03- ID: EMBRAPA (BPG-268)	Ligulados	10P 5/10	10P 6/16	7.5RP 3/10	10P 7/4	10P 5/10
04- LC: Viçosa/MG	Filiforme	10P 3/4	5RP 7/4	7.5P 1/8	10P 3/4	10P 6/6
05- LC: Jaboticabal/SP	Ligulados	7.5P5/12	2.5RP 5/12	10RP 1/10	7.5RP7/4	10P 9/4
06- LC: Jaboticabal/SP	Filiforme	5P 3/6	7.5RP	5RP 1/10	5P 8/6	5P 8/8
07- ID: EMBRAPA (BPG-016)	Ligulados	10P 3/12	5RP 8/6	5RP 6/14	10P 7/4	5RP 9/6

306 Instituição Doadora (ID); Local da Coleta (LC); Banco de Germoplasma de *Passiflora* (BPG).

307
 308 Observou-se que a abertura das flores se dava a partir das 5 horas da manhã e nos dias
 309 nublados, com temperatura mais baixa com ou sem chuvas o horário inicial da abertura das flores
 310 tinha início a partir das 7 horas. O horário de fechamento se dava a partir das 16 horas. Em
 311 relação à abertura e fechamento das flores todos os genótipos tiveram comportamento
 312 semelhante.

313 Kill et al. (2010), analisando a biologia reprodutiva de *P. cincinnata* na região de
 314 Petrolina/Pernambuco, identificaram que a antese das flores é diurna e ocorre às 06:00 horas,
 315 sendo caracterizada pelo lento afastamento das bordas da corola e do cálice. Nesta fase, as anteras
 316 estão deiscentes, os grãos de pólen estão disponíveis e apresentam alta viabilidade (96,93%), os
 317 estigmas estão receptivos (das 4h às 17h). E o tempo de vida da flor é de aproximadamente nove
 318 horas, sendo assim o fechamento das flores se dá em média por volta das 16 horas.

319 As brácteas dos genótipos utilizados na pesquisa são foliáceas e glandulares com formato
 320 ovalado e as glândulas presentes somente na base. Já com relação às estípulas, todas são lineares
 321 e subuladas. Encontrando-se variação somente nas bordas, o genótipo 01 (Uauá/BA) possui a
 322 borda lisa e os demais possuem a borda serrilhada (Tabela 4).

323 Quanto à percentagem de brotação de plantas novas provenientes da raiz (BNR), verificou-
 324 se que houve variação de 0 a 80% (Tabela 4). Índices que corroboram com os encontrados por

325 Araújo et al. (2008), que ainda salientam que *P. cincinnata* mesmo cortado, rebrota e produz no
 326 ano seguinte. Perante a dificuldade de produção de mudas utilizando sementes, essa característica
 327 pode ser explorada, sendo a estaquia uma boa alternativa para propagar plantas superiores,
 328 possibilitando a implantação de pomares tecnicamente superiores. Na formação do pomar deve-
 329 se manter a variabilidade, já que a espécie *P. cincinnata* possui autoincompatibilidade.

330 Santos et al. (2012), avaliando a propagação vegetativa de estacas de *P. cincinnata*,
 331 verificaram que o índices de porcentagem de estacas enraizadas foram altas, chegando a 84,38%
 332 de enraizamento. Salienta-se que a espécie possui altos índices de enraizamento e formação de
 333 brotação de plantas novas provenientes da raiz, essa característica pode vir a ser explorada em
 334 trabalhos relacionados à estaquia e enxertia.

335
 336 Tabela 4. Caracterização das brácteas e das estípulas dos genótipos de *Passiflora cincinnata*
 337 Mast. avaliados. Brejão-PE, 2014

Genótipos	Forma das brácteas	Glandulares	Borda das estípulas	Porcentagem de brotação (%)
01- ID: Coopercuc (Uauá/Bahia)	Ovalada	Base	Lisa	60
02- LC: Chã Grande/PE	Ovalada	Base	Serrilhada	10
03- ID: EMBRAPA (BPG-268)	Ovalada	Base	Serrilhada	00
04- LC: Viçosa/MG	Ovalada	Base	Serrilhada	80
05- LC: Jaboticabal/SP	Ovalada	Base	Serrilhada	00
06- LC: Jaboticabal/SP	Ovalada	Base	Serrilhada	40
07- ID: EMBRAPA (BPG-016)	Ovalada	Base	Serrilhada	20

338 Instituição Doadora (ID); Local da Coleta (LC); Banco de Germoplasma de Passiflora (BPG).

339
 340
 341 Considerando os resultados obtidos nas análises das características morfológicas
 342 qualitativas, constatou-se a existência de pouca variabilidade intraespecífica na espécie em
 343 estudo.

344 De acordo com os quadrados médios obtidos das análises de variância para as 21
 345 características quantitativas avaliadas pode-se ressaltar as diferenças significativas ($p < 0,01$) entre
 346 as médias dos genótipos para todos os caracteres avaliados (Tabela 5). Isto evidencia a alta
 347 variabilidade entre os genótipos de *P. cincinnata*, bem como a importância do seu uso em
 348 programas de melhoramento, visando o aumento da base genética das passifloras. O coeficiente
 349 de variação oscilou entre 4,35 e 31,58%, demonstrando existir boa precisão experimental.

350

351 Tabela 5. Resultado da análise de variância de 21 caracteres avaliados em 07 genótipos de
 352 *Passiflora cincinnata* Mast. no delineamento de blocos ao acaso. Brejão-PE, 2014

Características		Quadrados médios				Média	CV (%)
		Blocos	Genótipos	Resíduos			
Folha	AF	1776682.15	4186095.42*	2110667.76	8396.88	17.3	
	MP	0.33	0.64*	0.27	4.51	11.49	
	MI	0.43	1.49**	0.99	5.975	16.68	
	GF	0.63	0.77*	1.6	7.66	16.5	
Flores	DF	50.08	111.74**	21.87	107.61	4.35	
	CMF	6.49	24.3*	10.1	47.7	6.67	
	CB	15.94	19.65*	7.83	31.14	8.98	
	NGB	0.89	9.4**	2.09	4.78	30.26	
	DC	42.41	93.19*	46.83	104.7	6.54	
	CSEF	1.19	44.73**	9.69	40.98	7.6	
	CSIF	7.45	39.55**	8.29	48.21	5.97	
	CP	3.23	25.93**	3.95	45.39	4.38	
	LP	2.13	2.39*	0.79	12.07	7.38	
	CS	9.27	20.18**	5.14	44.26	5.12	
	LS	2.48	3.64*	2	16.8	8.42	
	CPF	16.55	120.73*	38	47.02	13.11	
	LB	4.78	7.46*	2.93	14.81	11.56	
Planta	NDAE	1102.45	7195.83**	718	84.84	31.58	
	DH5	0.7	3.74*	1.1	6.64	15.82	
	DH10	0.46	3.54**	0.8	5.86	15.25	
	NF	4.08	18.62*	14.71	29.81	12.86	
G.L.		4	6	24			

353 G.L. = Graus de liberdade. * Significativo a 5%, pelo teste F. ** Significativo a 1%, pelo teste F.
 354 Área foliar (AF); Média do pecíolo (MP); Média internódio (MI); Glândulas foliares (GF); Diâmetro das flores (DF);
 355 Comprimento médio dos filamentos (CMF); Comprimento das brácteas (CB); Diâmetro da coroa (DC); Número de
 356 Glândulas nas brácteas (NGB); Comprimento da série externa dos filamentos (CSEF); Comprimento da série interna
 357 dos filamentos (CSIF); Comprimento da pétala (CP); Largura da pétala (LP); Comprimentos da sépala (CS); Largura
 358 da sépala (LS); Comprimento do pedúnculo floral (CPF); Largura da bráctea (LB); Número de dias para alcançar a
 359 espaladeira (NDAE); Diâmetro das hastas a 5 centímetros do solo (DH5); Diâmetro das hastas a 10 centímetros do
 360 solo (DH10); Número de folhas por ramo (NF).

361
 362
 363 Considerando os valores médios e desvio padrão dos vinte e um descritores morfológicos
 364 quantitativos avaliados para os genótipos de *P. cincinnata* (Tabela 6), em relação a área foliar o
 365 genótipo 06 apresentou o maior valor, 9969.34 mm², já o genótipo 03 apresentou o menor valor,
 366 7169.74 mm². Essa característica pode ser explorada em programas de melhoramento da espécie
 367 que visam obter genótipos com folhas maiores, consequentemente mais vantajosas na extração de
 368 substâncias de interesse na indústria farmacológica. Além disso, esse aspecto influencia na

369 fotossíntese, transpiração, aproveitamento da energia solar, produtividade de massa seca e
370 tolerância a sombreamento.

371 Em relação ao número de glândulas nas brácteas a maior média e a menor foram,
372 respectivamente, 6,58 (genótipo 01) e 3.21 (genótipo 07). No que concerne ao número de
373 glândulas foliares o maior valor médio encontrado foi 8.40 para o genótipo 06 e o menor valor
374 encontrado foi 7.20 para o genótipo 03 (Tabela 6).

375 Nascimento e Barbosa (2014) citam que os nectários extraflorais constituem-se numa
376 excelente estratégia de defesa, sendo um método de defesa indireto, onde a planta atrai inimigos
377 naturais de seus herbívoros, pois o néctar produzido é atrativo, principalmente, para diversos
378 artrópodes predadores. Diante disso, é interessante realizar estudos específicos de morfologia e
379 composição tecidual para uma análise detalhada dessa estrutura de defesa.

380 Os valores máximos para MP e MI foram 5.14 (genótipo 06) e 6.48 (genótipo 01) e os
381 valores mínimos 4.04 (genótipo 03) e 5.09 (genótipo 06) (Tabela 6).

382 No que se refere aos descritores florais de *P. cincinnata*, pode-se constatar que os menores
383 e maiores valores de DC foram de 101.11 mm (genótipo 06) e 113.90 mm (genótipo 04) e o DF
384 variou de 101.36 mm (genótipo 02) a 117.00 mm (genótipo 04) (Tabela 6). Lawinsky et al.
385 (2014), caracterizando os acessos de *P. cincinnata* Mast. do Banco Ativo de Germoplasma da
386 Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) na Bahia, encontrou variação no DF de 53.81 mm
387 a 88,93 mm. Pode-se ainda destacar o tamanho do diâmetro floral dos genótipos analisados neste
388 trabalho, pois o menor valor encontrado ainda se apresenta 12.43 mm superior ao maior DF do
389 genótipo do Banco de Germoplasma da UESC, constatado pelos autores, anteriormente citados.
390 Corroborando o potencial que os genótipos apresentam para serem usados em programas de
391 melhoramento que visam explorar o potencial ornamental.

392 O CSEF e CSIF variaram de 37.29 mm (genótipo 01) a 44.33 mm (genótipo 04) e 46.52
393 mm (genótipo 06) a 53.26 mm (genótipo 04), respectivamente (Tabela 6). O comprimento médio
394 dos filamentos variou de 44.40 mm (genótipo 02) a 51.72 mm (genótipo 04) (Tabela 6). Estes
395 filamentos são de fundamental importância na interação com polinizadores, já que dão apoio ao
396 polinizador no momento da coleta do néctar, por seguinte da polinização. Conseqüentemente
397 genótipos que não apresentam filamentos bem formados ou não possuem tamanho adequado ao
398 polinizador, apresentação maior dificuldade de polinização e fertilização das suas flores,

399 conseqüentemente, possuem certo tipo de impedimento na produção de frutos, por conseguinte na
400 perpetuação do seu material genético.

401 Em relação à pétala a maior largura e comprimento foram 49.95 (genótipo 02) e 13.23
402 (genótipo 01) e os menores valores foram 42.65 mm (genótipo 02) e 11.31 mm (genótipo 06),
403 respectivamente (Tabela 6). Já em relação à sépala, a maior largura e comprimento foram 47.94
404 mm (genótipo 04) e 18.12 mm (genótipo 01) e os menores valores foram 41.68 mm (genótipo 01)
405 e 15.80 mm (genótipo 01), respectivamente (Tabela 6). A maior média para comprimento do
406 pedúnculo floral foi 54.05 (genótipo 02) a menor foi 41.31 (genótipo 04) (Tabela 6).

407 Os descritores comprimento e largura das brácteas apresentaram os maiores e menores
408 valores (34.01 mm; 13.28 mm) para os genótipos 02 e 04 e (28.19 mm; 13.28 mm) para os
409 genótipos 04 e 03, respectivamente (Tabela 6).

410 Para NDAE o maior valor foi 121.80 dias (genótipo 06) e o menor 37.80 dias (genótipo
411 02), em média (Tabela 6). Esse atributo é muito valorizado em programas de melhoramento, já
412 que ele permite a análise do vigor do genótipo, quando menor o tempo gasto pelo genótipo a
413 alcançar a espaladeira mais vigoroso o genótipo é considerado.

414 Em relação ao diâmetro da haste, 05 cm acima do solo e 10 cm acima do solo os maiores
415 índices foram 8,01 mm (genótipo 02) e 7.30 (genótipo 02) e os menores valores foram 5.34 mm
416 (genótipo 04) e 4.50 mm (genótipo 04), respectivamente (Tabela 6). Essas características são de
417 extrema importância para estudos que visam verificar o potencial dessa espécie como porta-
418 enxerto, nos programas de melhoramento deve-se selecionar os genótipos que mais se
419 assemelham no diâmetro da haste da espécie comercial de interesse, com propósito de diminuir a
420 incompatibilidade e auxiliando no controle de doenças.

421 Em relação a número de folhas por ramo o genótipo 07 apresentou o maior valor, 31.80
422 folhas, em média. O menor valor foi 26.90 folhas, em média, para o genótipo 06 (Tabela 6).

423
424
425
426
427
428
429
430

431

432

Tabela 6. Valor médio e desvio padrão dos descritores morfológicos de *Passiflora cincinnata* Mast. Brejão-PE, 2014

Genótipo	AF	MP	MI	GF	DF	CMF	CB	DC	NGB	CSEF
01	8049.76 ± 2041.99	4.21 ± 0.37	6.48 ± 0.48	7.56 ± 2.30	106.75 ± 7.48	47.61 ± 1.36	31.39 ± 2.44	102.73 ± 3.05	6.58 ± 1.32	37.29 ± 3.27
02	8236.40 ± 963.56	4.70 ± 0.39	6.30 ± 0.57	7.50 ± 0.54	101.36 ± 4.45	44.40 ± 3.02	31.58 ± 2.96	101.79 ± 4.25	6.39 ± 2.68	38.91 ± 4.02
03	7169.74 ± 1368.79	4.04 ± 0.37	5.94 ± 0.35	7.20 ± 0.79	105.99 ± 2.66	48.49 ± 1.74	28.19 ± 3.22	104.58 ± 5.58	3.34 ± 0.50	37.43 ± 0.71
04	8438.86 ± 728.91	4.64 ± 0.13	6.66 ± 1.07	7.66 ± 1.73	117.00 ± 3.45	51.72 ± 4.17	34.01 ± 2.29	113.90 ± 6.10	5.40 ± 0.85	43.03 ± 1.98
05	9123.96 ± 888.91	4.42 ± 1.02	5.09 ± 1.70	7.40 ± 0.82	108.39 ± 5.28	47.89 ± 3.58	28.97 ± 2.20	103.47 ± 11.18	4.22 ± 1.22	44.33 ± 2.54
06	9969.34 ± 1333.53	5.14 ± 0.39	5.70 ± 0.90	8.40 ± 0.48	105.93 ± 5.09	46.62 ± 3.29	32.42 ± 1.95	101.11 ± 6.67	4.33 ± 1.35	42.56 ± 2.26
07	7790.12 ± 2090.25	4.43 ± 0.55	5.65 ± 0.92	7.90 ± 0.28	107.84 ± 5.73	47.20 ± 3.48	31.40 ± 4.90	105.33 ± 7.63	3.21 ± 0.45	43.28 ± 4.05

433

434

435

Genótipo	CSIF	CP	LP	CS	LS	CPF	LB	NDAE	DH5	DH10	NF
01	47.10 ± 1.43	44.77 ± 1.96	13.23 ± 1.36	43.87 ± 3.57	18.12 ± 2.42	53.25 ± 5.75	15.79 ± 3.62	55.60 ± 33.72	6.43 ± 0.83	5.64 ± 1.00	30.10 ± 4.76
02	44.80 ± 2.65	42.65 ± 2.33	11.72 ± 1.00	42.53 ± 2.33	16.49 ± 0.66	54.05 ± 9.11	14.32 ± 1.42	121.80 ± 29.54	8.01 ± 1.46	7.30 ± 1.08	31.80 ± 3.65
03	46.71 ± 1.69	44.00 ± 1.42	12.83 ± 0.72	41.68 ± 2.21	17.71 ± 0.72	45.28 ± 2.61	13.28 ± 1.28	106.80 ± 43.05	6.62 ± 0.35	6.02 ± 0.10	28.10 ± 2.16
04	53.26 ± 2.49	49.95 ± 1.11	11.65 ± 1.18	47.94 ± 2.18	16.89 ± 0.87	41.31 ± 4.75	16.81 ± 1.16	42.80 ± 11.84	5.34 ± 0.64	4.50 ± 0.61	31.20 ± 2.22
05	50.00 ± 3.86	44.91 ± 1.81	11.83 ± 0.55	44.07 ± 1.16	15.80 ± 1.67	42.81 ± 6.29	13.80 ± 1.08	104.90 ± 30.75	7.34 ± 1.58	6.27 ± 1.40	31.80 ± 4.04
06	46.52 ± 2.65	45.84 ± 1.59	11.31 ± 0.66	44.95 ± 1.47	16.00 ± 1.80	45.20 ± 4.62	15.29 ± 1.25	37.80 ± 6.58	6.01 ± 0.94	5.57 ± 0.74	26.90 ± 2.70
07	49.08 ± 4.14	45.59 ± 2.93	11.95 ± 1.18	44.75 ± 2.97	16.61 ± 0.96	47.20 ± 6.18	14.39 ± 1.25	124.20 ± 20.45	6.70 ± 0.77	5.75 ± 0.45	28.80 ± 4.80

436

437

438

439

440

441

442

443

Área foliar (AF); Média do pecíolo (MP); Média internódio (MI); Glândulas foliares (GF); Diâmetro das flores (DF); Comprimento médio dos filamentos (CMF); Comprimento das brácteas (CB); Diâmetro da corona (DC); Número de Glândulas nas brácteas (NGB); Comprimento da série externa dos filamentos (CSEF); Comprimento da série interna dos filamentos (CSIF); Comprimento da pétala (CP); Largura da pétala (LP); Comprimentos da sépala (CS); Largura da sépala (LS); Comprimento do pedúnculo floral (CPF); Largura da bráctea (LB); Número de dias para alcançar a espaladeira (NDAE); Diâmetro das hastas a 5 centímetros do solo (DH5); Diâmetro das hastas a 10 centímetros do solo (DH10); Número de folhas por ramo (NF).

444 Em relação à contribuição relativa de cada característica para a diversidade
445 genética entre as espécies, verificou-se que para 21 descritores morfológicos
446 quantitativos avaliados, o que mais contribuiu para a diversidade foi o MI (média
447 internódio) com 43,12%, seguido por DH5 (diâmetro das hastes a 5 centímetros do
448 solo), LS (Largura da sépala) e CSIF (Comprimento da série interna dos filamentos),
449 totalizando 91,23%. Os demais descritores não apresentaram contribuição significativa
450 para a divergência, podendo ser realizado o teste de descarte. O ranque de contribuição
451 das 21 características avaliadas para a diversidade entre os genótipos *P. cincinnata*, está
452 apresentado em ordem decrescente na Tabela 7.

453 Lima et al. (2012), ao avaliarem a divergência genética entre genótipos de
454 maracujá azedo, identificaram que o diâmetro do caule a 5 centímetros do colo foi,
455 também, a segunda característica que mais contribuiu para a avaliação da divergência
456 genética entre os genótipos de maracujá. Negreiros et al. (2007), ao avaliarem a
457 diversidade genética entre progênies de maracujazeiro amarelo, baseado em
458 características morfoagronômicas, identificaram o diâmetro como a característica que
459 mais contribuiu para a divergência genética.

460

461

462

463

464

465

466

467

468

469

470

471

472

473

474

475

476

477

478

479

480

Tabela 7. Contribuição relativa das características para a divergência entre os genótipos de *Passiflora cincinnata* Mast. avaliados, seguindo método de Singh (1981). Brejão-PE, 2014

Descritores	Contribuição (%)
Média do internódio	43,120
Diâmetro das hastes a 05 centímetros do solo	21,270
Largura da sépala	17,230
Comprimento da série interna dos filamentos	9,610
Número de Glândulas nas brácteas	3,330
Diâmetro da corona	1,760
Número de dias para alcançar a espaladeira	1,020
Diâmetro das flores	0,900
Área foliar	0,700
Comprimentos da sépala	0,080
Comprimento do pedúnculo floral	0,076
Comprimento da série externa dos filamentos	0,027
Largura da pétala	0,025
Diâmetro das hastes a 10 centímetros do solo	0,023
Largura da bráctea	0,023
Média do pecíolo	0,023
Número de folhas por ramo	0,019
Comprimento médio dos filamentos	0,015
Comprimento das brácteas	0,001
Comprimento da pétala	0,001
Glândulas foliares	0,001

481

482

483

484

485

486

487

488

489

490

491

492

493

De acordo com as análises moleculares, os primers selecionados amplificaram 81 fragmentos de DNA (Tabela 8), sendo 53 polimórficos com uma média de 7,36 fragmentos/primer. O primer UBC 810 resultou no menor número de fragmentos amplificados (3), enquanto o primer UBC 887 gerou o maior número de fragmentos (15), resultando em um alto grau de polimorfismo. Dos fragmentos amplificados, 53 (65,43%) apresentam-se polimórficos, sendo 4,81 a média de fragmentos polimórficos amplificados por primer. Houve variação de 01 (UBC 881) a 14 (UBC 887) fragmentos polimórficos, com percentual de polimorfismo variando de 16,67% a 100%. Os primers em que prevaleceu a sequência GA (UBC 812 e UBC 841) amplificaram o maior número de fragmentos, com média de 8,50 fragmentos/primer, apresentando ainda a maior formação de fragmentos polimórficos.

494 Tabela 8. Nome e sequência dos primers de ISSR selecionados, temperaturas de
 495 anelamento adotadas, número de ciclos, número de fragmentos amplificados e número
 496 de fragmentos polimórficos amplificados no estudo dos genótipos de *Passiflora*
 497 *cincinnata* Mast. Brejão-PE, 2014
 498

Nome do Primer	Sequência	T _a (°C)	Nº de ciclos	Nº de fragmentos	
				Amplificados	Polimórficos
UBC 3	AGTCAGCCAC	50,3	35	8	5
UBC 808	(AG)8-C	57,7	35	4	2
UBC 810	(AG)8-T	56,2	35	3	3
UBC 811	(AG)8-C	53,7	35	8	4
UBC 812	(GA)8-A	55,4	35	6	3
UBC 822	(TC)8-A	55,4	35	6	4
UBC 841	(GA)8-YC	49,0	35	11	11
UBC 866	(CT)8-C	50,0	35	8	2
UBC 881	GGG-(TGGGG)2-TG	50,0	35	6	1
UBC 887	DVD-(TC)6-T	53,7	35	15	14
UBC 891	HVH-(TG)7	50,0	35	6	4

499

500 A similaridade média encontrada foi 68% e a similaridade entre a maioria das
 501 plantas foi considerada alta, diferente do esperado, já que se tratava de um experimento
 502 em que foram utilizadas espécies nativas, espécies oriundas de banco de germoplasma e
 503 espécies utilizadas em grandes áreas de cultivo. Os genótipos silvestres não estão
 504 distantes geneticamente dos usados em áreas de cultivo comercial.

505 Loss et al. (2006), em estudo com *Passiflora alata*, também encontraram baixa
 506 diversidade genética nas populações analisadas, identificando maior diversidade dentro
 507 das populações e não entre as populações. Os referidos autores justificam seus
 508 resultados baseando-se no sistema de autoincompatibilidade de pólen observado em
 509 *Passiflora*, que induz a polinização cruzada e, conseqüentemente o aumento do índice
 510 de polinização de espécies de uma mesma população, aumentando assim a variabilidade
 511 genética.

512

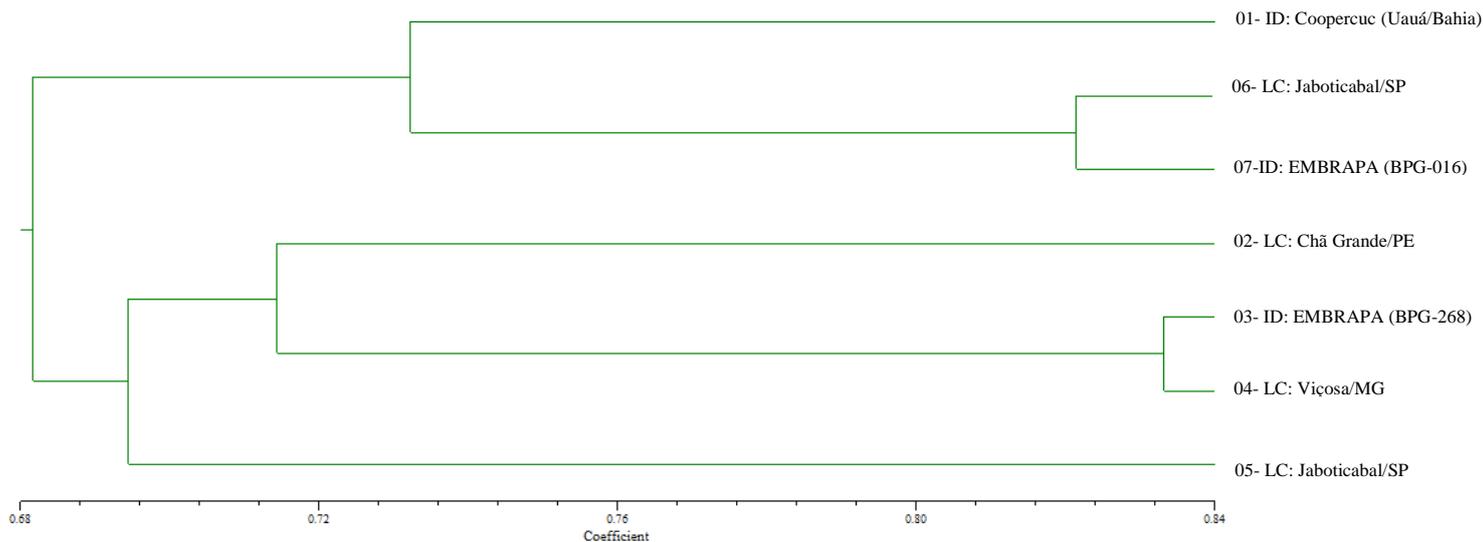
513

514

515

516

517



528 Figura 1. Dendrograma de similaridade genética de genótipos de *Passiflora cincinnata*
 529 Mast. obtido por meio de análise ISSR, utilizando o complemento do índice de
 530 similaridade de Jaccard e o método de agrupamento UPGMA. Brejão-PE, 2014.
 531

532 Considerando-se o dendrograma da Figura 1, o fato do genótipo 05 não pertencer
 533 no mesmo subgrupo do genótipo 06, todos obtidos de sementes coletadas em
 534 Jaboticabal/SP, pode indicar a origem distinta das plantas que produziram estas
 535 sementes, e variabilidade existente dentro dessa espécie. Araújo et al. (2008),
 536 trabalhando com *Passiflora*, constataram que o agrupamento dos acessos não se
 537 correlacionou com as Unidades Geoambientais originais de coleta, indicando baixa
 538 correlação entre a procedência dos acessos de maracujá-do-mato analisadas referentes
 539 ao local de coleta.

540 Santos et al. (2011), ao avaliar 45 acessos de maracujá doce, amarelo e roxo
 541 utilizando dezoito primers ISSR concluíram que não foi possível classificar os acessos
 542 de acordo com a sua origem geográfica, mostrando que não existe uma estrutura no
 543 banco de genes das espécies avaliadas.

544 Os genótipos oriundos do banco de germoplasma da EMBRAPA (BGP 016 e
 545 BGP 268) foram alocados em subgrupos distintos, indicando maior distância genética
 546 entre eles, corroborando com a premissa de reunir a maior variabilidade genética de
 547 uma espécie no menor número de amostras em bancos de germoplasma.

548 O coeficiente de correlação cofenético foi de 70%, expressando uma forte
 549 confiabilidade obtida nos agrupamentos. Altos valores de similaridade genética

550 encontrados podem estar associados ao fato da baixa variabilidade genética existente
551 nos materiais testados.

552

553 Tabela 9. Conteúdo da informação de polimorfismo (PIC), poder de resolução do primer
554 (RP) e Índice do marcador (MI) dos primers utilizados em estudo de genótipos de
555 *Passiflora cincinnata* Mast. Brejão-PE, 2014.

Primer	PIC	MI	RP
UBC 808	0.163	0.393	1.306
UBC 03	0.244	0.737	3.918
UBC 810	0.299	1.442	1.795
UBC 811	0.204	0.491	3.265
UBC 812	0.176	0.426	2.122
UBC 866	0.122	0.147	1.959
UBC 891	0.139	0.449	1.959
UBC 822	0.244	0.786	2.938
UBC 881	0.040	0.032	0.489
UBC 841	0.393	1.895	8.653
UBC 887	0.391	1.762	11.755
Média	0.220	0.779	3.651

556 PIC (*Polymorphism Information Content* – conteúdo da informação de polimorfismo), MI (*Marker Index*
557 – índice do marcador) e RP (*Resolution Power* – poder de resolução)

558

559 O conteúdo de informação polimórfica (PIC) variou entre 0,040 (UBC 881) a
560 0,393 (UBC 841), com média de 0,220 (Tabela 9). Os primers UBC 841, UBC 887,
561 UBC 810 e UBC 822 proporcionaram os maiores valores de PIC com 0,393; 0,391;
562 0,299 e 0,244 respectivamente (Tabela 9).

563 Ainda considerando os dados da Tabela 9, o MI médio para os primers obtidos foi
564 0.779, variando entre 0,032 (UBC 881) e 1,895 (UBC 841), atrelado a uma forte
565 correlação positiva entre os valores de PIC e MI ($r = 0,98$; $p < 0,0001$). Já em relação ao
566 poder de resolução, os valores variam de 0,489 (UBC 881) a 11,755 (UBC 887),
567 obtendo-se forte correlação positiva entre os valores de PIC e RP ($r = 0,8402$; $p =$
568 $0,0012$). Também, foi encontrada correlação positiva entre os valores de MI e RP ($r =$
569 $0,8124$; $p = 0,0024$). As correlações positivas indicam que a utilização de qualquer um
570 dos parâmetros é eficiente para discriminar a combinação de primers mais eficientes
571 (TATIKONDA et al., 2009).

572 O valor do PI para marcadores bialélicos é de 0,5 (0,45 a 0,5 são valores de PI
573 de primers considerados muito informativos). A maioria dos primers utilizados
574 possibilitaram valores de PIC considerados altos. Os primers UBC 810, UBC 841, UBC
575 887 e UBC 03 foram considerados os mais informativos, sendo recomendados para
576 análises de germoplasmas de *P. cincinnata*. Além disso, os valores de PIC apresentaram
577 correlação positiva com número de locos polimórficos ($r = 0,9107$ $p = 0,3007$), podendo
578 ser considerados marcadores mais informativos para o estudo da variabilidade, segundo
579 Taticonda et al. (2009). Também, foi encontrada correlação positiva com a frequência
580 de locos polimórficos ($r = 0,9107$ $p = < 0,0001$).

581 Grativol et al. (2011), considerando o PIC, obtiveram valor médio igual a 0,26,
582 próximo ao encontrado (PIC médio = 0,22), e constataram que os primers utilizados
583 para verificar diversidade em pinhão manso possuíam alta eficiência e confiabilidade.

584 Os primers UBC 810, UBC 841 e UBC 887 apresentaram altos valores de MI e
585 apresentaram as maiores porcentagens de polimorfismos, destacando-se para estudo de
586 diversidade em *Passiflora*. Altos valores de RP, atrelado a correlações positivas com
587 PIC e MI, indicam alto potencial discriminatório da diversidade entre genótipos.

588 Os primers UBC 887 e UBC 841 se destacaram com os valores mais altos para
589 os atributos dos marcadores observados, demonstrando aptidão para serem utilizados
590 em pesquisas de diversidade em *P. cincinnata*.

591

592 CONCLUSÃO

593

- 594 • Foi diagnosticada baixa variabilidade genética entre os genótipos analisados.
- 595 • Os genótipos possuem potencial para serem utilizados em programas de
596 melhoramento, principalmente os que exploram a obtenção de passifloras
597 ornamentais.
- 598 • Os primers UBC 887 e UBC 841 se destacaram com os valores mais altos para
599 PIC, MI e RP, demonstrando aptidão para serem utilizados em pesquisas de
600 diversidade em *P. cincinnata*.
- 601 • O agrupamento dos acessos não se correlacionou com as Unidades
602 Geoambientais originais de coleta, indicando baixa correlação entre a

603 procedência dos acessos de maracujá-do-mato analisadas referentes ao local de
604 coleta.

605

606

607

REFERÊNCIAS

608

609 ABREU, P. P. et al. Passion flower hybrids and their use in the ornamental plant
610 market: perspectives for sustainable development with emphasis on Brasil. **Euphytica**,
611 Dordrecht, v. 166, p. 307–315, 2009.

612

613 APAC - Agência Pernambucana de Águas e Clima. Sistema de Geoinformação
614 hidrometeorológico de Pernambuco. Recife, 2015. Disponível em:
615 <<http://www.apac.pe.gov.br/sighpe/>>. Acesso em 28 jan. 2015.

616

617 ARAÚJO, F. P.; SILVA, N.; QUEIROZ, M. A. Genetic divergence among *Passiflora*
618 *cincinnata* Mast. accessions based on morphoagronomic descriptors. **Revista Brasileira**
619 **de Fruticultura**, Jaboticabal. v. 30, n. 03, p. 723-730, 2008.

620

621 BRASIL. Ministério da Agricultura e do abastecimento. **Instruções para execução dos**
622 **ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de**
623 **Passiflora**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 19 jun. 2012.

624

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

627

628 CERVI, A. C., MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A., BERNACCI, C. Passifloraceae. In:
629 FORZZA, R. C. et al. (ed.). **Lista de espécies da flora do Brasil**. Jardim Botânico do
630 Rio de Janeiro. 2010. Disponível em <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB000182>>.
631 Acesso 20 nov. 2013.

632

633 DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12,
634 p.13-15, 1990.

635

- 636 FREITAS, J. P. X. et al. Avaliação de recursos genéticos de maracujazeiro-amarelo.
637 **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n. 09, p.1013-1020, 2011.
638
- 639 GRATIVOL, C. et al. High efficiency and reliability of inter-simple sequence repeats
640 (ISSR) markers for evaluation of genetic diversity in Brazilian cultivated *Jatropha*
641 *curcas* L. accessions. **Molecular Biology Reports**, New York, v. 38, n. 07, p. 4245-
642 4256, 2011.
643
- 644 IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal.
645 Rio de Janeiro, 2012. Disponível em:
646 <<http://www.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=1181&z=t&o=11&i=P>>. Acesso em
647 28/02/ 2014.
648
- 649 LAMEPE/ITEP - Laboratório de Meteorologia de Pernambuco/Instituto de tecnologia
650 de Pernambuco. **Informações climáticas do Estado de Pernambuco**. Recife, 2011.
651 Disponível em: <<http://www.itep.br/>>. Acesso em: 21 ago. 2012.
652
- 653 LAWINSCKY, P. R. et al. Morphological characterization and genetic diversity in
654 *Passiflora alata* Curtis and *P. cincinnata* Mast. (Passifloraceae). **Brazilian Journal of**
655 **Botany**, São Paulo, v.37, n.3, p 261-272, 2014.
656
- 657 LIMA, D.T. et al. Divergência genética entre genótipos de maracujazeiro azedo com
658 base em vigor, incidência de doenças e características de frutos. **Revista Magistra**,
659 Cruz das Almas-BA, v. 24, n. 4, p. 314-322, 2012.
660
- 661 LOSS, A. C. C. et al. Diversidade genética de populações de maracujá-doce (*Passiflora*
662 *alata* Curtis) no estado do Espírito Santo, Brasil. **Natureza on line**, Santa Teresa, v. 4,
663 n. 2, p. 55-61, 2006.
664
- 665 MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira**
666 **Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 01, p. 83-91, 2011.
667

- 668 MELETTI, L. M. M. et al. Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. In:
669 FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Ed). **Maracujá:**
670 **germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. v. 01,
671 cap.03, p. 55-78.
- 672
- 673 MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; BAUMGRATZ, J. F. A. Passiflora L. subgênero
674 Decaloba (DC.) Rchb. (Passifloraceae) na Região Sudeste do Brasil. **Revista**
675 **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 55, n. 85, p. 17-54. 2004.
- 676
- 677 NASCIMENTO, K. C.; BARBOSA, J. F. Caracterização morfoanatômica de nectários
678 extraflorais de *Passiflora alata*, Passifloraceae. **Revista Uningá review**, Maringá, v.20,
679 n. 1, p. 45-55, 2014.
- 680
- 681 NEGREIROS, J. R. S. et al. Diversidade genética entre progênies de maracujazeiro
682 amarelo baseado em características morfoagronômicas. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 54 n.
683 312, p. 153-160. 2007.
- 684
- 685 SANTOS, L. F. et al. ISSR markers as a tool for the assessment of genetic diversity in
686 Passiflora. **Biochemical Genetics**, Kansas City, v.49, n. 8, p. 540-554, 2011.
- 687
- 688 SANTOS, J. L. et al. Propagação vegetativa de estacas de *Passiflora cincinnata* Mast.
689 em diferentes recipientes e substratos comerciais. **Revista Brasileira de Fruticultura**,
690 Jaboticabal, v. 34, n. 2, p. 581-588, 2012.
- 691
- 692 TATIKONDA L. et al. AFLP-based molecular characterization of an elite germplasm
693 collection of *Jatropha curcas* L., a biofuel plant. **Plant Science**, Chicago, v. 176, p.
694 505-513, 2009.
- 695
- 696 VARSHNEY R. K et al. Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP
697 markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using
698 wild, cultivated and elite barleys. **Plant Science**, Chicago, v. 173, p. 638-649, 2007.

ANEXO - NORMAS DA REVISTA

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO CIENTÍFICO

• **Digitação:** o texto deve ser composto em programa Word (DOC ou RTF) ou compatível e os gráficos em programas compatíveis com o Windows, como Excel, e formato de imagens: Figuras (GIF) e Fotos (JPEG). Deve ter no máximo de 20 páginas, A4, digitado em espaço 1,5, fonte Times New Roman, estilo normal, tamanho doze e parágrafo recuado por 1 cm. Todas as margens deverão ter 2,5 cm.

Páginas e linhas devem ser numeradas; os números de páginas devem ser colocados na margem inferior, à direita e as linhas numeradas de

forma contínua. Se forem necessárias outras orientações, entre em contato com o Comitê Editorial ou consulte o último número da Revista

Caatinga. As notas devem apresentar até 12 páginas, incluindo tabelas e figuras. As revisões são publicadas a convite da Revista. O manuscrito não deverá ultrapassar 2,0 MB.

• **Estrutura:** o artigo científico deverá ser organizado em título, nome do(s) autor(es), resumo, palavras-chave, título em inglês, abstract, keywords, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos (opcional), e referências.

• **Título:** deve ser escrito em maiúsculo, negrito, centralizado na página, no **máximo com 15 palavras**, não deve ter subtítulo e abreviações. Com a chamada de rodapé numérica, extraída do título, devem constar informações sobre a natureza do trabalho (se

tese/dissertação) e referências às instituições colaboradoras. O nome científico deve ser indicado no título apenas se a espécie for desconhecida.

Os títulos das demais seções da estrutura (resumo, abstract, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos e referências) deverão ser escritos em letra maiúscula, negrito e justificado à esquerda.

• **Autores(es):** nomes completos (sem abreviaturas), em letra maiúscula, um após o outro, separados por vírgula e centralizados na linha. Como nota de rodapé na primeira página, indicar, para cada autor, afiliação completa (departamento, centro, instituição, cidade, país),

endereço completo e e-mail do autor correspondente. Este deve ser indicado por um “*”. Só serão aceitos, no máximo, cinco autores. Caso

ultrapasse esse limite, os autores precisam comprovar que a pesquisa foi desenvolvida em regiões diferentes.

Na primeira versão do artigo submetido, os nomes dos autores e a nota de rodapé com os endereços deverão ser omitidos.

Para a inserção do(s) nome(s) do(s) autor(es) e do(s) endereço(s) na **versão final do artigo** deve observar o padrão no último número da

Revista Caatinga (<http://caatinga.ufersa.edu.br/index.php/sistema>).

• **Resumo e Abstract:** no **mínimo 100** e no **máximo 250 palavras**.

• **Palavras-chave e Keywords:** em negrito, com a primeira letra maiúscula. Devem ter, no mínimo, três e, no máximo, cinco palavras, não constantes no Título/Title e separadas por ponto (consultar modelo de artigo).

Obs. Em se tratando de artigo escrito em idioma estrangeiro (Inglês ou Espanhol), o título, resumo e palavras-chave deverão, também,

constar em Português, mas com a seqüência alterada, vindo primeiro no idioma estrangeiro.

• **Introdução:** no **máximo, 550 palavras**, contendo citações atuais que apresentem relação com o assunto abordado na pesquisa.

• **Citações de autores no texto:** devem ser observadas as normas da ABNT, NBR 10520 de agosto/2002.

Ex: Torres (2008) ou (TORRES, 2008); com dois autores, usar Torres e Marcos Filho (2002) ou (TORRES; MARCOS FILHO, 2002); com

mais de três autores, usar Torres et al. (2002) ou (TORRES et al., 2002).

• **Tabelas:** serão numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na parte superior. **Não usar linhas verticais.** As linhas horizontais devem ser usadas para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma no final da tabela. Cada dado deve ocupar

uma célula distinta. Não usar negrito ou letra maiúscula no cabeçalho. Recomenda-se que as tabelas apresentem 8,2 cm de largura, não sendo

superior a 17 cm (consulte o modelo de artigo), acessando a página da Revista Caatinga

(<http://periodico.caatinga.ufersa.edu.br/index.php/sistema>).

• **Figuras:** gráficos, fotografias ou desenhos levarão a denominação geral de **Figura** sucedida de numeração arábica crescente e legenda na parte inferior. Para a preparação dos gráficos deve-se utilizar “softwares” compatíveis com “Microsoft Windows”. A resolução

deve ter qualidade máxima com pelo menos 300 dpi. As figuras devem apresentar 8,5 cm de largura, não sendo superior a 17 cm. A

fonte empregada deve ser a Times New Roman, corpo 10 e não usar negrito na identificação dos eixos. As linhas dos eixos devem apresentar uma

espessura de 1,5 mm de cor preta. A Revista Caatinga reserva-se ao direito de não aceitar tabelas e/ou figuras com o papel na forma “paisagem” ou que apresentem mais de 17 cm de largura. **Tabelas e Figuras devem ser inseridas logo após à sua primeira citação.**

• **Equações:** devem ser digitadas usando o editor de equações do Word, com a fonte Times New Roman. As equações devem receber uma numeração arábica crescente. As equações devem apresentar o seguinte padrão de tamanho:

Inteiro = 12 pt

Subscrito/sobrescrito = 8 pt

Sub-subscrito/sobrescrito = 5 pt

Símbolo = 18 pt

Subsímbolo = 14 pt

Estas definições são encontradas no editor de equação no Word.

• **Agradecimentos:** logo após as conclusões poderão vir os agradecimentos a pessoas ou instituições, indicando, de forma clara, as razões pelas quais os faz.

• **Referências:** devem ser digitadas em espaço 1,5 cm e separadas entre si pelo mesmo espaço (1,5 cm). Precisam ser apresentadas em ordem alfabética de autores, Justificar (Ctrl + J) - NBR 6023 de agosto/2002 da ABNT. **UM PERCENTUAL DE 60% DO TOTAL**

DAS REFERÊNCIAS DEVERÁ SER ORIUNDO DE PERIÓDICOS CIENTÍFICOS INDEXADOS COM DATA DE PUBLICAÇÃO INFERIOR A 10 ANOS.

O título do periódico não deve ser abreviado e recomenda-se um total de 20 a 30 referências. **EVITE CITAR RESUMOS E TRABALHOS**

APRESENTADOS E PUBLICADOS EM CONGRESSOS E SIMILARES.

REGRAS DE ENTRADA DE AUTOR

Até 3 (três) autores

Mencionam-se todos os nomes, na ordem em que aparecem na publicação, separados por ponto e vírgula.

Ex: TORRES, S. B.; PAIVA, E. P. PEDRO, A. R. Teste de deterioração controlada para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de

jiló. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 0, n. 0, p. 00-00, 2010.

Acima de 3 (três) autores

Menciona-se apenas o primeiro nome, acrescentando-se a expressão **et al.**

Ex: BAKKE, I. A. et al. Water and sodium chloride effects on *Mimosa tenuiflora* (Willd.) poiret seed germination. **Revista Caatinga**,

Mossoró, v. 19, n. 3, p. 261-267, 2006.

Grau de parentesco

HOLANDA NETO, J. P. **Método de enxertia em cajueiro-anão-precoce sob condições de campo em Mossoró-RN**. 1995. 26 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Mossoró, 1995.

COSTA SOBRINHO, João da Silva. Cultura do melão. **Cuiabá**: Prefeitura de Cuiabá, 2005.

MODELOS DE REFERÊNCIAS:

a) Artigos de Periódicos: Elementos essenciais:

AUTOR. Título do artigo. **Título do periódico**, Local de publicação (cidade), n.º do volume, n.º do fascículo, páginas inicial-final, mês

(abreviado), ano.

Ex: BAKKE, I. A. et al. Water and sodium chloride effects on *Mimosa tenuiflora* (Willd.) poiret seed germination. **Revista Caatinga**,

Mossoró, v. 19, n. 3, p. 261-267, set. 2006.

b) Livros ou Folhetos, no todo: Devem ser referenciados da seguinte forma:

AUTOR. **Título**: subtítulo. Edição. Local (cidade) de publicação: Editora, data. Número de páginas ou volumes. (nome e número da série)

Ex: RESENDE, M. et al. **Pedologia**: base para distinção de ambientes. 2. ed. Viçosa, MG: NEPUT, 1997. 367 p.

OLIVEIRA, A. I.; LEONARDOS, O. H. **Geologia do Brasil**. 3. ed. Mossoró: ESAM, 1978. 813 p. (Coleção mossoroense, 72).

c) Livros ou Folhetos, em parte (Capítulo de Livro):

AUTOR DO CAPÍTULO. Título do capítulo. In: AUTOR DO LIVRO. **Título**: subtítulo do livro. Número de edição. Local de publicação

(cidade): Editora, data. Indicação de volume, capítulo ou páginas inicial-final da parte.

Ex: BALMER, E.; PEREIRA, O. A. P. Doenças do milho. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. (Ed.). **Melhoramento e produção do**

milho. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. 2, cap. 14, p. 595-634.

d) Dissertações e Teses: (somente serão permitidas citações recentes, PUBLICADAS NOS ÚLTIMOS TRÊS ANOS QUE ANTECEDEM A REDAÇÃO DO ARTIGO). Referenciam-se da seguinte maneira:

AUTOR. **Título**: subtítulo. Ano de apresentação. Número de folhas ou volumes. Categoria (grau e área de concentração) - Instituição, local.

Ex: OLIVEIRA, F. N. **Avaliação do potencial fisiológico de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.)**. 2011. 81 f.

Dissertação

(Mestrado em Fitotecnia: Área de Concentração em Tecnologia de Sementes) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2011.

e) Artigos de Anais ou Resumos: (DEVEM SER EVITADOS)

NOME DO CONGRESSO, n.º, ano, local de realização (cidade). Título... subtítulo. Local de publicação (cidade): Editora, data de publicação. Número de páginas ou volumes.

Ex: BALLONI, A. E.; KAGEYAMA, P. Y.; CORRADINI, I. Efeito do tamanho da semente de *Eucalyptus grandis* sobre o vigor das mudas

no viveiro e no campo. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 3., 1978, Manaus. **Anais...** Manaus: UFAM, 1978. p. 41-43.

f) Literatura não publicada, mimeografada, datilografada etc.:

Ex: GURGEL, J. J. S. **Relatório anual de pesca e piscicultura do DNOCS**. Fortaleza: DNOCS, 1989. 27 p. Datilografado.

g) Literatura cuja autoria é uma ou mais pessoas jurídicas:

Ex: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação – referências – elaboração. Rio de

Janeiro, 2002. 24 p.

h) Literatura sem autoria expressa:

Ex: NOVAS Técnicas – Revestimento de sementes facilita o plantio. **Globo Rural**, São Paulo, v. 9, n. 107, p. 7-9, jun. 1994.

i) Documento cartográfico:

Ex: INSTITUTO GEOGRÁFICO E CARTOGRÁFICO (São Paulo, SP). **Regiões de governo do Estado de São Paulo**. São Paulo, 1994. 1 atlas. Escala 1:2.000.

J) Em meio eletrônico (CD e Internet): Os documentos /informações de **acesso exclusivo por computador** (on line) compõem-se dos

seguintes elementos essenciais para sua referência:

AUTOR. Denominação ou título e subtítulo (se houver) do serviço ou produto, indicação de responsabilidade, endereço eletrônico entre os

sinais < > precedido da expressão – Disponível em: – e a data de acesso precedida da expressão – Acesso em:.

Ex: BRASIL. Ministério da Agricultura e do abastecimento. **SNPC – Lista de Cultivares protegidas**. Disponível em:

<<http://agricultura.gov.br/scpn/list/200.htm>>. Acesso em: 08 set. 2008.

GUNCHO, M. R. A educação à distância e a biblioteca universitária. In: SEMINÁRIO DE BIBLIOTECAS UNIVERSITÁRIAS, 10., 1998,

Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Tec Treina, 1998. 1 CD-ROM.

UNIDADES E SÍMBOLOS DO SISTEMA INTERNACIONAL ADOTADOS PELA REVISTA CAATINGA

Grandezas básicas	Unidades	Símbolos	Exemplos
Comprimento	metro	m	
Massa quilograma	quilograma	kg	
Tempo	segundo	s	
Corrente elétrica	amper	A	
Temperatura termodinâmica	Kelvin	K	
Quantidade de substância	mol	mol	
Unidades derivadas			
Velocidade	---	m s ⁻¹	343 m s ⁻¹
Aceleração	---	m s ⁻²	9,8 m s ⁻²
Volume	Metro cúbico, litro	M ³ , L*	1 m ³ , 1 000 L*
Frequência	Hertz	Hz	10 Hz
Massa específica	---	Kg m ⁻³	1.000 kg m ⁻³
Força	newton	N	15 N
Pressão	pascal	pa	1,013.10 ⁵ Pa
Energia	joule	J	4 J
Potência	watt	W	500 W
Calor específico	---	J (kg ⁰ C) ⁻¹	4186 J (kg ⁰ C) ⁻¹
Calor latente	---	J kg ⁻¹	2,26.10 ⁶ J kg ⁻¹
Carga elétrica	coulomb	C	1 C
Potencial elétrico	volt	V	25 V
Resistência elétrica	ohm	Ω	29Ω
Intensidade de energia	Watts/metros quadrado	W m ⁻²	1.372 W m ⁻²
Concentração	Mol/metro cúbico	Mol m ⁻³	500 mol m ⁻³
Condutância elétrica	siemens	S	300 S
Condutividade elétrica	desiemens/metro	dS m ⁻¹	5 dS m ⁻¹
Temperatura	Grau Celsius	⁰ C	25 ⁰ C
Ângulo	Grau	⁰	30 ⁰
Porcentagem	---	%	45%

Números mencionados em seqüência devem ser separados por ponto e vírgula (.). Ex: 2,5; 4,8; 5,3