



UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA  
E MELHORAMENTO DE PLANTAS



**AMANDA FERNANDA NUNES FERREIRA**

**FENOTIPAGEM DIGITAL DE SEMENTES E MARCADORES  
MORFOAGRONOMICOS E MOLECULARES APLICADOS EM FAMILIAS DE  
IRMÃOS COMPLETOS DE MARACUJAZEIRO AZEDO**

TANGARÁ DA SERRA  
MATO GROSSO – BRASIL  
FEVEREIRO – 2017

**AMANDA FERNANDA NUNES FERREIRA**

**FENOTIPAGEM DIGITAL DE SEMENTES E MARCADORES  
MORFOAGRONOMICOS E MOLECULARES APLICADOS EM FAMILIAS DE  
IRMÃOS COMPLETOS DE MARACUJAZEIRO AZEDO**

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof. Dr. Willian Krause  
Coorientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Celice Alexandre Silva

TANGARÁ DA SERRA  
MATO GROSSO – BRASIL  
FEVEREIRO - 2017

Walter Clayton de Oliveira CRB1/2049

Ferreira, Amanda Fernanda Nunes.

F383f Fenotipagem digital de sementes e marcadores morfoagronômicos e moleculares aplicados em famílias de irmãos completos de maracujazeiro azedo / Amanda Fernanda Nunes Ferreira. – Tangará da Serra, 2017.  
69 f. ; 30 cm. il. color.

Dissertação (Mestrado em Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade do Estado de Mato Grosso, 2017

Orientador: Willian Krause

Coorientador: Celice Alexandre Silva

1. Metodologia Ward-MLM,. 2. Passiflora edulis Sims. 3. Divergência genética. I. Autor. II. Título.

CDU 581.5

FENOTIPAGEM DIGITAL DE SEMENTES E MARCADORES  
MORFOAGRONÔMICOS E MOLECULARES APLICADOS EM  
FAMÍLIAS DE IRMÃOS COMPLETOS DE MARACUJAZEIRO AZEDO

**AMANDA FERNANDA NUNES FERREIRA**

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO  
ESTADO DE MATO GROSSO, como parte das  
exigências do Programa de Pós-Graduação em  
Genética e Melhoramento de Plantas, para  
obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 20 de fevereiro de 2017.

Comissão Examinadora:



Dr<sup>a</sup>. Eiléen Azevedo Santos (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) – UENF



Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Leonarda Grillo Neves (D.Sc., Genética e Melhoramento) – UNEMAT



Prof. Dr. Anderson Fernandes de Miranda (D.Sc., Genética e Melhoramento) –  
UNEMAT

Prof. Dr. Alexandro César Faleiro (D.Sc., Recursos Genéticos Vegetais) – UNEMAT



Prof. Dr. Willian Krause (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) – UNEMAT  
(Orientador)

*“Tudo coopera para o bem daqueles que amam a Deus.”  
Romanos 8:28*

Aos meus avós paternos, Almira Maria Ferreira e Antônio Bruno Ferreira e maternos, Renan Nunes e Maurícia Nunes (*in memoriam*).

**Dedico**

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Willian Krause que com sua orientação, sugestões, confiança e paciência depositada em mim, contribuiu para que eu chegasse onde eu estou, sem sua ajuda incondicional, na hora certa e nos momentos exatos, jamais aprenderia o que aprendi e estaria onde estou agora. Obrigada por me ensinar a lutar pelos meus objetivos através de seu exemplo como pessoa, professor e pesquisador.

A Professora Dr<sup>a</sup> Celice Alexandre pelo apoio e a Dr<sup>a</sup>. Ednamar Gabriela Palú pela disposição nos trabalhos de análise dos frutos de maracujazeiro. Ao Prof. Dr. Alexandro César Faleiro, pelos conhecimentos adquiridos quando estive em seu laboratório, pelas conversas e descontrações nos momentos difíceis e por todo carinho recebido.

Ao professor Dr. Alexandre Pio Viana e sua equipe pelo acolhimento no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LMGV) da Universidade Estadual Norte Fluminense (UENF). Ao professor Dr. Henrique Duarte Vieira e Amanda Justino pela realização da análise digital de sementes. A Doutora Eileen Azevedo Santos por aceitar fazer parte da Banca Examinadora desta dissertação e, sem dúvidas, pelo exemplo de humanidade, compreensão e especialmente por me fazer acreditar que posso melhorar como pessoa e como profissional, através de seu exemplo, obrigada por compartilhar seu conhecimento e principalmente suas palavras de conforto em momentos de desespero. e ao seu lado a Raiane Mariano por ser uma inspiração de vida e honestidade e por todos os momentos compartilhados durante as análises.

Aos Professores Doutores Rogerio Añez e Josué Nunes com quem tive o prazer e a irrecusável oportunidade de adquirir incontáveis conhecimentos por meio das instigações e reflexões por eles e por sempre acreditarem em mim.

Em lugar de honra ao meu querido avô, Antônio Bruno Ferreira pelo amparo nos momentos de fraqueza e cansaço com seus conselhos, seu exemplo de vida, sua persistência, alegria e também por todo apoio financeiro durante a minha vida, te agradeço de coração meu avô, para mim o senhor merece o título de “Doutor da vida”.

Agradeço a toda minha família, principalmente aos meus pais Celso e Edneuzza que me encaminharam e incentivaram em busca do saber, com persistência e sabedoria, me ensinaram e apoiaram sempre durante todos os anos de estudo

presente em minha vida. Obrigada por toda dedicação e por acreditarem em mim, sempre me acalmando em momentos difíceis. As minhas irmãs Bárbara e Gabriela por me apoiarem, ao meu querido tio Eloelson (tio “Bilão”) por sempre me ajudar e a minha Tia Cristina que é muito especial para mim.

Aos meus amigos/irmãos Fernanda e Marcus, e ao meu afilhado Nicolas que nunca mediram esforços para me ajudar, obrigada por sempre estarem ao meu lado. Não poderia deixar de agradecer pelo companheirismo, dignidade, carinho, autenticidade e amizade do meu amigo Moisés Ambrósio.

Aos amigos mato-grossenses e agora campistas, Kaliane e Nádia obrigada por me acolherem em suas casas e em seus corações, foram os dias mais sofridos e alegres em minha vida. Aos amigos do laboratório de Melhoria de Plantas, Lidiane Miranda da Silva, Sarah Krause, Dhiego Krause, Marcelo Luís, Egídio, Paulo Ricardo, Anderson, Paula, Roberta e Ivo pela contribuição nas atividades de campo e laboratório e pelos momentos alegres e sofridos vividos nessa etapa, sou muito grata. Ao seu Almiro e dona Sirlete por todo apoio durante esses dois anos

A todos colegas e amigos, que fiz durante o período que estava na UENF. Aos amigos de turma pelos momentos de alegria e tristeza, pela amizade, companheirismo durante as disciplinas e pelos conhecimentos compartilhados, principalmente a Paula, Camila, Talitha, Patrícia e Juliane. Aos queridos amigos de perto e de longe, Nayara, Tatiane, Crystiane, Jair Junior, Bárbara Vendrame, Nathalia, Sueidy, Diego de Paula, Diego Chaves, Wesley Damasceno, Natan, Evillyn, Lunna, Vanessa, Sandra Triches, Sandra Aguiar, Aline, Tielly, Vandreia e Mayra minha eterna gratidão porque mesmo quando distantes, estavam presentes em minha vida.

À todos os funcionários da UNEMAT que contribuíram direta ou indiretamente na minha pesquisa em especial a Mariana. A CAPES por ter apoiado e financiado este projeto. A todos de forma direta ou indiretamente fizeram parte de minha formação. E finalmente agradeço a Deus, por proporcionar estes agradecimentos à todos que tornaram minha vida mais afetuosa, além de ter me dado uma família maravilhosa e amigos sinceros. Deus, que a mim atribuiu alma e missões pelas quais já sabia que eu iria batalhar e vencer, agradecer é pouco. Por isso lutar, conquistar, vencer e até mesmo cair e perder, e o principal, viver é o meu modo de agradecer sempre.



## BIOGRAFIA

**Amanda Fernanda Nunes Ferreira**, nasceu no dia 21 de maio de 1990 em Juína no estado do Mato Grosso, Brasil. Filha de Edneuzza Nunes Ferreira e Celso Máximo Ferreira. Concluiu o Ensino Médio na Escola Estadual 29 de novembro, na cidade de Tangará da Serra, ano de 2007. Licenciada e Bacharelada em Ciências Biológicas, em agosto de 2013, pela Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT) Campus de Tangará da Serra. Durante a graduação atual no projeto de iniciação científica (PIBID). Em 2013 defendeu a monografia intitulada como “Investigação do perfil dos estudantes do Centro de Educação de Jovens e Adultos (CEJA) Antônio Casagrande em Tangará da Serra –MT ” sob a orientação do Prof. Dr. Josué Ribeiro da Silva Nunes e Prof Dr. Rogério Benedito da Silva Añez. Concluiu a graduação em Agosto de 2013. Em Agosto de 2013 iniciou sua atuação profissional como professora de Ciências e Biologia no Centro de Educação de Jovens e Adultos (CEJA) Antônio Casagrande. Em março de 2015 iniciou o curso de pós-graduação *strictu sensu* em Genética e Melhoramento de Plantas na Universidade do Estado de Mato Grosso, desenvolvendo atividade com melhoramento genético de maracujazeiro azedo finalizando o curso em Fevereiro de 2017.

.

.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	12
ABSTRACT .....	14
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	18
2.1. Seleção recorrente intrapopulacional .....	18
2.2. Divergência genética no maracujazeiro azedo.....	20
2.3. Descritores morfológicos .....	21
2.4. Marcadores moleculares no maracujazeiro azedo .....	22
2.5. Emprego da fenotipagem digital na mensuração de características de sementes .....	23
2.6. Seleção de descritores .....	24
2.7. Metodologia Ward-MLM .....	25
2.8. Programa de melhoramento intrapopulacional do maracujazeiro azedo da Unemat .....	26
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	29
3.1. Delineamento e condução do experimento .....	29
3.2. Características morfoagronômicas avaliadas.....	29
3.2.1. Análise digital de imagens e seleção de variáveis por componentes principais .....	29
3.2.2. Características quantitativas .....	32
3.2.3 Características qualitativas.....	33
3.3. Marcadores moleculares ISSR.....	34
3.3.1. Extração e quantificação do DNA genômico .....	34
3.3.2. PCR e eletroforese .....	35
3.4. Análise dos marcadores moleculares.....	37
3.5. Divergência genética pelo método Ward-MLM.....	37
4. RESULTADOS .....	39

4.1. Seleção de variáveis de sementes via análise digital de imagem .....	39
4.2. Marcadores moleculares .....	51
4.3. Divergência genética utilizando descritores morfológicos .....	54
4.4. Divergência genética utilizando descritores morfológicos e moleculares simultaneamente .....	60
5. DISCUSSÃO.....	63
5.1. Seleção de variáveis de sementes via análise digital de imagem .....	63
5.2. Divergência genética a partir de descritores moleculares ISSR.....	64
5.3. Divergência genética utilizando variáveis morfoagronômicas .....	65
5.4. Divergência genética utilizando variáveis morfoagronômicas e moleculares simultaneamente .....	67
6. CONCLUSÕES.....	68
7. REFERÊNCIAS .....	69

## RESUMO

FERREIRA, Amanda Fernanda Nunes; M. Sc.; Universidade do Estado de Mato Grosso; fevereiro de 2017. **Fenotipagem digital de sementes e marcadores morfoagronômicos e moleculares aplicados em famílias de irmãos completos de maracujazeiro azedo.** Professor Orientador: Willian Krause. Coorientadora: Celice Alexandre Silva.

Para estimar a divergência genética tem-se observado a utilização de marcadores moleculares e descritores morfoagronômicos. O uso das técnicas multivariadas é um dos fatores que tem impulsionado o aumento nos estudos sobre divergência genética. Diversas metodologias que visam o uso de algoritmos multivariados como a utilização da metodologia Ward-MLM (*Modified Location Model*). Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo estimar a divergência genética em uma população de maracujazeiro azedo sob seleção recorrente, utilizando a fenotipagem digital das sementes, descritores morfoagronômicos e moleculares com base na metodologia Ward-MLM, a fim de subsidiar o programa de melhoramento genético do maracujazeiro da Universidade do Estado do Mato Grosso. O experimento foi instalado no mês de setembro de 2014 na área experimental da Universidade do Estado do Mato Grosso, localizada no município de Tangará da Serra. O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados, com três repetições, e três plantas por parcela. Foram avaliadas 35 FIC, foram utilizadas 50 sementes por FIC para a análise digital. Para a análise de divergência genética, foram avaliadas 23 variáveis morfoagronômicas qualitativas e 13 quantitativas, 17 variáveis da análise digital de imagens. Para a análise molecular foram coletadas nove folhas jovens de cada FIC para extração de DNA. Para a quantificação da divergência genética foi adotado o método Ward-MLM. As 17 variáveis de sementes obtidas via análise digital de imagens são úteis como variáveis adicionais na avaliação da variabilidade genética entre famílias de irmãos completos no maracujazeiro azedo. A estratégia Ward-MLM

foi eficiente na detecção da divergência entre as famílias de irmãos completos de maracujazeiro azedo. Na análise observou-se a formação de quatro grupos determinando que há variabilidade entre as FIC selecionadas. Foram selecionadas 20 famílias de irmãos completos para a etapa de recombinação permitindo a manutenção da variabilidade genética na nova população de maracujazeiro azedo e, conseqüentemente, ganhos nas gerações seguintes para as principais características sob seleção.

**Palavras-chave:** Metodologia Ward-MLM, *Passiflora edulis* Sims., divergência genética.

## ABSTRACT

To estimate the genetic divergence the use of molecular markers and morphoagronomic descriptors has been observed. The use of multivariate techniques is one of the factors that has driven the increase in genetic divergence studies. Several methodologies aiming at the use of multivariate algorithms such as the use of the Ward - MLM (Modified Location Model) methodology. In view of the above, this work aimed to estimate the genetic divergence in a sour passion fruit population under recurrent selection, using digital seed phenotyping, morphoagronomic and molecular descriptors based on the Ward-MLM methodology, in order to subsidize the breeding program of the passion fruit of the State University of Mato Grosso. The experiment was installed in September 2014 in the experimental area of the State University of Mato Grosso, located in the municipality of Tangará da Serra. The experimental design was randomized blocks, with three replications, and three plants per plot. 35 FIC were evaluated, 50 seeds per FIC were used for the digital analysis. For the analysis of genetic divergence, we evaluated 23 qualitative and 13 quantitative morphoagronomic variables, 17 variables of the digital image analysis. For the molecular analysis, nine young leaves of each FIC were collected for DNA extraction. For the quantification of genetic divergence, the Ward-MLM method was adopted. The 17 seed variables obtained through digital image analysis are useful as additional variables in the evaluation of genetic variability among families of complete sibs in the passion fruit sour. The Ward-MLM strategy was efficient in detecting the divergence between the families of full sibs of sour passion fruit. In the Ward-analysis the formation of four groups was observed determining that there is variability among the selected CIFs. Twenty families of complete siblings were selected for the recombination stage, allowing the maintenance of genetic variability in the new sour passion fruit population and, consequently, gains in subsequent generations for the main characteristics under selection.

**Key words:** Ward-MLM Methodology, *Passiflora edulis* Sims., Genetic Divergence

## 1. INTRODUÇÃO

O maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis* Sims.) é cultivado em todo o território nacional porque as regiões tem condições climáticas favoráveis ao cultivo devido o Brasil ser o maior consumidor desta fruta, tanto para o consumo *in natura* como para indústria de processamento (Santos et al., 2009). De acordo com Maito (2016), das 805 mil toneladas da produção de maracujá, 93% está concentrada na América do Sul (Brasil, Equador, Peru e Colômbia), sendo que desta estimativa 70% da produção encontra-se no Brasil. Dessa forma, o Brasil é o principal produtor mundial de maracujá. No estado do Mato Grosso a produtividade foi de 19.600 kg ha<sup>-1</sup> em 2014 (IBGE, 2014), sendo considerada baixa quando comparada com a produtividade de Cavalcante et al. (2016), utilizando cultivares melhoradas em condições experimentais no mesmo estado, onde obteve 25.958 kg ha<sup>-1</sup> de produtividade. A baixa produtividade não é causada apenas pelo manejo inadequado, mas principalmente pela falta de cultivares adaptadas às condições edafoclimáticas do estado.

Logo, o desenvolvimento de um programa de melhoramento genético da cultura do maracujazeiro-azedo, irá propiciar o lançamento de novas cultivares mais adaptadas e produtivas às condições do estado. Assim, o programa de melhoramento genético de maracujazeiro destacado por Silva et al. (2012) é a seleção recorrente intrapopulacional. A seleção recorrente intrapopulacional é um processo cíclico que envolve basicamente a aquisição de progênies, avaliação e recombinação dos melhores indivíduos com objetivo de aumentar a frequência dos alelos favoráveis e manter a variabilidade genética dentro da população (Hallauer, 1985). A variabilidade genética dentro da população é necessária para obter ganhos genéticos nos ciclos subsequentes de seleção. Para isto, pode-se recombinar, dentre os genótipos selecionados, somente os mais divergentes (Reis et al., 2011).

Para estimar a divergência genética tem-se observado a utilização dos descritores morfoagronômicos. Os descritores morfoagronômicos tem sido empregados em diversos trabalhos tais como Machado et al. (2015), que em seu trabalho com base em descritores morfoagronômicos quantitativos e qualitativos estimou a divergência genética de uma coleção de germoplasma de maracujá.

Baseado neste contexto, para utilizar desta metodologia é necessário, mensurar diversas partes da planta como folha, flor, fruto e sementes. A semente é o

óvulo fecundado e desenvolvido das plantas e sua importância está relacionada a reprodução e dispersão. Portanto a fenotipagem deste órgão é de extrema relevância nos programas de melhoramento genético, visto ser possível determinar a diversidade genética para variáveis de sementes (Gustin e Settles, 2015). Outro fator de extrema importância para o melhoramento genético, pode-se destacar o processo de seleção recorrente, no qual o objetivo principal desta técnica é a concentração de alelos favoráveis contribuindo na manutenção a variabilidade genética de uma determinada população. É comum o uso da seleção recorrente em plantas como: arroz, aveia, cevada, trigo, feijão, soja, tomate dentre outras. Em relação o uso da seleção recorrente no maracujá Reis et al. (2011), enfatiza que apesar dessa técnica ser um método de melhoramento intrapopulacional que apresenta sucesso na seleção de genótipos superiores, ainda tem seu uso restrito na cultura do maracujazeiro. O mesmo explica que este processo permite o aumento gradual da frequência dos alelos favoráveis, não reduzindo a variabilidade genética da população. Porém, a seleção recorrente também provoca mudanças nas frequências alélicas, na distribuição da variabilidade genética, ocasionando mudanças na estrutura genética da população original. Alguns trabalhos vem sendo desenvolvidos através do uso dessa técnica, Cavalcante (2017) realizou seu trabalho referente a seleção precoce e avaliação de genótipos melhorados de maracujazeiro azedo, onde o objetivo foi verificar se a seleção pode ser utilizada para selecionar plantas superiores de maracujazeiro azedo, podendo assim acelerar os processos de avaliação e descarte de genótipos de baixa qualidade.

O uso de novas tecnologias para ambientes controlados como técnicas de espectroscopia, termografia, tomografia, fluorescência, discriminação por isótopos e imagens digitais estão sendo empregadas visando a acurácia e rapidez das mensurações fenotípicas para melhor caracterização (Santos e Yassitepe, 2014). Como resultado, características que nunca foram mensuradas antes ou somente em situações específicas estão começando a ser medidas com maior frequência (Fiorani e Schurr, 2013) e de maneira fácil como as características relacionadas ao tamanho da semente, cor, forma e textura. Verona et al. (2007) também concluíram que o uso de análise de imagens é um método rápido, gastando menos de um minuto para digitalização e medição.

A análise digital de imagem de sementes vem sendo utilizada para a identificação de cultivares, determinação de sementes de diferentes cores, danos



mecânicos e de classificação de diferentes tamanhos de sementes (Verona et al., 2009; Kara et al., 2013; Pinto et al., 2015; Andrade et al., 2016). Entretanto, ainda não se tem informações sobre a utilização de imagem digital para mensuração de características da semente como tamanho, forma, textura e cor aplicadas na quantificação da diversidade genética no maracujazeiro azedo.

Outra forma de estimar a divergência genética é através do uso de marcadores moleculares, e entre estes marcadores destaca-se os ISSR- *Inter Simple Sequence Repeats*, que vem sendo aplicados em diversos trabalhos tais como Santos et al. (2011) que avaliaram o potencial de marcadores ISSR no cruzamento de maracujazeiro azedo e observaram que os resultados foram satisfatórios e que os marcadores ISSR podem ser úteis para estudos de diversidade genética, para fornecer informações acerca de seleção de genótipos e auxiliar em estratégias de melhoramento e conservação.

Para a quantificação da diversidade genética o uso das técnicas multivariadas é um dos fatores que têm impulsionado o aumento nos estudos sobre divergência genética. Diversas metodologias que visa o uso de algoritmos multivariados vem sendo empregadas, como a utilização da metodologia Ward – MLM (*Ward Modified Location Model*), utilizando diferentes tipos de informações como características qualitativas e quantitativas. Deste modo, o estudo da divergência genética através dos marcadores morfoagronômicos utilizando a metodologia Ward –MLM tem sido abordada em diversas culturas, como: na seleção de descritores para acessos de bananeira (Brandão, 2013), na utilização para quantificar dissimilaridade genética em cultivar de banana da terra (Reis et al., 2015) e em goiabeira (Campos et al., 2013), bem como em *Passiflora* (Melo et al., 2015) para avaliar a variação em quatro progênies de retrocruzamento em *Passiflora*.

Nesse contexto, a metodologia Ward-MLM é uma técnica útil para detectar divergência genética e agrupar genótipos utilizando descritores morfoagronômicos e também moleculares.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo estimar a divergência genética em uma população de maracujazeiro azedo sob seleção recorrente, utilizando a fenotipagem digital das sementes, descritores morfoagronômicos e moleculares com base na metodologia Ward-MLM, a fim de subsidiar o programa de melhoramento genético do maracujazeiro da Universidade do Estado do Mato Grosso.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Seleção recorrente intrapopulacional

A seleção recorrente foi proposta por Hull (1945), e é considerada um processo cíclico, onde envolve algumas etapas de melhoramento como: a obtenção de genótipos, avaliação e a recombinação dos melhores genótipos. Através da seleção recorrente pode-se aumentar a frequência dos alelos desejáveis para a característica determinada e dessa maneira melhorar a expressão fenotípica do caráter sob seleção, mantendo a variabilidade genética a níveis apropriados para permitir ganhos genéticos nos próximos ciclos (Hallauer, 1985).

O uso desta técnica foi desenvolvido por alguns pesquisadores na obtenção da qualidade de uma determinada população. Inocencio (2007), utilizou –se da seleção recorrente com objetivo de avaliar a eficiência na redução da altura de plantas de mamona da cultivar Guarani buscando formas de melhorias na colheita do produto. O desenvolvimento do processo foi realizados através de quatro ciclos de seleção recorrente com a utilização de progênies autofecundadas na cultivar Guarani para redução da altura das plantas. Ao final da pesquisa observou-se a redução na altura das plantas com o desenvolvimento do ciclos de seleção, confirmando a hipótese de variabilidade genética para altura das plantas cultivar Guarani. Kist (2006), em sua pesquisa buscou método de melhorar as variedades de milho da região Oeste de Santa Catarina. Para isto, utilizou-se do ciclo de seleção recorrente convergente – divergente de famílias de meios- irmãos a partir da população de milho MPA1, como unidade de seleção e recombinação no processo cíclico de desenvolvimento de uma nova população.

De acordo com Souza Júnior (2001) esse tipo de seleção é usado em programas de melhoramento, para que, dessa forma, com o passar dos ciclos de seleção, o desempenho médio da população melhore, permitindo que cada ciclo possa ser utilizado como fonte de novas linhagens. A seleção recorrente pode ser classificada em duas categorias: seleção recorrente intrapopulacional e interpopulacional.

Na seleção recorrente intrapopulacional o objetivo é melhorar as performances *per se* das populações, enquanto na interpopulacional o objetivo é o melhoramento do cruzamento de duas populações (Hallauer, 1985). De acordo com Borém et al.

(2009), os métodos intrapopulacionais, em geral, são mais comumente utilizados do que os interpopulacionais, pois são de mais fácil execução e aplicáveis à maioria das características agronômicas.

Cada ciclo da seleção recorrente intrapopulacional é constituído de quatro etapas: obtenção de progênies, avaliação das progênies, seleção de progênies, recombinação da progênies. A fase de obtenção de progênies é obtida coletando-se sementes de planta mãe fertilizada de pólen de outras plantas da população, avaliação através em experimento com repetições, seleção das progênies superiores e recombinação destas (Souza Junior et al., 2001). Na avaliação de progênies deve ser realizado em ensaios envolvendo repetições e locais, por meio de delineamento experimental apropriado. Na etapa de seleção progênies é baseada em médias ou totais de parcelas, pode ser truncada ou combinada . Truncada somente um caráter e combinada mas de um caráter. A intensidade de seleção varia de 10 a 20% (Gabrel, 2006).

Na etapa de recombinação, a variabilidade genética é o ponto de partida para o sucesso dos programas de melhoramento, sendo maximizada pelo intercruzamento dos genótipos mais divergentes, associados às características agronômicas de interesse para a seleção (Ertiro et al., 2013). No processo de melhoramento genético, são avaliados genótipos, buscando-se identificar genótipos superiores e divergentes para características de interesse, os quais serão destinados à recombinação (Guimarães et al., 2016). Nesta última etapa, é essencial que as progênies selecionadas sejam divergentes suficientes para assegurar o restabelecimento de variabilidade genética no processo de recombinação, garantindo a continuidade dos próximos ciclos (Reis et al., 2012). De acordo com Souza Junior (2001), cada ciclo só termina com a recombinação das progênies que originarão a nova população.

A seleção recorrente intrapopulacional na cultura do maracujazeiro vem sido utilizado pela Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy ribeiro (UENF) com o objetivo de se obter genótipos adaptados para as regiões norte e noroeste do estado do Rio de Janeiro e divergentes para recombinação utilizando a seleção recorrente intrapopulacional, o programa de melhoramento do maracujazeiro da (UENF) teve início em 1998, inicialmente houve a coleta de genótipos em três regiões produtoras e distintas do estado do Rio de Janeiro (Viana et al., 2003, 2004) e posteriormente foram selecionadas e recombinadas os genótipos com características superiores e

divergentes entre si e a partir disso Viana et al. (2016), depois de três ciclos de seleção recorrente, testaram uma população de maracujazeiro azedo, e essa população obteve um rendimento de 25 toneladas ha<sup>-1</sup> e características físicas e químicas com potencial de uma cultivar comercial para as regiões norte e noroeste do estado do Rio de Janeiro, assim foi lançado a cultivar UENF Rio Dourado. Analogamente em 2009 a Universidade do Estado do Mato Grosso iniciou o programa de melhoramento genético do maracujazeiro azedo com objetivo de se obter genótipos adaptados as condições edafoclimáticas da região mato-grossense.

## **2.2. Divergência genética no maracujazeiro azedo com base em descritores morfoagronômicos e moleculares**

A divergência genética é a distância genética entre populações, indivíduos ou organismos, tomando por base uma série de características, que podem ser morfoagronômicas, fisiológicas, bioquímicas, polimorfismo de DNA, entre outras (Amaral Júnior et al., 2010). A divergência genética, assumida como a expressão da dissimilaridade entre indivíduos, é uma das principais responsáveis pelo sucesso de um programa de melhoramento (Estopa, 2003). A divergência genética é utilizada não apenas para selecionar indivíduos divergentes mas também para saber se há variabilidade dentro da população com objetivo de auxiliar um programa de melhoramento na tomada de decisões. Chagas et al (2016), objetivou-se em seu trabalho avaliar a divergência genética e as características físicas e químicas de frutos de duas populações do maracujazeiro azedo na região Norte do Espírito Santo, como as progênies de meio-irmãos de acesso local de um plantio comercial e constataram que nas populações estudadas de maracujazeiro azedo há grande variabilidade genética quanto às características avaliadas, o que possibilita selecionar plantas com elevado potencial para fins de melhoramento genético. A divergência genética entre genitores pode promover combinações gênicas favoráveis. A divergência entre acessos, avaliada por estatística multivariada, pode proporcionar uma descrição sintética da afinidade genética entre acessos e populações. A análise da divergência genética auxilia na identificação de genótipos promissores, favorecendo a seleção dos que possuem mais características favoráveis e pode ser feita pelos métodos preditivos que se fundamentam nas diferenças morfológicas, fisiológicas ou moleculares (Cruz e Carneiro, 2006).

A divergência genética pode ser verificada entre indivíduos, progênies, populações, espécies, cultivares ou qualquer outro tipo de unidade amostral e corresponde a diferenças nas frequências alélicas entre as unidades consideradas, a variabilidade genética está diretamente relacionada com a divergência genética (Falconer, 1987; Ramalho et al., 2000).

Os estudos de divergência permitem uma orientação inicial, a qual auxiliará o melhorista na tomada de decisão sobre quais cruzamentos podem ser realizados (Oliveira et al., 1996). Assim, a quantificação da divergência genética é um dos mais importantes parâmetros estimados pelos melhoristas de plantas, principalmente quando o objetivo for a obtenção de genótipos divergentes e populações de ampla variabilidade genética (Benin et al., 2003). Para a quantificação da divergência genética podem ser utilizados descritores morfoagronômicos e moleculares

### **2.3. Descritores morfoagronômicos**

A caracterização morfológica tem a finalidade de descrever os atributos fenotípicos relacionados à espécie e faz uso de descritores morfológicos para facilitar a identificação de genótipos divergentes (Rodrigues et al., 2010). Os descritores morfológicos podem ser utilizados para mensurar a diversidade genética, (Loss et al., 2006; Paiva et al., 2014). A caracterização morfológica é uma etapa fundamental em programas de melhoramento de plantas, visto que possibilita conhecer e estimar a variabilidade genética, dentro de uma população (Marim et al., 2009).

Os descritores morfológicos são de grande importância para a apresentação de uma nova variedade. Estes têm tido papel fundamental na divulgação das características agrônomicas de novos materiais genéticos e podem influenciar decisivamente na escolha de variedades por parte de agricultores e outros interessados (Pecchioni et al., 1996).

Segundo Rodrigues et al., (2010), os descritores morfológicos apresentam algumas vantagens, como a praticidade, o baixo custo, a facilidade no manejo dos dados e, ainda, são eficientes para quantificar a divergência genética entre genótipos.

A divergência genética, com base em descritores morfológicos, tem sido utilizada pelos pesquisadores para identificar genótipos com potencial para cruzamentos a fim de se obter populações com alta variabilidade. Avaliando a diversidade utilizando descritores morfológicos em populações de maracujazeiro azedo, Freitas et al. (2011) caracterizaram e avaliaram recursos genéticos de

maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis*) quanto às principais características de importância econômica e utilizaram características produtivas, características de qualidade química e atributos físicos dos frutos para selecionar acessos de maracujazeiro promissores.

#### **2.4. Marcadores moleculares ISSR aplicados em estudos no maracujazeiro azedo**

Os marcadores moleculares podem ser utilizados como ferramenta para estudos de divergência genética entre indivíduos, dentro e entre populações ou espécies relacionadas (Souza et al., 2008). Os marcadores moleculares auxiliam nas diferentes etapas do melhoramento genético, desde a caracterização do genótipos até as etapas finais de seleção e recombinação de plantas melhoradas (Faleiro, 2007). Além de se obter um número ilimitado de polimorfismos em estudo da variabilidade genética com menor influência do ambiente (Ramalho et al., 2012).

O desenvolvimento de marcadores moleculares é uma técnica para avaliar a variação genética em nível de DNA (Liu et al., 2007). Com o desenvolvimento da técnica de reação de polimerase em cadeia (PCR – *Polymerase Chain Reaction*), surgiram outros tipos de marcadores moleculares tais como: AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), SSR (*Simple Sequence Repeats*), ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*), RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), entre outros (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Na avaliação da diversidade genética, destacam-se os marcadores moleculares ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*), pois, quando comparados com outros tipos de marcadores, apresentam maior número de locos polimórficos, o que permite a distinção entre acessos, mesmo com morfologia similar (Moulinet et al., 2012). Os marcadores ISSR são dominantes e podem auxiliar em estudos de divergência genética por ser uma técnica simples, eficiente e gerar altos índices de polimorfismo (Reddy et al., 2002).

Portanto vale destacar que a escolha de um marcador molecular depende de vários fatores como a disponibilidade do marcador para a espécie em estudo, nível de polimorfismo apresentado pelo marcador, habilidades técnicas, custo da análise, disponibilidade de equipamentos, entre outros (Souza et al., 2008).

Em *Passiflora*, os marcadores ISSR tem sido utilizado uma vez que nesta espécie há ampla variabilidade, a exemplo de *P. edulis*. Em estudo com *P. edulis* e *P. alata*, Santos et al. (2011) verificaram alto percentual de bandas polimórficas nessas

espécies e os autores ainda destacaram que os marcadores ISSR podem ser úteis para estudos de divergência genética fornecendo ações práticas principalmente para seleção de genitores.

Trabalhando com germoplasma de maracujazeiro, Costa et al. (2012), relataram o uso potencial dos marcadores moleculares ISSR na determinação do polimorfismo molecular, sendo possível verificar variabilidade independente do genótipo analisado. Estes autores também verificaram baixa porcentagem de bandas monomórficas, indicando assim alta variabilidade genética nos acessos analisados.

Neste contexto, outros estudos têm apresentado alto conteúdo de informação genética utilizando marcadores ISSR, tais como, a utilização de marcadores ISSR em espécies silvestres de *Passifloras* ornamentais realizado por Souza et al. (2015), em estudos por Pereira et al. (2015), na detecção de variação na porcentagem de locos polimórficos e diferenciação genética entre as populações nativas de *P. setácea* do sudoeste do estado da Bahia e ainda ressaltam que estes dados podem ser úteis para o desenvolvimento de estratégias para a preservação desta espécie no cerrado.

Os marcadores moleculares ISSR têm sido empregados em estudos de divergência genética do maracujazeiro, tanto para indicação de genótipos com a finalidade para recombinação como para a conservação de espécies de *Passifloras* nativas é de grande importância pois e fornecem informações da variabilidade genética existente nos genótipos em estudo.

## **2.5. Emprego da fenotipagem digital na mensuração de características de sementes**

O uso da fenotipagem digital vem ampliando devido o aperfeiçoamento de técnicas computadorizadas, para a captação, processamento e extração de informações úteis para a avaliação de sementes (Teixeira et al., 2003). A análise é considerada um método viável além de conseguir resultados rápidos, é um método com baixo custo, podendo ser utilizado em diversas áreas, como as indústrias de alimentos e na agricultura (Andrade et al., 2016).

Vários sistemas já foram desenvolvidos como ferramentas auxiliares nos processos de seleção de sementes tais como a técnica de análise de sementes utilizando Raio-X, o SVIS (Seed Vigor Imaging System), que foi desenvolvido pela universidade do Estado norte americano Ohio (Silva et al., 2012.), desde então as técnicas de análises de imagens têm ficado cada vez mais elaborada e eficiente. No

Brasil, com objetivo de realizar a captura de imagens, histogramas, gráficos e outros que facilitam a análise de imagens das sementes e plântulas, foi desenvolvido o equipamento SAS (Sistema de Análise de Sementes), pela empresa Tbit em 2011.

O equipamento é composto por um módulo de captação e um *software* de análise. O objeto para se estudar é colocado sobre uma bandeja acrílica no módulo de captação e sua imagem é capturada por uma ou duas câmeras, dependendo da versão utilizada, o SAS realiza análise das imagens individualmente das sementes e plântulas, obtendo grande número de informações de cor, textura, geometria, uniformidade, vigor e crescimento de plântulas podem ser avaliadas (Teixeira et al., 2006; Pinto et al., 2015; Andrade et al., 2016)

É também uma técnica muito fácil de reproduzir, é confiável e não destrutiva. As imagens podem ser adquiridas usando técnicas de refletância clássicas tais como fotografia de luz e microscopia ou por técnicas mais modernas como termografia, fluorescência, tomografia, ressonância magnética e ressonância nuclear (Montes et al., 2007, Berger et al., 2010; Houle et al., 2010).

A principal vantagem da utilização das análises informatizadas está relacionada a precisão dados coletados (Alvarenga et al., 2012). No entanto existe a necessidade de pesquisas que permitam validar o uso desse tipo de análise na rotina de laboratórios para diferentes espécies (Andrade et al., 2016). Pinto et al. (2015) verificaram que a utilização da análise de imagem de plântulas pelo equipamento SAS na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho é promissora.

## **2.6. Seleção de descritores**

O termo descritor é utilizado para se referir a um atributo ou caráter que se observa ou se mensura nos acessos (Querol, 1993), sendo capaz de discriminar um acesso de outro. A caracterização pode ser realizada com o emprego de descritores morfoagronômicos, sejam eles quantitativos ou qualitativos, ou com uso descritores moleculares.

Na caracterização morfoagronômica, muitos descritores são contemplados, exigindo maior esforço e tempo para coleta dos dados. Todavia, em muitas situações, não há necessidade de um grande número de descritores, sendo mais racional a seleção daqueles que melhor representam a variabilidade existente para a cultura em estudo (Pereira, 1992).



A seleção de descritores tem sido realizada com base em várias análises estatísticas, podendo-se mencionar: a regressão e interdependência de dados, o coeficiente de repetitividade, variáveis canônicas e componentes principais (Cruz, 2012). Contudo, a análise de componentes principais vem se destacando como a metodologia mais empregada em bancos e/ou coleções de germoplasma, pois além de identificar os caracteres mais importantes na contribuição de variação total disponível entre os indivíduos analisados, fornece indicação para eliminar os que pouco contribuem (Alves, 2003).

Em cacauero, Bekele et al. (1996), partindo de um conjunto de 68 variáveis quantitativas e qualitativas, por meio de análise de componentes principais, selecionaram um subconjunto preliminar de 34 variáveis, e após análises de correlações múltiplas, definiram uma lista mínima de 23 descritores para a caracterização de germoplasma dessa espécie. Oliveira et al. (2006) trabalhando com seleção de descritores em caracterização de germoplasma de açaizeiro para produção de frutos verificou que o descarte de 21,43% dos descritores não ocasionou perda de informação e minimiza custos e dinamiza o manejo de coleções de germoplasma da planta em questão, e de 28 descritores estudados, vinte e dois descritores são importantes na caracterização de germoplasma de açaizeiro para a produção de frutos.

## **2.7. Metodologia ward- MLM aplicada a estudos com maracujazeiro**

A metodologia Ward-MLM (*Modified Location Model*), proposto por Franco et al. (1998) é um método que permite analisar variáveis quantitativas e qualitativas simultaneamente. Por intermédio dessa técnica é possível, ainda, definir o número ótimo de grupos e identificar a melhor probabilidade de cada acesso alocar-se em determinado grupo (Gonçalves et al., 2009). Através deste método, existe a possibilidade de combinar dados multicategóricos, quantitativos e moleculares possibilitando novas perspectivas nos estudos de dissimilaridade.

A estratégia Ward-MLM pode ser dividida em duas fases distintas. A primeira consiste na geração de agrupamentos pelo Método Ward (Ward Júnior, 1963), utilizando a matriz de dissimilaridade fornecida pelo método de Gower (Gower, 1971). Na segunda fase, a média do vetor da variável quantitativa para cada subpopulação, independentemente dos valores da variável qualitativa, sendo estimados pelo procedimento MLM (Cabral et al., 2010). As vantagens na utilização deste método

está na a otimização de duas funções objetivas relacionadas nas duas etapas do processo, sendo na primeira fase a soma de quadrados dentro do grupo e na segunda etapa a função de verossimilhança das observações (Viana e Resende, 2014).

O procedimento Ward-MLM tem sido empregado utilizando diferentes tipos de informações. Características morfológicas, agrônômicas e moleculares foram utilizadas em estudos de divergência genética em acessos de tomate (*Solanum lycopersicum*) por Gonçalves et al. (2009). E também utilizado em estudos por Santos et al. (2014), relacionados ao gênero *Passiflora* para a caracterização dos pais e de híbridos com base em descritores morfoagronômicos estimando a divergência genética entre eles. Com base na análise conjunta de variáveis qualitativas e quantitativas nos resultados, os autores destacaram a variabilidade genética presente nos genótipos analisados, mostrando que o procedimento Ward-MLM foi útil para detectar a diversidade genética nas variáveis qualitativas e quantitativas.

Utilizando progênies de maracujazeiro azedo, Silva et al. (2014) quantificaram a divergência genética e definiram grupos heteróticos potenciais, com base em descritores morfoagronômicos, utilizando o procedimento de Ward-MLM. Nos resultados observaram-se que há variabilidade genética entre as progênies de maracujazeiro estudadas e que a metodologia Ward-MLM foi eficaz para detectar a divergência genética entre as progênies avaliadas.

Em estudos com onze espécies do gênero *Passiflora* Paiva et al. (2014) quantificaram a diversidade genética existente entre as espécies por meio do procedimento Ward-MLM e demonstraram que o método de Ward-MLM possibilitou distinguir os subgêneros analisados, e houve uma clara separação entre as espécies.

## **2.8. Programa de melhoramento intrapopulacional do maracujazeiro azedo da UNEMAT**

A Universidade Estadual do Mato Grosso considerando o elevado potencial do maracujazeiro e a baixa disponibilidade de cultivares desenvolvidas por programas de melhoramento genético que atendam às necessidades dos produtores, desenvolve a cerca de oito anos o programa de melhoramento Genético da Universidade do Estado do Mato Grosso. O programa tem por objetivo de desenvolver uma população de polinização aberta de maracujazeiro azedo mais produtivo e adaptado às condições edafoclimáticas do estado de Mato Grosso.

O programa teve início em 2009, utilizando para obtenção da população base o cruzamento entre oito cultivares comerciais de maracujazeiro azedo: cruzamentos entre as cultivares comerciais BRS Gigante Amarelo x BRS Rubi do Cerrado, BRS Sol do Cerrado x BRS Rubi do Cerrado, BRS Ouro Vermelho x BRS Rubi do Cerrado, FB 100 x BRS Rubi do Cerrado, FB 200 x BRS Rubi do Cerrado, IAC 275 x BRS Rubi do Cerrado, IAC 275 x BRS Sol do Cerrado e IAC 275 x BRS Ouro Vermelho.

A partir da avaliação das características agronômicas, foi realizada a seleção individual das 30 melhores plantas através da metodologia REML/BLUP e a recombinação dessas plantas selecionadas usando família de meio-irmão para a formação da população UNEMAT-01 em 2012. Assunção et al. (2015) observaram na população de maracujazeiro azedo que as estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos, herdabilidades individuais de alta e mediana magnitude para diferentes características e os ganhos de seleção visando o consumo in natura foram altos, indicando sucesso na seleção para caracteres físicos e químicos dos frutos, via metodologia REML/BLUP.

Também foram formadas três populações denominados UNEMAT S10, UNEMAT S5 e UNEMAT C5. O genótipo UNEMAT S10 foi obtido a partir da seleção de seis plantas do cruzamento BRS Gigante Amarelo x BRS Rubi do Cerrado, duas plantas do cruzamento FB100 x BRS Rubi do Cerrado, uma planta do cruzamento FB200 x BRS Rubi do Cerrado, uma planta do cruzamento BRS Sol do cerrado x BRS Rubi do Cerrado. Após a seleção, foi realizada a recombinação das plantas selecionadas usando famílias de meio-irmão, onde a mãe foi a própria planta selecionada e o pai foi a mistura de pólen oriundo de todas as plantas selecionadas.

O genótipo UNEMAT S5 foi obtido a partir da seleção de quatro plantas do cruzamento BRS Gigante Amarelo x BRS Rubi do Cerrado e uma planta do cruzamento FB100 x BRS Rubi do Cerrado. Também, após a seleção, foi realizada a recombinação das plantas selecionadas usando famílias de meio-irmão, onde a mãe foi a própria planta selecionada e o pai foi a mistura de pólen oriundo de todas as plantas selecionadas. O genótipo UNEMAT C5 foram as mesmas plantas selecionadas no genótipo UNEMAT S5. No entanto, estas plantas foram clonadas e misturadas para formar uma variedade clonal.

Cavalcante et al. (2016) avaliaram quatro cultivares comerciais de maracujazeiro azedo (BRS Sol do Cerrado, BRS Gigante Amarelo, BRS Rubi do Cerrado e FB 200) e as três populações provenientes do programa de melhoramento genético do

maracujazeiro azedo da UNEMAT, denominados UNEMAT S10, UNEMAT S5 e UNEMAT C5 com finalidade de comparar as características de produtividade e qualidade físicas e químicas dos frutos e os resultados obtidos mostraram que os descritores foram eficientes para a diferenciação das populações e que a população UNEMAT S10 possui as características que a distinguem das demais cultivares e das populações avaliadas e possui alto desempenho agrônomico e, portanto poderia ser lançada como cultivar comercial.

Em 2014, visando a formação da população UNEMAT-02, houve a obtenção de 118 famílias de irmãos completos. Em 2015, foi realizada a avaliação das 118 FIC e selecionados 40 FIC com melhor desempenho morfoagronômico por meio de índices de seleção (Dalbosco, 2015). Em 2016, dando continuidade ao programa de melhoramento genético do maracujazeiro, foram avaliadas 35 famílias de maracujazeiro azedo para avaliação de divergência genética com descritores morfoagronômicos e moleculares, para a seleção das 20 FIC mais divergente para continuação do programa de Melhoramento Genético.

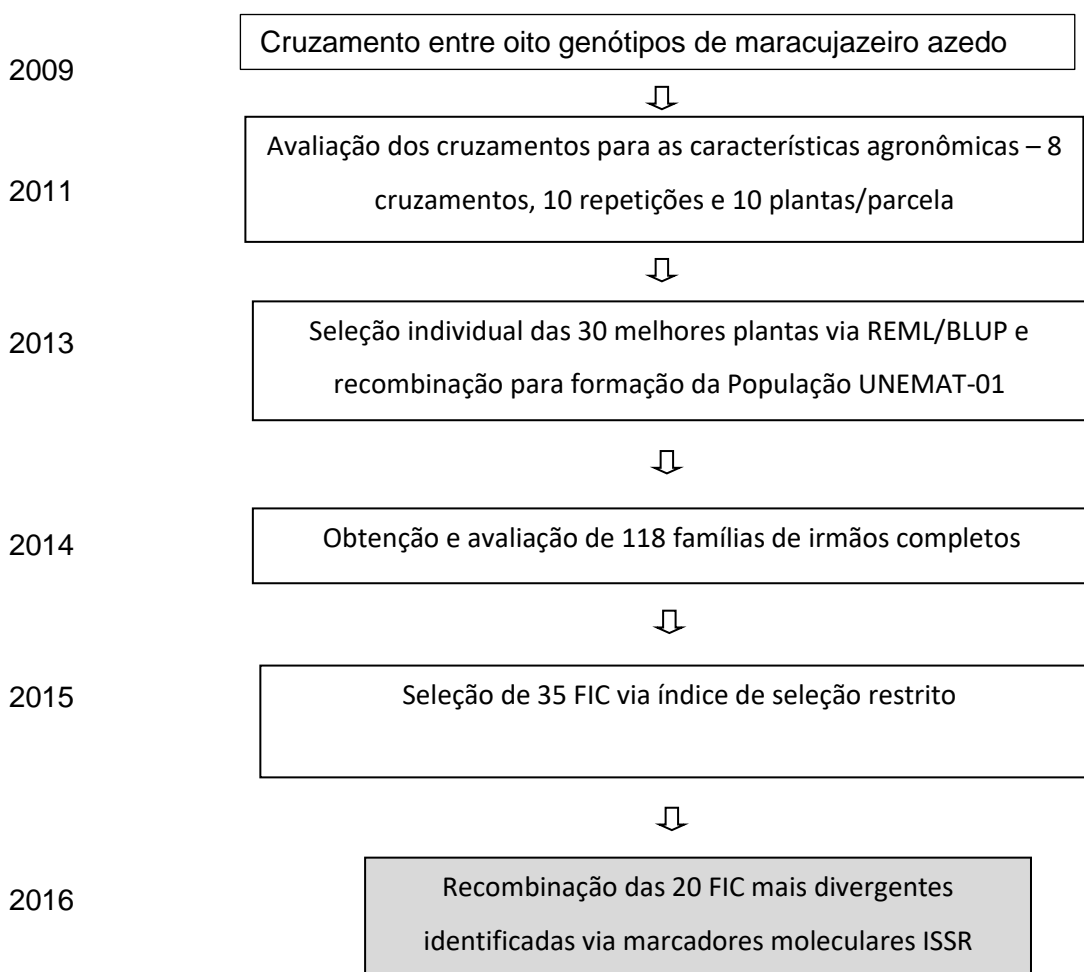


FIGURA 1 - Fluxograma do programa de melhoramento genético do maracujazeiro azedo da UNEMAT.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Material Genético**

As 35 famílias de irmãos-completos de maracujazeiro azedo utilizadas neste trabalho, foram obtidas a partir de 118 FIC avaliadas por Dalbosco, (2015) utilizando os índices de seleção restritos do Programa de Melhoramento genético desenvolvido pela Universidade do Estado do Mato Grosso. Entre essas FIC foram selecionados genótipos com alta produtividade

#### **3.2. Características morfoagronômicas avaliadas**

##### **3.2.1. Análise digital de imagens e seleção de variáveis por componentes principais**

Foram utilizadas 50 sementes de cada uma das 35 FIC de maracujazeiro provenientes do programa de melhoramento da UNEMAT conduzidas na área experimental da Universidade do Estado de Mato Grosso, município de Tangará da Serra. As sementes foram coletadas entre os meses de abril e maio de 2016.

Os frutos de cada FIC foram seccionados transversalmente e as sementes retiradas, junto com os tecidos placentários, com auxílio de uma colher. O material foi transferido para uma peneira de nylon para retirada do arilo, as sementes foram friccionadas contra a peneira e lavadas em água corrente para separação do material placentário. Logo após, as sementes foram secas em ambiente natural para retirada do excesso de umidade e posteriormente foram limpas, etiquetadas e armazenadas em geladeira com temperatura controlada.

A análise digital de sementes foi realizada em junho de 2016 no setor de Tecnologia de Sementes da Universidade Estadual Norte Fluminense (UENF) em Campos dos Goytacazes- RJ.

Foram utilizadas 50 sementes por FIC (Figura 1). A captura e análise digital das imagens das sementes foram realizadas com as sementes sem arilo. As sementes

foram colocadas sobre uma bandeja de acrílico transparente, de maneira que as sementes não se encostassem. Posteriormente a bandeja foi inserida na câmara de captação do SAS (Sistema de Análise de Sementes) para serem analisadas. O SAS fornece uma planilha com valores médios de cada FIC para as variáveis analisadas.



Figura 1. Sementes dispostas em lamina plástica transparente para aquisição das imagens utilizando o SAS.

Foram avaliadas 136 variáveis de sementes, sendo 49 de cor, 44 de geometria e 43 de textura. Dessas foram selecionadas para análise 34 variáveis de cor, 34 de geometria e 27 de texturas. As 34 variáveis relacionadas a cor foram: cor abaixo do otsu canal azul (C1); cor abaixo do otsu canal verde (C2); cor abaixo do otsu canal vermelho (C3); cor abaixo do otsucielab a (C4); cor abaixo do otsucielab b (C5); cor abaixo do otsucielab l (C6); cor acima do otsu canal azul (C7); cor acima do otsu canal verde (C8); cor acima do otsu canal vermelho (C9); cor acima do otsucielab a (C10); cor acima do otsucielab b (C11); cor acima do otsucielab l (C12); cor brilho (C13); cor cielab a (C14); cor cielab b (C15); cor cielab dispersão (C16); cor cielab dispersão de a (C17); cor cielab dispersão de b (C18); cor cielab dispersão de l (C19); cor cielab l (C20); cor concentração da matriz (C21); cor dominância cinza escuro (C22); cor dominância laranja (C23); cor dominância preta (C24); cor dominância vermelha (C25); cor matiz (C26); cor media canal azul (C27); cor media canal verde (C28); cor

media canal vermelho (C29); cor predominante canal azul (C30); cor predominante canal verde (C31); cor predominante canal vermelho (C32); cor saturação (C33); cor variância da matiz (C34).

Para geometria, as 34 variáveis analisadas foram: geometria afinamento (G1); geometria área (G2); geometria área convexa (G3); geometria circularidade (G4); geometria circularidade por fato de forma (G5); geometria circularidade por ffcg (G6); geometria circularidade por ffcf (G7); geometria complexidade da forma (G8); geometria compressão (G9); geometria convexidade do contorno (G10); geometria deformação do contorno (G11), geometria diâmetro do contido (G12); geometria diâmetro máximo (G13); geometria diâmetro lateral (G14); geometria diâmetro mínimo (G15); geometria distancias convexas (G16); geometria esfericidade de forma (G17); geometria esfericidade de forma modificada (G18); geometria mudança no perímetro (G19); geometria número de quinas por harris (G20); geometria número de quinas por susan (G21); geometria perímetro (G22); geometria perímetro convexo (G23); geometria quociente de aspecto (G24); geometria retângulos circunscritos maior área (G25); geometria retângulos circunscritos maior aresta (G26); geometria retângulos circunscritos maior perímetro (G27); geometria retângulos circunscritos média das maiores arestas (G28); geometria retângulos circunscritos média das menores arestas (G29); geometria retângulos circunscritos menor área (G30); geometria retângulos circunscritos menor aresta (G31); geometria retângulos circunscritos menor perímetro (G32); geometria retângulos circunscritos perímetro médio (G33); geometria: solidez contorno (G34).

Com relação a textura, foram analisadas 27 variáveis: textura: fourier medias das fases (T1); textura haralick contraste (T2); textura haralick correlação (T3); textura haralick dissimilaridade (T4); textura haralick energia (T5); textura haralick entropia (T6); textura haralick homogeneidade (T7); textura haralick média (T8); textura haralick variância (T9); textura lawsek(T10); textura lawsle (T11); textura lawslr (T12); textura lawsls (T13); textura lawslw (T14); textura lawsrw (T15); textura lawssr (T16); textura lawssw (T17); textura runlengthgld (T18); textura runlengthglnu (T19); textura runlengthgre (T20); textura runlengthlire (T21); textura runlengthlrhge (T22); textura runlengthrlnu (T23); textura runlengthsre (T24); textura runlengthsrhge (T25); textura sfm: medida do espaço de frequência (T26); textura sfm: medida do espaço de frequência (T27).

Foram avaliadas as variáveis mais informativas para cada característica. Os dados obtidos foram analisados utilizando-se o programa genes (Cruz, 2013).

Foi efetuada a análise de componentes principais com o emprego da distância euclidiana média padronizada, uma vez que as FIC encontram-se estabelecidas sem obedecer a nenhum delineamento experimental (Cruz et al., 2004). Para o descarte de variáveis, foi adotado o critério de descartar a variável de maior coeficiente em cada componente com autovalor menor que 0,70, de acordo com as pressuposições de Jolliffe (1972, 1973) e Mardia et al. (1979). Desta forma, foi indicado para descarte todo caráter que apresentou maior coeficiente de ponderação em valor absoluto (autovetor), no componente principal de autovalor menor, partindo do último componente até aquele cujo autovalor não excedeu 0,70.

### **3.2.2. Características quantitativas**

As características produtividade e número de frutos foram avaliadas de setembro de 2014 até setembro de 2016. As características químicas e físicas dos frutos foram avaliadas no período de maio a setembro de 2015, utilizando nove frutos por parcela. Foram avaliadas as seguintes características:

Dias para o florescimento (DFL): foi por meio da contagem de dias do plantio até a abertura da primeira flor na parcela.

Massa de frutos em g (MF): A massa do fruto (g) foi obtida por pesagem da amostra composta pelo número de frutos coletados por planta, com auxílio de uma balança digital.

Porcentagem de polpa (PP): Foi obtida através da pesagem da polpa, dividindo este valor pelo peso total dos frutos. Foi utilizada a expressão:  $\%P = \frac{MP}{MF} \times 100$ , onde MP é massa da polpa e MF é massa dos frutos.

Comprimento do fruto em mm (CF): O comprimento médio do fruto (mm) foi obtido pela medição da dimensão longitudinal composta pelo número de frutos coletados por planta, a qual foi realizada com paquímetro digital.

Diâmetro do fruto em mm (DF): Foi obtido com a média aritmética das dimensões transversais dos frutos, a qual será realizada com paquímetro digital.

Espessura da casca em mm (EC): Foi determinada por meio da média aritmética das medidas de quatro pontos da casca externa. A medição foi realizada com paquímetro digital.



Coloração da polpa (CP): Foi obtida pela avaliação visual da coloração da polpa dos frutos, por meio de uma escala de notas adaptada por Linhales (2007).

Teor de sólidos solúveis totais (SST): Foi obtido por refratometria, utilizando-se refratômetro digital portátil, com leitura entre 0 e 32° Brix.

Acidez Total Titulável (ATT), foi determinada de acordo com a metodologia recomendada pela AOAC – *Association Of Official Agriculture Chemists* (1990) e modificada por Araújo (2001), diluindo-se 5mL de suco composto pela amostragem de no mínimo dois frutos, em água destilada na proporção de 5:1, usando-se como indicador 5 gotas de fenolftaleína a 1 g L<sup>-1</sup>. Em seguida com auxílio de Bureta Digital a amostra foi titulada com NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>, sob agitação. Os resultados foram expressos em grama de ácido cítrico por 100 ml de suco, após a aplicação de seguinte formula  $G = \frac{V \cdot f \cdot N \cdot PE}{P} \cdot 100$ , onde, G = equivalente de ácido cítrico por 100 ml de suco, V (L) = volume de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> gasto na titulação, f = fator de correção devido a padronização de 0,96, N = normalidade do NaOH (eq L<sup>-1</sup>) será de 0,1, PE = peso equivalente do ácido cítrico (g eq<sup>-1</sup>) de 64 e P = volume de suco de 5 ml

Potencial hidrogeniônico (pH): Foi medido através de um pHmetro digital (MAPA200).

Relação sólidos solúveis totais/acidez total titulável (SST/ATT): Foi realizado utilizando-se a simples divisão do valor encontrado de SST pelo valor encontrado de ATT.

### 3.2.3 Características qualitativas

Foram avaliadas 23 variáveis morfoagronômicas qualitativas de acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2008). Para isto coletou-se cinco folhas maduras e cinco flores por parcela e com auxílio do paquímetro digital e régua foram mensuradas as seguintes características: Comprimento da bráctea (CB), comprimento da sépala (CS), largura da sépala (LG), diâmetro da corona (DC), largura dos anéis coloridos nos filamentos da corona (LACFC), comprimento do pecíolo (CP), comprimento do limbo foliar (CLF), largura máxima do limbo foliar (LMLF), espessura da casca (EC), diâmetro longitudinal (DL), diâmetro transversal (DT), relação DL/DT, peso médio (PM), coloração da polpa (CLP), sólidos solúveis totais (SST), coloração de ramo (CLR), profundidade dos sinus do limbo foliar (PSLF), posição dos nectários (PN), bandeamento nos filamentos da corona (BFC),

coloração dos anéis (exceto brancos) da coroa (CAC), filamentos da coroa (FC), forma do fruto (FF), coloração da casca (epiderme) do fruto (CCF), (Mapa, 2008).

### **3.3. Marcadores moleculares ISSR**

A análise molecular foi conduzida no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LMGV) da Universidade Estadual Norte Fluminense (UENF) em Campos dos Goytacazes- RJ. Foram utilizadas 35 FIC de maracujazeiro azedo. Foram coletadas nove folhas jovens de cada FIC para extração de DNA. As folhas foram armazenadas em papel alumínio e armazenada em freezer -80°C para que não houvesse a degradação do DNA.

#### **3.3.1. Extração e quantificação do DNA genômico**

Para a extração de DNA utilizou-se 0,5 a 0,7 mg de tecido foliar macerado, o DNA genômico foram extraídos das folhas de cada FIC, de acordo com o protocolo de Doyle e Doyle (1990), com modificações, descritas a seguir.

Com auxílio de pistilo e almofariz, foram macerados 0,5 a 0,7g de cada amostra, imersos em Nitrogênio Líquido, até obter um “pó” bem fino. Em seguida o material foi transferido para microtubos de 2,0 ml. Foram adicionados aos tubos contendo as amostras, 800 µL do tampão de extração, contendo 2% CTAB, 2,0 mol L<sup>-1</sup>NaCl, 20 mmol L<sup>-1</sup> EDTA, 100 mmol L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH 8,0), 0,1 mg/mL de Proteinase K, 2% PVP e 2% β-mercaptoetanol, estes dois últimos foram necessários para remoção dos compostos fenólicos e posteriormente foi realizada a homogeneização utilizando o vórtex.

O material foi colocado em banho-maria a 65°C por 40 minutos e homogeneizado suavemente a cada 10 minutos. Depois retirado do banho-maria foi centrifugado por 5 minutos a 14.000 rpm. O sobrenadante foi vertido em um novo tubo de 1,5 mL e foi adicionado 600 µL clorofórmio: álcool - isoamílico (24:1), para efetuar a desproteinização. O material foi invertido suavemente durante aproximadamente 10 minutos ou até ficar turvo, essa etapa foi repetida por três vezes

A fase orgânica foi separada por centrifugação, a 14000 rpm por 7 minutos. O sobrenadante foi transferido para um tubo de 1,5 ml devidamente identificado. Os ácidos nucleicos foram precipitados pela adição de dois terços (500 µL) do volume de

isopropanol gelado, e incubados em overnight em geladeira. O precipitado foi sedimentado por centrifugação, a 14000 rpm por 10 minutos.

O sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado duas vezes com 500 µL etanol a 70% e duas vezes com álcool 95%, para a retirada de sal presente (entre cada lavagem, o material foi centrifugado a 14000 rpm durante 5 minutos).

Após o descarte do último sobrenadante, o pellet foi secado em condições naturais, até que o etanol foi removido. Em seguida, foi ressuscitado em 100 µL de solução TE (Tris-EDTA - 10 mmol L<sup>-1</sup> Tris-HCl, 1 mmol L<sup>-1</sup> EDTA, pH 8,0) com RNase em uma concentração final de 10 µg mL<sup>-1</sup> e incubado em banho-maria a 37°C por 40 minutos. Logo após, o material foi armazenado a -20°C até o uso.

A quantificação foi realizada através de eletroforese em gel de agarose a 1% (p/v) e submetidos à eletroforese. As alíquotas de DNA 1µL por amostra foram aplicadas nos poços do gel e a concentração das amostras foi estimada por comparação visual da intensidade de fluorescência das bandas do DNA (λ) 100 ng. O gel foi fotodocumentado (Figura 2).

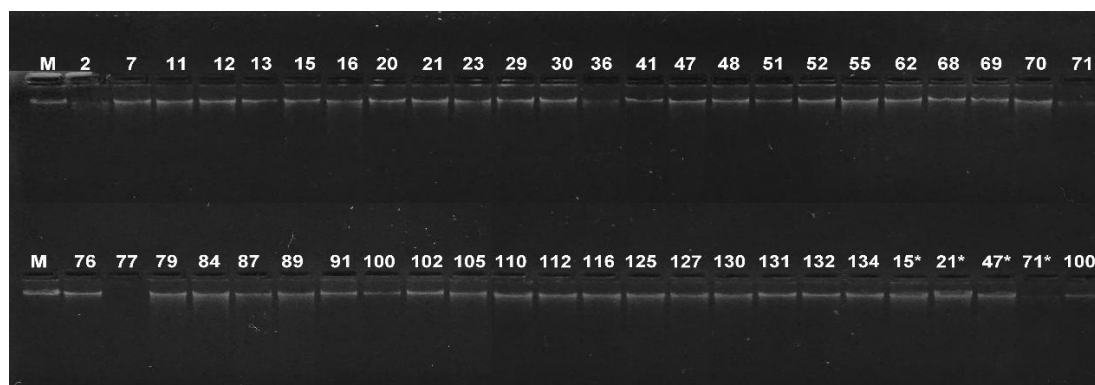


Figura 2. DNA genômico extraído das 35 FIC de maracujazeiro azedo e quantificado em gel de agarose 1% evidenciando a integridade do DNA extraído (Ferreira, 2016).

### 3.3.2. PCR e eletroforese

Efetou-se uma triagem de iniciadores que fossem capazes de detectar polimorfismo. Uma pré-seleção com 35 iniciadores ISSR foi realizada. Após essa etapa, foram escolhidos os iniciadores que permitiram a obtenção de fragmentos de alta intensidade e a presença de polimorfismo, totalizando 25, os quais foram utilizados em todos os genótipos de maracujazeiro estudados (Tabela 1).

Foram utilizados 21 iniciadores ISSR, cujas reações de amplificação foram realizadas de acordo com Oliveira (2006) com pequenas modificações, o mix para

PCR (13ul) continha 10 ng de DNA genômico de *Passiflora edulis*, 1,0 uM de cada iniciador e 1,5 U de Taq DNA Polimerase, 0.2 mM de dNTP e 1,5 mM de cloreto de magnésio e tampão de PCR (1X), sendo adicionado água ultrapura para completar o volume final da reação. As reações de PCR foram conduzidas em termociclador.

O programa de amplificação consistiu da seguinte forma: 4 minutos a 94°C para desnaturação inicial, seguindo-se os 40 ciclos, cada um consistiu de 94°C 1 minuto, (43° á 58°C) por 1 minuto (de acordo com o iniciador utilizado), 72°C por 3 minutos, e uma extensão final a 72°C por 7 minutos. O produto amplificado foi submetido à eletroforese em gel de agarose 2%. O tamanho dos fragmentos foram determinados com o marcador de peso molecular de 100 a 3000pb. Para visualização dos resultados as imagens dos géis foram visualizados sob luz UV e fotodocumentados.

Tabela 1. *Primers* ISSR, respectivas sequências e temperaturas de anelamento utilizados em 35 FIC de maracujazeiro - azedo

Primers	Sequência 5'-3'	TA °C
TriAAC3'RC	(AAC) <sub>5</sub>	52°
TriAGC3'RC	(AGC) <sub>5</sub>	54°
TriCAG3'RC	(CAG) <sub>5</sub>	48°
DiGA5'C	C(GA) <sub>8</sub>	58°
DiGA3'C	(GA) <sub>8</sub> C	54°
DiGA5'CY	CY(GA) <sub>8</sub>	52°
DiGT5'CY	CY(GT) <sub>8</sub>	56°
DiGA3'YC	(GA) <sub>8</sub> YC	48°
DiGA3'T	(GA) <sub>8</sub> T	50°
TriAAG3'RC	(AAG) <sub>5</sub>	43°
TriACA3'RC	(ACA) <sub>5</sub>	50°
TriCAA3'RC	(CAA) <sub>5</sub>	50°
PE225 (1)	(GA) <sub>6</sub> CC	50°
PE225 (2)	(GT) <sub>6</sub> CC	52°
PE225 (5)	(AG) <sub>8</sub> YT	50°
PE225(14)	(GA) <sub>8</sub> C	50°
PE225(15)	(CT) <sub>8</sub> G	44°
PEG1	AG) <sub>8</sub> T	48°
PEG6	GA) <sub>8</sub> YT	46°
PEG7	(CACA) <sub>4</sub>	48°
PEG13	(CT) <sub>8</sub> G	47°
PE225(19)	(AG) <sub>8</sub> YA	56°
PE225(33)	(AG) <sub>8</sub> T	52°
PE225(83)	(TC) <sub>8</sub> G	50°
PE225(84)	(TC) <sub>8</sub> RG	50°

<sup>1</sup>Temperatura de anelamento (TA)

### 3.4. Análise dos marcadores moleculares

Os resultados obtidos com o emprego dos marcadores moleculares fornecem uma matriz de valores binários, em que as colunas dessa matriz representam os diferentes genótipos e as linhas representam as diferentes características a serem comparadas. No caso dos marcadores dominantes, cada linha corresponde à identificação de uma marca (ou banda) numa região específica do DNA. A presença da marca é identificada pelo número 1 e a ausência por 0. Pode ser obtida, por exemplo, a seguinte matriz:

$$pMn = \begin{matrix} & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{matrix}$$

Em que:  $p$  e  $n$  indicam o número de marcas e de genótipos, respectivamente. Quando dois genótipos são comparados podem ocorrer as seguintes situações, para cada marca  $p$ : i) ambos possuem a mesma marca, ou seja, valor 1 (código 1 e 1); ii) um genótipo possui a característica e o outro não (código 1 e 0, ou 0 e 1); iii) ambos não possuem tal característica (código 0 e 0).

Para formação da matriz de dissimilaridade foi utilizado o complemento aritmético do Índice de Jaccard, conforme a seguinte fórmula:

$$S_{ij} = a / (a + b + c)$$

em que:  $a$  é o número de locos comuns aos genótipos  $i$  e  $j$ ; enquanto  $b$  e  $c$  são os números de locos presentes apenas em cada um dos genótipos.

O dendrograma foi obtido pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Using na Arithmetic Average*) e realizado o agrupamento pela ligação média entre grupos. Para a análise dos dados utilizou-se o Programa Genes (Cruz, 2013).

O cálculo do coeficiente de correlação cofenética (CCC) estima o grau entre a matriz de dissimilaridade (matriz cofenética  $F$  ou  $D1$ ) e a matriz resultante da simplificação devido ao método de agrupamento (matriz cofenética  $C$ ), a fim de verificar a consistência do agrupamento.

### 3.5. Divergência genética pelo método Ward-MLM

Para a quantificação da divergência genética foi adotado a metodologia Ward-MLM (*Modified Location Model*) propostos por Franco et al. (1998) empregada conforme descrito por Viana e Resende (2014). Esta técnica permite o cálculo da

distância entre duas unidades experimentais ou amostrais quando são avaliados diferentes tipos de variáveis quantitativas e qualitativas conjuntamente, por meio de um algoritmo que estima a similaridade, utilizando dados quantitativos e qualitativos (Gower, 1971). As expressões são apresentadas por Crossa e Franco (2004) em que

a distância de dissimilaridade de Gower é expresso por:  $d_{ij} = \frac{\sum_{k=1}^p w_{ijk} d_{ijk}}{\sum_{k=1}^p w_{ijk}}$ , na qual  $d_{ijk}$  é

a contribuição da variável  $k$  para a distância total. Se a variável é qualitativa (binária ou multicategórica),  $d_{ijk}$  assume valor 1 quando há concordância positiva ou negativa para a variável  $k$  entre os indivíduos  $i$  e  $j$ , e assume valor 0, em caso contrário. Por

sua vez, se a variável é quantitativa ou ordinal,  $d_{ijk}$  é dado por  $d_{ij} = \frac{|y_{ik} - y_{jk}|}{R_k}$ , em que

$R_k$  é a amplitude de variação da variável  $k$ . E  $y_{ik}$  e  $y_{jk}$  são os valores da variável  $k$  para os indivíduos  $i$  e  $j$ , respectivamente. A divisão por  $R_k$  elimina as diferenças entre escalas das variáveis, produzindo um valor dentro do intervalo [0,1] e pesos iguais.

A metodologia Ward-MLM pode ser dividida em duas fases distintas. A primeira consiste na geração de agrupamentos pelo Método Ward (Ward Júnior, 1963), utilizando a matriz de dissimilaridade fornecida pelo método de Gower (Gower, 1971). Na segunda fase, a média do vetor da variável quantitativa para cada subpopulação, independentemente dos valores da variável qualitativa, sendo estimados pelo procedimento MLM (Cabral et al., 2010).

A definição do número ideal de grupos foi realizada de acordo com os critérios do pseudo F e pseudo  $T^2$ . Todas as análises foram realizadas usando o software estatístico SAS (SAS Institute, 2009), seguindo as seguintes etapas. Primeiramente, o algoritmo de Gower, utilizado para estimar a matriz de similaridade e as distâncias entre as observações; em seguida o método de Ward, que gerou o primeiro agrupamento.

Essa sequência criou um arquivo que contém as distâncias entre as observações. Depois, seguindo o método MLM, obteve-se o gráfico logaritmo da função da verossimilhança maximizada para diferentes números prováveis de grupos, desde 1 a 5. Pela observação dos “picos” de verossimilhança para os diferentes números de grupos no gráfico, definiu-se o número apropriado de grupos e por fim, fez-se a análise MLM completa para o número de grupos definidos no segundo passo,

apresentando os resultados da classificação da análise canônica para as variáveis quantitativas e uma tabela da descrição dos grupos formados, gerando arquivo contendo as coordenadas canônicas para as observações. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software SAS (SAS Institute, 2003).

## **4. RESULTADOS**

### **4.1. Seleção de descritores de sementes via análise digital de imagem**

Ao analisar as estimativas dos autovalores associados aos componentes principais em relação as variáveis de cor e suas respectivas variâncias relativas e acumuladas, percebe-se que os três primeiros componentes conseguiram explicar 89,88% da variância acumulada, com a primeira variável explicando 52,50%, a segunda 26,16% e a terceira 11,22% (Tabela 2). De acordo com o método de Jolliffe 1972, 1973, cinco variáveis foram selecionadas. Sendo: abaixo do otsu canal vermelho (C3), cor abaixo do otsucielab a (C4), cor cielab b (C15), cor cielab dispersão de b (C18) e cor matiz (C26), (Tabela 3).

Tabela 2. Estimativas dos autovalores associados aos componentes principais e suas variâncias relativas e acumuladas, obtidas dos 34 caracteres de cor avaliados em sementes de maracujazeiro azedo.

<sup>1</sup> CP	Autovalor	Variância relativa	Variância acumulada
1	17,85	52,50	52,50
2	8,89	26,16	78,66
3	3,81	11,22	89,88
4	1,38	4,07	93,95
5	0,74	2,16	96,11
6	0,44	1,30	97,41
7	0,31	0,91	98,32
8	0,17	0,50	98,82
9	0,12	0,35	99,17
10	0,10	0,28	99,45
11	0,06	0,18	99,64
12	0,04	0,13	99,77
13	0,03	0,08	99,85
14	0,02	0,05	99,89
15	0,01	0,03	99,93
16	0,01	0,02	99,95
17	0,01	0,02	99,97
18	0,01	0,02	99,98
19	0,00	0,01	99,99
20	0,00	0,01	99,99
21	0,00	0,00	100,00
22	0,00	0,00	100,00
23	0,00	0,00	100,00
24	0,00	0,00	100,00
25	0,00	0,00	100,00
26	0,00	0,00	100,00
27	0,00	0,00	100,00
28	0,00	0,00	100,00
29	0,00	0,00	100,00
30	0,00	0,00	100,00
31	0,00	0,00	100,00
32	0,00	0,00	100,00
33	0,00	0,00	100,00
34	0,00	0,00	100,00

<sup>1</sup>CP: componentes principais



abela 3. Estimativas dos coeficientes de ponderação associados aos componentes principais com autovalores inferiores a 0,7 e identificação dos caracteres com indicação para descarte, em cada componente, pela seleção direta em 34 caracteres de cor relacionada as sementes de 35 FIC de maracujazeiro azedo.

Variável	Componente principal														
	CP34	CP33	CP32	CP31	CP30	CP29	CP28	CP27	CP26	CP25	CP24	CP23	CP22	CP21	CP20
C1	-0,163	0,235	0,125	0,100	-0,086	-0,086	0,171	-0,067	0,013	-0,077	-0,377	-0,235	-0,180	0,486 <sup>(1)</sup>	-
C2	-0,163	0,096	-0,308	-0,070	0,049	0,046	-0,172	0,483 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-
C3	-0,259	-0,065	0,147	0,058	-0,210	0,495	-0,106	-0,165	0,381	0,163	0,360	-0,219	0,072	0,051	0,289
C4	-0,055	-0,169	-0,263	-0,022	0,000	-0,176	0,031	0,322	0,397	-0,055	-0,163	0,119	-0,184	0,097	0,229
C5	0,086	0,452	0,173	0,126	0,055	-0,014	0,379	0,067	0,122	-0,074	-0,298	0,221	0,267	-0,138	0,374
C6	0,213	-0,459 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C7	0,215	-0,146	0,184	0,546 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C8	-0,379	-0,065	-0,380	0,070	-0,006	-0,196	0,463 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-
C9	0,312	0,038	-0,272	-0,050	0,247	0,515 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C10	-0,116	-0,088	-0,013	-0,044	-0,064	-0,094	0,004	0,028	0,082	0,039	-0,003	0,022	0,161	-0,059	-0,155
C11	0,130	-0,036	0,119	0,248	-0,023	-0,050	-0,119	0,046	0,088	0,199	0,009	0,178	0,130	-0,028	-0,115
C12	-0,025	0,149	0,400 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C13	-0,074	0,030	-0,001	0,015	0,007	-0,005	-0,036	-0,012	-0,046	-0,020	0,004	-0,015	-0,043	0,150	0,067
C14	0,114	0,291	0,119	0,021	0,029	0,133	-0,073	-0,413	-0,485 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-
C15	0,059	-0,359	0,016	-0,083	-0,494	0,062	0,155	-0,003	-0,305	-0,069	-0,303	-0,255	-0,320	-0,221	0,096
C16	0,342	0,019	-0,089	-0,139	0,025	-0,043	0,192	0,038	0,014	0,373 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-
C17	-0,022	-0,005	0,023	0,009	-0,004	0,011	-0,037	-0,018	-0,011	-0,057	-0,020	0,024	0,043	-0,136	-0,140
C18	-0,102	0,001	0,012	0,042	0,002	0,011	-0,048	-0,002	-0,007	-0,079	-0,026	0,029	0,006	-0,023	-0,003
C19	-0,459 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C20	0,209	0,401	-0,332	0,085	-0,328	-0,315	-0,229	-0,102	0,095	-0,205	0,243	-0,221	0,075	-0,215	-0,061
C21	-0,042	-0,008	0,006	0,011	0,009	-0,019	-0,022	-0,001	-0,009	-0,013	0,021	0,006	-0,005	0,062	0,001
C22	0,061	0,014	0,001	0,004	-0,007	0,004	0,003	-0,002	0,036	0,000	-0,012	-0,005	0,014	-0,064	-0,003
C23	0,067	0,044	0,015	0,031	-0,032	-0,059	-0,002	-0,053	0,043	0,034	-0,076	-0,028	-0,074	0,122	-0,151
C24	0,112	0,056	0,018	0,000	-0,032	-0,056	0,038	-0,067	0,051	0,022	0,006	0,008	-0,018	-0,077	0,038
C25	0,084	0,005	0,003	0,003	-0,024	-0,012	0,033	0,002	0,015	-0,005	-0,024	0,001	0,008	-0,116	-0,061
C26	0,061	-0,003	0,015	-0,012	-0,029	0,003	0,056	0,004	-0,008	-0,019	-0,001	-0,013	0,024	-0,103	-0,003
C27	0,177	-0,196	0,168	0,065	-0,289	0,232	0,339	0,154	-0,076	0,016	0,095	0,376 <sup>(1)</sup>	-	-	-
C28	-0,001	-0,059	-0,145	-0,221	0,307	0,167	-0,254	-0,307	0,182	0,299	-0,447 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-
C29	-0,102	-0,021	0,376	0,088	0,501 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C30	0,050	-0,006	0,007	-0,073	0,018	0,011	0,012	-0,003	-0,028	0,065	-0,139	-0,170	0,095	-0,366	0,335
C31	0,017	0,040	0,037	0,103	-0,017	-0,014	0,114	-0,103	0,206	-0,140	0,213	0,324	-0,465	0,096	-0,141
C32	-0,104	-0,023	-0,043	-0,048	-0,011	-0,004	-0,150	0,152	-0,235	0,077	-0,102	-0,196	0,513 <sup>(1)</sup>	-	-
C33	0,117	-0,060	-0,002	-0,020	-0,014	-0,022	0,061	-0,014	0,051	-0,014	0,037	-0,015	0,059	0,025	-0,362
C34	0,017	-0,013	0,009	-0,004	-0,008	-0,023	0,008	-0,002	-0,007	-0,011	0,025	0,010	0,023	-0,023	-0,055

<sup>(1)</sup>variável indicado para descarte.

Continua...

Tabela 3. Continuação

Variável	CP19	CP18	CP17	CP16	CP15	CP14	CP13	CP12	CP11	CP10	CP9	CP8	CP7	CP6
C1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C3	0,053	-0,131	0,090	0,040	-0,012	0,063	-0,010	-0,098	-0,100	0,105	0,022	0,060	0,070	-0,023
C4	0,132	0,219	-0,083	0,345	0,120	0,152	-0,002	0,095	0,024	-0,022	0,073	0,113	0,206	-0,073
C5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C10	-0,220	-0,058	-0,042	-0,489 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C11	-0,122	0,089	0,313	-0,166	0,548 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C13	0,017	0,190	-0,027	-0,284	-0,199	-0,320	-0,274	0,654 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-
C14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C15	-0,078	-0,032	0,228	0,047	-0,053	0,020	0,018	0,001	-0,043	-0,063	-0,012	0,031	0,002	0,054
C16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C17	-0,034	-0,033	0,040	-0,238	0,144	-0,047	0,104	0,009	0,565 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-
C18	0,067	0,120	-0,142	0,116	-0,227	-0,103	-0,024	-0,156	-0,107	0,025	-0,237	-0,361	-0,268	0,112
C19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C20	-0,075	0,065	0,000	0,140	-0,049	0,141	-0,006	0,006	0,017	0,086	0,044	0,011	-0,012	0,259 <sup>(1)</sup>
C21	0,038	0,071	-0,101	-0,061	-0,043	-0,044	0,579	0,108	-0,159	0,059	-0,110	-0,608 <sup>(1)</sup>	-	-
C22	0,136	0,041	0,268	0,072	0,200	-0,132	-0,096	-0,180	0,043	-0,213	-0,612 <sup>(1)</sup>	-	-	-
C23	0,679	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C24	0,532	0,011	0,331	-0,076	-0,340	0,462 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-
C25	0,109	-0,189	0,294	0,042	0,158	-0,291	0,156	-0,048	-0,092	0,079	-0,145	0,057	-0,460 <sup>(1)</sup>	-
C26	-0,054	-0,315	0,217	0,049	-0,092	-0,174	-0,104	0,208	0,007	0,024	0,526	-0,322	0,393	0,092
C27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C30	0,145	-0,047	-0,414 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C31	-0,125	-0,069	0,153	0,003	-0,141	-0,121	0,125	0,101	0,327	-0,264 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-
C32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C33	0,163	-0,650 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C34	0,003	-0,083	0,043	-0,049	0,077	0,146	0,643 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-

Quando se avalia o descarte preliminar efetuado pela seleção direta, verifica-se que a primeira variável indicada, foi C19, apresentando o maior coeficiente de ponderação em módulo com o último componente principal (-0,4585), seguido pelas variáveis C6, C12, C7, C29, cujos maiores autovetores em módulo ocorreram nos componentes principais 33, 32 31 e 30, respectivamente (Tabela 3). Nesse procedimento, 29 variáveis foram consideradas redundantes.

As variáveis de geometria, os três primeiros componentes principais conseguiram explicar 79,25% da variação relativa (Tabela 4). Foram selecionados seis variáveis relacionados a geometria, sendo G8, G14, G18, G23, G24, G25 (Tabela 5).

Tabela 4. Estimativas dos autovalores associados aos componentes principais e suas variâncias relativas e acumuladas, obtidas dos 34 caracteres de geometria avaliados em sementes de maracujazeiro azedo

CP	Autovalor	variância relativa	variância acumulada
1	15,10	44,30	44,30
2	9,78	28,69	72,99
3	2,13	6,26	79,25
4	1,83	5,36	84,61
5	1,66	4,88	89,49
6	1,13	3,33	92,82
7	0,66	1,94	94,75
8	0,54	1,57	96,32
9	0,27	0,80	97,12
10	0,26	0,77	97,89
11	0,19	0,55	98,44
12	0,11	0,32	98,76
13	0,07	0,22	98,98
14	0,06	0,16	99,14
15	0,05	0,13	99,27
16	0,04	0,12	99,39
17	0,03	0,10	99,49
18	0,03	0,08	99,57
19	0,03	0,08	99,65
20	0,02	0,06	99,71
21	0,01	0,04	99,75
22	0,01	0,04	99,79
23	0,01	0,03	99,82
24	0,01	0,02	99,84
25	0,01	0,02	99,86
26	0,01	0,02	99,87
27	0,00	0,01	99,88
28	0,00	0,00	99,88
29	0,00	0,00	99,89
30	0,00	0,00	99,89
31	0,00	0,00	99,89
32	0,00	0,01	99,89
33	0,01	0,04	99,94
34	0,02	0,06	100,00

CP: componentes principais.

Com o uso das estimativas dos coeficientes de ponderação (Tabela 5), foram descartados 28 variáveis quantitativas. Verificou-se que o primeiro caráter indicado foi G10 (0,4397), seguido pelas variáveis G21 (0,4521), G2 (0,5104), G20 (0,5538), G19 (0,7895), respectivamente. cujos maiores autovetores em módulo ocorreram nos componentes principais 33, 32 31 e 30, respectivamente (Tabela 5).

Tabela 5. Estimativas dos coeficientes de ponderação associados aos componentes principais com autovalores inferiores a 0,7 e identificação dos caracteres com indicação para descarte, em cada componente, pela seleção direta em 34 caracteres de geometria relacionada as sementes de 35 FIC de maracujazeiro azedo.

Variável	Componente principal														
	CP34	CP33	CP32	CP31	CP30	CP29	CP28	CP27	CP26	CP25	CP24	CP23	CP22	CP21	CP20
G1	-0,309	-0,037	-0,082	0,002	-0,015	0,035	0,051	-0,112	-0,132	-0,137	0,011	0,133	-0,104	0,035	0,252
G2	0,208	0,006	-0,510 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G3	0,023	-0,179	0,069	-0,033	0,016	-0,055	-0,079	0,032	0,089	-0,124	-0,016	-0,041	-0,205	0,095	0,179
G4	0,020	0,022	-0,017	0,017	0,036	-0,027	0,053	-0,057	0,073	0,146	-0,036	-0,039	-0,029	0,013	-0,028
G5	-0,187	-0,043	0,217	-0,170	0,176	0,019	0,203	-0,156	-0,095	0,412 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-
G6	0,014	0,015	-0,061	0,022	-0,047	0,016	0,006	0,049	-0,109	-0,012	-0,049	0,014	0,158	-0,172	0,144
G7	0,152	-0,340	0,317	0,070	0,104	-0,097	0,003	-0,109	-0,344	-0,284	-0,050	-0,010	-0,171	-0,229	-0,010
G8	0,281	0,216	0,042	0,070	0,018	-0,012	-0,018	0,001	0,001	0,017	-0,049	-0,042	-0,021	-0,052	-0,045
G9	-0,069	0,056	-0,038	0,015	0,018	0,077	0,003	-0,049	-0,027	0,094	-0,055	0,039	0,119	0,073	0,000
G10	0,440 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G11	0,282	-0,318	-0,071	0,082	0,056	-0,012	0,039	-0,030	-0,048	-0,150	-0,137	-0,161	0,066	0,277	-0,429
G12	-0,067	-0,081	-0,050	-0,258	-0,091	-0,054	0,032	-0,001	0,026	0,129	0,141	0,463 <sup>(1)</sup>	-	-	-
G13	-0,006	0,065	0,021	-0,018	-0,032	0,050	-0,023	-0,079	-0,055	0,001	-0,079	0,157	0,092	0,076	0,160
G14	0,121	0,012	-0,002	-0,007	-0,038	-0,023	0,108	-0,149	-0,116	-0,021	-0,063	0,054	-0,093	0,063	0,316
G15	-0,045	-0,166	-0,089	0,019	-0,121	-0,013	-0,283 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-
G16	-0,062	-0,035	-0,062	0,075	0,006	0,015	0,008	-0,032	-0,002	0,036	-0,014	0,059	0,059	-0,009	0,037
G17	0,182	0,107	0,073	0,033	-0,001	-0,060	-0,023	-0,001	-0,029	0,072	-0,090	0,119	0,123	-0,078	-0,207
G18	-0,131	-0,067	-0,019	-0,069	0,003	0,062	0,074	-0,017	-0,033	-0,090	0,040	-0,079	-0,042	0,042	0,204
G19	-0,106	0,131	0,066	0,085	0,790 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G20	0,012	0,043	-0,268	-0,554 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G21	0,209	0,452 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G22	-0,272	0,096	0,034	0,068	-0,178	-0,011	-0,123	0,044	0,010	0,001	-0,253	-0,104	-0,141	-0,016	-0,376
G23	-0,223	-0,037	-0,121	0,482	-0,056	0,082	-0,241	-0,065	0,013	0,164	-0,392	0,075	0,207	-0,188	-0,006
G24	0,111	0,365	0,130	-0,045	-0,274	-0,042	-0,127	0,279	-0,247	-0,273	0,150	0,286	0,107	0,278	-0,153
G25	0,012	-0,309	0,017	-0,194	-0,059	0,048	0,196	0,391	-0,148	0,320	-0,106	-0,321	-0,068	0,226	0,065
G26	0,024	-0,009	-0,116	0,101	-0,172	0,533	0,087	-0,470 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-
G27	-0,010	-0,055	0,189	0,153	0,009	-0,010	-0,227	0,143	-0,313	0,407	0,128	-0,079	-0,355 <sup>(1)</sup>	-	-
G28	0,006	-0,193	0,238	0,194	-0,065	-0,113	-0,245	-0,161	0,252	0,144	0,282	0,267	-0,089	0,068	0,115
G29	-0,095	-0,027	-0,268	-0,023	-0,010	0,145	0,175	-0,019	-0,501 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-
G30	-0,275	0,359	0,154	-0,186	0,015	0,022	0,128	0,170	0,030	-0,075	0,181	-0,257	-0,170	-0,378 <sup>(1)</sup>	-
G31	0,034	0,024	0,432	-0,213	-0,298	0,117	0,269	-0,133	0,334	-0,059	-0,495	-	-	-	-
G32	-0,126	0,037	-0,215	0,295	-0,035	-0,661 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G33	0,276	0,018	0,036	0,039	-0,031	-0,035	-0,017	-0,046	-0,044	-0,079	-0,033	0,020	-0,097	0,081	0,009
G34	0,003	-0,069	-0,048	0,029	-0,006	0,050	-0,080	0,051	0,028	-0,027	0,043	0,007	-0,008	0,007	-0,099

<sup>(1)</sup>variável indicado para descarte

Continua...

Tabela 5. Continuação

Variável	Componente principal												
	CP19	CP18	CP17	CP16	CP15	CP14	CP13	CP12	CP11	CP10	CP9	CP8	CP7
G1	0,113	0,179	0,294 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G3	-0,199	-0,246	0,023	-0,053	0,102	-0,053	0,624 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-
G4	0,101	0,180	-0,011	0,070	0,001	-0,008	-0,057	-0,385	-0,038	-0,011	0,514 <sup>(1)</sup>	-	-
G5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G6	-0,075	0,013	-0,114	0,192	0,193	-0,002	-0,113	0,113	-0,186	0,768 <sup>(1)</sup>	-	-	-
G7	-0,157	-0,024	0,043	-0,341	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G8	-0,064	0,006	-0,047	0,115	0,245	0,146	0,002	-0,169	-0,235	0,053	-0,300	0,194	-0,110
G9	0,069	-0,153	-0,031	-0,242	-0,166	0,342 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-
G10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G13	-0,029	-0,355 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G14	-0,064	-0,010	0,262	0,333	0,275	0,353	0,140	-0,111	-0,114	-0,060	0,111	-0,307	-0,216
G15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G16	0,069	0,098	0,079	0,052	-0,051	-0,085	0,227	-0,381	0,036	0,065	0,384	0,333 <sup>(1)</sup>	-
G17	0,073	0,113	-0,079	-0,098	0,250	0,305	-0,050	0,427 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-
G18	-0,094	-0,264	0,114	0,103	-0,189	-0,128	0,018	-0,231	-0,139	0,114	-0,376	0,042	0,124
G19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G22	-0,102	-0,134	-0,148	0,231	0,426 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-
G23	-0,276	0,099	0,293	-0,117	-0,115	-0,006	0,125	0,078	-0,224	-0,084	-0,053	-0,021	-0,010
G24	-0,122	-0,171	0,266	0,029	-0,047	-0,242	-0,040	-0,035	0,006	0,046	0,144	0,013	-0,140
G25	-0,131	0,138	0,280	-0,202	0,284	-0,057	-0,148	-0,002	0,087	0,048	-0,020	0,019	0,087
G26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G28	0,467 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G33	0,045	-0,058	0,015	-0,007	0,119	0,168	-0,096	-0,052	-0,432 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-
G34	0,009	-0,150	-0,119	-0,162	-0,095	-0,123	-0,237	0,135	-0,303	-0,071	0,359	-0,295	0,277 <sup>(1)</sup>

Nas estimativas dos autovalores associados aos componentes principais das características de textura das sementes, três componentes principais explicaram 83,62% da variabilidade observada, onde o primeiro componente foi responsável por 52,18% da variação, o segundo componente por 20,94% e o terceiro componente por 10,50% desta variação. Foram selecionados seis variáveis de textura sendo T3, T7, T11, T15, T19 e T25 ou seja, das 27 variáveis analisadas 21 (77,77%), eram redundantes (Tabela 6).

Tabela 6. Estimativas dos autovalores associados aos componentes principais e suas variâncias relativas e acumuladas, obtidas dos 27 caracteres de textura avaliados em sementes de maracujazeiro azedo

CP	Autovalor	Variância relativa	Variância acumulada
1	14,09	52,18	52,18
2	5,65	20,94	73,12
3	2,84	10,50	83,62
4	1,16	4,30	87,93
5	0,93	3,46	91,39
6	0,80	2,95	94,34
7	0,53	1,97	96,31
8	0,33	1,23	97,54
9	0,24	0,90	98,44
10	0,16	0,60	99,04
11	0,09	0,33	99,38
12	0,06	0,21	99,59
13	0,04	0,15	99,74
14	0,02	0,09	99,83
15	0,02	0,07	99,90
16	0,01	0,03	99,93
17	0,01	0,03	99,96
18	0,01	0,02	99,98
19	0,00	0,01	99,99
20	0,00	0,01	99,99
21	0,00	0,00	100,00
22	0,00	0,00	100,00
23	0,00	0,00	100,00
24	0,00	0,00	100,00
25	0,00	0,00	100,00
26	0,00	0,00	100,00
27	0,00	0,00	100,00

<sup>1</sup>CP: componentes principais.

Com o uso das estimativas dos coeficientes de ponderação (Tabela 7), foram descartados 21 variáveis quantitativas de textura. A variável T17, apresentou o maior coeficiente de ponderação em módulo com o último componente principal (-0,515), seguido pelas variáveis T20 (-0,743), T10 (-0,802), T22 (0,431), T8 (-0,440), respectivamente, cujos maiores autovetores em módulo ocorreram nos componentes principais 27, 26, 25, 24, 23, 22 respectivamente, (Tabela 7).

Em geral foram selecionadas cinco variáveis de cor, seis variáveis de geometria e seis de textura. Totalizando 17 variáveis selecionadas, representando um descarte de 82,11% em relação a total das variáveis analisadas. Essas 17 variáveis selecionadas foram utilizadas nos estudos de divergência genética entre as famílias de maracujazeiro. Sendo: cor abaixo do otsu canal vermelho (C3), cor abaixo do otsucielab a (C4), cor cielab b (C15), cor cielab dispersão de b (C18), cor matiz (C26), geometria complexidade da forma (G8), geometria diâmetro lateral (G14), geometria esfericidade de forma modificada (G18), geometria perímetro convexo (G23), geometria quociente de aspecto (G24), geometria retângulos circunscritos maior área (G25), textura haralick correlação (T3), textura haralick homogeneidade (T7), textura haralick média, textura lawsle (T11), textura lawsrw (T15), textura runlengthglnu (T19) e textura runlengthsrhge (T25).



Tabela 7. Estimativas dos coeficientes de ponderação associados aos componentes principais com autovalores inferiores a 0,7 e identificação dos caracteres com indicação para descarte, em cada componente, pela seleção direta em 27 caracteres de textura relacionada as sementes de 35 FIC de maracujazeiro azedo

Variável	Componente Principal										
	CP27	CP26	CP25	CP24	CP23	CP22	CP21	CP20	CP19	CP18	CP17
T1	0,010	0,002	-0,002	-0,004	-0,006	0,010	-0,018	0,008	-0,037	-0,024	-0,034
T2	-0,062	-0,001	0,042	-0,138	-0,134	0,204	-0,004	0,155	-0,337	0,132	-0,061
T3	0,015	0,002	0,000	-0,022	0,025	-0,008	-0,026	0,024	-0,061	0,054	-0,071
T4	0,054	-0,010	-0,017	0,222	0,280	-0,379	0,115	-0,109	0,452	-0,295	-0,097
T5	0,047	0,004	-0,017	0,036	-0,008	0,034	-0,021	-0,078	-0,037	0,022	0,022
T6	0,109	0,006	-0,067	0,095	-0,312	0,358	0,169	0,074	0,519 <sup>(1)</sup>	-	-
T7	-0,153	-0,013	0,078	-0,006	0,040	-0,222	0,255	0,224	0,353	0,198	-0,341
T8	-0,310	-0,035	0,060	-0,172	0,099	-0,440 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-
T9	-0,047	-0,006	0,000	0,017	0,092	-0,139	0,038	-0,030	-0,100	0,144	-0,098
T10	-0,136	-0,031	-0,802 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-
T11	0,003	0,001	-0,006	-0,003	0,006	-0,033	0,004	0,033	-0,058	-0,009	-0,049
T12	0,042	0,003	0,047	0,018	-0,015	-0,055	-0,061	0,051	0,032	-0,484 <sup>(1)</sup>	-
T13	-0,039	-0,005	-0,011	-0,011	-0,003	-0,004	0,000	0,026	-0,021	-0,071	0,001
T14	-0,017	-0,001	0,005	-0,027	0,043	-0,141	0,105	0,094	-0,130	-0,239	-0,034
T15	0,260	0,042	0,221	-0,146	0,080	-0,081	0,090	0,619	0,029	0,156	0,276
T16	0,356	0,048	0,362	-0,198	-0,221	-0,002	0,074	-0,622 <sup>(1)</sup>	-	-	-
T17	-0,515 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T18	-0,284	-0,011	0,221	-0,387 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-
T19	0,229	0,003	-0,226	0,343	-0,340	-0,238	0,105	0,064	-0,019	0,280	-0,081
T20	0,070	-0,743 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T21	0,087	-0,007	-0,108	0,087	-0,224	-0,084	-0,157	-0,139	0,049	-0,324	0,581 <sup>(1)</sup>
T22	0,338	0,138	-0,029	0,334	0,431 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-
T23	0,042	0,008	0,013	0,005	0,117	-0,040	-0,092	-0,005	-0,242	-0,087	0,059
T24	-0,025	-0,002	0,024	-0,024	0,039	-0,060	0,003	-0,004	0,029	0,008	0,102
T25	-0,147	0,643	-0,034	-0,132	-0,383	-0,042	-0,210	0,130	0,101	-0,151	-0,205
T26	0,215	0,045	-0,073	-0,072	0,219	-0,085	-0,550 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-
T27	-0,215	-0,044	0,073	0,061	-0,201	0,066	0,524	-0,060	-0,148	-0,199	0,032

<sup>(1)</sup>variável indicado para descarte

Continua...

Tabela 7. Continuação

Variável	Componente Principal									
	CP16	CP15	CP14	CP13	CP12	CP11	CP10	CP9	CP8	CP7
T1	-0,007	0,032	0,020	0,034	0,018	-0,014	0,002	0,119	-0,040	0,226 <sup>(1)</sup>
T2	0,136	0,504 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-
T3	0,034	0,069	0,134	-0,356	0,032	0,016	0,375	-0,061	0,231	0,120
T4	-0,247	0,163	0,018	-0,209	-0,084	-0,252 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-
T5	0,008	-0,037	0,019	-0,147	0,281	0,083	0,100	0,030	-0,510 <sup>(1)</sup>	-
T6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T7	0,251	0,420	-0,167	0,271	-0,043	0,075	-0,117	-0,191	0,108	0,163
T8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T9	-0,063	-0,404	0,007	0,652 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-
T10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T11	0,084	-0,047	-0,126	0,086	0,022	-0,116	0,109	-0,129	-0,273	-0,003
T12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T13	-0,007	-0,027	-0,104	-0,152	-0,234	0,026	-0,479 <sup>(1)</sup>	-	-	-
T14	0,513 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T15	-0,434	0,004	-0,006	-0,021	0,013	-0,001	-0,077	-0,110	-0,131	-0,029
T16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T19	0,053	-0,234	0,181	-0,114	-0,213	0,065	0,252	0,045	0,192	-0,008
T20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T23	0,087	0,272	-0,324 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-	-	-
T24	0,159	0,054	-0,227	-0,111	-0,339 <sup>(1)</sup>	-	-	-	-	-
T25	-0,106	-0,051	-0,134	0,000	0,076	0,015	0,220	-0,024	0,108	0,045
T26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T27	-0,191	-0,063	-0,026	-0,128	0,132	0,104	-0,077	-0,444 <sup>(1)</sup>	-	-

## 4.2. Marcadores moleculares

Dos 35 iniciadores ISSR utilizados, 21 foram selecionados por apresentarem quantidade, qualidade e reprodutibilidade de bandas amplificadas. Todos os 21 iniciadores apresentaram polimorfismo para os 35 genótipos estudados. Um total de 108 bandas foram produzidas (Tabela 8), das quais 63 foram polimórficas, a porcentagem de polimorfismo entre os genótipos foi de 58,33%,.

Tabela 8. Relação dos *Primers* ISSR, número de total de bandas, porcentagem de polimorfismo e amplitude de bases, para estudo da divergência genética entre as 35 FIC de maracujazeiro-azedo. Tangará da Serra, 2017.

Primers ISSR	Sequência 5'-3'	TA °C	TB	BP	% de polimorfismo	Amplitude (pb)
TriAAC3'RC	(AAC) <sub>5</sub>	52	5	5	100,00	1500-300
TriAGC3'RC	(AGC) <sub>5</sub>	54	6	5	83,33	3000-200
DiGA5'C	C(GA) <sub>8</sub>	58	11	6	54,55	1500-100
DiGA3'C	(GA) <sub>8</sub> C	54	7	3	42,86	3000-600
DiGA5'CY	CY(GA) <sub>8</sub>	52	5	3	60,00	1000-200
DiGT5'CY	CY(GT) <sub>8</sub>	56	6	3	50,00	1000-200
DiGA3'YC	(GA) <sub>8</sub> YC	48	6	5	83,33	3000-300
DiGA3'T	(GA) <sub>8</sub> T	50	7	6	85,71	3000-300
TriAAG3'RC	(AAG) <sub>5</sub>	43	4	2	50,00	1500-400
TriACA3'RC	(ACA) <sub>5</sub>	50	5	3	60,00	1500-200
TriCAA3'RC	(CAA) <sub>5</sub>	50	4	3	75,00	1000-400
PE225 (1)	(GA) <sub>6</sub> CC	50	5	3	60,00	1500-300
PE225 (2)	(GT) <sub>6</sub> CC	52	3	2	66,67	1500-600
PE225 (5)	(AG) <sub>8</sub> YT	50	4	2	50,00	1500-600
PE225(14)	(GA) <sub>8</sub> C	50	4	3	75,00	1500-300
PEG1	AG) <sub>8</sub> T	48	5	1	20,00	1500-300
PEG7	(CACA) <sub>4</sub>	48	4	1	25,00	1500-900
PEG13	(CT) <sub>8</sub> G	47	4	1	25,00	1000-600
PE225(33)	(AG) <sub>8</sub> T	52	4	1	25,00	1500-400
PE225(83)	(TC) <sub>8</sub> G	50	5	2	40,00	1000-100
PE225(84)	(TC) <sub>8</sub> RG	50	4	3	75,00	1000-600
Total			108	63		

<sup>1</sup>Temperatura de anelamento (TA), número total de bandas (TB), número de bandas polimórficas (BP).

O número total de bandas produzidas por iniciador variou de 3 a 11, com média de 5,14 bandas por iniciador. A média de bandas polimórficas por iniciador foi de aproximadamente 3 bandas. O tamanho dos fragmentos amplificados variou de 100 a 3000 pb, aproximadamente (Tabela 8). Um exemplo do padrão de banda e

polimorfismo detectado para o iniciador DiGA3'T aplicado nos genótipos de maracujazeiro azedo esta apresentado na Figura 3.

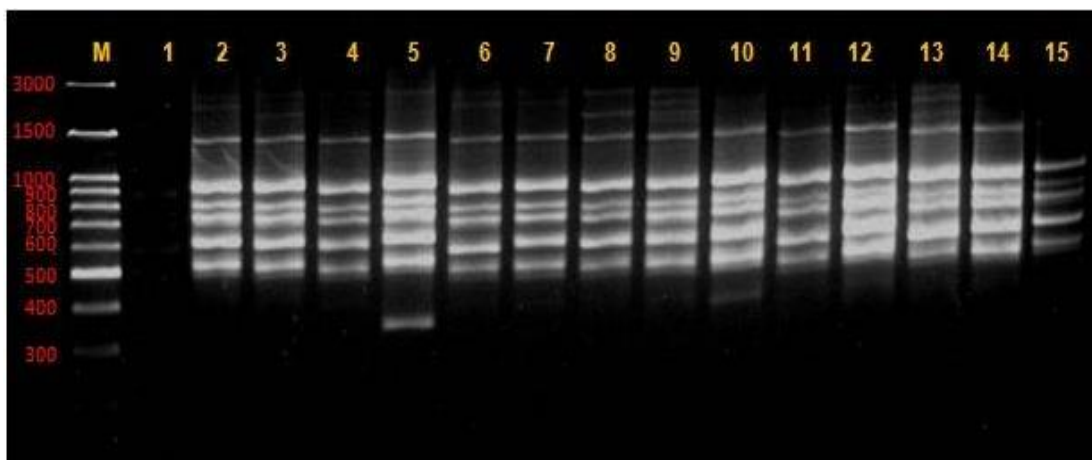


Figura 3. Padrão de amplificação de um dos iniciadores ISSR utilizados nas 35 FIC de maracujazeiro azedo obtidos em gel de agarose a 2%.

A matriz gerada obteve o seguinte coeficiente de correlação cofenética : Jaccard 0,83. Com base na matriz de distância de Jaccard, gerou-se o dendrograma (Figura 4). Fazendo-se um corte vertical a uma distância de ligação de 0,09 no agrupamento hierárquico dos acessos com base nas características avaliadas, observa-se que houve a formação de quatro grupos. O grupo um foi formado pela FIC 23, o segundo agrupou apenas a FIC11, o terceiro a FIC 16 e o quarto grupo reuniram, as FIC 33, 31, 1, 27, 26, 14, 29, 9, 3, 4, 32, 25, 22, 15, 34, 18,17, 21, 19, 8, 5, 12, 7, 24, 26, 30, 10, 2, 6, 13, 35, 20 respectivamente.

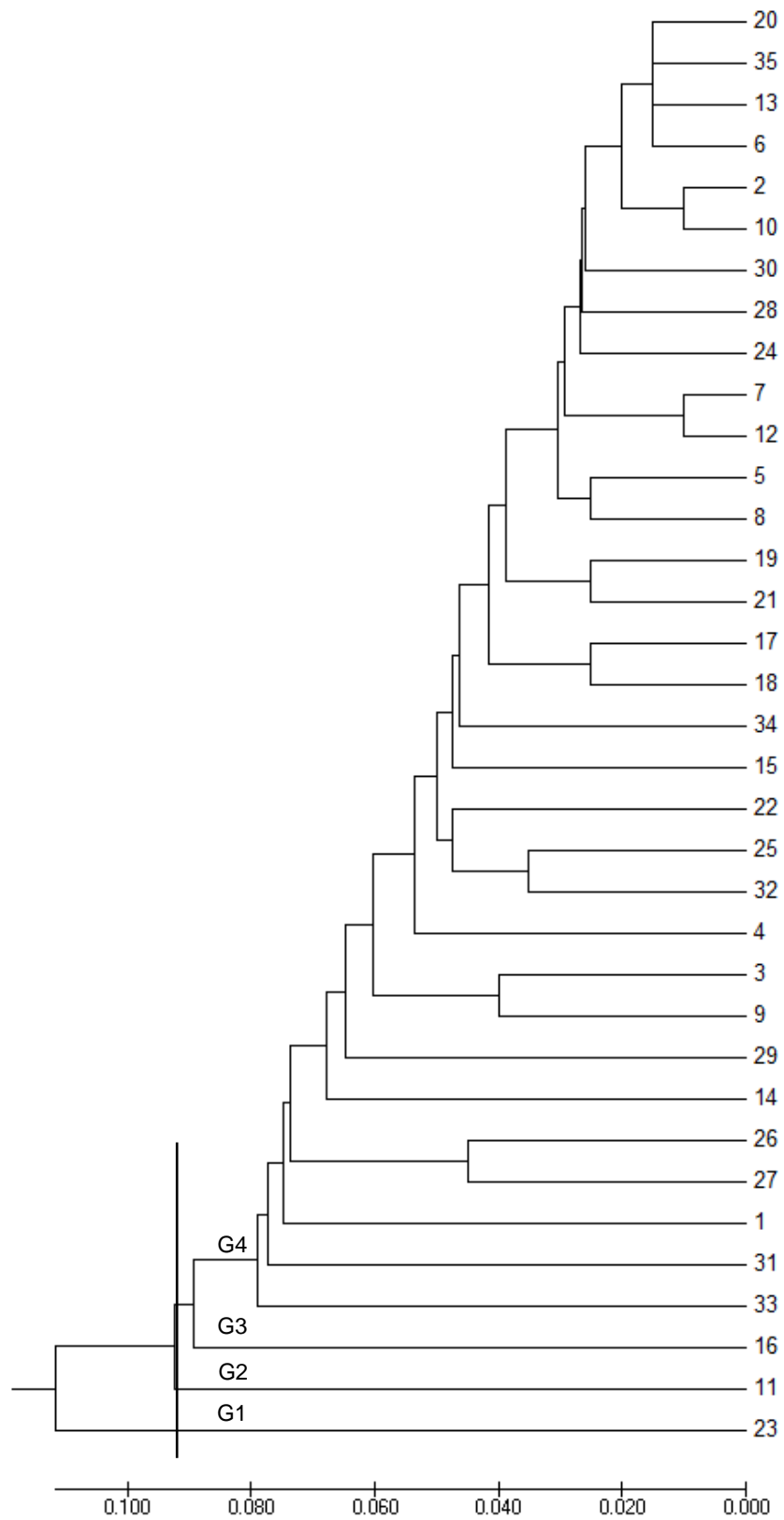


Figura 4. Dendrograma gerado pelo método UPGMA, utilizando 63 locos ISSR em 35 FIC.

### **4.3. Divergência genética utilizando descritores morfológicos**

Das 23 variáveis qualitativas analisadas houve polimorfismo somente para 13 variáveis. Pelo procedimento da função da verossimilhança foi determinado como quatro o número ideal de grupos. Este número ideal foi verificado onde ocorreu maior incremento na função logarítmica, sendo verificado o maior valor absoluto no quarto grupo. A estratégia de classificação Ward-MLM para análise de dados morfoagronômicos permitiu a constituição dos 4 grupos: grupo I com 5 FICs, II com 12 FICs, grupo III com 8 FICs e grupo IV com 10 FICs.

Considerando as características qualitativas avaliadas presentes no limbo foliar (Tabela 9) pode-se observar, para a variável profundidade dos sinus, predomínio da profundidade tipo média com 62,86%, tipo profundo 31,43% e apenas 5,71% para a profundidade tipo rasa nos genótipos avaliados. Para essa variável o grupo IV apresentou o maior número de FIC com a profundidade média. Para a variável comprimento da bráctea 82,5% dos genótipos apresentaram comprimento médio, seguido de 14,29% de brácteas longas e 2,86% de brácteas consideradas curtas. Em relação ao comprimento sépala 71,43% das FICs apresentam sépalas de comprimento médio, 20% comprimento curto e em 8,57% o comprimento foi considerado longo sendo o grupo II e IV com o maior número de FICs com a flor de comprimento médio. Para os genótipos avaliados 60% apresentaram largura de sépala estreito e 40% largura de sépala médio, o grupo II é formado por FICs com largura de sépala média e larga. Dentre os genótipos avaliados 51,43% das flores possuíam o diâmetro da corona médio e 48,57 % diâmetro da corona pequeno, o grupo II apresentou FICs com diâmetro da corona médio e pequeno.

Em relação ao diâmetro longitudinal do fruto 94,29% dos genótipos foram considerados curtos e 5,71% dos genótipos possuía diâmetro longitudinal médio. Para a variável diâmetro transversal 80,0% dos genótipos apresentaram diâmetro pequeno e 20,0% diâmetro transversal médio, o grupo II (10 FIC) e IV (10 FIC) apresentaram o maior número de FICs com o diâmetro longitudinal curto. Para a variável relação diâmetro longitudinal e transversal 80% do genótipos apresentaram relação média e 20% relação grande. Em relação a forma do fruto a forma oval foi a predominante com cerca de 48,57 % dos genótipos, seguido da forma arredonda com cerca de 42,86%.

Tabela 9. Classes fenotípicas dos descritores morfológicos qualitativos das FIC de maracujazeiro por grupo formados pela estratégia Ward-MLM

Descritores	Classificação	Grupos				Total (%)
		I (5)	II (12)	III (8)	IV (10)	
Limbo Foliar: profundidade dos sinus	Raso (3)	1	-	-	1	5,71
	Médio (5)	2	7	4	9	62,86
	Profundo (7)	2	5	4	-	31,43
Flor: comprimento da bráctea	Curto (3)	-	1	-	-	2,86
	Médio (5)	4	9	8	8	82,86
	Longo (7)	1	2	-	2	14,29
Flor: comprimento da sépala	Curto (3)	2	2	2	1	20,00
	Médio (5)	3	9	5	8	71,43
	Longo (7)	-	1	1	1	8,57
Flor: largura da sépala	Estreita (3)	5	6	5	5	60,00
	Média (5)	-	6	3	5	40,00
	Larga (7)	-	-	-	-	0,00
Flor: diâmetro da coroa	Pequeno (3)	4	5	5	3	48,57
	Médio (5)	1	7	3	7	51,43
	Grande (7)	-	-	-	-	0,00
Fruto: diâmetro longitudinal	Curto (3)	5	10	8	10	94,29
	Médio (5)	-	2	-	-	5,71
	Longo (7)	-	-	-	-	0,00
Fruto: diâmetro transversal	Pequeno (3)	4	10	5	9	80,00
	Médio (5)	1	2	3	1	20,00
	Grande (7)	-	-	-	-	0,00
Fruto: relação diâmetro longitudinal/ diâmetro transversal	Muito pequeno (1)	-	-	-	-	0,00
	Pequeno (3)	-	-	-	-	0,00
	Médio (5)	4	9	7	8	80,00
	Grande (7)	1	3	1	2	20,00
	Muito grande (9)	-	-	-	-	0,00
Fruto: forma	Oval (1)	-	7	6	4	48,57
	Obloga (2)	1	1	-	-	5,71
	Arredondada (3)	4	4	2	5	42,86
	Oblata (4)	-	-	-	-	0,00
	Elipsóide (5)	-	-	-	1	2,86
	Oboval (6)	-	-	-	-	0,00
Fruto: coloração da casca (epiderme)	Amarela (1)	1	9	5	6	60,00
	Vermelho (2)	4	3	3	4	40,00
	Roxa (3)	-	-	-	-	0,00
Fruto: espessura da casca	Fina (3)	1	3	1	3	22,86
	Média (5)	4	9	7	7	77,14
	Espessa (7)	-	-	-	-	0,00
Fruto: coloração da polpa	Amarela-esverdeada (1)	-	-	-	-	0,00
	Amarela (2)	1	2	3	4	28,57
	Alaranjada (3)	4	10	5	6	71,43
	Alaranjada – escura (4)	-	-	-	-	0,00
Fruto: teor de sólidos solúveis	Baixo (3)	1	-	-	-	2,86
	Médio (5)	4	10	7	8	82,86
	Alto (7)	-	2	1	2	14,29

A forma menos representativa entre os genótipos foi a forma elipsoide com apenas 2,86% dos genótipos. Os descritores quantitativos que mais contribuíram para quantificar a diversidade genética existente entre as FIC ou seja, que apresentaram as maiores correlações com a primeira variável canônica foram coloração da polpa, (0,468), formato do fruto, (0,446), e a variável C 18, (-0,410) (Tabela 10).

Tabela 10. Variáveis canônicas (VC1 e VC2) com base em 30 descritores quantitativos e 13 qualitativos em 35 famílias de Irmão completo de maracujazeiro azedo

Descritores	VC1	VC 2
DFL	-0,123	0,065
NF	-0,017	-0,262
PROD	-0,044	-0,083
MF	0,274	0,588
CF	0,367	0,250
DF	0,051	0,508
FF	0,446	-0,007
EC	0,329	0,519
PP	-0,234	-0,146
CP	0,468	0,277
SST	-0,307	0,416
ATT	-0,057	0,274
Ratio	-0,187	0,056
C3	-0,361	0,228
C4	-0,126	0,307
C15	-0,276	0,139
C18	-0,410	0,195
C26	0,171	-0,141
G8	0,164	-0,304
G14	0,100	0,310
G18	-0,320	-0,039
G23	0,241	0,142
G24	0,265	0,198
G25	0,166	0,265
T3	0,276	0,108
T7	0,266	0,026
T11	-0,070	0,377
T15	-0,076	0,187
T19	0,210	0,092
T25	-0,351	0,046

Dias para florescimento (DFL), Numero de Frutos (NF), Produtividade (PROD), Massa de fruto (MF), comprimento do fruto (CF), diâmetro de fruto (DF), formato de fruto (FF), espessura de casca (EC), porcentagem de polpa (PP), teor de sólidos solúvel (SS), acidez total titulável (ATT), cor abaixo do otsu canal vermelho (C3), cor abaixo do otsucielab a (C4), cor cielab b (C15), cor cielab dispersão de b (C18), cor matiz (C26), geometria complexidade da forma (G8), geometria diâmetro lateral (G14), geometria esfericidade de forma modificada (G18), geometria perímetro convexo (G23), geometria quociente de aspecto (G24), geometria retângulos circunscritos maior área (G25), textura haralick correlação (T3), textura haralick homogeneidade (T7), textura haralick média, textura lawsle (T11), textura lawsrw (T15),textura runlengthglu (T19) e textura runlengthsrhge (T25).



Em relação a divergência genética utilizando descritores morfológicos, dos genótipos analisados, 60% apresentaram coloração amarela e 40% coloração vermelha. Em relação a espessura da casca do fruto 71,43% dos genótipos obtiveram espessura de casca média e 22,86% dos genótipos a espessura da casca foi considerada fina. Para o descritor coloração da polpa 71,43% dos genótipos apresentaram coloração alaranjada e 28,57% coloração amarela. Para a variável teor de sólidos solúveis, 82,86% dos genótipos apresentaram teor de sólidos solúveis considerado médio, 14,29 teor de sólidos solúveis alto e 2,86% teor de sólidos solúveis baixo.

Em relação a característica DFL o grupo III apresentou o maior número de dias (141,99), seguido do grupo IV (134,76) e II (130,13) e grupo I 123,80 . No entanto, dentro dos quatros grupos os valores observado pelo desvio padrão variaram de 12,60 a 20,24 (Tabela 11).

O grupo I destacou-se dos demais por apresentar o maior rendimento de número de frutos (75837,03) e a maior produtividade (11710,98) entre os grupos, sendo estes valores os maiores para esse descritor. Para massa de frutos também obteve variação dentro dos grupos, sendo que o grupo IV apresentou o maior valor (199,99g) seguido do grupo II com (197,27g) (Tabela 11).

O grupo IV apresentou o maior comprimento de fruto (94,07mm) e diâmetro de (78,28mm) de fruto. Para o descritor formato de fruto os valores foram próximos entre os grupos, onde a média foi de 1,16 entre os grupos (Tabela 11).

O grupo I obteve a média mais baixa em relação ao descritor espessura de casca (5,79mm), o grupo II, III e IV obteve valores próximas entre eles para este descritor, com média entre os grupos de (6,40mm), (Tabela 11).

No entanto o rendimento da polpa do fruto apresentou médias semelhantes entre os grupos, com valores de 44,62%, 43,56% e 42,59% e 39,81% para os grupos I, II, III e IV, respectivamente. Todos os grupos tiveram médias próximas entre eles para os descritores coloração da polpa, com valores médios de (4,88), para o descritor SST com média de (12,03), ATT com valores médios de (3,49) e ratio com a média de (3,49), (Tabela 11).

Para os descritores relacionados a sementes os grupos I, II, III e IV tiveram valores semelhantes para as características relacionadas a cor, geometria e textura, com média entre os grupos para o descritor C3 de 48,67, para o descritor C4 média

de 4,90, C15 (4,43), C18 (2,40) e C26 (75,18). Em relação a geometria os descritores G8, G14, G15, G18, G23, G24 e G25, obtiveram as seguintes médias respectivamente: (0,93), (15,77), (97,84), (0,27), (0,29) e (0,62). Para os descritores de texturas: T3, T15, T19 e T25 os grupos (I, II, III e IV), obtiveram resultados semelhantes com valores médios entre grupos de (0,93), (0,29), (157752,8), (2007,75) e (2838,25) respectivamente, para o descritor T11, o grupo I teve a maior média (-141183,01±105654,4) e o grupo III a menor média 9421,83±88141,76, a média entre os grupos foi de (-19265,4) (Tabela 11).

Tabela 11. Médias e desvio padrão das variáveis para cada um dos quatro grupos formados pela estratégia Ward-MLM em 35 famílias de irmãos completos de maracujazeiro azedo.

Descritores	Grupos				Media	Desvio
	I (5)	II (12)	III (8)	IV(10)		
DFL	123,80±13,03	130,13±19,86	141,99±12,60	134,76±20,24	133,26	17,82
NF	75837,03±24963,4	62534,39±13419,85	63160,05±18559,73	59565,08±17191,06	63729,4	17805,97
PROD	11710,98±38,90,98	11075,15±2481,91	10468,78±3482,80	10149,90±2656,26	10763,03	2947,75
MF	165,68±14,01	193,27±9,37	175,84±13,47	199,02±22,43	186,98	19,63
CF	87,85±4,52	89,97±6,00	87,67±4,87	94,07±5,32	90,320	5,68
DF	75,48±2,68	78,02±2,37	76,70±1,34	78,28±2,56	77,776	2,47
FF	1,16±0,02	1,13±0,06	1,14±0,05	1,20±0,06	1,16	0,06
EC	5,79±0,19	6,46±0,47	6,16±0,45	6,83±0,52	6,40	0,57
PP	44,62±4,49	43,56±4,28	42,59±2,07	39,81±5,86	42,42	4,62
CP	4,94± 0,15	5,02±0,24	4,49±0,31	5,011±0,18	4,88	0,31
SST	11,34± 0,45	12,64±1,15	11,98±0,46	11,69±0,46	12,03	0,85
ATT	3,30± 0,24	3,56±0,36	3,49±0,16	3,51±0,33	3,49	0,29
Ratio	3,42± 0,41	3,61±0,52	3,48±0,22	3,35±0,29	3,49	0,40
C3	47,00± 2,89	50,61±3,34	49,13±4,70	46,8±2,34	48,67	3,60
C4	4,52± 0,44	5,16±0,44	4,84±0,92	4,83±0,63	4,90	0,65
C15	3,99± 1,37	4,84±0,73	4,67±1,95	3,96±1,08	4,43	1,30
C18	2,23± 0,15	2,42±0,13	2,55±0,26	2,36±0,11	2,40	0,19
C26	76,81± 21,21	62,90±12,38	80,36±36,94	84,96±27,60	75,18	26,21
G8	0,94±0	0,93±0,01	0,93±0,01	0,93±0,00	0,93	0,0038
G14	15,55±0,259	15,79±0,34	15,74±0,11	15,88±0,35	15,77	0,30
G18	95,57±14,2626	100,30±22,21	107,78±29,02	88,09±20,76	97,84	22,99
G23	0,27±0,0084	0,27±0,02	0,27±0,02	0,28±0,02	0,27	0,02
G24	0,28±0,011	0,28±0,02	0,28±0,02	0,30±0,03	0,29	0,02
G25	0,61±0,0055	0,62±0,02	0,61±0,04	0,63±0,03	0,62	0,03
T3	0,93±0,0055	0,93±0,01	0,92±0,01	0,93±0,01	0,93	0,01
T7	0,29±0,0152	0,29±0,02	0,28±0,02	0,30±0,02	0,29	0,02
T11	-141183,01±105654,4	-12320,17±99112,86	9421,83±88141,76	10409,22±103977,45	-19265,4	106455,77
T15	155702,65±4902,53	161642,40±9248,80	155362,11±13511,6	156022,95±10143,8	157752,8	10211,44
19	1929,67±158,3236	1950,11±266,10	2006,93±104,72	2116,61±235,98	2007,75	208,64
T25	2832,01±232,45	2974,66±416,58	2880,61±258,75	2643,81±159,79	2838,25	309,02

Dias para florescimento (DFL), Numero de Frutos (NF), Produtividade (PROD), Massa de fruto (MF), comprimento do fruto (CF), diâmetro de fruto (DF), formato de fruto (FF), espessura de casca (EC), porcentagem de polpa (PP), teor de sólidos solúvel (SS), acidez total titulável (ATT), cor abaixo do otsu canal vermelho (C3), cor abaixo do otsucielab a (C4), cor cielab b (C15), cor cielab dispersão de b (C18), cor matiz (C26), geometria complexidade da forma (G8), geometria diâmetro lateral (G14), geometria esfericidade de forma modificada (G18), geometria perímetro convexo (G23), geometria quociente de aspecto (G24), geometria retângulos circunscritos maior área (G25), textura haralick correlação (T3), textura haralick homogeneidade (T7), textura haralick média, textura lawsle (T11), textura lawsrw (T15), textura runlenghtglnu (T19) e textura runlenghtsrhg (T25).

As maiores distâncias foram observadas pelos grupos III e IV (408,98) e I e III (305,28) contendo os genótipos mais divergentes (Tabela 12). O grupo II e III possui os genótipos geneticamente mais semelhantes.

Tabela 12. Distância entre os grupos formados pela estratégia Ward-MLM com base em 30 descritores quantitativos, 13 qualitativos em 35 genótipos de famílias irmão completo de maracujazeiro

Grupos	I (5)	II (12)	III (8)	IV (10)
I	0	232,27	305,28	204,64
II	-	0	131,27	228
III	-	-	0	408,98
IV	-	-	-	0

Na análise baseada nas variáveis canônicas (VC) foi verificado que as duas primeiras variáveis foram responsáveis por 80,39%, sendo VC1 responsável por 64,27% e VC2 por 21,98% (Figura 5). Logo, um gráfico bidimensional capitaliza uma boa proporção da variabilidade total responsável pela variação total. Pela análise gráfica das VC, percebe-se um distanciamento do grupo III em relação aos demais grupos formados pelo procedimento Ward-MLM e a aproximação dos grupos II e III.

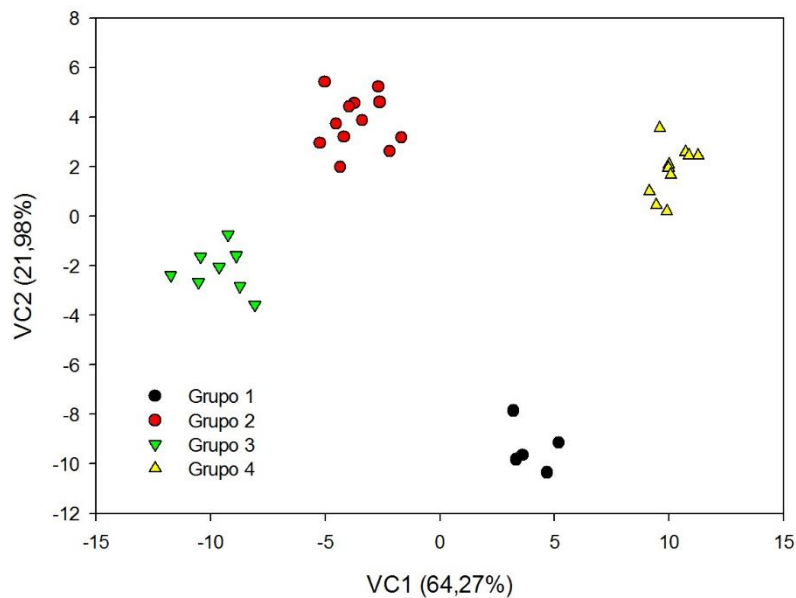


Figura 5. Dispersão das duas primeiras variáveis canônicas (VC1 e VC2) representando a formação de quatro grupos pela estratégia Ward-MLM, com base em 30 descritores quantitativos e 13 qualitativos em 35 famílias de Irmão completo de maracujazeiro azedo.

#### 4.4. Divergência genética utilizando descritores morfológicos e moleculares simultaneamente

Na Tabela 13 e na Figura 6 estão apresentados os dados morfológicos e moleculares analisados simultaneamente referente às 35 FIC. Foram formados quatro grupos, onde o grupo I foi constituído por 19 FICs (1, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 14, 16, 19, 21, 26, 27, 29, 31, 32, 33 e 35), o grupo II por nove FICs (12, 15, 17, 18, 20, 24, 25, 28 e 34), o grupo III por cinco FIC (2, 5, 7, 23 e 30) e o grupo IV por duas FIC (13 e 22) (Tabela 13). Pela análise gráfica das VCs, percebe-se um distanciamento do grupo IV com os demais grupos formados pela metodologia Ward-MLM, os grupos IV

e I foi o mais distante (4220,00), grupo IV e II (1376,00), grupo IV e III (1295,00) e a aproximação dos grupos II e III (267,99) (Tabela 13).

Tabela 13. Distância entre os grupos formados pela estratégia Ward-MLM com base em 30 descritores quantitativos, 13 qualitativos 63 binário em 35 genótipos de famílias irmão completo de maracujazeiro

Grupos	I (19)	II (9)	III (5)	IV (2)
I	0	1352,00	931,76	4220,00
II	-	0	267,99	1376,00
III	-	-	0	1295,00
IV	-	-	-	0

Na análise baseada nas variáveis canônicas (VC), foi verificado que apenas a primeira variável canônica foi responsável por 90,06%, sendo VC1 a maior responsável para a explicação dos dados e VC2 responsável por 8,97%. Logo, um gráfico bidimensional teve capacidade de uma boa proporção da variabilidade total (Figura 6).

Houve uma separação de quatro grupos de acordo com o gráfico de dispersão (Figura 6), semelhante ao ocorrido na divergência genética apenas com as variáveis morfoagronômica (Figura 5), porém, observa-se que o número de FIC que formam cada grupo se diferenciou dos grupos formados nas análises utilizando variáveis morfoagronômicos. Quanto aos genótipos divergentes, destacaram-se no grupo I as FIC (2, 5, 7, 19, 33 e 35), no grupo II as FIC (6, 15, 26, 27, 28 e 29), no grupo III as FIC (1, 4, 10, 14 e 25) e no grupo IV as FIC (11 e 23).

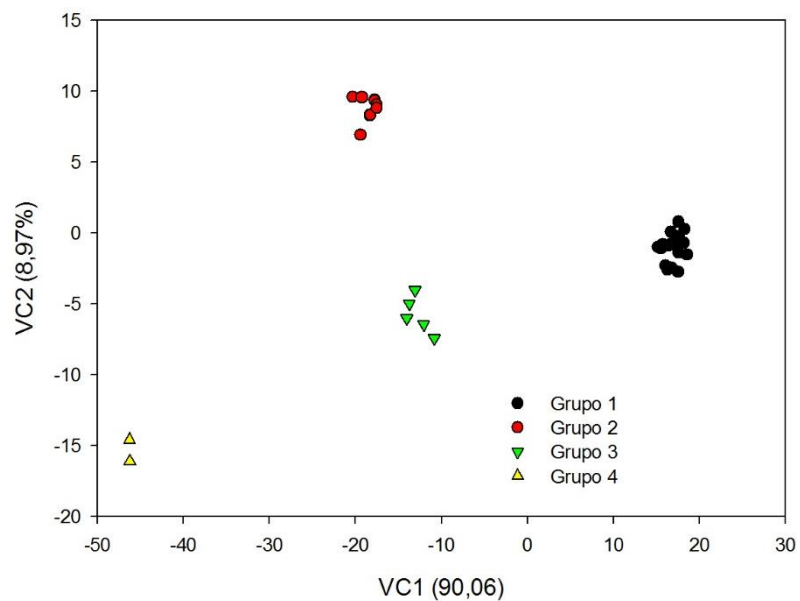


Figura 6. Dispersão das duas primeiras variáveis canônicas (VC1 e VC2) representando a formação de quatro grupos pela estratégia Ward-MLM, com base em 30 descritores quantitativos e 13 qualitativos e 63 moleculares em 35 famílias de Irmãos completos de maracujazeiro azedo.

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Seleção de variáveis de sementes via análise digital de imagem

A distribuição da variância associada ao número de variáveis está concentrada nos três primeiros componentes principais, tanto para o grupo de variáveis de cor, geometria e textura de sementes de maracujazeiro azedo para explicar pelo menos 80% da variação total, sendo a representação gráfica tridimensional como mais adequada (Cruz et al., 2012). Em estudos, Lucio et al. (2013), utilizaram a análise de componentes principais para identificar os caracteres que mais merecem atenção em experimentos com a cultura do maracujazeiro azedo e verificou suas relações com o caractere dependente principal com a produção total de frutos.

A análise de componentes principais foi utilizada por Medina et al. (2010), para a análise de um conjunto de 38 variáveis de sementes compostas por oito variáveis geométricas, 20 variáveis morfológicas, quatro variáveis fractais e seis de cor obtidas de 25 variedades de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). O primeiro componente principal (CP1) explicou 47,7% da variação total, o segundo mais o primeiro 65,8% e usando o somatório dos três primeiros componentes foi possível explicar 75,7%, sendo, portanto, necessária uma representação gráfica tridimensional como mais adequada.

Kara et al. (2013), utilizaram as propriedades de tamanho e forma de sementes que foram determinadas usando o método de processamento de imagem em fotografia digital para agrupar 12 variedades de feijão na Turquia. Os autores também verificaram que os dois primeiros componentes explicaram 96,1% da variação total, com a formação de quatro grupos.

De acordo com Pinto et al. (2010), é possível a eliminação de descritores sem perda de informação, pois os mesmos podem estar correlacionados a outros que permaneceram na análise. Dessa forma, as seis variáveis selecionadas de cor, seis de geometria e cinco de textura das sementes, que nunca foram mensuradas antes ou somente em situações específicas podem ser medidas com maior frequência e são capazes de contribuir para o estudo de divergência genética.

Estas variáveis são úteis como descritores adicionais na avaliação da variabilidade genética entre as FIC no maracujazeiro azedo, pois além de serem precisas é possível analisar um número alto de variáveis por vez, economizando

tempo e também com menos gastos. Verona et al. (2007) concluíram que o uso de análise de imagens é um método rápido, gastando menos de um minuto para digitalização e medição. É também uma técnica muito fácil de reproduzir, é confiável e não destrutiva.

Na Turquia, foram utilizadas sementes para discriminar oito variedades de pimenta. Para isso realizaram a aquisição de imagem digital usando um scanner de escritório em uma resolução de 1200 dpi e determinaram as características de cor, forma e textura das sementes de pimenta (Kurtulmus et al., 2016). Os autores verificaram que das 257 características das sementes obtidas via análise digital de imagens, foi necessário somente 10 para a classificação das variedades de pimenta com alta acurácia. Assim das 136 variáveis analisadas apenas 17 contribuíram para discriminar e estimar a divergência entre as FIC.

## **5.2. Divergência genética a partir de descritores moleculares ISSR**

Em estudo Colombo et al.(1998), verificaram que utilizando entre 7 e 30 *primers* é possível gerar de 50 a 200 bandas polimórficas sendo esse número de bandas suficientes para estimar relações genéticas dentro e entre as espécies. Neste trabalho os 21 iniciadores utilizando e as 63 bandas polimórficas identificadas foram suficientes para estimar a variabilidade genética entre as 35 FIC estudadas e seus resultados corroboram com outros como o de Santos et al. (2011), estudando a variação genética entre acessos de *Passiflora* utilizaram descritores (ISSR), e verificaram que 18 *primers* foram suficientes para avaliar os 45 acessos de *Passiflora*.

O valor da correlação cofenética encontrado neste estudo foi satisfatório, visto que valores superiores a 0,56 refletem boa concordância entre as matrizes (Vaz Patto et al., 2004). De acordo com Cruz e Carneiro (2012), quanto maior o valor de CCC, menor será a distorção provocada ao agrupar os indivíduos, o que normalmente é obtido pelo método da ligação média (UPGMA).

A análise de agrupamento UPGMA (Figura 4) formou cinco grupos, porem foi observado um número alto de FIC no grupo IV, e um número pequeno nos outros grupos, o que infere uma baixa diversidade genética e alta uniformidade das genótipos estudados para os caracteres moleculares em análise. Descritores qualitativos geralmente são pouco discriminantes e sofrem influência do ambiente, o que ressalta



a importância de se utilizar descritores quantitativos e moleculares, de forma a complementar as informações (Wahyuni et al., 2013).

### **5.3. Divergência genética utilizando descritores morfoagronômicos**

De acordo com Gonçalves et al. (2009) a análise da função de verossimilhança pode definir critérios mais precisos na formação de grupos, resultando na determinação de grupos menos subjetivos. Paiva et al. (2014) trabalhando com genótipos de *Passiflora*, verificaram a formação de cinco grupos no entanto, o número de grupos pode variar de acordo com a espécie, número de acessos e o número e tipo de descritores (Gonçalves et al., 2009). Neste trabalho foram observados a formação de quatro grupos, sendo esses descritores úteis para a caracterização morfoagronômica e na determinação do número ideal de grupos.

O emprego de descritores morfológicos possibilita conhecer os genótipos e permite estimar a variabilidade genética, sendo esta uma etapa fundamental em programas de melhoramento de plantas.

Entre os dados qualitativos (Tabela 9), destaca-se o diâmetro da coroa da flor do maracujazeiro azedo. Quanto maior for o diâmetro coroa mais atrativa será para os polinizadores, as FIC analisadas apresentam coroa bem desenvolvidas sendo o grupo II e grupo IV os que se mais destacaram-se, ambos com sete FICs. De acordo com Varassin et al. (2001) a coroa tem o papel de atrair os polinizadores, no maracujazeiro-azedo, a coroa possui longos filamentos, e a cor púrpura contrasta com as demais partes florais, que funcionam como uma plataforma de pouso e um atrativo visual para os polinizadores.

A variável dias para florescimento é uma característica de grande importância para o maracujazeiro azedo. O grupo I formado por 5 FICs obteve os menores dias para florescimento, o maracujazeiro é uma planta que floresce e frutifica em vários meses do ano. De acordo com Souza et al. (2012) estudos sobre a fenologia do maracujazeiro azedo são importantes, pois esses poderão auxiliar na adoção de práticas culturais eficientes, visando, por exemplo, ao aumento da produtividade.

Em relação aos descritores quantitativos avaliados no fruto, destaca-se a variável número de frutos e produtividade pelo seu alto rendimento. A produtividade média anual foi considerada alta, sendo grupo o I o que mais se destacou entre os grupos, podendo essas FICs analisadas indicadas para futura seleção e

recombinação entre as famílias, pois essa característica é de suma importância para o programa de melhoramento do maracujazeiro. Ferreira et al. (2016), avaliando a qualidade do fruto e a produtividade de cultivares de maracujá em diferentes épocas de colheitas, com intuito de identificar as cultivares mais adaptadas às condições edafoclimáticas do estado de Mato Grosso, obteve média para produtividade para a cultivar IAC 275 (8.199 kg ha<sup>-1</sup>) e para a cultivar IAC 277 (7.752 kg ha<sup>-1</sup>).

Para a variável massa de fruto, o grupo IV e III se destacam por apresentar os padrões de um fruto de qualidade consequentemente os mais atrativos comercialmente. A massa do fruto é, geralmente, proporcional ao número de sementes viáveis e, no maracujá, ao rendimento de suco, uma vez que cada semente está envolta por um arilo (Fortaleza et al., 2005). Segundo Freitas et al. (2011), frutos com massa média acima de 180 g apresentam ótimo valor comercial para consumo *in natura*.

Para a variável espessura de casca destacaram-se as FICs do grupo I e posteriormente o grupo II essa característica está relacionada com percentagem de polpa em relação à massa do fruto. Observa-se que as FIC avaliadas tiveram espessura de casca fina e um alto rendimento de polpa, o rendimento de polpa é importante para a comercialização de indústrias. Isso demonstra que os frutos das FIC analisadas são promissoras tanto para a industrialização como para o consumo *in natura*. Aguiar et al. (2015), encontram resultados semelhantes ao encontrado neste trabalho e observaram que o rendimento de polpa nos genótipos avaliados variaram entre 28,4% a 40,1%.

Normalmente, quanto maior o valor do ratio, mais agradável ao paladar é o suco ou polpa de fruta, uma vez que o teor de sólidos solúveis totais é alto e/ou acidez baixa. As FICs do grupo II obteve os maiores valores de ratio, esses valores encontrados foram superiores ao de Greco et al. (2014), que obteve valores de ratio variando de 2,12 a 3,02 avaliando as características físico-químicas de 32 genótipos de maracujazeiro azedo resistente a patógenos cultivados no Distrito Federal, sendo esses valores considerados baixos.

Quando observado o gráfico de dispersão das duas primeiras variáveis canônicas pela estratégia Ward-MLM utilizando descritores morfológicos qualitativos e quantitativos, observa-se que as duas variáveis canônicas explicam a variação encontrada dentro dos grupos, isso também acontece com a utilização dos

descritores morfológicos e moleculares simultaneamente. Conforme Cruz et al. (2012), as duas primeiras variáveis canônicas permitam estimativas acima de 80% da variação total, assim pode-se obter uma interpretação satisfatória da variabilidade entre as famílias, tal como ocorreu neste estudo, sendo possível a representação gráfica bidimensional como foi realizada e apresentada nas Figuras (5 e 6).

Trabalhos semelhantes foram abordados por Paiva et al. (2014) utilizando descritores morfológicos qualitativos e quantitativos simultaneamente através do procedimento Ward-MLM (*Modified Location Model*) para quantificar a diversidade genética existente entre onze espécies do gênero *Passiflora* e verificou que as duas primeiras variáveis canônicas obtidas pelo método Ward-MLM explicaram 91,16% da variação total. Silva et al. (2014) analisaram a diversidade genética entre progênies de maracujazeiro azedo com o objetivo de selecionar grupos com variabilidade para a continuação do programa de seleção recorrente da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) e obteve resultado satisfatório e semelhante ao observado neste trabalho onde as duas primeiras variáveis canônicas explicaram cerca de 89,75% da variação entre os grupos.

#### **5.4. Divergência genética utilizando descritores morfoagronômicos e moleculares simultaneamente**

Na análise Ward-MLM utilizando descritores morfoagronômicos e moleculares simultaneamente, observou-se a formação de quatro grupos (Tabela 13 e Figura 6), determinando que há variabilidade entre as FIC selecionadas.

No entanto, dentro de cada grupo as FIC são mais próximas geneticamente. Dessa forma, foi possível descartar no total 15 FIC. Foram descartadas doze famílias no grupo I e também três famílias do grupo II. No grupo I as FIC descartadas foram: (FIC 3, 4, 6, 8, 9, 10, 19, 21, 26, 27, 32 e 35) e no grupo II foram descartadas as (FIC 12, 17, e 28). Essas FIC foram descartadas por apresentarem as menores distâncias genéticas, como ocorreu entre as FIC 19 e 21 (0,36) do grupo I e as FIC 20 e 12 (0,30) do grupo II. Assim, foram selecionadas as 20 FIC (1, 2, 5, 7, 11, 13, 14, 15, 16, 18, 20, 22, 23, 24, 25, 29, 30, 31, 33 e 34), dos quatro grupos utilizando variáveis morfoagronômicas e moleculares simultaneamente para a recombinação, permitindo assim que haja variabilidade na nova população de maracujazeiro azedo.

A manutenção da diversidade genética, ao longo das gerações de seleção recorrente intrapopulacional, permite ganhos nas gerações seguintes para as principais características sob seleção, tais como produtividade, número de frutos por planta, massa de frutos, comprimento de frutos, largura de frutos e espessura de casca (Silva et al., 2009).

## **6. CONCLUSÕES**

As 17 variáveis de sementes obtidas via análise digital de imagens são úteis como variáveis adicionais na avaliação da variabilidade genética entre famílias de irmãos completo no maracujazeiro azedo.

A estratégia Ward-MLM foi eficiente na detecção da divergência entre as famílias de irmãos completos de maracujazeiro azedo utilizando variáveis obtidas por meio de análise digital de imagens de sementes, variáveis morfoagronômicas e moleculares simultaneamente.

Foram selecionadas 20 famílias de irmãos completo para a etapa de recombinação da seleção recorrente intrapopulacional com base na análise conjunta, permitindo a manutenção da variabilidade genética na nova população de maracujazeiro azedo e, conseqüentemente, ganhos nas gerações seguintes para as principais características sob seleção.

## 7. REFERÊNCIAS

- A.O. A. C. - ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 14.ed. Washington DC., 1990. 1141p.
- AGUIAR, R. S.; ZACCHEO, P. V. C.; STENZEL, N. M. C.; SERA, T.; NEVES, C. S. V. Produção e qualidade de frutos híbridos de maracujazeiro-amarelo no norte do paraná. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 37: 130-137, 2015.
- ALVARENGA, R. O.; MARCOS-FILHO, J.; GOMES JUNIOR, F. G. Avalia o do vigor de sementes de milho super doce por meio da análise computadorizada de imagens de plântulas. *Revista Brasileira Sementes*, 34: 488-494, 2012.
- ALVES, R. M.; GARCIA, A. A. F.; CRUZ, E. D.; FIGUEIRA, A. Sele o de descritores botânico-agron micos para caracteriza o de germoplasma de cupua zeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38: 807-818, 2003.
- ALVES, R.M.; GARCIA, A.A.F.; CRUZ, E.D.; FIGUEIRA, A. Sele o de descritores botânico-agron micos para caracteriza o de germoplasma de cupua zeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38: 807-818, 2003
- AMARAL JÚNIOR, A. T.; VIANA, A. P.; GONÇALVES, L. S. A.; BARBOSA, C. D. Procedimentos Multivariados em Recursos genéticos vegetais. In: PEREIRA, T. N. S. (ed). **Germoplasma: Conserva o, Manejo e Uso no Melhoramento de Plantas**. Viçosa, MG: Arca, 2010 p.205- 254
- ANDRADE, D. B.; OLIVEIRA A. S.; OLIVEIRA C. A. R. M.; SILVA M. A. S. Detection of green seeds in soybean lots by the seed analysis system (sas). *International Journal of Current Research*, 8: 26462-26465, 2016.
- ASSUN O, M.; KRAUSE, W.; DALLACORT, R.; SANTOS, P. R. J. dos; NEVES, L. G. Sele o individual de plantas de maracujazeiro azedo quanto   qualidade de frutos via REML/BLUP. *Revista Caatinga*, 28: 57-63, 2015
- BEKELE, F. L.; BEKELE, I. A sampling of the phenetic diversity of cacao in the International Cocoa Gene Bank of Trinidad. *Crop Science, Madison*, 36: 57-64, 1996.
- BENIN, G.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; MARCHIORO, V. S.; L.; CLAUDIR, K., ANDREOMAR J.; SILVA, J. A. G.; CRUZ, P. J.; HARTWIG, I.; SCHMIDT, D. A. M. Compara es entre medidas de dissimilaridade e estatísticas multivariadas como critérios no direcionamento de hibrida es em aveia. *Ciência Rural*, 33: 657-662, 2003.
- BERGER, B.; PARENT, B.; TESTER, M. High-throughput shoot imaging to study drought responses. *Journal of Experimental Botany*, 61: 3519-3528, 2010
- BORÉM, A.; MIRANDA. G.V. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, 2009. 500p.

BORGES, A. L.; CALDAS, R. C.; LIMA, A. A. Doses e fontes de nitrogênio em fertilização no cultivo do maracujá-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 28: 301-304, 2006.

BRANDÃO L. P.; SOUZA, C. P. F.; PEREIRA, V.M.; SILVA, S. O.; SANTOS SEREJO, J. A.; LEDO, C. A. S.; AMORIM, E. P. Descriptor selection for banana accessions based on univariate and multivariate analysis. **Genetics and Molecular Research**, 12: 1603-1620, 2013.

BRUCKNER, C. H. Fundamentos do melhoramento de fruteiras. Viçosa: Editora UFV, 2011. 72p.

BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. **Maracujá: tecnologia de produção, pós colheita, agroindústria, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001. 472 p.

CABRAL, P. D. S.; SOARES, T. C. B.; GONÇALVES, L. S. A; AMARAL JÚNIOR, A. T.; LIMA, A. B. P.; RODRIGUES, R.; MATTA, F. P. Quantification of the diversity among common bean accessions using Ward-MLM strategy. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 45: 1124-1132, 2010.

CALVACANTE, N. R.; KRAUSE.; VIANA, A. P.; SILVA, C. A.; PORTO, K. K. X.; MARTINEZ, R. A. S. Anticipated selection for intrapopulation breeding of passion fruit. *Acta Scientiarum. Agronomy Maringá* -PR 39: 143-148. 2017

CALVACANTE, N. R.; KRAUSE, W.; CARVALHO, J. F.; ROCHA, M. K. P.; PALÚ, E. G.; SILVA, C. A. Productivity, Fruit Physicochemical Quality and Distinctiveness of Passion Fruit populations. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, 38: 142. 2016.

CAMPOS, B. M.; VIANA, A. P.; QUINTAL, S.; SILVA, R.; GONÇALVES, L. S. A.; PESSANHA, P. G. O. Quantificação da divergência genética entre acessos de goibeira por meio da estratégia Ward-MLM. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 35: 571-578, 2013.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990. 320p.

COLOMBO C.; SECOND G.; VALLE T.L.; CHARRIER A. Genetic diversity characterization of cassava cultivars (*Manihotesculenta* Crantz) with RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, 21:105-113, 1998.

COQUE, M.; GALLAIS, A. Genomic regions involved in response to grain yield selection at high and low nitrogen fertilization in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, 112:1205-1220, 2006.

COSTA J. L.; JESUS O. N.; OLIVEIRA, G. A. F.; OLIVEIRA, E. J. Effect of selection on genetic variability in yellow passion fruit. **Crop Breed. Appl. Biotechnol**, 12: 253-260, 2012.

CROSSA J; FRANCO J. Statistical methods for classifying genotypes. **Euphytica** 137:19-37. 2004.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, 35: 271-276, 2013.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, 2003, v.2. 585p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4. ed. rev. Viçosa: UFV, 2012. 514 p.

DALBOSCO, E. Z. M. **Índice de seleção aplicado no Melhoramento intrapopulacional do maracujazeiro azedo**. Tangará da Serra: Universidade do Estado de Mato Grosso, 2015. 77p. (Dissertação - Genética e Melhoramento de Plantas).

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

DURÃES, F. O. M.; SANTOS M. X. **Fenotipagem associada a tolerância a seca em milho para uso em melhoramento, estudos genômicos e seleção assistida por descritores**. Embrapa Milho e Sorgo. 17 p. 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema brasileiro de classificação de solos. 2.ed. Rio de Janeiro, 2006. 306p.

ERTIRO, B. T., TWUMASI-AFRIYIE, S., BLÜMMEL, M., FRIESEN, D., NEGERA, D., WORKU, M., ABAKEMAL, D. E KITENGE, K. Genetic variability of maize stover quality and the potential for genetic improvement of fodder value. **Field Crops Research**, 153: 79-85, 2013.

ESTOPA, R.A. Diversidade genética em populações naturais de Candeia (*Eremanthus erythropappus*). Mac Leish. 2003. 43p. Monografia (Graduação em engenharia florestal) – Departamento de Ciências florestais, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2003.

FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Tradução por SILVA, M. A. ; SILVA, J. C. Viçosa: UFV, 1987. 279p

FALEIRO, F. G. Descritores Genético-Moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. Embrapa, Brasília, DF, 2007. 99 p.

FERREIRA, A. F. N.; KRAUSE, S.; OLIVEIRA, E. A.; SILVA, M. L. S.; KRAUSE, W. Qualidade do fruto e produtividade de cultivares de maracujá em diferentes épocas de colheitas. **Enciclopédia Biosfera**, 13, 1107-1116, 2016.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de descritores moleculares em análise genética**. Brasília: Embrapa/Cenargen, 1998. 220p.

FERREIRA, R. T. **Melhoramento intrapopulacional do maracujazeiro amarelo (*passiflora edulissims*) via seleção recorrente e modelos mistos.** Campos Goytacases: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2013, 119p. (Tese - Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).

FIORANI, F.; SCHURR, U. Future scenarios for plant phenotyping. *Annual Review of Plant Biology*, 267-91, Feb 2013.

FOLEGATTI, M. I. S.; MATSUURA, F. C. A. U. **Maracujá. Pós-colheita.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 51p.

FORTALEZA, J. M.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V.; OLIVEIRA, A. T.; RANGEL, L. E. P. Características físicas e químicas em nove genótipos de maracujá-azedo cultivado sob três níveis de adubação potássica. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, 27: 124-127, 2005.

FRANCO, J.; CROSSA, J.; VILLASEÑOR, J.; TABA, S.; EBERHART, S.A. Classifying genetic resources by categorical and continuous variables. **Crop Science**, 38: 1688-1696, 1998.

FREITAS, J. P. X.; OLIVEIRA, E. J.; CRUZ NETO, A. J.; SANTO S, L. R. Avaliação de recursos genéticos de maracujazeiro-amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 46: 1013-1020, 2011.

GABRIEL, A. P. C. **Seleção recorrente recíproca em famílias de irmãos completos em milho (*Zea mays L.*) assistida por marcadores moleculares.** Campos dos Goytacazes: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2006. 112 p. (Tese – Doutorado em Produção Vegetal).

GONÇALVES, G. M. **Estimativas de parâmetros genéticos em características produtivas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*), baseado no delineamento I.** Campos dos Goytacazes: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2005. 87 p. (Dissertação - Mestrado em Produção Vegetal).

GONÇALVES, L. S.; RODRIGUES, R.; AMARAL-JÚNIOR, A.T.; KARASAWA, M.; SUDRÉ, C. P. Heirloom tomato gene bank: assessing genetic divergence based on morphological, agronomic, and molecular data using a Ward-modified location model. **Genetics and Molecular Research**, 8: 364-374, 2009.

GOWER, J. C. A general coefficient of similarit and some of its properties. **Biometrics, Washington**, 27: 623-637, 1971.

GRECO, S. M. L.; PEIXOTO, J. R.; FERREIRA, L. M. Avaliação física, físico-química e estimativas de parâmetros genéticos de 32 genótipos de maracujazeiro-azedo cultivados no distrito federal. **Bioscience Journal**, 30: 360-370, 2014.

GUIMARÃES, D. F. G. S.; COELHO, C. J.; ROMANEK. C.; GARDINGO, J. R.; SILVA, A. R.; GRACZYKI, B. L.; OLIVEIRA, E. A. T.; MATIELLO, R. R. Dissimilaridade



genética e definição de grupos de recombinação em progênies de meios-irmãos de milho-verde. **Bragantia**, 75: 401-410, 2016.

GUSTIN, J. L.; SETTLES, A. M. Seed phenomics in: FRITSHE NETO, R.; BORÉM. **Phenomics: How Next-Generation Phenotyping is Revolutionizing Plant Breeding**. Ed Visconde. Viçosa, 2015.

HAFLE, O. M.; COSTA, A. C.; SANTOS, V. M.; SANTOS, V. A.; MOREIRA, R. A. Características físicas e químicas do maracujá-amarelo tratado com cera e armazenado em condição ambiente. **Revista Brasileira Ciências Agrárias**. 5: 341-346, 2010.

HALLAUER, A. R. Compedium of recurrent selection methods and their application. **Review in Plant Science**, 3: 1-34, 1985.

HOULE, D.; GOVINDARAJU, D. R.; OMHOLT, S. Phenomics: the next challenge. **Nature Reviews. Genetics**, 11, 66 - 855, 2010.

HULL, F. H. Recurrent selection for specific combining ability in corn. **Journal of the American Society of Agronomy**, 37: 134-145, 1945

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Quantidade produzida, valor da produção, área plantada e área colhida da lavoura permanente no ano de 2014**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 20 de novembro de 2015.

INOCENCIO, J. de O. **Eficiência da seleção recorrente para redução da altura de plantas em mamoneira (*Ricinus communis*)**. Botucatu: Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrônomicas Câmpus de Botucatu. 2007. 43 p. (Dissertação – Mestrado Ciências Agrônomicas)

JOLLIFFE, I. T. Discarding variables in a principal component analysis. I: Artificial data. **Applied Statistics**, 21: 160-173, 1972.

JOLLIFFE, I. T. Discarding variables in a principal component analysis. II: Real data. **Applied Statistics**, 21: 21-31, 1973.

KARA, M.; SAYINCI, B.; ELKOCA, E.; ÖZTÜRK, İ.; ÖZMEN, T. B. Seed size and shape analysis of registered common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars in Turkey using digital photography. **Tar Bil Der** 19: 219–23, 2013

KRAUSE, W.; SOUZA, R. S.; NEVES, L. G.; CARVALHO, M. L. S.; PIO-VIANA, A.; FALEIRO, F. G. Ganho de seleção no melhoramento genético intrapopulacional do maracujazeiro-amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 47: 51-57, jan, 2012.

KST, V. **Seleção recorrente de famílias de meios – irmãos em população composta de milho (*Zea mays*.L.) procedente de Anchieta – SC**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina. 2006. 160 p. (Dissertação – Mestrado em Ciências com área de concentração em Recursos Genéticos Vegetais).

LINHALES, H. Seleção em famílias de irmãos completos de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis Sims f. flavicarpa Deg.*) no segundo ano de produção. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007. 76p. (Dissertação de Mestrado em fitotecnia).

LIU, J. Genetic diversity of wheat gene pool of recurrent selection assessed by microsatellite markers and morphological traits. **Euphytica**, 155: 249-258, 2007.

LOSS, A. C. C.; LEITE Y. L. R.; LOURO, L. D.; BATITUCCI M. C. P. Diversidade genética de populações de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) no estado do Espírito Santo, Brasil. **Natureza online**, 4: 55-61, 2006.

MACHADO, C. F.; JESUS, F. N.; LEDO, C. A. S. Divergência genética de acessos de maracujá utilizando descritores quantitativos e qualitativos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 37: 442-449, 2015.

MAITO, T. K. de A. **Uso de regulador de crescimento ácido naftaleno acético na estaquia de maracujá – azedo**. Brasília: Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. 2016. 30 p. ( Projeto - Estágio Supervisionado Engenharia Agrônoma).

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de *Passiflora*. 2008.

MARDIA, K. V.; KENT, J. T.; BIBBY, J. M. **Multivariate analysis**. London: Academic Press, 1979. 520p.

MARIM, B.G. Variabilidade genética e importância relativa de caracteres em acessos de germoplasma de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 44: 283-1290, 2009.

MARTINS, J. A.; DALLACORT, R.; INOUE, M. H.; SANTI, A.; KOLLING, E. M.; COLETTI, A. J. Probabilidade de precipitação para a microrregião de Tangará da Serra, Estado do Mato Grosso. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, 40: 291-296, 2010.

MELO, C. A. F.; SOUZA, M. M.; SOUSA, A. G. R.; VIANA, A. P.; SANTOS, E. A. Multivariate analysis of backcross progeny of *Passiflora* L. (Passifloraceae) for pre-breeding genotype selection C.A.F. **Genetics and Molecular Research**. 14: 15376-15389. 2015.

MONTES, J. M.; MELCHINGER, A. E.; REIF, J. C. Novel throughput phenotyping platforms in plant genetic studies. **Trends in Plant Science**, 12: 6 - 433, 2007.

MOULINET, M. M.; RODRIGUES R.; GONÇALVES, L. S. A.; SUDRÉ, C. P.; PERREIRA, M. G. P. A comparison of RAPD and ISSR markers reveals genetic diversity among sweet potato landraces (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). **Acta Scientiarum Agronomy**, 34: 139-147, 2012.

OLIVEIRA, E. J. de. **Desenvolvimento e uso de descritores microssatélites para construção e integração de mapas genéticos de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.)**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2006. 152p. (Tese -Doutorado em genética e melhoramento de plantas).

OLIVEIRA, L. B.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. Alternative procedures for parent choice in a breeding program for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Braslian Journal of Genetics**,19: 611-615,1996.

OLIVEIRA, M. S. P.; FERREIRA, D, F.; SANTOS, J. B. Seleção de descritores para caracterização de germoplasma de açaizeiro para produção de frutos. **Pesquisa agropecuária brasileira**, 41: 1133-1140, 2006 .

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

PECCHIONI, N; FACCIOLI, P.; MONETTI, A.; STANCA, A. M.; TERZI, V. Molecular markers for genotype identification in small grain cereals. **JOURNAL OF GENETICS & BREEDING**, 50: 203-219, 1996.

PEREIRA, A.V.; VENCOVSKY, R.; CRUZ, C.D. Selection of botanical and agronomical descriptors for the characterization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) germplasm. **Revista Brasileira de Genética**, 15: 115-124, 1992.

PEREIRA, D. A.; CORRÊA, R. X.; OLIVEIRA, A. C. Molecular genetic diversity and differentiation of population sof 'somnus' passion fruit trees (*Passiflora setacea*): implications for conservation and pre-breeding. **Biochemical systematic and ecology**, 59: 12-21, 2015.

PINTO, C. A. G.; CARVALHO, M. L. M.; ANDRADE, D. B.; LEITE, E. R.; CHALFOUN, I. Image analysis in the evaluation of the physiological potential of maize seeds. **Revista Ciência Agronômica**, 46: 319-328, 2015.

PINTO, J. F. N.; REIS, E. F.; FALEIRO, F. G.; BARBOSA, E. C. C.; NUNES, H. F.; PINTO, JEEDER, F. N. Seleção de descritores vegetativos para caracterização de acessos de guariroba (*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.). **Revista Brasileira de Fruticultura**. 32(3): 832-840, 2010.

QUEROL, D. **Recursos genéticos, nosso tesouro esquecido**. Tradução Joselita Wasniewski. Rio de Janeiro: ASPTA, 1993. 206 p

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; ABREU, A. F. B.; NUNES, J. A. R. **Aplicações de genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. 1. Ed. Lavras: Editora UFLA, 2012. 522 p.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. **Genética na agropecuária**. Lavras, UFLA. 2000. 472p.

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

REIS, R. V. Phenotypic and molecular selection of yellow passion fruit progenies in the second cycle of recurrent selection. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 12: 17-24, 2012.

REIS, R. V.; OLIVEIRA, E. J.; VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SILVA, M. G. M. Diversidade genética em seleção recorrente de maracujazeiro detectada por descritores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 46: 51-57, 2011.

REIS, R. V.; AMORIM, E. P.; AMORIM, V. B. O.; FERREIRA, C. F.; PESTANA, R. K. N.; LEDO, C. A. S.; GONÇALVES, Z.; BORÉM, A. Genetic dissimilarity and selection of putative mutants of Terra Maranhão plantain cultivar using the Ward-MLM strategy. **Genetics and Molecular Research**, 14: 15339-15348, 2015.

RODRIGUES, R.; BENTO, C. S.; SILVA, M. G. M.; SUDRÉ, C. P. **Atividades de Caracterização e avaliação em bancos de germoplasma**. In: Pereira, T. N. S. Germoplasma: Conservação, manejo e uso no Melhoramento de Plantas. Viçosa-MG, Arca, 115-140. 2010.

SANTOS, C. E. M.; BRUCKNER, C. H.; CRUZ, C. D.; SIQUEIRA, D. L.; PIMENTEL, L. D. Características físicas do maracujá-azedo em função do genótipo e massa do fruto. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 31: 1102- 1110, 2009.

SANTOS, E. A.; VIANA, A. P.; FREITAS, J. C. O.; SOUZA, M. M.; PAIVA, C. L.; RODRIGUES, D. L.; FERREIRA, R. T. Phenotyping of *Passiflora edulis*, *P. setacea*, and their hybrids by a multivariate approach. **Genetics and Molecular Research**, 13: 9828, 2014.

SANTOS, L. F.; OLIVEIRA, E. J.; DOS SANTOS SILVA, A. ISSR Markers as a Tool for the Assessment of Genetic Diversity in *Passiflora*. **Biochemical Genetics**, 49: 540–554, 2011.

SANTOS, T. T.; YASSITEPE, J. E. C. T., “Fenotipagem de plantas em larga escala: um novo campo de aplicação para a visão computacional na agricultura.” in Tecnologias da Informação e Comunicação e suas relações com a agricultura, E. I. Agropecuária, p. 87–102. 2014.

SILVA, F. H. L.; VIANA, A. P.; FERREIRA, R. T.; FREITAS, J. C. O.; SANTOS, J. O.; RODRIGUES, D. L. Measurement of genetic diversity in progenies of sour passion fruit by ward-mlm methodology: a strategy for heterotic group formation. **Ciências e Agrotecnologia**, 38: 240-246, 2014.

SILVA, M. G. M.; VIANA, A. P.; AMARAL JUNIOR, A. T.; GONÇALVES, L. S. A.; REIAS, R. V. et al. Biometria aplicada ao melhoramento intrapopulacional do maracujazeiro amarelo. **Revista Ciência Agronômica**, 43: 493-499, 2012.

Silva, M. G de M. **Seleção Recorrente intrapopulacional no maracujazeiro amarelo ( *Passiflora edulis* Sims)**. Goytacazes: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF. 2009. 126 p. ( Tese – Doutorado em Produção Vegetal).

SILVA, M. G. M.; VIANA, A. P.; GONCALVES, G. M.; AMARAL JUNIOR, A. T.; PEREIRA, M. G. Seleção recorrente intrapopulacional no maracujazeiro amarelo: Alternativa de capitalização de ganhos genéticos. **Ciência e Agrotecnologia**, 33: 170-176, 2009.

SILVA, V. N.; GOMES JUNIOR, F. G.; CICERO, S. M. Computerized imaging analysis of seedlings for assessment of physiological potential of wheat seeds. **Revista brasileira de sementes**. 34: 589-596, 2012.

SOUZA JÚNIOR, C.L. Melhoramento de espécies alógamas. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S. de, VALADARES-INGLIS, M. C. (Org.) **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. 159-199. 2001.

SOUZA, G. A.; CARVALHO, M. R. O.; MARTINS, E. R.; GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, L. O. Diversidade genética estimada com descritores ISSR em populações brasileiras de *Zabrotes subfasciatus*, **Pesquisa agropecuária brasileira**, 43: 843-849, 2008.

SOUZA, S. A. M.; MARTINS, K. C.; AZEVEDO, A. S.; PEREIRA, T. N. S. Fenologia reprodutiva do maracujazeiro-azedo no município de Campos dos Goytacazes, RJ. *Ciencia Rural*, 42 (10), 1774-1780, 2012.

SOUZA, A.G.R.; SOUZA, M. M.; MELP, C. A. F.; SODRÉ, G. A. ISSR markers in wild species of *Passiflora* L. (Passifloraceae) as a tool for taxon selection in ornamental breeding, **Genetics and Molecular Research**. 14: 18534-18545, 2015.

TEIXEIRA, E. F.; CICERO, S. M.; DOURADO NETO, D. Análise de imagens digitais de plântulas para avaliação do vigor de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, 159-167, 2006.

TEIXEIRA, E. F.; CICERO, S. M.; DOURADO NETO, D. Noções básicas sobre imagens digitais: captura, processamento e reconhecimento voltados para a pesquisa em tecnologia de sementes. **Informativo ABRATES**, 13: 59-65, 2003.

VARASSIN, I. G.; TRIGO, J. R.; SAZIMA, M. The role of nectar production, flower pigments and odour in the pollination of four species of *Passiflora* (Passifloraceae) in south-eastern Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 136: 139-152, 2001.

VAZ PATTO, M. C.; SATOVIC, Z.; PÊGO, S.; FEVEREIRO, P. Assessing the genetic diversity of Portuguese maize germoplasm using microsatellite markers. **Euphytica**, Wageningen, 137: 63-72, 2004.

VENORA, G.; GRILLO, O.; RAVALLI, C.; CREMONINI, R. Identification of Italian landraces of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) using an image analysis system. **Scientia Horticulturae**. 121: 410–418, 2009.

VERONA, L. A. F.; CASALINHO, H. D.; MASERA, O.; GALVÁN, Y.; CORRÊA, I. V.; SCHWENGER, J. E. Uso de indicadores compostos na análise de sustentabilidade de agroecossistemas de base familiar na região Sul do Rio Grande do Sul. **In: V Congresso Brasileiro de Agroecologia**. 01- 04 de outubro de 2007, Guarapari – Espírito Santo. Anais do ... Guarapari: ABA, 2007.

VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; SOUZA, M. M.; MALDONADO, J. F. M. Parâmetros genéticos em populações de maracujazeiro-amarelo. **Revista Ceres**, 51: 545-555, 2004.

VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SOUZA, M. M. de; MALDONADO, J. F. M.; AMARAL JÚNIOR, A. T. do. Simple and canonic correlation between agronomical and fruit quality traits in yellow passion fruit (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) populations. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 3: 133-140, 2003.

VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SOUZA, M. M.; MALDONADO, F.; AMARAL JÚNIOR, A. T. Diversidade morfoagrônômica em populações de maracujazeiro. In: III Reunião Técnica de Pesquisa em Maracujazeiro. Viçosa, MG. 2002 Anais... Viçosa – UFV 2002.

VIANA, A. P.; RESENDE, M. D. V. **Genética quantitativa do melhoramento de fruteiras**. Rio de Janeiro: Interciência, 282 p. 2014.

VIANA, A. P.; SILVA, F. H. L.; GONÇALVES, G. M.; SILVA, M. G. M.; FERREIRA, R. T.; PEREIRA, T. N. S. UENF Rio Dourado: a new passion fruit cultivar with high yield potential. **Crop Breeding And Applied Biotechnology**. 16: 250-253, 2016.

WAHYUNI, Y.; BALLESTER, A. R.; TIKUNOV, Y.; VOS, R. C. H.; PELGROM, T. B. K.; MAHARIJAYA, A.; SUDARMONOWATI, E.; BINO, J. R.; BOVY, A. G. Metabolomics and molecular marker analysis to explore pepper (*Capsicum sp.*) biodiversity. **Metabolomics**, 9(1): 130–144, 2013.

WARD JUNIOR, J.H. Hierarchical grouping to optimize an objective function. **Journal of the American Statistical Association**, 58: 236-244, 1963