

**ABORDAGEM FENOTÍPICA E MOLECULAR EM PROGÊNIES DE
MARACUJAZEIRO-AZEDO SUBMETIDAS À SELEÇÃO
RECORRENTE**

FERNANDO HIGINO DE LIMA E SILVA

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO – UENF**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
JULHO – 2015**

ABORDAGEM FENOTÍPICA E MOLECULAR EM PROGÊNIES DE
MARACUJAZEIRO-AZEDO SUBMETIDAS À SELEÇÃO
RECORRENTE

FERNANDO HIGINO DE LIMA E SILVA

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do título
de Doutor em Genética e Melhoramento de
Plantas.”

Orientador: Prof. Alexandre Pio Viana

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
JULHO – 2015

ABORDAGEM FENOTÍPICA E MOLECULAR EM PROGÊNIES DE
MARACUJAZEIRO-AZEDO SUBMETIDAS À SELEÇÃO
RECORRENTE

FERNANDO HIGINO DE LIMA E SILVA

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutor em Genética e Melhoramento
de Plantas.”

Aprovada em 17 de julho de 2015.

Comissão Examinadora:

Prof. Marcelo Geraldo de Moraes Silva (D.Sc., Produção Vegetal) – IFF/RJ

Prof. Messias Gonzaga Pereira (Ph.D., Melhoramento de Plantas) – UENF

Prof. Geraldo de Amaral Gravina (D.Sc., Fitotecnia) – UENF

Prof. Alexandre Pio Viana (D.Sc., Produção Vegetal) - UENF
(Orientador)

DEDICATÓRIA

A Deus,
Aos meus pais,
DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e pela saúde proporcionada para concretizar mais essa etapa.

Agradecerei sempre aos meus pais e meus irmãos pelo apoio incondicional. Pai, Mãe, Tony e Caíque, obrigado.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), por meio do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade de realização do doutorado e pelas condições de trabalho.

À *University of Florida*, por meio do Departamento de Agronomia, pela oportunidade de realização do doutorado sanduíche.

À Coordenação e Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo no Brasil e no exterior.

Ao Prof. Dr. Alexandre Pio Viana, meus sinceros agradecimentos, pela orientação, pelas oportunidades dadas e confiança depositada.

Ao Prof. Dr. Patricio R. Muñoz (*University of Florida*), por me aceitar em sua equipe durante o meu período no exterior, pela amizade demonstrada e por partilhar seu conhecimento na elaboração do terceiro capítulo desta Tese.

Ao Professor Dr. Messias Gonzaga Pereira, pelas sugestões e apoio durante a execução deste trabalho.

Ao Professor Dr. Marcelo Geraldo de Moraes Silva, pela disponibilidade, pelas sugestões na banca, partilhando seu conhecimento sobre a cultura do maracujazeiro.

Ao Professor Dr. Geraldo de Amaral Gravina, pela disponibilidade em participar da banca e pelas valiosas contribuições.

À Professora Dra. Helaine Cristina pelas conversas incentivadoras e contribuições na parte molecular deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Antônio Teixeira do Amaral Júnior, pelo incentivo e apoio na realização deste trabalho.

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pelos ensinamentos e votos de confiança.

Ao secretário José Daniel, sempre prestativo e eficiente.

Às técnicas do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal da UENF (LMGV), Marcela Boechat e Vitória Régia, pela disponibilidade e apoio imprescindível durante a obtenção dos dados moleculares.

Ao amigo e técnico agrícola Geraldo Francisco e funcionários do Colégio Agrícola Antônio De Sarlo, Campos-RJ, em especial Valdinei (Neném) e Luzimara, pelo apoio na condução do experimento.

Ao engenheiro agrônomo Leandro Hespanhol e funcionários da Unidade Experimental Ilha Barra do Pomba, em Itaocara-RJ (Benedito, Maurício, Arnaldo, Júlio, Noé, Marquinhos, Tiana, Zé Luís, Daniel, Gilson, Marcos), por contribuírem para a execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. José Sebastião Cunha Fernandes (Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri-UFVJM), que me iniciou nos estudos de Genética e Melhoramento de Plantas e acompanhou os meus primeiros passos nessa fascinante área, além de todos os ensinamentos que não hesitou em partilhar comigo. Obrigado pelo incentivo e pela amizade que construímos.

Ao Christopher Vicent (*University of Florida*), pelas contribuições na elaboração do artigo e terceiro capítulo desta tese.

Aos amigos Rulfe, Jôsie, Daniele, Eileen, Jardel, Carlos Lacy, Guilherme, Pedro, Vespoli, Cássio, Thiago (Peixe), pelo auxílio durante o período de execução do experimento. A ajuda de vocês foi imprescindível para a obtenção dos dados. Aos demais amigos da UENF, Suzi, Artur, Samy e Ismael Lourenço, pela convivência agradável.

Aos amigos do *Forage Breeding and Genomics Lab (University of Florida)*, Esteban Rios, Felipe Cuevas, Yolanda Lopez, Lin Xing, Dr. Kenneth Quesenberry, Elihu Isele, Alexandra Rucker, Ulisses Figueiredo, Hugo Ematné e Bráulio Moraes. O aprendizado e convivência durante o período no exterior foi muito mais agradável e fácil com a ajuda de vocês.

Aos “amigos borrachos” Esteban, Márcio, Bráulio, Cuevas e Kaio, pela amizade e pelos divertidos momentos em Gainesville.

As amizades que fiz em Gainesville, em especial, aos amigos do *Monday Night Group Conversation*, Peggy Spiers, Sharon Rudd, Eleanor Waugh, Betty Ann, Doris Ware (*in memoriam*), Paul, Rafael Battisti e demais, pelos preciosos e divertidos momentos. Obrigado por toda a atenção dispensada.

Aos amigos de República durante o doutorado, Pedro, Rodrigo, Guigo, Papito, Baiano, Pablo, Manolo, João Filipi (USA) e Marcus (USA), pela amizade e apoio.

Ao amigo campista e vizinho Paulo César Freitas Cordeiro e familiares, pela amizade demonstrada.

Aos familiares, pelo apoio.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
3. CAPÍTULOS.....	5
3.1. QUANTIFICAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA EM PROGÊNIES DE MARACUJAZEIRO-AZEDO UTILIZANDO A METODOLOGIA WARD-MLM: ESTRATÉGIA PARA FORMAÇÃO DE GRUPOS HETERÓTICOS.....	5
3.1.1. INTRODUÇÃO.....	5
3.1.2. REVISÃO.....	6
3.1.3. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
3.1.5. CONCLUSÕES.....	18
3.2 PREDIÇÃO DE GANHOS GENÉTICOS POR ÍNDICES DE SELEÇÃO E MÉTODO REML/BLUP EM UMA POPULAÇÃO DE MARACUJAZEIRO-AZEDO SOB SELEÇÃO RECORRENTE.....	19
3.2.1. INTRODUÇÃO.....	19
3.2.2. REVISÃO.....	20
3.2.3. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
3.2.5. CONCLUSÕES.....	35

3.3. MELHORAMENTO DA ESPÉCIE <i>PASSIFLORA EDULIS</i> SIMS: PARÂMETROS GENÉTICOS E ESTRUTURA DA POPULAÇÃO.....	36
3.3.1. INTRODUÇÃO.....	36
3.3.2. REVISÃO.....	38
3.3.3. MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3.3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
3.3.5. CONCLUSÕES.....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56

RESUMO

SILVA, Fernando Higino de Lima e; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Julho de 2015. ABORDAGEM FENOTÍPICA E MOLECULAR EM PROGÊNIES DE MARACUJAZEIRO-AZEDO SUBMETIDAS À SELEÇÃO RECORRENTE. Orientador: Alexandre Pio Viana. Conselheiros: Prof. Antônio Teixeira do Amaral Júnior e Prof. Messias Gonzaga Pereira.

Tendo em vista a importância do cultivo do maracujazeiro no Brasil, é de grande relevância o aprimoramento dos trabalhos de melhoramento genético na cultura. Este estudo foi proposto em decorrência da necessidade de se avançar nas pesquisas para a população de maracujazeiro-azedo que vem sendo conduzida até o momento na UENF. O estudo visou conectar informações fenotípicas e genotípicas a fim de desenvolver, posteriormente, cultivares produtivas e recomendadas para as regiões Norte e Noroeste Fluminense. Os objetivos deste trabalho foram: i) quantificar a diversidade genética entre progênies de maracujazeiro-azedo com base em descritores morfoagronômicos por meio do procedimento Ward-MLM; ii) comparar quatro índices de seleção e o método REML/BLUP na avaliação de ganhos genéticos preditos das características de interesse; iii) avaliar a implementação da técnica *post-hoc blocking Row-Col* para a avaliação das variáveis no programa de melhoramento do maracujazeiro conduzido; iv) estimar os parâmetros genéticos via REML com o uso das informações de *pedigree*; v) investigar a estrutura genética de uma única população de maracujazeiro usando SSR's. Para isso, avaliaram-se 81 progênies de irmãos-completos pertencentes ao terceiro ciclo de seleção recorrente. A

estratégia de classificação Ward-MLM para análise das variáveis morfoagronômicas permitiu a constituição dos cinco grupos em 26, 5, 15, 16 e 19 progênies. Observou-se um distanciamento do grupo III em relação aos demais grupos e a aproximação dos grupos I, II, IV e V. Entre os quatro índices de seleção testados, o de Mulamba e Mock, e Williams proporcionaram os melhores resultados para a seleção das progênies. O método REML/BLUP mostrou-se mais eficiente, tendo selecionado progênies com ganhos genéticos preditos melhores que os dos índices de seleção testados. A técnica *post hoc blocking Row-Col* mostrou melhores ou iguais resultados indicados pela estimativa de verossimilhança em comparação a avaliação em blocos casualizados, podendo, então, ser utilizada nos ciclos subsequentes do programa do maracujazeiro da UENF. Para as herdabilidades estimadas, a característica teor de sólidos solúveis totais apresentou o maior valor ($0,53 \pm 0,087$), enquanto para a característica produção foi observada a menor estimativa ($0,24 \pm 0,090$). Considerando as correlações genéticas estimadas entre as variáveis, somente quatro foram significativas. Os 10 marcadores microssatélites amplificaram um total de 29 alelos. Uma análise da estrutura genética da população revelou que o número de grupos foi $k=3$. A distância entre os grupos pode indicar futuros cruzamentos objetivando a exploração da heterose visando a piramidização de alelos favoráveis para as características de interesse.

ABSTRACT

SILVA, Fernando Higino de Lima e; D.Sc.; State University of North Fluminense Darcy Ribeiro. July, 2015. PHENOTYPIC AND MOLECULAR APPROACH IN PASSION FRUIT PROGENIES UNDER RECURRENT SELECTION. Advisor: Alexandre Pio Viana. Counselors: Antônio Teixeira do Amaral Júnior and Messias Gonzaga Pereira.

Due to the importance of sour passion fruit in Brazil breeding programs must be improved to accelerate the development of new cultivars. The present study was proposed due the need to advance in the research terms for the sour passion fruit population at UENF. The study aimed to connect phenotypic and genotypic information to develop productive cultivars and recommended to the North and Northwest regions in Rio de Janeiro State. The objectives were to: i) quantify genetic diversity among progenies of sour passion fruit based on morphoagronomic descriptors, using the Ward-MLM procedure; ii) compare four selection indexes and the REML/BLUP methodology in the assessment of the predicted genetic gains in the traits of interest; iii) evaluate the post-hoc implementation of a Row-Col design for the UENF passion fruit breeding trial, iv) estimate genetic parameters via REML using the pedigree information economically important traits in full-sib progenies of passion fruit, and v) investigate the genetic structure of this unique passion fruit population using SSRs. For such, 81 full-sib progenies belonging to the third recurrent selection cycle were assessed. The Ward-MLM classification strategy for morpho-agronomic traits analysis allowed the formation of five groups into 26, 5, 15, 16

and 19 progenies. A certain distance was observed for group III, compared to the other groups while groups I, II, IV and V showed approximation. Among the four selection indexes tested, Mulamba and Mock, and Williams provided the best results for the selection of full-sib progenies. The REML/BLUP method was the most efficient and selected progenies with predicted genetic gains better than those of the selection indexes tested. The post-hoc blocking model Row-Col design presented better or equal fitting of the data, indicated by the likelihood estimates, than the randomized complete block design and can be used in subsequent cycles at UENF. For the heritabilities, among the characteristics evaluated, the SSC showed the highest value (0.53 ± 0.087) while yield presented the lowest estimate (0.24 ± 0.090). Regarding the genetic correlations only four correlations among variables were significant. The 10 SSR loci amplified a total of 29 alleles. The analyze genetic structure showed that the number of groups was $K= 3$. The distance among the groups may indicate crosses, aiming at the exploration of heterosis for the pyramiding of alleles favorable for the traits of interest.

1. INTRODUÇÃO

O maracujazeiro pertence à família Passifloraceae, sendo o gênero *Passiflora* considerado o de maior importância econômica. De acordo com Bernacci et al. (2008), a principal espécie cultivada é a *Passiflora edulis* Sims (maracujazeiro-azedo), que representa aproximadamente 90% dos pomares brasileiros, devido principalmente, à sua qualidade, produtividade, vigor e rendimento em suco (Meletti e Bruckner, 2001; Ferraz e Lot, 2006; Silva et al., 2014).

O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá-azedo, com uma produção de cerca de 780 mil toneladas no ano de 2013 (IBGE, 2014). A Região Nordeste, notadamente o estado da Bahia, tem liderado a produção brasileira, respondendo por mais da metade da produção nacional, seguida pelas Regiões Sudeste, Norte, Centro-Oeste e Sul (IBGE, 2013). O Estado do Rio de Janeiro teve no ano de 2011, uma produtividade média de 12.946 t.ha⁻¹, destacando-se a Região Norte Fluminense como a maior produtora (4.370 t) e o município de Campos dos Goytacazes o maior produtor do Estado (IBGE, 2013).

O cultivo do maracujazeiro-azedo justifica-se pelo rápido retorno econômico, com a receita distribuída em vários meses do ano, durante a safra (Silva, 2009). O manejo inadequado e a falta de cultivares com boas características agrônômicas no mercado brasileiro levam ao baixo rendimento da cultura do maracujazeiro-azedo. Diante da importância do cultivo dessa fruteira é

de grande relevância o aprimoramento dos trabalhos de melhoramento genético a fim de possibilitar o desenvolvimento de novas cultivares.

Na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), o programa de melhoramento genético do maracujazeiro teve início em 1998, com a coleta inicial de vários genótipos em três regiões produtoras e distintas do Estado do Rio de Janeiro (Viana et al. 2003, 2004). Com base nesses estudos iniciais, procurou-se, em uma segunda fase, realizar uma amostragem mais ampla em áreas comerciais da região Norte Fluminense, onde, por meio de delineamentos genéticos apropriados, como o Delineamento I de Comstock e Robinson (1948), obteve-se um maior número de progênies. Assim, com base nos resultados destas análises iniciais, optou-se pela elaboração de um programa de seleção recorrente intrapopulacional (Gonçalves, 2005; Gonçalves et al., 2007, 2008a, 2009a, Silva, 2009 e Reis, 2010).

Não é reportado na literatura informações a respeito de programas de melhoramento em *Passifloras* por meio de seleção recorrente. Trata-se, portanto, de uma proposta pioneira em termos de pesquisa, possibilitando a geração de conhecimento sobre as características genéticas dessa fruteira. Devido aos resultados satisfatórios observados até o momento, a seleção recorrente intrapopulacional pode ser utilizada com sucesso no maracujazeiro-azedo, em todas as regiões do mundo onde essa fruteira é cultivada.

O melhoramento genético tem, há vários anos, proporcionado, com muito sucesso, o aumento de produtividade e a melhoria de várias outras características de interesse na agricultura e na pecuária (Resende Junior, 2010). Com o avanço em técnicas de biologia molecular e utilização de marcadores moleculares, criou-se a expectativa de que as informações genotípicas dos marcadores moleculares, uma vez correlacionados com características fenotípicas de interesse, pudessem ser amplamente utilizadas na obtenção e seleção de indivíduos com maior valor genético.

Este estudo foi realizado em decorrência da necessidade de se avançar nas pesquisas para a população de maracujazeiro-azedo UENF que vem sendo conduzida até o momento, conectando informações fenotípicas e genotípicas a fim de desenvolver cultivares recomendadas para as regiões Norte e Noroeste Fluminense. Assim, o trabalho está organizado em três capítulos, que englobam estudos em quantificação da variabilidade genética com base em caracteres

morfoagronômicos; comparação de quatro índices de seleção e o método REML/BLUP na avaliação de ganhos genéticos preditos das características de interesse; estimação de parâmetros genéticos via REML com a utilização das informações de *pedigree*, avaliação do comportamento da diversidade genética e investigação da estrutura populacional de uma população de maracujazeiro-azedo a partir do uso de marcadores microssatélites.

2. OBJETIVOS

2.1 Gerais: Promover informações para as etapas de avaliação, seleção e recombinação de progênies de *Passiflora edulis* do programa de melhoramento conduzido na UENF, a fim de, futuramente, desenvolver cultivares recomendadas para as regiões Norte e Noroeste Fluminense.

2.2 Específicos: i) quantificar a diversidade genética entre progênies de maracujazeiro-azedo com base em descritores morfoagronômicos por meio do procedimento Ward-MLM; ii) comparar quatro índices de seleção e o método REML/BLUP na avaliação de ganhos genéticos preditos das características de interesse; iii) avaliar a implementação da técnica *post-hoc blocking Row-Col* para a avaliação dos dados; iv) estimar os parâmetros genéticos via REML com o uso das informações de *pedigree*; v) avaliar o comportamento da diversidade genética e investigar a estrutura genética de uma única população de maracujazeiro usando marcadores microssatélites.

3. CAPÍTULOS

3.1 QUANTIFICAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA EM PROGÊNIES DE MARACUJAZEIRO-AZEDO UTILIZANDO A METODOLOGIA WARD-MLM: ESTRATÉGIA PARA FORMAÇÃO DE GRUPOS HETERÓTICOS

3.1.1 INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado centro de origem de aproximadamente 139 espécies de *Passiflora* e o maior centro de diversidade genética do gênero (Bernacci et al., 2008). A caracterização e a exploração da variabilidade genética de espécies de *Passiflora*, e também, dentro da espécie *Passiflora edulis* Sims, podem revelar recursos genéticos de grande valor, sejam novas variedades para os sistemas de produção, seja na sua utilização em programas de melhoramento genético (Faleiro et al., 2005).

O estudo do conhecimento da diversidade genética em qualquer programa de melhoramento consiste em uma atividade importante por permitir a diferenciação de acessos, auxiliando na identificação de genótipos contrastantes a fim de realizar cruzamentos promissores, sendo importante para a identificação de possíveis grupos com maior grau de heterose nos cruzamentos futuros.

Melchinger e Gumber (1998) definiram grupo heterótico como “um grupo de genótipos relacionados ou não a partir de iguais ou diferentes populações, que exibem semelhante capacidade combinatória e heterose quando cruzados com genótipos de outros grupos de germoplasma geneticamente distintos”.

Apesar da importância, poucos têm sido os estudos de avaliação de grupos heteróticos de maracujazeiro-azedo nos programas de melhoramento com a cultura (Viana et al., 2007).

A quantificação da variabilidade genética pode ser estimada por meio de análises multivariadas que se baseiam nas diferenças entre os acessos. O uso de algoritmos multivariados que vise quantificar a dissimilaridade entre os indivíduos é considerado uma ferramenta essencial para o melhoramento de plantas (Gonçalves et al., 2008b). Dentre os métodos multivariados, o procedimento Ward - *Modified Location Model* (MLM), proposto por Franco et al. (1998), consiste em uma excelente estratégia para a quantificação da variabilidade utilizando as variáveis quantitativas e qualitativas simultaneamente.

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo quantificar a diversidade genética entre progênies de maracujazeiro-azedo em terceiro ciclo de seleção recorrente intrapopulacional, a fim de definir possíveis grupos heteróticos, com base em descritores morfoagronômicos por meio do procedimento Ward-MLM.

3.1.2 REVISÃO

3.1.2.1. Gênero *Passiflora*: origem, aspectos botânicos, agronômicos e econômicos.

A maioria das espécies de Passifloráceas descrita é originada da América Tropical. Embora sejam encontradas desde a região Amazônica até o Paraguai e nordeste da Argentina, é o Brasil um dos principais centros de diversidade genética dessa família de plantas (Bernacci et al. 2013).

Maracujá é a denominação indígena, de origem tupi, que significa ‘alimento em forma de cuia’. O maracujá pertence à família Passifloraceae e também é

conhecido como flor-da-paixão, nome pouco usual no Brasil, que tem origem na correlação da morfologia da flor com os símbolos da Paixão de Cristo (Bernacci et al, 2008).

O gênero *Passiflora* é considerado o mais importante, pois apresenta um grande número de espécies, entre as quais estão aquelas exploradas comercialmente no mundo (Moraes, 2005). Estima-se que o gênero *Passiflora* seja composto de 465 espécies, que podem ser utilizadas como alimento, fármacos e ornamento.

As plantas do gênero *Passiflora* apresentam-se na forma de trepadeiras vigorosas. Segundo Martin e Nakasone (1970) as principais espécies do gênero são diploides, com $2n=2x=18$ cromossomos.

Na maioria das espécies as folhas são simples e alternas, elípticas ou orbiculares, inteiras ou lobadas, pecíolo com ou sem glândulas. As gavinhas, geralmente solitárias, desenvolvem-se nas axilas das folhas e são ausentes em espécies lenhosas (Cunha et al., 2002). As flores são hermafroditas, grandes, vistosas e protegidas na base por brácteas foliares, e os estames aparecem em número de cinco, presos a um androginóforo bem desenvolvido. Os frutos usualmente bagas, indeiscentes ou cápsulas deiscentes, globosos ou ovoides, possuem predominantemente coloração amarela existindo, entretanto, frutos de coloração vermelha e roxa (Vanderplank, 2000; Ulmer e Macdougall, 2004).

O maracujazeiro é uma planta de fecundação cruzada por excelência devido à presença do fenômeno da incompatibilidade, isto é, o pólen produzido em determinada flor não pode fecundá-la e nem pode fecundar de forma eficaz, as demais flores produzidas na mesma planta (Junqueira et al., 2001). Tal fenômeno tem implicações importantes nas metodologias de melhoramento por induzir a alogamia e o alto grau de heterozigose, além de ter influências na compatibilidade entre cruzamentos (Allard, 1971).

Devido, principalmente à morfologia floral e à presença de grãos de pólen pesados e pegajosos, a polinização natural do maracujazeiro-azedo é dependente de insetos polinizadores, sendo os principais as mamangavas do gênero *Xylocopa*. Na ausência de insetos polinizadores, há necessidade de polinização artificial, cujo benefício à frutificação é inquestionável (Souza e Meletti, 1997). Esta prática tem demonstrado ótimos resultados que podem chegar a 76% de pegamento em flores cruzadas e polinizadas manualmente comparados com

apenas 7% obtidos com a polinização natural (Junqueira et al., 2001; Lima e Cunha, 2004).

3.1.2.2. Gênero *Passiflora*: diversidade genética e a importância de sua quantificação

O Brasil, como um dos maiores centros de diversidade do maracujá, possui ampla variabilidade genética, o que propicia programas de melhoramento genético, e cuja caracterização e avaliação são ferramentas indispensáveis.

A identificação de variabilidade e o conhecimento de constituições genéticas diferentes existentes em populações segregantes são de fundamental importância para a identificação de genótipos superiores e o estabelecimento de estratégias apropriadas para alcançar êxito no melhoramento genético das espécies.

Estudos sobre a diversidade genética utilizando informações morfoagronômicas e/ou moleculares em espécies de maracujazeiro podem ser observados em trabalhos de Viana et al. (2003); Faleiro et al. (2005); Bellon et al. (2007); Reis (2011), Santos (2013); e Silva et al. (2014).

A quantificação da variabilidade genética pode ser estimada por meio de análises multivariadas que se baseiam nas diferenças entre os acessos. Estas permitem analisar múltiplas informações de um conjunto de caracteres, extraídas das unidades experimentais (Fonseca et al., 2004). As análises multivariadas têm sido utilizadas para estimar a divergência genética; verificar os genótipos mais contrastantes e até mesmo identificar duplicatas em bancos de germoplasma (Cruz e Carneiro, 2006).

Na predição da divergência genética, vários métodos multivariados podem ser aplicados. A escolha do método mais apropriado tem sido determinada pela precisão desejada pelo pesquisador, pela facilidade de análise e pela forma como são obtidos os dados (Cargnelutti Filho et al., 2008; Bezerra Neto et al., 2010).

Amaral Júnior e Thiébaud (1999) relatam que as variáveis canônicas são combinações lineares das variáveis originais que têm alto poder de discriminação, cuja grande aplicabilidade consiste em possibilitar a avaliação da divergência por meio de uma dispersão gráfica em que se consideram dois a três eixos cartesianos, o que torna o procedimento de discriminação genotípica mais

facilmente perceptível. Porém, torna-se essencial que se tenham informações sobre as variâncias e covariâncias residuais, as quais são obtidas por meio de experimentos com repetições.

A técnica de variáveis canônicas permite a simplificação no conjunto de dados, resumindo as informações originalmente contidas em um grupo de variáveis em poucas variáveis que apresentam a propriedade de reterem o máximo da variação originalmente disponível e serem independentes entre si. Uma análise gráfica para estudo do padrão de similaridade entre os genótipos deve ser considerada quando for possível resumir, nas primeiras variáveis, mais de 80% da variação total disponível (Cruz e Carneiro, 2003).

A análise de agrupamento, também conhecida como análise de conglomerado ou *cluster analysis*, tem como objetivo dividir um conjunto de observações (elementos, indivíduos, tratamentos, genótipos, etc.) em grupos homogêneos ou compactos, segundo algum critério conveniente de similaridade.

O método de Ward (1963), também conhecido como método da “Mínima Variância” (Mingoti, 2005), proporciona a formação dos grupos pela maximização da homogeneidade presente dentro dos grupos. A ideia do método de Ward é aglomerar os grupos R e S que minimizam a soma de quadrados dentro dos grupos, ou seja, a soma de quadrado dos erros (Ferreira, 2008). O método de Ward tem sido preferido, em alguns casos, devido o efeito gráfico gerado pelo dendrograma, possibilitando a visualização de grupos bem definidos (Rosemburg, 1984).

O procedimento Modified Location Model (MLM) foi proposto por Franco et al. (1998) como substituição ao procedimento Location Model proposto por Lawrence e Krzanowski (1996). O procedimento, designado MLM, classifica n indivíduos quando p variáveis quantitativas e q variáveis qualitativas são obtidas em um ambiente, assumindo que m níveis da variável W e variáveis p -multinormais para cada subpopulação são independentes.

A estratégia Ward-MLM tem sido usada no melhoramento de fruteiras e demais culturas agrícolas para mensuração da diversidade genética como em tomateiro (Gonçalves et al., 2008b); feijoeiro-comum (Cabral et al., 2010); feijão de vagem (Barbé et al., 2010), bananeira (Pereira et al., 2012), goiabeira (Campos et al., 2013); espécies silvestres de *Passiflora* (Santos, 2013), e mamoeiro (Luz et al., 2014).

3.1.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1.3.1 População de estudo

Foram avaliadas 81 progênies de irmãos-completos pertencentes ao terceiro ciclo de seleção recorrente do maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims) da UENF.

3.1.3.2 Descrição do experimento

O estudo foi conduzido entre 2011-2013, na Unidade Experimental da UENF em Itaocara – Ilha Barra do Pomba (21°40' S, 42°04' W e altitude de 76 m), região Noroeste Fluminense. Durante o período experimental a temperatura anual média foi 22,5°C e a precipitação média anual foi 1.041mm. O solo da área experimental foi classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo (Embrapa, 2006).

Em condições de casa de vegetação, sementes (quatro/tubete) de cada progênie foram germinadas em substrato, marca Plantmax®. Posteriormente, as mudas foram desbastadas mantendo somente uma por tubete, e levadas ao campo 65 dias após a emergência.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos completos casualizados (DBC), com duas repetições e parcelas constituídas por cinco plantas. O sistema de condução foi de espaldeira vertical, com mourões de eucalipto tratados de 1,8 m de altura, espaçados de 4 metros e com um fio de arame número 12. A distância entre linhas de plantio foi de 3,5m e entre plantas 2m.

Todas as plantas receberam os tratos culturais recomendados para a cultura, como a condução da planta, controle das plantas daninhas, pragas e doenças. Um sistema de irrigação por gotejamento diário foi utilizado durante o período seco. A adubação de manutenção foi realizada mensalmente com 22,5g de ureia e 45g de cloreto de potássio por planta. Em adição, a adubação de fundação foi composta de 100g de calcário e 200g de superfosfato simples.

3.1.3.3. Características avaliadas

Para fins de avaliação, foram consideradas características das seguintes partes da planta: ramo, limbo foliar e pecíolo, flor e fruto. Foram utilizados 23 descritores, sendo cinco qualitativos e 18 quantitativos, a maioria disponibilizada pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares – SNPC. Os descritores qualitativos avaliados foram: coloração do ramo, profundidade do sinus, posição dos nectários, coloração da casca e coloração da polpa. Em relação aos descritores quantitativos foram utilizados: comprimento do limbo, em mm (CL); largura do limbo, em mm (LL); comprimento do pecíolo, em mm (CP); diâmetro da flor, em mm (DF); diâmetro da corona, em mm (DC); comprimento da sépala, em mm (CS); largura da sépala, em mm (LS); comprimento da pétala, em mm (CP); largura da pétala, em mm (LP); comprimento da bráctea, em mm (CB); comprimento do pedúnculo, em mm (CPD); comprimento do androginóforo, em mm (CA); massa do fruto em gramas (MF), diâmetro longitudinal do fruto, em mm (DLF); diâmetro transversal do fruto, em mm (DTF); massa da polpa em gramas (MPL); espessura da casca, em mm (EC) e teor de sólidos solúveis totais, em °Brix (SST). Para cada uma das variáveis qualitativas e quantitativas relacionadas ao ramo, limbo foliar, pecíolo e flor foram realizadas cinco observações. Já para as variáveis relacionadas ao fruto foram tomadas 10 observações. Nas determinações métricas, utilizou-se paquímetro digital, com precisão de 0,01 mm, e as massas foram obtidas com auxílio de balança eletrônica de 0,01g de precisão.

3.1.3.4. Análise dos dados

As variáveis quantitativas e qualitativas foram analisadas simultaneamente utilizando o procedimento Ward-MLM para composição dos grupos de progênies por meio do procedimento CLUSTER e IML do programa SAS (SAS Institute, 2009). Posteriormente, utilizou-se o algoritmo Gower (Gower, 1971) a fim de obter a matriz de distância para o uso do método de agrupamento Ward. O índice de Gower utiliza dados qualitativos e quantitativos, para gerar um único índice de dissimilaridade, variando de 0 a 1. A dissimilaridade foi dada por:

$$S_{ij} = \frac{\sum_{k=1}^p W_{ijk} \cdot S_{ijk}}{\sum_{K=1}^p W_{ijk}}$$

Onde i e j representam os indivíduos a serem comparados no que diz respeito à característica k ; p = número total de características, e S_{ij} = contribuição da variável k para a distância total. Se uma variável é qualitativa, S_{ijk} assume o valor 1, quando a concordância é positiva ou negativa para a característica k entre os indivíduos i e j , e por outro lado quando a variável é quantitativa:

$$S_{ij} = \frac{|Y_{ik} - Y_{jk}|}{R_k}$$

Onde R_k = a amplitude de variação da variável k , tendo valores entre 0 e 1. O valor de W_{ijk} foi usado para definir as contribuições dos indivíduos S_{ijk} . Assim, quando o valor da variável k está ausente em um ou ambos os indivíduos, $W_{ijk} = 0$ ou, de outra forma, é igual a 1.

Com base nos critérios do pseudo-F e pseudo- t^2 combinado com o perfil da verossimilhança associado com o teste da razão da verossimilhança foi definido o número ideal de grupos. A seguir, foi obtido o gráfico logaritmo da função da verossimilhança, maximizada, conforme o método MLM, para diferentes números prováveis de grupos. De acordo com os picos de verossimilhança para os diferentes números de grupos formados pelo gráfico, definiu-se o melhor número de grupos para a análise. Por último, foi realizada a análise MLM completa para o número de grupos (g) definidos, descrevendo os resultados da classificação, com uma tabela da descrição dos grupos formados e a análise canônica para as variáveis quantitativas, sendo utilizado, para estas últimas o arquivo *canfile*, obtido pelo SAS (SAS Institute, 2009), contendo as coordenadas canônicas para as observações.

3.1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelo procedimento da função da verossimilhança foi determinado como cinco, o número ideal de grupos. Este número ideal foi verificado onde ocorreu maior incremento na função logarítmica, sendo verificado o maior valor absoluto no quinto grupo. Segundo Gonçalves et al. (2009b) e Barbé et al. (2010), análise da função da verossimilhança pode definir critérios mais precisos na formação dos grupos, resultando na determinação de grupos menos subjetivos. A estratégia de classificação Ward-MLM para análise dos dados morfoagronômicos permitiu a constituição dos cinco grupos em 26, 5, 15, 16 e 19 progênies (Tabela 1). Observa-se neste ponto, a possibilidade de alocação desses grupos como grupos heteróticos para as progênies avaliadas, visto a possibilidade de utilização desta informação em associação aos índices de seleção, priorizando o cruzamento e recombinação das progênies superiores e mais divergentes. Campos et al. (2013) observaram em uma população de 138 indivíduos de *Psidium guajava*, proveniente do programa de melhoramento da UENF, que o maior incremento na função de probabilidade foi atingido quando cinco grupos foram considerados.

Considerando as características qualitativas avaliadas presentes no ramo e limbo foliar (Tabela 1) pode-se observar, para a coloração do ramo, predomínio da coloração verde-arroxeadada de 98,75% e apenas 1,25% para a coloração roxa nas progênies avaliadas. Para essa variável os grupos I, II, III e IV apresentaram 100% de coloração verde-arroxeadada, enquanto o grupo V apresentou 5,20% de coloração roxa. Observou-se para a variável profundidade do sinus proporção de 1,25% para a profundidade média e 98,75% para profunda para as progênies em estudo. Os grupos I, II, III e V apresentaram 100% de profundidade do sinus do tipo profunda, enquanto o grupo IV apresentou 7% de profundidade do tipo rasa. Para a variável posição dos nectários todos os grupos apresentaram os nectários posicionados adjacentes ao limbo foliar. O conhecimento dessas características é de fundamental importância em programas de melhoramento de plantas, pois mesmo não se tratando de variáveis de interesse econômico, oferecem subsídios para uma melhor caracterização e posterior conservação da espécie.

Tabela 1: Variáveis e número de progênies por grupo de características qualitativas em cada um dos cinco grupos (G1, G2, G3, G4 e G5), formados pela estratégia Ward-MLM.

Variáveis	Grupos				
	G1 (26)	G2 (5)	G3 (15)	G4 (16)	G5 (19)
Coloração do ramo					
Verde arroxeadada	26	5	15	15	18
Roxa	-	-	-	-	1
Profundidade do sinus					
Média	-	-	-	1	-
Profunda	26	5	15	14	19
Posição dos nectários					
Adjacentes ao limbo foliar	26	5	15	15	19
Coloração da casca					
Amarela	25	5	15	15	19
Amarelo-arroxeadada	1	-	-	-	-
Coloração da polpa					
Amarelo-claro	-	-	-	1	-
Amarela	7	1	5	6	6
Ouro	17	4	10	8	13
Laranja-claro	2	-	-	-	-

Em relação à coloração da casca dos frutos os grupos II, III, IV e V apresentaram progênies com a casca dos frutos de coloração 100% amarela, enquanto no grupo I observaram-se progênies com aproximadamente 4% da casca dos frutos de coloração amarelo-arroxeadada. O uso da cor da casca dos frutos como descritor no maracujazeiro tem a finalidade de diferenciar o maracujá amarelo do roxo. No entanto, atualmente, essa distinção não se sustenta, uma vez que a coloração externa do fruto é um caráter de herança complexa, existindo, por isso, várias cores intermediárias (Bernacci et al., 2008).

Dentre os descritores qualitativos apresentados observou-se na coloração da polpa a maior variação entre as progênies dentro dos grupos. Para as progênies avaliadas 65% apresentaram a coloração ouro, 31,25% coloração amarela, 2,5% coloração laranja-claro e 1,25% coloração amarelo-claro. A importância do estudo dessa variável justifica-se para a escolha de progênies visando tanto o consumo *in natura* quanto para o processamento industrial.

Com base nos descritores quantitativos detectou-se ampla variação fenotípica entre as progênies avaliadas (Tabela 2). Para os descritores quantitativos relacionados ao limbo foliar e pecíolo foram observados valores

médios de 145,46 a 191,05 mm para CL, 175,02 a 253,65 mm para LL e 45,72 a 80,92 mm para CPE. Do ponto de vista econômico a análise dessas variáveis, isoladamente, tem pouca importância para estudo. No entanto oferecem informações para uma melhor caracterização e posterior conservação da espécie.

Para os descritores quantitativos avaliados na parte floral foi observado que o grupo IV reuniu as progênies de maior valor para a maioria das características. Dentre as variáveis avaliadas chama-se atenção para CA, que apresentou valores médios de 10,09 a 13,03 mm nas progênies avaliadas. A avaliação do CA justifica-se pelo fato de estar diretamente ligada à polinização, que por sua vez, está relacionada com a produção.

Com relação aos descritores quantitativos avaliados no fruto foram observados para a variável MF valores médios de 94,06 a 292,43 g. Para essa variável Krause et al. (2012) observaram valores médios de 132,5 a 178,8 g avaliando a resposta de cinco cultivares comerciais de maracujazeiro-azedo cultivadas no Estado do Mato Grosso. O estudo dessa variável faz-se necessário, já que os frutos de maior massa são também os de maior tamanho, e estes, por sua vez, são mais atrativos ao consumidor.

Já para as variáveis DLF e DTF foram observados valores médios de 37,87 a 98,75 mm e 65,89 a 90,60 mm, respectivamente. A relação entre essas duas variáveis é bastante representativa, pois indica o formato do fruto, e quanto mais próximo de 1, mais redondo, sendo uma característica desejável, uma vez que os frutos do maracujazeiro são classificados comercialmente em relação à medida de seu diâmetro (Krause et al., 2012). Para a variável MPL observaram-se valores médios de 29,2 a 151,01 g. A massa de polpa é uma das características físicas de maior importância econômica, pois é a parte do fruto mais consumida e, por esse motivo, desperta maior interesse comercial.

Para a variável EC foi observada uma amplitude de 4,59 a 12,10 mm. A redução da espessura da casca dos frutos, aliada a outras características desejáveis no maracujá-azedo torna-se necessária nos programas de melhoramento genético, pois na busca de selecionar genótipos com menor espessura de casca, há uma tendência de esses frutos indicarem maior quantidade de polpa. Para a variável SST observou-se uma amplitude de 11,2 a 17,3 °Brix. A determinação de SST é uma das formas utilizadas para a avaliação do sabor dos frutos, além de indicar a quantidade dos sólidos dissolvidos na

polpa, sendo desejáveis altos teores para a indústria. Medeiros et al. (2009), avaliando frutos de maracujá-azedo, observaram para as variáveis SST e EC, avaliadas em diferentes meses, que os valores médios obtidos diminuíram de uma análise para a outra, todas com diferença significativa, tal fato pode ser atribuído às diferenças climáticas ocorridas na época.

Tabela 2: Médias das variáveis quantitativas para cada um dos cinco grupos formados pelo método Ward-MLM e os coeficientes das variáveis quantitativas em relação às duas primeiras variáveis canônicas.

Variáveis ¹	Grupos					CAN	
	G1(26)	G2(5)	G3(15)	G4(16)	G5(19)	CAN1	CAN2
CL	168,50	175,68	164,49	164,04	160,55	0,01	0,46
LL	222,25	239,43	209,48	201,80	200,52	-0,06	0,71
CPE	64,33	68,44	60,10	57,41	59,64	-0,04	0,51
DF	78,52	79,20	77,95	82,40	81,26	0,32	-0,31
DC	65,86	67,42	66,91	71,45	68,67	0,24	-0,36
CS	33,94	33,02	32,17	34,91	34,93	0,48	-0,17
LS	13,10	12,55	11,99	12,95	12,86	0,29	0,12
CP	32,91	32,72	32,85	36,30	34,29	0,37	0,43
LP	10,07	10,45	9,54	10,75	10,93	0,38	-0,20
CB	26,88	27,09	26,401	28,35	25,83	0,13	-0,01
CPD	51,23	45,55	50,07	55,46	57,33	0,17	-0,29
CA	12,14	11,31	11,11	11,89	11,94	0,39	0,16
MF	187,89	210,27	149,63	220,55	172,10	0,62	0,09
DLF	85,19	92,00	77,04	100,27	84,72	0,39	-0,09
DTF	79,20	81,16	71,20	80,57	76,16	0,66	0,32
MPL	76,40	89,38	63,20	93,945	67,47	0,47	0,05
EC	8,20	7,74	7,98	8,25	8,07	0,06	-0,02
SST	14,26	15,39	13,79	15,50	14,60	0,41	-0,12

^{1/}CL: comprimento do limbo, em mm; LL: largura do limbo, em mm; CPE: comprimento do pecíolo, em mm; DF: diâmetro da flor, em mm; DC: diâmetro da coroa, em mm; CS: comprimento da sépala, em mm; LS: largura da sépala, em mm; CP: comprimento da pétala, em mm; LP: largura da pétala, em mm; CB: comprimento da bráctea, em mm; CPD: comprimento do pedúnculo, em mm; CA: comprimento do androginóforo, em mm; MF: massa do fruto em gramas; DLF: diâmetro longitudinal do fruto, em mm; DTF: diâmetro transversal do fruto, em mm; MPL: massa da polpa em gramas; EC: espessura da casca, em mm; SST: teor de sólidos solúveis totais, em °Brix.

As maiores distâncias foram observadas pelos grupos III e IV (61,72) e II e III (43,39) (Tabela 3). Esse distanciamento do grupo III com os demais grupos pode ser um indicativo de possíveis cruzamentos, visando exploração da heterose, objetivando a piramidização de alelos favoráveis para as características de interesse.

Uma estratégia interessante para a produção de sementes de maracujazeiro, neste caso, seria a produção de híbridos. Tal estratégia é favorecida por tratar-se de progênies que estão submetidas a um programa de seleção recorrente intrapopulacional e, em terceiro ciclo, ou seja, já estão em um elevado nível de recombinação, mas com variabilidade genética suficiente. Essa estratégia mencionada promoveria aos produtores híbridos produtivos e adaptados à região em apreço, fortalecendo o cultivo da fruteira no Estado.

Vivas et al. (2012), avaliando a resistência de acessos de mamoeiro dos grupos heteróticos 'Formosa' e 'Solo' a pinta-preta em folhas, observaram efeito de heterose para todos os híbridos provenientes dos cruzamentos entre os genitores do grupo 'Solo'. Este resultado foi em função do maior distanciamento genético entre os genitores do grupo 'Solo', uma vez que a manifestação da heterose dá-se pela divergência genética entre os genitores.

Tabela 3: Distância entre grupos formados pelo procedimento WARD-MLM, proposto por Franco et al. (1998).

Grupos	I	II	III	IV
II	8,22			
III	31,26	43,38		
IV	18,45	24,01	61,72	
V	7,54	20,09	29,15	11,70

Na análise baseada nas variáveis canônicas (VC) foi verificado que as duas primeiras variáveis foram responsáveis por 89,75%, sendo VC1 responsável por 68,54% e VC2 por 21,21% (Figura 1). 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 I, II, IV e V.

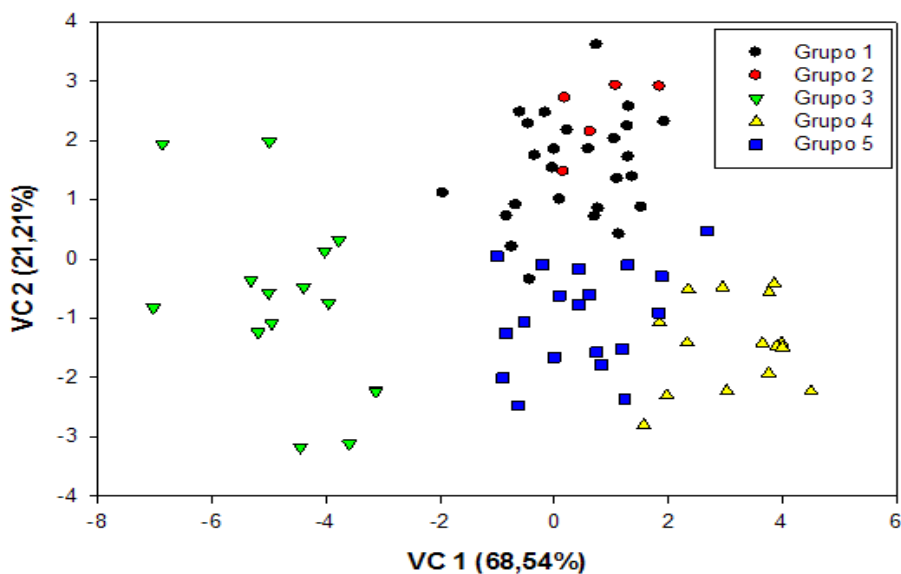


Figura 1. Gráfico das duas primeiras variáveis canônicas para os cinco grupos formados pela análise Ward-MLM.

3.1.4 CONCLUSÕES

Há variabilidade genética entre as progênes de maracujazeiro estudadas considerando as variáveis avaliadas, o que possibilita a composição de grupos heteróticos como forma de direcionamento de novos cruzamentos e avanço genético.

O procedimento estatístico Ward-MLM e variáveis canônicas consistiram em uma ferramenta útil para detectar divergência genética e agrupar os acessos utilizando simultaneamente variáveis qualitativas e quantitativas.

Este estudo forneceu informações úteis, possibilitando delinear os rumos do programa de melhoramento genético do maracujazeiro em desenvolvimento.

3.2 PREDIÇÃO DE GANHOS GENÉTICOS POR ÍNDICES DE SELEÇÃO E MÉTODO REML/BLUP EM UMA POPULAÇÃO DE MARACUJAZEIRO-AZEDO SOB SELEÇÃO RECORRENTE

3.2.1. INTRODUÇÃO

O maracujazeiro é uma espécie frutífera de cultivo relativamente recente no Brasil. A cultura tem adquirido importância, notadamente, a partir das três últimas décadas e, atualmente, coloca o país em situação de destaque no cenário mundial, como o principal produtor (Cerqueira-Silva, 2014).

O melhoramento genético do maracujazeiro trouxe avanços significativos em relação à produtividade, qualidade de frutos, resistência e tolerância às doenças e pragas importantes da cultura (Gonçalves et al., 2007). Ainda assim, devido à importância econômica e social do maracujazeiro, os programas de melhoramento genético devem aprimorar suas pesquisas visando o desenvolvimento de novas cultivares.

O objetivo básico de um programa de melhoramento é garantir o aumento da produtividade e da qualidade a cada ciclo de seleção, sem com isso, comprometer a variabilidade genética da população. Nos trabalhos de melhoramento, a seleção é uma ferramenta de considerável importância, pois a obtenção de fenótipos superiores passa pela seleção e recombinação de famílias e indivíduos (Martins et al., 2006).

No entanto, a seleção baseada em uma ou poucas características pode se mostrar inadequada por não levar a um produto final superior com relação a vários caracteres. Uma alternativa seria a adoção da teoria de índices de seleção, que permite gerar um agregado genotípico sobre o qual se exerce a seleção, funcionando como caráter adicional, resultante da combinação de determinadas características escolhidas pelo melhorista, nas quais se deseja exercer a seleção simultânea, permitindo separar genótipos superiores, independentemente da existência ou não de correlações entre características (Smith, 1936; Hazel, 1943; Williams, 1962; Cruz e Regazzi, 2001; Vilarinho et al., 2003).

Segundo Cruz e Regazzi (2001), muitos índices de seleção estão disponíveis na literatura. Entre eles, podem-se citar: índice clássico (Smith, 1936; Hazel, 1943), índice de ganhos desejados (Pesek e Baker, 1969), índice base (Williams, 1962), soma de postos ou “*ranks*” (Mulamba e Mock, 1978), índice livre de pesos e parâmetros (Elston, 1963) e índice multiplicativo (Subandi et al., 1973).

No entanto, uma alternativa a ser empregada na construção de índices e que pode resultar em um processo de seleção mais acurado é o emprego de componentes de variância estimados por máxima verossimilhança restrita (REML) e valores genéticos ou genotípicos preditos pelo melhor preditor linear não viciado (BLUP) (Resende, 2002).

O objetivo deste trabalho foi comparar quatro índices de seleção e o método REML/Blup na avaliação de ganhos genéticos preditos das características de interesse ao programa de melhoramento do maracujazeiro da UENF.

3.2.2. REVISÃO

3.2.2.1. Melhoramento do maracujazeiro no Brasil

Para corrigir os fatores limitantes do maracujazeiro, como a baixa produtividade, o melhoramento genético torna-se necessário, visando principalmente à obtenção de populações, híbridos e/ou cultivares mais produtivas e resistentes a maioria das pragas e doenças (Silva, 2009).

Dentre as instituições públicas que trabalham com o melhoramento do maracujazeiro podemos citar: Universidade Federal de Viçosa – UFV; Universidade Estadual do Oeste da Bahia – UESB; Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC; Universidade Estadual do Mato Grosso – UNEMAT; Universidade Estadual Paulista – UNESP; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, e Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, dentre outras.

O melhoramento do maracujazeiro relaciona-se diretamente ao fruto, focalizando três pontos principais: melhoramento visando atender as exigências do mercado “qualidade”, aumento na produtividade e resistência a doenças (Viana e Gonçalves, 2005).

Do ponto de vista econômico, é altamente positivo o aumento da produtividade do maracujazeiro e da qualidade do fruto, pois o lucro está estreitamente relacionado com essas variáveis (Silva, 2009). O peso dos frutos é uma das características mais importantes a serem melhoradas, cuja seleção pode contribuir para um rápido incremento na produtividade da cultura.

Bruckner et al. (2002) ressaltam que o melhoramento para qualidade do fruto deve direcionar seus objetivos para o mercado ao qual o fruto se destina, ou seja, para o mercado *in natura* ou para a industrialização. Atualmente, considera-se que uma variedade desenvolvida para o mercado *in natura* deve apresentar frutos grandes e ovais, a fim de conseguir boa classificação comercial, possuindo boa aparência, ser resistente ao transporte e à perda de qualidade durante o armazenamento e comercialização. Se desenvolvido para a industrialização, precisa ter maior rendimento de suco, mais acidez, coloração constante e alto teor de sólidos solúveis (Oliveira et al., 1994).

O desenvolvimento de variedades resistentes a doenças é básico para todas as culturas agrícolas visando: diminuir custos de produção, garantir a segurança dos trabalhadores agrícolas, de consumidores e uma qualidade mercadológica, além da preservação do ambiente e a sustentabilidade do agronegócio (Quirino, 1998). No caso do maracujá, Junqueira et al. (2003) ressaltam que tal estratégia é ainda mais necessária considerando a alta susceptibilidade das atuais cultivares à virose do endurecimento dos frutos, antracnose, septoriose, verrugose e bacteriose.

Sendo assim, estudos referentes ao manejo fitossanitário da cultura, envolvendo o controle integrado de pragas e doenças, a obtenção de variedades resistentes e até mesmo pesquisas básicas referentes à etiologia de novas doenças são desafios para aqueles que vêm se dedicando às pesquisas com o maracujazeiro.

Para a obtenção de sucesso em um programa de melhoramento, a escolha do germoplasma é etapa essencial. As características do germoplasma determinarão o potencial máximo ao qual a população submetida ao melhoramento pode chegar, e os métodos de melhoramento o quanto do potencial máximo será alcançado (Hallauer e Miranda Filho, 1988).

Sendo o maracujazeiro uma planta alógama, é possível aplicar vários métodos de melhoramento, seja via aumento da frequência de genes favoráveis, seja pela exploração do vigor híbrido (Bruckner, 1997). A seleção recorrente, estratégia utilizada no programa de melhoramento de maracujazeiro em questão, visa aumentar gradativamente a frequência de alelos favoráveis para características de interesse, por meio de repetidos ciclos de seleção, sem redução da variabilidade genética da população (Hallauer e Carena, 2009; Freitas Júnior et al., 2009; Hallauer et al., 2010).

O reduzido número de cultivares e híbridos comerciais disponíveis dificulta o acesso do produtor a material propagativo de alta qualidade agrônômica (Lima, 2005; Gonçalves et al., 2007). Nesse sentido, é de suma importância o aprimoramento dos trabalhos de melhoramento genético, nessa cultura, para acelerar o desenvolvimento de novas cultivares (Bruckner et al., 2002; Viana e Gonçalves, 2005; Gonçalves et al., 2007).

A utilização de medidas que visem o desenvolvimento de variedades produtivas, que possuam frutos uniformes, elevado teor de sólidos solúveis e resistência/tolerância às principais pragas e doenças, poderão contribuir, certamente, para garantir uma oferta constante de produtos no mercado e maior interesse pela cultura por parte dos vários setores do agronegócio brasileiro.

Com essa perspectiva, o melhoramento genético do maracujazeiro, em muito, pode vir para contribuir para o aumento da produtividade e qualidade dos frutos (Reis, 2010).

3.2.2.2. Índices de seleção e aplicação no melhoramento do maracujazeiro

Os programas de melhoramento vegetal têm como objetivo a seleção de cultivares que aliem alto rendimento a outros caracteres desejáveis pelos agricultores e/ou consumidores. Assim, é necessária uma escolha adequada dos índices de seleção para múltiplas características, buscando maximizar o ganho genético.

Empregam-se tais índices para obter valores agregados de maior confiabilidade, de forma que, usando-os, obtenha-se melhoria do valor genotípico populacional (Garcia e Souza Junior, 1999). Entretanto, um caráter somente não é um critério adequado para representar o mérito econômico de uma planta, uma vez que a seleção baseada no mesmo pode conduzir ao desenvolvimento de tipos economicamente insatisfatórios, seja pela não consideração de outros caracteres de importância econômica ou pelas respostas correlacionadas negativas ocasionadas em outros caracteres (Resende et al., 1990).

O uso de índices de seleção constitui-se em um caráter adicional, estabelecido pela combinação ótima das várias características analisadas, o que permite que se realize com eficiência a seleção simultânea em vários caracteres, e conseqüentemente a classificação correta dos genótipos (Cruz et al., 2004).

Variadas alternativas são representadas por diferentes índices de seleção nos programas de melhoramento das culturas, e conseqüentemente, de ganhos percentuais, dentre os mais utilizados estão: Pesek e Baker (1969), Smith (1936) e Hazel (1943), Willians (1962), e Mulamba e Mock (1978).

Pesek e Baker (1969) sugeriram o uso de 'ganhos genéticos desejados' de características individuais, num programa de seleção, para substituir os pesos econômicos relativos no cálculo dos índices de seleção. Para se usar a modificação proposta, necessita-se da matriz de variância e covariância genética e o vetor dos 'ganhos genéticos desejados' para as características. Assim, é possível calcular os coeficientes dos índices sem designar pesos econômicos relativos para as características, como requer a teoria convencional de índice de seleção. Dessa forma, o índice obtido resultará em um ganho máximo para cada característica, de acordo com a importância relativa assumida pelo melhorista na especificação do ganho desejado, sujeito às restrições impostas pela constituição fenotípica e genotípica da população original (Tardin, 2006).

Smith (1936) propôs o uso de índice de seleção nos programas de melhoramento de plantas como critério de seleção. Hazel (1943) adaptou esse procedimento ao melhoramento animal. De acordo com esses autores, para o estabelecimento do índice de seleção é necessário determinar o valor econômico relativo de cada característica, bem como, obter as estimativas das variâncias genotípicas e fenotípicas e das covariâncias fenotípicas e genotípicas entre cada par de características. Este índice de seleção, por ter sido um dos primeiros a ser utilizado, ficou propalado como Índice Clássico.

Williams (1962) propôs o índice base de seleção, no qual a combinação linear dos caracteres em seleção é feita pela ponderação direta dos valores fenotípicos com os respectivos pesos econômicos, objetivando evitar a interferência de imprecisões das matrizes de covariâncias fenotípicas e genotípicas, na estimação dos coeficientes que constituem o índice (Tardin, 2006).

Mulamba e Mock (1978) desenvolveram um índice no qual se efetua a soma do número de ordem que o genótipo apresenta para cada caráter mensurado; quanto menor o valor obtido, melhor a classificação (Garcia e Souza Junior, 1999). O índice da 'soma de postos', como é conhecido, apresenta a vantagem de não necessitar de pesos econômicos nem da estimação de parâmetros além das médias. Esse índice é obtido após o ordenamento dos genótipos quanto ao caráter avaliado no sentido desejado, e posterior somatório das suas classificações.

Apesar da enfatizada potencialidade dos índices de seleção no melhoramento de plantas (Cruz e Regazzi, 2001) em maracujazeiro, apenas mais recentemente alguns trabalhos foram empregados à metodologia, como, por exemplo, em Gonçalves et al. (2007), Oliveira et al. (2008), Neves et al. (2011), Freitas et al. (2012); Silva e Viana (2012).

Gonçalves et al. (2007) obtiveram o melhor ganho genotípico utilizando o índice de Mulamba e Mock (1978), em uma população de maracujá amarelo, estruturada no Delineamento I.

Silva e Viana (2012), objetivando selecionar progênies de irmãos-completos de maracujazeiro-azedo para características de interesse comercial, recomendaram o emprego do índice de Mulamba e Mock (1978) para a seleção

quando comparado com os índices paramétricos de Smith (1936) e Hazel (1943), e Pesek e Baker (1969).

Neves et al. (2011) objetivaram comparar os ganhos preditos obtidos com a seleção simultânea de caracteres utilizando vários índices de seleção nas diferentes características de frutos de maracujá-azedo no Estado do Mato Grosso. Os autores observaram que os índices Smith (1936) e Hazel (1943), Pesek e Baker (1969), Williams (1962), e Mulamba e Mock (1978) foram superiores, pois proporcionam ganhos totais satisfatórios a partir da análise genotípica e fenotípica.

3.2.2.3. Metodologia dos modelos mistos no melhoramento de plantas

A metodologia dos modelos mistos foi primeiramente proposta por Henderson (1949) para ser utilizada na avaliação genética de animais. Um modelo é considerado misto quando possui um ou mais efeitos fixos, além da média geral, e um ou mais efeitos aleatórios, além do erro experimental.

De acordo com Resende (2000) as técnicas de avaliação genética no melhoramento de plantas desempenham papel fundamental, porquanto permitem a predição dos valores genéticos aditivos e genotípicos dos candidatos à seleção, propiciando uma seleção mais acurada.

O modelo misto possibilita modelar, simultaneamente, os efeitos fixos e aleatórios. Assim, é possível obter estimativas para os efeitos fixos e predições para os efeitos aleatórios. A avaliação genética com base em modelos mistos do tipo REML/BLUP (máxima verossimilhança restrita/ melhor predição linear não-viesada) tem merecido atenção especial dos pesquisadores por apresentar potencial para progressos genéticos de maior relevância e grande acurácia no processo seletivo (Freitas et al., 2013).

Mais recentemente, no caso de espécies frutíferas, diversos modelos de estimação podem ser utilizados gerando uma quantidade de informações relevantes para as diversas espécies frutíferas com diferentes sistemas de reprodução conforme descrito em Viana e Resende (2014).

A seleção de indivíduos ou progênies de uma população pode ser fenotípica, quando o valor fenotípico do caráter é o referencial, ou genotípica quando baseada nos valores genéticos desses indivíduos. Valores genéticos

aditivos são efeitos aleatórios (Ferreira, 2009). Estes podem ser obtidos pelo procedimento BLUP, que estima os efeitos fixos (médias de blocos) pelo método dos mínimos quadrados generalizados, considerando as variâncias, sendo esta a razão da maior acuidade. Ao mesmo tempo, o procedimento prediz os valores dos efeitos genéticos aleatórios e dos efeitos aleatórios não correlacionados incluídos no modelo (Resende, 2002). O método REML possui propriedades estatísticas superiores quando comparadas àquelas do método dos mínimos quadrados, para a estimação dos parâmetros genéticos com dados não balanceados (Searle et al. 1992).

Os procedimentos analíticos dos modelos mistos têm ganhado ampla aplicação no melhoramento de plantas, em especial, de espécies florestais. Para essas espécies, tem-se o relato de trabalhos com o eucalipto, visando à estimação dos valores genéticos e seleção entre e dentro de progênies de meios-irmãos (Rocha et al., 2007). A metodologia também tem sido recentemente usada no melhoramento de fruteiras para a seleção de progênies e/ou indivíduos em goiabeira (Quintal, 2013), pequiheiro (Giordani et al., 2012), pessegueiro (Bruna et al., 2012), açaizeiro (Farias Neto et al., 2011) e coqueiro (Farias Neto et al., 2009). Para a cultura do maracujazeiro, os trabalhos são escassos. Recentemente, Santos et al. (2015) objetivaram estimar via REML/BLUP parâmetros genéticos e valores genotípicos em uma população segregante composta de 118 indivíduos resultantes de cruzamentos interespecíficos no gênero *Passiflora*. Os autores observaram que a análise via metodologia REML/BLUP mostrou-se adequada para predição de ganhos e com boas perspectivas de avanço genético.

3.2.3. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.3.1. População de estudo

Foram avaliadas 81 progênies de irmãos-completos pertencentes ao terceiro ciclo de seleção recorrente do maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims) da UENF. Essas progênies foram obtidas a partir de um dialelo parcial de

27 parentais (progênes de meios-irmãos) selecionadas por Silva (2009) via índice de seleção Mulamba e Mock (1978).

3.2.3.2. Descrição do experimento

O estudo foi conduzido entre 2011-2013, na Unidade Experimental da UENF em Itaocara – Ilha Barra do Pomba (21°40' S, 42°04' W e altitude de 76 m), região Noroeste Fluminense. Durante o período experimental a temperatura anual média foi 22,5°C e a precipitação média foi 1.041mm. O solo da área experimental foi classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo (Embrapa, 2006).

Em condições de casa de vegetação, sementes (quatro/tubete) de cada progênie foram germinadas em substrato, marca Plantmax®. Posteriormente, as mudas foram desbastadas mantendo somente uma por tubete, e levadas ao campo 65 dias após a emergência.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos completos casualizados (DBC), com duas repetições e parcelas constituídas por cinco plantas. O sistema de condução foi de espaldeira vertical, com mourões de eucalipto tratados de 1,8 m de altura, espaçados de 4 metros e com um fio de arame número 12. A distância entre linhas de plantio foi de 3,5m e entre plantas 2m.

Todas as plantas receberam os tratos culturais recomendados para a cultura, como a condução da planta, controle das plantas daninhas, pragas e doenças (Viana et al. 2003). Um sistema de irrigação por gotejamento diário foi utilizado durante o período seco. As mudas foram fertilizadas mensalmente com 22,5g de ureia e 45g de cloreto de potássio por planta. Em adição, 100g de calcário e 200g de superfosfato simples foram aplicados em cada planta durante o plantio.

3.2.3.3. Características avaliadas

As progênes foram fenotipadas para as seguintes características: número de frutos (NF): obtido pela contagem do número de frutos totais em cada parcela; produção total (PT) em kg por parcela, realizando-se colheitas semanais, com posterior pesagem dos frutos; massa do fruto (MF), em gramas, obtida por meio

da média aritmética de massa de 15 frutos amostrados por parcela, com o auxílio de uma balança digital; diâmetro longitudinal do fruto (DLF), em mm, obtido por meio de medidas das dimensões longitudinais dos frutos com paquímetro digital, amostrando 15 frutos por parcela; diâmetro transversal do fruto (DTF), em mm, obtido por meio de medida da dimensão transversal dos frutos com paquímetro digital, amostrando 15 frutos por parcela; porcentagem de polpa do fruto (PP), obtida pela razão entre a massa de polpa e massa total do fruto, amostrando 15 frutos por parcela; espessura da casca (EC), em mm, determinada na porção mediana dos frutos (cortados transversalmente, no sentido de maior diâmetro), com utilização de paquímetro digital, utilizando amostras de 15 frutos por parcela; teor de sólidos solúveis totais (SST), em °Brix, obtido por refratometria utilizando-se refratômetro digital portátil ATAGO N1, com leitura na faixa de 0 a 32° graus de Brix. As leituras foram feitas em alíquotas de suco da polpa em amostras de 15 frutos.

3.2.3.4. Análise dos dados

Foram testados os índices de seleção de Smith (1936), Hazel (1943), Williams (1962) Pesek e Baker (1969) e Mulamba e Mock (1978) para seleção das 25 progênes superiores. Nas análises computacionais, foram atribuídos pesos econômicos, por tentativas, para cada característica analisada, de acordo com sua relevância. A seleção das progênes superiores com base em índices de seleção foi realizada com uso dos recursos computacionais do programa Genes (Cruz, 2013).

Para as avaliações dos modelos mistos foi utilizado o *software* Selegen-REML/BLUP (Resende, 2002), para o modelo considerando o delineamento em blocos casualizados em um local e uma safra. Conforme o modelo a seguir:

$$Y = Xr + Zg + Wp + \varepsilon,$$

Em que Y é o vetor de valores fenotípicos; r é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral; g é o vetor de valores genotípicos individuais (assumidos como aleatórios); p é o vetor dos efeitos de parcela (assumidos como aleatórios); ε é o vetor de erros ou resíduos

(aleatórios). As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos. As distribuições e estruturas de variância associadas aos termos do modelo foram:

$$\begin{aligned}
 y|b, V &\sim N(Xb, V) \\
 g | I\sigma_g^2 &\sim N(0, I\sigma_g^2) \\
 p | \sigma_p^2 &\sim N(0, I\sigma_p^2) \\
 \varepsilon | \sigma_\varepsilon^2 &\sim N(0, I\sigma_\varepsilon^2) \\
 V &= Z \sigma_g^2 Z' + W I \sigma_p^2 W' + I \sigma_\varepsilon^2
 \end{aligned}$$

Os valores genéticos de cada progênie foram obtidos pela soma de cada efeito genotípico (g) à média geral do experimento (μ). O ganho genético equivale à média dos vetores dos efeitos genéticos preditos para as progênies selecionadas. A média geral somada ao ganho genético resulta na média da população melhorada.

O índice de coincidência foi obtido por meio da relação entre o dobro do número de progênies, em que ambos os índices de seleção coincidem, e a soma do número total de progênies que contém o índice de seleção A mais o número total de progênies que contém a índice de seleção B (Pedrozo et al., 2009; Freitas et al., 2013).

3.2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 4 contém as estimativas dos ganhos percentuais preditos para o índice de seleção de Pesek e Baker (1969), índice de seleção de Smith (1936) e Hazel (1943), índice de seleção clássico de Mulamba e Mock (1978), índice proposto por Williams (1962) e o método REML/BLUP.

Tabela 4. Estimativas dos ganhos percentuais com base no diferencial de seleção, por seleção simultânea em oito características, no terceiro ciclo de seleção recorrente intrapopulacional, em progênies de irmãos-completos de maracujazeiro.

Variáveis ⁽¹⁾	Índices de seleção				REML/BLUP
	Pesek e	Smith e	Mulamba e	Williams	
	Baker	Hazel	Mock		
NF	- 0,26	28,00	22,35	28,02	77,98
PT	1,72	10,54	10,15	13,02	19.26
MF	- 1,89	1,69	0,69	1,94	25.22
DLF	- 1,17	- 0,48	0,18	0,27	23.85
DTF	0,79	1,44	0,54	1,43	20.65
PP	0,69	- 0,47	3,11	- 0,86	19.40
EC	- 1,80	0,55	- 4,08	0,29	0.00
SST	0,52	- 0,24	0,84	0,43	19.71

⁽¹⁾NF: número de frutos; PT: produção total; MF: massa do fruto; DTF: diâmetro transversal do fruto; DLF: diâmetro longitudinal do fruto; PP: porcentagem de polpa; EC: espessura da casca; SST: teor de sólidos solúveis totais.

O índice de Pesek e Baker (1969) resultou em ganhos indesejáveis para as características NF, MF e DLF, de -0.26%, -1.89% e -1.17%, respectivamente (Tabela 4), portanto, não deve ser indicado. Gonçalves et al. (2007) avaliaram seis características produtivas de uma população de maracujazeiro amarelo, estruturada no Delineamento I em dois locais: Viçosa-MG e Miracema-RJ e observaram que o índice de Pesek e Baker (1969) foi o que apresentou maior ganho para a característica número de frutos por planta, diferente dos resultados observados neste estudo. Em um programa de melhoramento genético de maracujazeiro buscam-se plantas com maior número de frutos, sendo esses frutos de maior massa e maior tamanho, características estas que atendem ao mercado consumidor. No entanto, vale ressaltar no índice de Pesek e Baker (1969) para o ganho desejável na característica EC, uma vez que frutos de menor espessura de casca tendem a possuir maior quantidade de polpa.

O índice de Smith (1936) e Hazel (1943) estimou ganhos genéticos para as características NF e PT, de 28,00% e 10,54%, respectivamente. Embora tenha ocorrido ganho positivo para MF, este foi baixo (1,69%). No entanto, ganhos indesejáveis foram observados para as características DLF (-0,48%), PP (-0,47%), EC (0,55%) e SST (-0,24%), não sendo, portanto, indicado para a

seleção de progênies na referida população, já que foram observados ganhos indesejáveis para a maioria das características de interesse econômico. Resultados semelhantes aos obtidos neste estudo foram observados por Gonçalves et al. (2007). Os autores verificaram que o índice de Smith (1936) e Hazel (1943) foi o que apresentou o menor ganho predito nas diversas alternativas, tendo resultado em ganhos insatisfatórios, quando comparado aos outros índices testados.

Os ganhos genéticos preditos pelo índice de Mulamba e Mock (1978) foram satisfatórios para todas as características avaliadas. Para NF, PT, PP e EC foram observados ganhos genéticos de 22,35%, 10,15%, 3,11% e -4,08%, respectivamente. Ao analisar diversos índices de seleção em uma população de maracujá-azedo estruturada no delineamento I, Gonçalves et al. (2007) indicaram o índice de seleção de Mulamba e Mock (1978), pois este possibilitou maior ganho genotípico predito, sendo considerado promissor no processo de seleção de progênies superiores. Silva (2009), em um ciclo de seleção recorrente anterior da população avaliada no presente trabalho, observaram ao utilizar o índice de Mulamba e Mock (1978), ganhos genéticos preditos de 1,03% para número de frutos, 3,18% para peso de fruto, 0,47% para comprimento de fruto, 1,36% para largura de fruto e 0,65% para espessura de casca. Os resultados obtidos pelos autores a cima citados, nos ciclos de seleção recorrente anteriores ao deste estudo, permitem concluir que houve aumento nos ganhos com o avanço do ciclo de seleção recorrente para as principais características do maracujazeiro-azedo indicando que o método de seleção adotado tem sido satisfatório. Freitas et al. (2012), utilizando o índice de Mulamba e Mock (1978), para o maracujazeiro-azedo, observaram ganhos simultâneos satisfatórios em produtividade, massa de frutos, rendimento de polpa e teor de sólidos solúveis totais e redução na severidade das doenças.

O índice de Williams (1962) possibilitou ganhos genéticos satisfatórios para as características NF, PT e MF, de 28,02%, 13,02% e 1,94%, respectivamente. Estes ganhos foram inclusive superiores aos obtidos pelo índice de Mulamba e Mock (1978). No entanto, para PP e EC a seleção simultânea não foi satisfatória por apresentar ganhos de -0,86% e 0,29%, respectivamente. Estes resultados permitem afirmar que o índice de Williams (1962) pode ser utilizado para a seleção de progênies na referida população para NF, PT e MF, todavia deve ser

levado em consideração pelo melhorista os ganhos indesejáveis para as características de interesse PP e EC. Para as variáveis DLF (0,27%), DTF (1,43%) e SST (0,43%), foram observados ganhos positivos, no entanto, esses foram baixos. Ao analisar a viabilidade do uso do índice de Williams (1962) em maracujazeiro-azedo, Neves et al. (2011) concluíram que o índice possibilitou a seleção de 35 famílias com ganhos em produtividade e peso de polpa, diferente do observado neste trabalho.

O método REML/BLUP, quando comparado aos índices de seleção estudados, possibilitou ganhos preditos superiores para todas as características avaliadas, exceto EC. Os maiores ganhos preditos foram observados para as características NF (77,98%) e MF (25,22%), o que é desejável para o programa de melhoramento. A diferença das estimativas de ganho do REML/BLUP em relação aos índices de seleção abordados pode ser devido ao método REML/BLUP utilizar como vetor de soluções, os efeitos genotípicos preditos, as matrizes de coeficientes de parentesco, assim como os ganhos de seleção para cada família. A correção dos valores para os efeitos ambientais prediz de maneira precisa e não viciada os valores genotípicos, e conduz à maximização do ganho genético com a seleção (Resende e Sturion, 2001; Rodrigues et al., 2013; Freitas et al., 2013). O resultado observado no presente trabalho permite indicar o método REML/BLUP para a recombinação das progênes superiores nos ciclos subsequentes.

Santos (2013) avaliou híbridos de *Passiflora* quanto às principais características pelo método REML/BLUP e identificou genótipos superiores obtidos de cruzamento interespecífico entre *P. edulis* e *P. setacea*, para o avanço de geração no programa de melhoramento genético do maracujazeiro-azedo visando resistência ao *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). Utilizando a metodologia REML/BLUP, Oliveira et al. (2012), avaliaram populações segregantes F₂ de mamão e verificaram altos valores de herdabilidade individual para comprimento e diâmetro do fruto e baixos valores para SST.

Os coeficientes de coincidência das 25 progênes de irmãos-completos selecionadas pelos índices Pesek e Baker (1969), Smith (1936) e Hazel (1943), Mulamba e Mock (1978), Williams (1962), e pelo método REML/BLUP encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5. Coeficientes de coincidência de 25 progênies selecionadas com uso dos índices de seleção e do método REML/BLUP quanto às oito características avaliadas nos frutos de maracujazeiro-azedo provenientes de Itaocara, Noroeste do Estado do Rio de Janeiro.

Índice de seleção	Pesek e Baker	Smith e Hazel	Mulamba e Mock	Williams
Pesek e Baker	-			
Smith e Hazel	0,48	-		
Mulamba e Mock	0,48	0,64	-	
Williams	0,48	0,92	0,64	-
REML/BLUP	0,44	0,60	0,84	0,56

Os coeficientes de coincidência foram baixos, com exceção dos valores observados entre os índices de Smith (1936) e Hazel (1943) e Williams (1962), os quais apresentaram valor 0,92, ou seja, 23 progênies coincidentes, e entre o índice de seleção de Mulamba e Mock (1978) e o método REML/BLUP, os quais apresentaram valor de 0,84, ou 21 progênies coincidentes (Tabela 5). De acordo Pedrozo et al. (2009), quanto maior o coeficiente de coincidência entre dois índices de seleção, maior será a concordância dos resultados de seleção entre eles.

Silva e Viana (2012) avaliaram para a seleção de progênies de maracujá-azedo os índices baseados na soma de *ranks* de Mulamba e Mock (1978) e a distância entre o Genótipo e o Ideótipo (Cruz, 2013), e observaram um coeficiente de coincidência de 0,97. Tal resultado permitiu selecionar, simultaneamente, progênies superiores para as características número de frutos, produtividade total, peso médio de fruto, diâmetro do fruto, comprimento do fruto, largura do fruto e peso de polpa.

De um total de 81 progênies avaliadas, selecionaram-se as 25 melhores para as variáveis NF e MF, por meio do método REML/BLUP, correspondendo a 30,86% das progênies. Os ganhos genéticos foram preditos e as novas médias estimadas foram superiores à média geral em todas as variáveis analisadas (Tabela 6). As 25 progênies selecionadas com uso do método REML/BLUP, para número de frutos, não são as mesmas selecionadas para a característica massa de frutos.

Tabela 6. Ranqueamento e estimativas das 25 progênies superiores de irmãos-completos, dos valores genotípicos previstos (g), dos valores genotípicos ($\mu+g$), da nova média predita (BLUP), quanto às características número (NF) e massa de frutos (MF).

Ranque	Progênie	Número de frutos				Massa dos frutos (g)				
		g	$\mu+g$	Ganho	Média	Nova Progênie	Nova g	$\mu+g$	Ganho	Média
1	26	125,82	430,95	125,82	430,96	69	18,70	186,17	18,70	186,17
2	56	110,97	416,09	118,40	423,53	5	16,08	183,55	17,39	184,86
3	24	83,87	389,00	106,89	412,02	3	15,65	183,12	16,81	184,28
4	70	67,45	372,58	97,03	402,16	8	15,44	182,91	16,47	183,94
5	1	61,20	366,33	89,86	395,00	68	15,27	182,74	16,23	183,70
6	68	59,12	364,25	84,74	389,87	42	14,14	181,61	15,88	183,35
7	19	50,39	355,52	79,83	384,97	47	13,91	181,38	15,60	183,07
8	69	46,48	351,61	75,66	380,80	72	13,78	181,25	15,37	182,84
9	47	46,09	351,22	72,38	377,51	75	12,75	180,22	15,08	182,55
10	34	42,18	347,31	69,36	374,49	51	11,32	178,79	14,71	182,17
11	45	39,31	344,44	66,62	371,76	78	10,45	177,92	14,32	181,79
12	38	33,84	338,97	63,89	369,03	2	9,72	177,18	13,94	181,40
13	16	32,80	337,93	61,50	366,64	41	9,57	177,04	13,60	181,07
14	10	31,89	337,02	59,39	364,52	6	9,11	176,58	13,28	180,75
15	22	31,89	337,02	57,55	362,69	33	9,05	176,52	13,00	180,47
16	23	30,58	335,71	55,87	361,00	7	8,06	175,53	12,69	180,16
17	40	30,32	335,45	54,36	359,50	53	7,69	175,16	12,39	179,86
18	55	29,28	334,41	52,97	358,11	73	6,40	173,87	12,06	179,53
19	50	29,02	334,15	51,71	356,85	1	6,33	173,80	11,76	179,23
20	60	25,89	331,02	50,42	355,55	24	6,05	173,52	11,47	178,94
21	17	25,37	330,50	49,23	354,36	52	5,19	172,66	11,18	178,64
22	11	21,98	327,11	47,99	353,12	44	5,17	172,64	10,90	178,37
23	54	20,81	325,94	46,81	351,94	29	4,82	172,29	10,64	178,11
24	5	19,38	324,51	45,66	350,80	59	4,81	172,28	10,40	177,86
25	9	15,08	320,21	44,44	349,58	48	4,26	171,73	10,15	177,62

Visando identificar progênies promissoras para NF, ou seja, progênies mais produtivas, a melhor ranqueada foi à progênie 26. O ganho predito com a seleção desta progênie foi de 125,82%, com uma média em torno de 431 frutos, e a ranqueada, na 25ª colocação, foi a progênie 9, com um ganho de 44,44%, permitindo um acréscimo de 29,26 na média (Tabela 6). Considerando a importância de selecionar progênies que tenham frutos de maior massa (MF), a melhor ranqueada foi à progênie 69, com ganhos esperados de 18,70% sobre a média geral. A progênie 48 foi classificada em última posição, com ganho estimado de 4,26%.

Os valores genotípicos preditos pelo BLUP correspondem aos valores observados sem o efeito ambiental. Portanto, ao contrário do que ocorre com

espécies de propagação vegetativa, em que todo valor genotípico é capitalizado, espécies alógamas ou de polinização cruzada, em que testes de progênie são realizados, apenas os efeitos aditivos são transmitidos para os descendentes e deverá ser levado em conta no momento da seleção dos genótipos, os quais deverão ser utilizados como genitores nas próximas gerações (Resende, 2002).

O método REML/BLUP mostrou-se mais eficiente do que os índices de seleção, permitindo selecionar progênies com ganhos genéticos preditos promissores para todas as características avaliadas, em especial NF e MF, que são as principais requeridas no programa de maracujazeiro-azedo. Com base nos resultados observados no presente trabalho, o método REML/BLUP foi indicado para a recombinação das progênies superiores nos ciclos de seleção subsequentes.

3.2.5. CONCLUSÕES

Entre os quatro índices de seleção testados, o de Mulamba e Mock e Willians mostraram-se os mais adequados para a seleção de progênies de irmãos-completos na população maracujazeiro-azedo em estudo.

O método REML/BLUP apresenta os melhores ganhos genéticos preditos, em comparação aos obtidos pelos índices de seleção, e é eficiente para seleção de progênies de maracujazeiro-azedo.

3.3. MELHORAMENTO DA ESPÉCIE *Passiflora edulis* Sims: PARÂMETROS GENÉTICOS E ESTRUTURA DA POPULAÇÃO

3.3.1. INTRODUÇÃO

O maracujá é um fruto tropical consumido em todo mundo e com potencial genético ainda subdesenvolvido (Faleiro et al., 2008). A produção do maracujazeiro é concentrada nos trópicos e América do Sul. O Brasil figura no cenário mundial como maior consumidor e produtor do fruto, com cerca de 780 mil toneladas no ano de 2013 (IBGE, 2014). No entanto, a produtividade média nacional em 2013, de 15 ton.ha⁻¹ (IBGE, 2014), foi considerada baixa, principalmente, devido a problemas fitossanitários (Santos et al., 2015) e ao baixo número de cultivares adaptadas.

Existem atualmente não mais que 25 cultivares de *Passiflora edulis* Sims disponíveis no mercado de sementes no Brasil (MAPA, 2014). A respeito da alta demanda, de sua importância econômica e social, além dos benefícios à saúde, o baixo número de cultivares disponível adaptados a diferentes condições edafoclimáticas, é uma barreira para a expansão da produção (Silva et al., 2014).

Pela carência de genótipo adaptado às regiões Norte e Noroeste Fluminense, notou-se a possibilidade de que a população de maracujazeiro-azedo que está sendo conduzida até o momento possa originar uma nova variedade, com grande potencial para uso em plantios comerciais pelos produtores das

regiões em apreço. Atualmente, o programa possui genótipos promissores com avaliação de ensaios de valor de cultivo e uso (VCU), em fase final de análise e descrição de relatório a ser enviado ao MAPA.

A estimação e a compreensão de parâmetros genéticos são importantes para a elucidação da estrutura genética da população de maracujá em estudo, além de permitir uma inferência da variabilidade genética e uma predição de ganhos genéticos em um programa de melhoramento (Laviola et al., 2010). Para aperfeiçoar a seleção e as estratégias de melhoramento, estimativas de parâmetros genéticos, como herdabilidade e correlações genéticas são requeridas (Falconer, 1987).

Baseado na avaliação genética em REML/BLUP, os modelos mistos têm recebido especial atenção de pesquisadores devido ao seu potencial de progresso genético e grande precisão no processo de seleção (Freitas et al., 2013; Viana e Resende, 2014). O procedimento REML/BLUP tem várias propriedades teóricas e aplicações práticas (Resende, 2000) que, ainda, são pouco utilizadas no melhoramento de fruteiras. Um importante elemento para estimar os componentes genéticos é o uso da informação do *pedigree* da população. O conhecimento do *pedigree* é útil para a identificação e compreensão de genes de interesse e o seu papel na variabilidade genética (Marin et al., 2003) como em aspectos, tais como: o controle de parentesco e a endogamia.

A maioria dos experimentos de maracujazeiro, incluindo os ensaios conduzidos na UENF, utiliza o delineamento em blocos casualizados (Viana et al., 2003; Gonçalves et al., 2009a; Silva et al., 2009). Uma alternativa proposta no presente trabalho é a utilização da técnica conhecida como *post-hoc blocking Row-Col*, para a avaliação das variáveis. Trata-se de uma técnica *a posteriori* que consiste na sobreposição de uma estrutura de blocos sobre o desenho do campo original (Gezan et al., 2006), com adição de linhas e colunas, e ajustamento de um modelo linear, de modo que, além dos efeitos de blocos e tratamentos, estejam presentes os efeitos de linhas e colunas. Tal procedimento permite uma maior acurácia no tratamento das características fenotipadas na população.

O conhecimento da variabilidade e estrutura genética de uma população pode garantir o sucesso em longo prazo dos programas de melhoramento genético (Choudhary et al., 2012). A diversidade e a estrutura genética populacional são comumente estimadas utilizando marcadores microssatélites

(SSR). Segundo Pritchard et al. (2000), um dos métodos frequentemente utilizados para examinar a estrutura da população é chamado *STRUCTURE*, uma abordagem baseada em um modelo para atribuir indivíduos a subgrupos.

O presente trabalho foi proposto com o objetivo de fornecer informação genética útil para melhoristas de *Passiflora* em todo o mundo e uma melhor compreensão da estrutura e do valor da população de estudo da UENF. Este estudo difere dos outros relatados na literatura no uso da técnica *post-hoc blocking Row-Col*, e o uso de informações de *pedigree* em análise via modelos mistos, tratando-se de uma proposta pioneira em termos de pesquisa

3.3.2. REVISÃO

3.3.2.1. Técnica *Post-hoc blocking Row-Column (Row-Col)*

A escolha adequada de um delineamento experimental e análises estatísticas apropriadas podem produzir melhoras consideráveis na predição de valores genéticos e um eficiente aproveitamento dos recursos disponíveis (Gezan et al., 2006).

Em programas de melhoramento genético com elevado número de genótipos a serem avaliados uma grande área física é requerida, gerando blocos de grandes tamanhos. Nesse caso, supõe-se que a heterogeneidade dentro dos blocos é a menor possível, e adequada para a predição de parâmetros e valores genéticos. Além disso, o maior tamanho dos blocos formados restringe a sua quantidade. Um delineamento experimental mais eficiente, nestes casos, poderia ser aquele que capta a variação espacial de forma mais eficaz, tal como o delineamento em linhas e colunas (*Row-Col*).

A técnica *post-hoc blocking Row-Col* é uma técnica *posteriori* e foi proposta inicialmente por Patterson e Hunter (1983). A técnica consiste na sobreposição de uma estrutura de blocos sobre o desenho do campo original (Gezan et al., 2006), com a adição de linhas e colunas. A técnica é uma ferramenta de baixo custo

para avaliar a eficiência de um delineamento experimental (Patterson e Hunter, 1983).

A técnica *post-hoc blocking Row-Col* permite a eliminação da heterogeneidade por “dois diferentes caminhos”. Em um delineamento agrupado em blocos casualizados, a única fonte de variação, além do tratamento, é a de blocos. No entanto, em um experimento avaliado em *Row-Col*, além dos efeitos de blocos e tratamento, estão presentes os efeitos de linhas e colunas.

Em uma situação em que linhas são desconsideradas, considerando apenas as colunas, obtêm-se um delineamento tendo as colunas como o bloco. Similarmente, ignorando colunas e considerando apenas linhas, obtêm-se um delineamento tendo as linhas como o bloco. A importância de fontes de variação adicionais em um experimento ajuda a reduzir o erro experimental e melhora a precisão das estimativas.

3.3.2.2. Marcadores moleculares aplicados ao melhoramento genético do maracujazeiro

As técnicas de análise molecular da variabilidade do DNA permitem determinar pontos de referência nos cromossomos, tecnicamente denominados “marcadores moleculares”. Um marcador molecular é definido como qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso ou de um segmento específico de DNA (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Com o desenvolvimento dos marcadores moleculares e o avanço em técnicas de biologia molecular, criou-se a expectativa de que as informações genóticas dos marcadores moleculares, uma vez correlacionados com características fenotípicas de interesse, pudessem ser amplamente utilizadas na obtenção e seleção de indivíduos com maior valor genético. Esta técnica ficou conhecida como seleção assistida por marcadores moleculares (*MAS - Marker Assisted Selection*). A MAS utiliza simultaneamente dados fenotípicos e dados de marcadores moleculares em ligação genética próxima com alguns locos controladores de características quantitativas, os QTLs (Resende, 2008).

Atualmente, existem vários marcadores moleculares disponíveis para os mais diversos tipos de culturas. Os marcadores moleculares de DNA têm sido ferramenta essencial para dar suporte aos estudos de genética de populações de

diversas espécies e tendem, pouco a pouco, auxiliar as estratégias de melhoramento, por serem capazes de aumentar a velocidade de resposta nos programas. Tratando-se de plantas semiperenes, como é o caso do maracujazeiro, a utilização desses marcadores se reveste ainda de maior importância (Pereira et al., 2005).

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, disponibilidade de informação do genoma da espécie alvo, habilidades técnicas, custo da análise, disponibilidade de equipamentos, entre outros (Souza et al., 2008).

Existem vários tipos de marcadores moleculares, que são geralmente conhecidos por suas siglas. Os marcadores moleculares hoje disponíveis diferenciam-se pela tecnologia utilizada para revelar a variabilidade ao nível de DNA e assim variam de acordo com a habilidade de detectar diferenças entre os indivíduos, custos, facilidade de uso, consistência e repetibilidade (Ramos, 2007).

A alta informação contida em loco microssatélite (SRR), aliada à sua expressão codominante potencial para automação e requerimento de pequena quantidade de DNA, fazem com que os SSR's sejam considerados marcadores genéticos ideais para mapeamento genético e de alta eficiência para estudos de ligação, proteção de variedades, seleção assistida, estudos de diversidade, entre outros (Song et al., 2004, Borém e Caixeta, 2009). Pereira et al. (2005) também relatam que os SSR são bastante efetivos nos diferentes procedimentos de melhoramento incluindo trabalhos de divergência genética, de *fingerprinting*, de mapeamento e análise de genes.

No entanto, a grande dificuldade associada a esse marcador é que demanda melhores condições laboratoriais, especialmente, quando ainda não se dispõe de uma coleção de *primers* SSR para a cultura de interesse (Pereira et al., 2005).

Visando contornar tal problema na cultura do maracujazeiro, Oliveira (2006) desenvolveu marcadores SSR utilizando bibliotecas genômicas enriquecidas, visando à construção e a integração de mapas genéticos de maracujá-azedo. Este mesmo autor reporta que, atualmente, existe uma pequena quantidade de sequências de DNA de maracujá-azedo depositadas no banco de dados

(*GenBank*), sugerindo, então, a busca por metodologias eficientes de isolamento de sequências contendo microssatélites.

Alguns dos trabalhos mais comuns para a cultura do maracujazeiro referem-se ao estudo da variabilidade genética (Pereira et al., 2005; Viana et al., 2003; Vieira et al., 2005). Viana et al. (2003) avaliaram a diversidade genética entre acessos de várias espécies do gênero *Passiflora*, via RAPD, e observaram grande variabilidade genética entre as espécies *P. foetida*, *P. alata*, *P. gibertii*, *P. suberosa*, *P. cincinnata*, *P. maliformis* e *P. edulis* f. *edulis*, sendo que as espécies *P. edulis* e *P. gibertii* foram as mais distantes entre as espécies estudadas. E *P. cincinnata* e *P. edulis* f. *edulis* formaram um mesmo grupo, sugerindo que elas compartilham uma similaridade genética.

Vieira et al. (1997); Angel et al. (1998); Viana et al. (2003); Faleiro et al. (2004) e Bellon et al. (2007) realizaram trabalhos referentes à diversidade genética no gênero *Passiflora*, utilizando marcadores RAPD, e observaram variabilidade genética expressiva em diferentes acessos de uma mesma espécie de *Passiflora*. No entanto, estudos realizados por Viana et al. (2003) e Faleiro et al. (2005), utilizando-se de diferentes acessos da espécie comercial *P. edulis*, não mostraram expressiva variabilidade genética entre esses materiais, indicando um possível estreitamento da base genética entre as cultivares comerciais.

Em trabalho de Reis (2010), objetivou-se avaliar a variabilidade genética de genótipos selecionados, referentes a dois ciclos de seleção recorrentes do programa de melhoramento genético do maracujazeiro-azedo conduzidos na UENF. Para tal, foram utilizados 23 pares de iniciadores microssatélites na genotipagem dos 66 genótipos de irmãos completos, 27 referentes ao primeiro ciclo (MA_0) e 39, ao segundo ciclo (MA_1). Os resultados observados indicaram os genótipos mais produtivos e divergentes para dar continuidade ao programa de seleção recorrente do maracujazeiro, além disso, demonstraram o sucesso da seleção recorrente para essa cultura e sua viabilidade.

3.3.3. MATERIAS E MÉTODOS

3.3.3.1 População de estudo

Foram avaliadas 81 progênies de irmãos-completos pertencentes ao terceiro ciclo de seleção recorrente do maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims) da UENF. A informação de *pedigree* (pai e mãe) para cada progênie avaliada foi incluída.

Essas progênies foram obtidas a partir de um dialelo parcial de 27 parentais (progênies de meios-irmãos) selecionadas por Silva (2009) via índice de seleção Mulamba e Mock (1978).

3.3.3.2 Descrição do experimento

O estudo foi conduzido entre 2011-2013, na Unidade Experimental da UENF em Itaocara – Ilha Barra do Pomba (21°40' S, 42°04' W e altitude de 76 m), região Noroeste Fluminense. Durante o período experimental a temperatura anual média foi 22,5°C e a precipitação média foi 1.041mm. O solo da área experimental foi classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo (Embrapa, 2006).

Em condições de casa de vegetação, sementes (quatro/tubete) de cada progênie foram germinadas em substrato, marca Plantmax®. Posteriormente, as mudas foram desbastadas mantendo somente uma por tubete, e levadas ao campo 65 dias após a emergência.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos completos casualizados (DBC), com duas repetições e parcelas constituídas por cinco plantas. Para a avaliação dos dados o delineamento foi arranjado em uma grade retangular de 19 linhas e 15 colunas.

O sistema de condução foi de espaldeira vertical, com mourões de eucalipto tratados de 1,8 m de altura, espaçados de 4 metros e com um fio de arame número 12. A distância entre linhas de plantio foi de 3,5m e entre plantas 2m.

Todas as plantas receberam os tratos culturais recomendados para a cultura, como a condução da planta, controle das plantas daninhas, pragas e doenças (Viana et al., 2003). Um sistema de irrigação por gotejamento diário foi utilizado durante o período seco. As mudas foram fertilizadas mensalmente com 22,5g de ureia e 45g de cloreto de potássio por planta. Em adição, 100g de

calcário e 200g de superfosfato simples foram aplicados em cada planta durante o plantio.

3.3.3.3 Características avaliadas

As progênes foram fenotipadas para as seguintes características: número de frutos (NF): obtido pela contagem do número de frutos totais em cada parcela; produção total (PT) em kg por parcela, realizando-se colheitas semanais, com posterior pesagem dos frutos; massa do fruto (MF), em gramas, obtida por meio da média aritmética de massa de 15 frutos amostrados por parcela, com o auxílio de uma balança digital; diâmetro longitudinal do fruto (DLF), em mm, obtido por meio de medidas das dimensões longitudinais dos frutos com paquímetro digital, amostrando 15 frutos por parcela; diâmetro transversal do fruto (DTF), em mm, obtido por meio de medida da dimensão transversal dos frutos com paquímetro digital, amostrando 15 frutos por parcela; porcentagem de polpa do fruto (PP), obtida pela razão entre a massa de polpa e massa total do fruto, amostrando 15 frutos por parcela; espessura da casca (EC), em mm, determinada na porção mediana dos frutos (cortados transversalmente, no sentido de maior diâmetro), com utilização de paquímetro digital, utilizando amostras de 15 frutos por parcela; teor de sólidos solúveis totais (SST), em °Brix, obtido por refratometria utilizando-se refratômetro digital portátil ATAGO N1, com leitura na faixa de 0 a 32° graus de Brix. As leituras foram feitas em alíquotas de suco da polpa em amostras de 15 frutos.

3.3.3.4 Análise estatística e genética

As análises foram realizadas utilizando-se o pacote estatístico ASReml v3.0 (Gilmour et al. 2009), amplamente aceito para a estimação dos componentes de variância e predição dos valores genéticos (Gilmour et al. 2002).

Para a avaliação dos dados, duas equações dos modelos lineares mistos foram utilizadas: uma baseada no delineamento experimental original (RCBD) (equação 1) e outra baseada na proposta *post-hoc blocking (Row-Col)* (equação 2), seguindo:

$$Y_{ijk} = \mu + \text{block}_i + \text{prog}_j + \varepsilon_{ij} \quad (\text{eq 1})$$

$$Y_{ijkl} = \mu + \text{block}_i + \text{prog}_j + \text{row}_k + \text{col}_l + \varepsilon_{ijkl} \quad (\text{eq 2})$$

Onde Y_{ijkl} é o valor para a respectiva característica no i th bloco ($i=1-2$); na j th progenie ($j=1-81$), na k th linha ($k=1-19$) e na l th coluna ($l=1-15$); μ é a média global; B_i corresponde ao efeito fixo de blocos; P_j corresponde ao efeito aleatório de progenies $\sim \text{IID}(0, A\sigma_a^2)$, r_k corresponde ao efeito aleatório das linhas $\sim \text{IID}(0, I\sigma_{\text{linhas}}^2)$, c_l corresponde ao efeito aleatório das colunas $\sim \text{IID}(0, I\sigma_{\text{colunas}}^2)$ e ε_{ijkl} é o efeito aleatório do resíduo para i th bloco j th progenie in the k th linha and l th coluna $\sim \text{IID}(0, I\sigma_e^2)$. A matriz A é a matriz de parentesco derivada da informação de *pedigree*.

Foi proposto o teste baseado no Qui-Quadrado (χ^2) para comparar os modelos por meio do teste de razão de verossimilhança (LRT). Tal comparação teve o objetivo de avaliar a significância da técnica *post-hoc blocking* na avaliação dos dados. Um LRT é usado para verificar qual dos modelos melhor explica os dados (Muse e Gaut, 1994).

Para o LRT considerou-se a diferença nos valores de verossimilhança $d = 2[\log L_2 - \log L_1] \sim \chi^2_{r_2-r_1}$, subtraindo o valor do modelo com maior número de parâmetros (L_2) daquele que corresponde o menor número de parâmetros (L_1), e comparando o resultado com uma distribuição Qui-Quadrado com graus de liberdade igual à diferença do número de parâmetros entre os modelos.

Baseado no LRT foi escolhido o melhor modelo para prever os valores genéticos em BLUP e estimar os componentes de variância via REML.

Os parâmetros genéticos estimados foram:

- Herdabilidade no sentido restrito (h^2): Foi calculada utilizando a seguinte expressão:

$$h^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma^2};$$

Onde σ_a^2 é a variância genética aditiva e σ^2 é a variância total.

Adicionalmente, a correlação genética para cada par de características foi calculada de acordo:

$$r_g = \frac{\sigma_{g(X,Y)}}{\sqrt{\sigma_x^2 \sigma_y^2}};$$

Onde $\sigma_{g(X,Y)}$ é a covariância genética entre as características X e Y, $\sigma_{g(X)}^2$ é a variância genética da característica X, e $\sigma_{g(Y)}^2$ é a variância genética da característica Y.

3.3.3.5 Análise molecular

Para cada progênie, amostras de folhas jovens e saudáveis foram coletadas em *bulk* (amostrando todas as plantas contidas na parcela). Posteriormente, as amostras foram armazenadas em *ultrafreezer* (-80°C). Para a extração do DNA genômico seguiu-se o protocolo proposto por Doyle e Doyle (1990). Após a extração, o DNA foi submetido à quantificação via análise em gel de agarose a 0,8%. As amostras de DNA foram coradas utilizando a mistura de *GelRed*™ e *Blue Juice* (1:1), e a imagem, capturada pelo sistema de fotodocumentação MiniBis Pro (Bio-Imaging Systems). Baseada nas imagens obtidas, a concentração de DNA foi estimada por comparação com um marcador molecular de peso padrão conhecido (ladder High DNA Mass Ladder - Invitrogen, USA).

Visando testar as condições da reação em cadeia de polimerase (PCR), realizou-se um gradiente de temperatura, variando de 50°C a 65°C. Foram selecionadas temperaturas ótimas para 28 *primers* desenvolvidos por Oliveira (2006).

Após a definição das temperaturas, foi feito um *screening*, no qual foram selecionados 10 *primers* (Tabela 7) com base no grau de polimorfismo e na qualidade de amplificação.

As reações de amplificação foram avaliadas para um volume final de 13 µL, contendo 1,5 µL of buffer 10X (500 mM KCl, 100 mM Tris-HCL em pH 8,3 Invitrogen), 1 µL de 25 mM MgCl₂, 1,5 µL de 2mM dNTPs, 0,5 µL de 0,5 mM de *primer*, 0,12 µL de 5U/µL de Taq DNA polimerase e 2 µL de 5 ng de DNA

genômico. O volume final foi suplementado com água ultrapura. As amplificações foram realizadas em um termociclador Applied Biosystems, modelo Veriti®.

Tabela 7. Marcadores moleculares microssatélites: nome do *primer*, sequência, motivo, temperatura de anelamento (Ta) e número de alelos observados.

<i>Primer</i>	<i>Primer forward</i>	<i>Primer reverse</i>	Motivo	Ta (°C)	Nºalelos
PE01	caggatagcagcagcaatga	agccaaatgtcaaactgaac	(GT) ₇	59	2
PE03	gcagcgaggaagaaaa	tgagacatcgtgcgtgaa	(GA) ₁₀	62	3
PE04	atgctttggaaatccgttt	tgctcatgcaaagtcactgg	(TG) ₉	62	6
PE09	ggaaatccgaaaactggtg	ggcctttatccatgttga	(AT) ₅ (AC) ₈	56	2
PE17	acttcggtggtatgcacttg	catagaatgcaaggggtcaca	(AC) ₂₂	56	3
PE18	ccgtgaaccaaccatttctc	ttgcagcacaacaagtcaa	(TG) ₉	60	2
PE23	caatcccttgaccataga	Cgtccatccttctcctt	(GA) ₁₉	59	3
PE31	ccctcaactctgtctatct	catcaccttaaccacacaaa	(TG) ₇	63	3
PE37	caaaaggataggcctgatgct	tgcttggtcatccactgaag	(TG) ₈	65	3
PE64	atcaattacgcaccccaaac	ggaacgtcaatcaagtgagga	(AC) ₈	59	2

As reações de PCR foram corridas sob as seguintes condições: 1 min à 94°C para a desnaturação inicial; 32 ciclos de 94°C por 1 min., temperatura ótima de anelamento para cada *primer* SSR por 1 min., (56°C ~ 65°C) and 72°C por 3 min.; com uma extensão final de 72°C por 7 min.

Para cada um dos 10 *primers*, depois de avaliada a qualidade de reação de PCR em gel de agarose (0.8%), 1µL do produto de PCR foi misturado com 23µL de diluição tampão (E, 1X, 75ML) e coradas com *GelRed*. O marcador DNA Ladder (Invitrogen, USA) 250pb foi usado durante as corridas para determinar os tamanhos dos fragmentos. Assim, os fragmentos amplificados foram submetidos à eletroforese capilar (*Advanced Analytical Fragment Analyzer™*) com voltagem de 8Kw por 120 minutos. As imagens foram obtidas e analisadas através do *software* PROSize (*Advanced Analytical Technologies, USA*).

3.3.3.6 Análise estrutural da população

Para acessar a estrutura da população das progênies de *P. edulis Sims*, foi utilizado um método heurístico baseado em algoritmos de agrupamento bayesiano, com o uso do *software* STRUCTURE versão 2.3.4 (Pritchard et al., 2000). Para tanto, empregou-se o modelo (“*no admixture model*”) e frequências

alélicas correlacionadas, usando-se “*Burnin Period*” = 10.000, seguido de uma extensão (*Markov Chain Monte Carlo*) de 20.000 repetições após “*Burnin Period*”, com o número de subpopulações (k) variando de 1 a 10. Um limite de probabilidade de 0,75 foi usado como a máxima probabilidade de adesão entre os grupos. Pelo fato da distribuição da verossimilhança $L(k)$ muitas vezes não mostrar um verdadeiro valor para K , foi utilizada a proposta de Evanno et al. (2005) para inferir o verdadeiro valor de K para a presente população utilizando marcadores SSR.

3.3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.4.1 Estimativa dos parâmetros genéticos

Com base no teste de razão de verossimilhança o modelo proposto *post-hoc blocking Row-Col* apresentou melhor ou igual desempenho quando comparado ao modelo de blocos casualizados, para todas as características avaliadas (Tabela 8).

Tabela 8. Probabilidade de significância (P -valor) para o teste de razão de verossimilhança, comparando os modelos propostos para os delineamentos em blocos completos casualizados (DBC) e *Row-Col*, em variáveis de maracujazeiro-azedo.

Variáveis	DBC	<i>Row-Col</i>	$d= 2[\log L_2 - \log L_1]$	χ^2 P -valor
Número de frutos	-567,46	-559,96	15,00	0,00
Produção	-283,40	-278,36	10,08	0,00
Massa do fruto	-628,39	-628,11	0,56	0,76
Diâmetro transversal do fruto	-381,00	-380,30	1,40	0,50
Diâmetro longitudinal do fruto	-336,47	-335,96	1,02	0,60
Porcentagem de polpa	-365,81	-365,66	0,30	0,86
Espessura da casca	-105,14	-105,14	0,00	1,00
Sólidos solúveis totais	-83,52	-81,99	3,06	0,22

Para as variáveis NF e PT observaram diferenças significativas ($P < 0,00$) entre os modelos avaliados, com diferenças de 15,0 e 10,08, respectivamente.

Para as demais características não se observaram diferenças entre os modelos. Com base nos resultados obtidos o modelo proposto *post-hoc blocking Row-Col* foi escolhido para todas as análises subsequentes e para a estimação dos componentes de variância e predição dos valores genéticos.

Os resultados favoráveis obtidos com a técnica *post-hoc blocking Row-Col* para a avaliação dos dados estão consistentes com tentativas anteriores de outros autores, utilizando a mesma abordagem. Por exemplo, Gezan et al. (2006), comparando a eficiência do delineamento *Row-Col* com o delineamento original de blocos casualizados obteve estimativas mais precisas de herdabilidade utilizando o delineamento *Row-Col*. Kempton et al. (1994) observaram uma superioridade do delineamento *Row-Col* em comparação ao de blocos casualizados em ensaios com cereais, reportando ganhos mais eficientes.

Entretanto, o delineamento em blocos casualizados, em geral, é eficiente quando a variabilidade dentro da repetição é relativamente pequena, o que é raro quando um grande número de genótipos é avaliado. Testando um significativo número de genótipos de maracujazeiro sempre requererá grandes áreas, então, isso, necessariamente acarretará uma variabilidade edáfica. (Costa e Silva et al. 2001). Além disso, quando o número de repetições é baixo, como no presente trabalho, os parâmetros estimados conterão maiores erros e, então, necessariamente o uso de alternativas como a técnica proposta promoverá uma maior acurácia dos parâmetros estimados.

Na prática, um melhorista está usualmente restrito ao tamanho de área a ser utilizada em dado experimento. Entretanto, nossos resultados indicam que outros delineamentos experimentais podem ser explorados para a cultura do maracujazeiro. O uso do delineamento *Row-Col* como bloco incompleto pode ser utilizado na prática, e os fatores linhas e colunas podem ser incluídos em um modelo linear misto como efeitos aleatórios.

No presente estudo, os efeitos de linha foram maiores do que aquelas colunas para todas as características avaliadas. Para a maioria das variáveis a variância do fator coluna foi baixa ou zero. Isto sugere que as progênies se comportam de maneira semelhante em colunas para todas as variáveis. No entanto, para o fator linhas capturou significativamente para NF (17%) e PT (20%) (Tabela 9), e foi abaixo de 6% para todas as outras variáveis. Em todos os casos

a variância ambiental não capturada pelos fatores genéticos ou experimentais foi maior que 39% da variância total.

Tabela 9. Componentes de variância, herdabilidades e seus respectivos erros para variáveis de maracujazeiro-azedo.

Variáveis	σ_{Col}^2	σ_{Row}^2	σ_{Erro}^2	($h^2 \pm \text{Erro}$)
Sólidos solúveis totais	0,05	0,06	0,39	(0,53±0,087)
Diâmetro longitudinal do fruto	0	0,03	0,51	(0,46±0,099)
Diâmetro transversal do fruto	0	0,04	0,52	(0,44±0,098)
Espessura da casca	0	0	0,58	(0,42±0,108)
Número de frutos	0	0,17	0,42	(0,41±0,098)
Porcentagem de polpa	0,01	0,02	0,79	(0,18±0,109)
Produção Total	0,01	0,2	0,55	(0,24±0,090)
Massa de fruto	0	0,03	0,83	(0,14±0,112)

As estimativas dos componentes de variância são importantes, pois permite determinar o controle genético do caráter e seleção de materiais potenciais (Santos et al. 2011). Há informações na literatura sobre estimativas de componentes de variância em populações de maracujá para produção, bem como, para características dos frutos (Jung et al, 2008;. Gonçalves et al., 2009a;. Santos et al., 2011;. Silva et al., 2012).

Alguns autores têm reportado a importância de obter estimativas de herdabilidade para a cultura do maracujazeiro (Viana et al., 2004; Gonçalves et al., 2007, 2009a; Neves et al., 2011; Santos et al., 2011). A maior estimativa observada no presente trabalho foi para SST (0,53±0,087). Para SST estimativas moderadas para herdabilidade no sentido amplo foram observadas por Viana et al. (2004) e Silva et al. (2012), com estimativas de 34,97 e 45,93%, respectivamente. Considerando as demais estimativas, cinco das oito herdabilidades estimadas apresentaram valores superiores a 0,40.

As herdabilidades no sentido restrito para a maioria das variáveis avaliadas indicaram um nível moderado, a baixo de controle genético, baseando na classificação de Bhatia et al. (2006), de alto (0,50), moderado (0,30-0,50) e baixo (<0,30). As baixas estimativas de herdabilidade para PT e MF podem ser explicadas pela natureza poligênica dessas variáveis, que são altamente influenciadas pelo ambiente.

A herdabilidade para as variáveis PP e para MF tiveram os maiores erros padrões relativos para o parâmetro estimado, porém, o fator genético foi significativamente diferente de zero quando testado pelo modelo reduzido (eq.1) e pelo teste de razão da verossimilhança (dados não mostrados).

Silva et al. (2012), em um ciclo de seleção recorrente que precede a população avaliada no presente estudo, observaram estimativas de herdabilidade de 0,39 para NF; 0,57 para DTF; 0,45 para DLF; 0,50 para EC e 0,46 para SST. Valores divergentes eram esperados em relação ao presente trabalho, devido ao uso do modelo *post-hoc Row-Col* para avaliação dos dados, e do REML para a estimação dos parâmetros genéticos.

Além da herdabilidade, as correlações têm grande importância no processo de melhoramento. Segundo Ramalho et al. (2008), a correlação é um parâmetro estatístico que mede o grau de associação entre duas variáveis. Tal informação permite ao melhorista o conhecimento das mudanças que ocorrem em um caráter quando se realiza a seleção em outro caráter a ele correlacionado (Ramalho et al. 1993).

De acordo com Falconer (1987), características correlacionadas são de interesse, por três razões principais. Primeiramente, em conexão com as causas genéticas de correlação, por meio da ação pleiotrópica dos genes. Em segundo lugar, em conexão com as mudanças efetuadas pela seleção, é importante conhecer como o melhoramento de uma característica pode causar mudanças simultâneas em outras. Em terceiro lugar, em conexão com a seleção natural.

As análises multivariadas indicaram que somente quatro das correlações genéticas obtidas foram significativamente diferentes de zero (Tabela 10).

O coeficiente de correlação genética entre PP e EC foi significativo ($P < 0.01$) e o mais elevado ($-0,987 \pm 0,166$) entre as combinações. Essa alta correlação genética era esperada, pois frutos com maior conteúdo de polpa tendem a possuir menor espessura de casca, fato este objetivo dos programas de melhoramento de maracujazeiro. Entretanto, a casca dos frutos é alimento funcional valioso e importante subproduto das indústrias de suco (Wong et al. 2014), devendo esse aspecto ser considerado.

Tabela 10: Correlações genéticas estimadas (em negrito) com os respectivos erros (em parênteses) entre variáveis¹ de maracujazeiro-azedo.

	NF	PT	MF	DTF	DLF	PP	EC	SST
NF	-	0,971* (0,035)	-0,155^{n.s} (0,391)	-0,433^{n.s} (0,273)	-0,152^{n.s} (0,273)	0,081^{n.s} (0,393)	0,118^{n.s} (0,299)	0,004^{n.s} (0,256)
PT		-	0,196^{n.s} (0,436)	-0,285^{n.s} (0,339)	0,308^{n.s} (0,332)	-0,411^{n.s} (0,413)	0,176^{n.s} (0,389)	0,067^{n.s} (0,335)
MF			-	0,707^{n.s} (0,294)	0,966* (0,182)	-0,891^{n.s} (0,384)	-0,028^{n.s} (0,441)	0,295^{n.s} (0,318)
DTF				-	0,667^{n.s} (0,136)	-0,316^{n.s} (0,311)	-0,180^{n.s} (0,238)	0,195^{n.s} (0,201)
DLF					-	-0,913* (0,328)	0,098^{n.s} (0,229)	0,111^{n.s} (0,200)
PP						-	-0,987** (0,166)	0,014^{n.s} (0,298)
EC							-	0,362^{n.s} (0,203)
SST								-

⁽¹⁾NF: número de frutos; PT: produção total; MF: massa do fruto; DTF: diâmetro transversal do fruto; DLF: diâmetro longitudinal do fruto; PP: porcentagem de polpa; EC: espessura da casca; SST: teor de sólidos solúveis totais.

Deve ser mencionado que as correlações genéticas são específicas para ambientes e populações, e comparações com outros estudos são somente feitas para uma apreciação da variação genética potencial da variável. Assim, a correlação genética obtida entre PP e EC está de acordo com as observações de Oliveira et al. (2011). No entanto, baixo coeficiente foi reportado por Gonçalves et al. (2008a).

A variável DLF apresentou correlação genética negativa ($-0,913 \pm 0,328$) e significativa ($P < 0,05$) com PP. A correlação negativa entre PP e DLF indica que, selecionando frutos de maior diâmetro longitudinal há uma redução no teor de polpa. Se a busca por conteúdo de polpa nos frutos é objetivo dos programas de melhoramento, frutos mais arredondados devem ser selecionados. Por outro lado a variável DLF apresentou uma correlação positiva ($P < 0,05$) com MF, indicando que frutos de maior massa possuem maior diâmetro longitudinal.

O coeficiente de correlação genética entre PT e NF ($0,971 \pm 0,035$) foi significativo a 5% de probabilidade. A elevada e positiva correlação observada entre PT e NF está de acordo com as observações de Moraes et al. (2005), bem como aos obtidos por Martins et al. (2003), para *Passiflora alata* Curtis. Essa alta correlação implica que não é necessário avaliar ambas as características para os ciclos subsequentes e a de mais fácil execução, ou a menos onerosa, para a mensuração deve ser fenotipada. Por exemplo, melhoristas podem simplesmente

contar o número de frutos em vez de avaliar a produção, já que a primeira opção é mais eficiente e menos laboriosa do que uma colheita com posterior pesagem.

As variáveis DTF e SST apresentaram coeficientes de correlação não significativos em todas as combinações obtidas.

3.3.4.2 Estrutura da população

Os 10 locos SSR amplificaram um total de 29 alelos (Tabela 7), sendo um mínimo de dois alelos (PE01, PE09, PE18 and PE64) e um máximo de seis (PE04), com uma média de $2,9 \pm 1,20$ alelos por loco.

Os resultados observados, considerando o baixo número de alelos, evidencia a homogeneidade deste material. Reis et al (2012), avaliando dois ciclos (ciclo 0 e ciclo1) do programa de melhoramento de maracujá da UENF, observaram 32 alelos em 13 microssatélites polimórficos, com uma média de 2,46 alelos por loco. Desses 32 alelos, 30 foram observados em ambos os ciclos avaliados. Esse resultado pode ser explicado devido à baixa variabilidade das populações originais, que eram variedades já melhoradas, indicando que as progênes avaliadas poderiam ter um histórico genético similar. Estes resultados corroboram com a hipótese da existência de uma base genética estreita para as cultivares comerciais disponíveis de maracujá (Viana et al., 2003;. Faleiro et al., 2005; Ortiz et al., 2012).

Esses 29 alelos foram usados para inferir a estrutura genética da população de maracujazeiro em estudo. A análise da estrutura genética com uma abordagem bayesiana mostrou que $k=3$ foi o número ideal de grupos genéticos (K) que melhor ajustou, por apresentar o maior de ΔK (1597,1) seguindo a inferência de Evanno et al. (2005) (Figura 2).

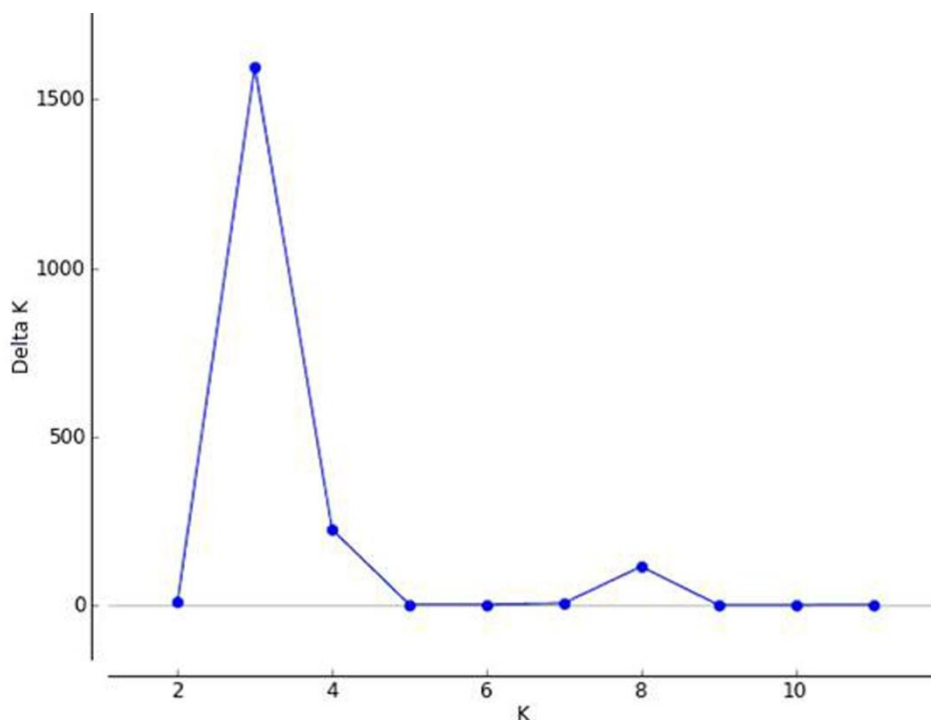


Figura 2: Valores de delta K (ΔK) para os respectivos números de grupos (K).

Com uma probabilidade de adesão de $>0,75$ o agrupamento bayesiano indicou que as 81 progênies avaliadas foram agrupadas da seguinte forma: 35 progênies para o grupo 1, 20 progênies para o grupo 2 e 26 para o grupo 3 (Figura 3). Alguns indivíduos do grupo 1 e grupo 3 apresentaram probabilidade mistas, e a maioria dos indivíduos foram atribuídos aos grupos de maior confiança. Por outro lado, todos os indivíduos do grupo 2 foram atribuídos a este grupo com uma alta probabilidade de adesão.

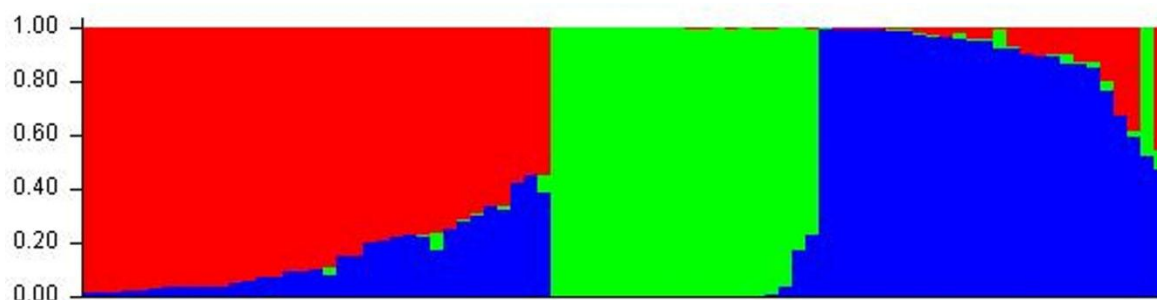


Figura 3: Agrupamento pela inferência bayesiana de progênies de maracujazeiro-azedo ($k=3$).

As médias fenotípicas para cada grupo genético foram calculadas e testadas (teste Tukey 5%) (Figura 4).

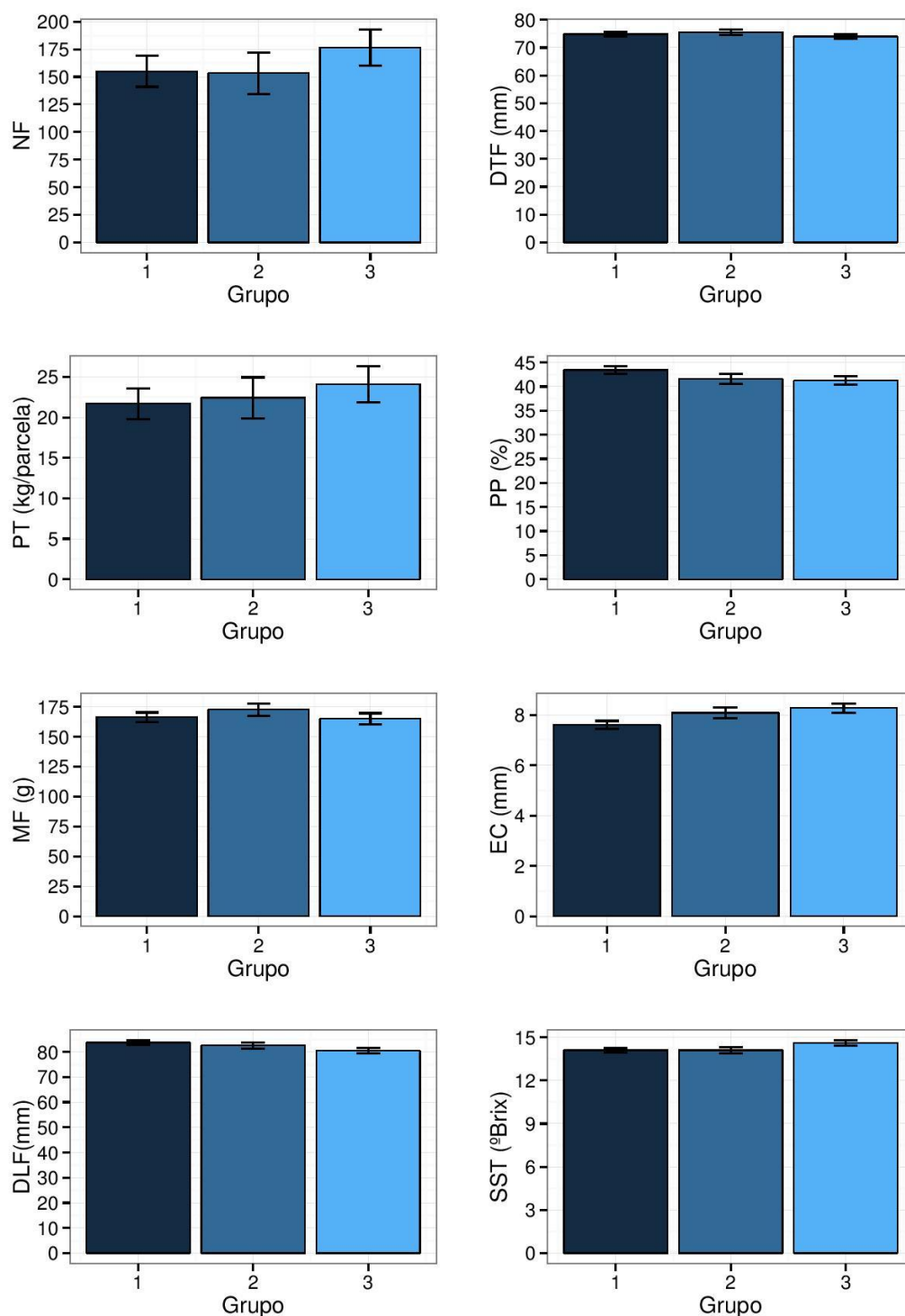


Figura 4: Cada barra corresponde ao valor médio de cada variável fenotípica para cada grupo genético inferido com o uso de marcadores SSR. Os dados das duas repetições no campo foram considerados. Os erros de cada barra indicam o erro-padrão.

Considerando o desempenho dos três diferentes grupos observou-se diferença significativa entre grupos para as variáveis DLF, PP, EC e SST. Valores superiores para as variáveis DLF (83,68mm), PP (43,41%) e EC (7,60mm) foram

observados para o grupo 1, enquanto para SST o maior valor relativo (14,60%) foi observado para o grupo 3. A diferença entre os grupos pode indicar futuras recombinações, objetivando a exploração da heterose para uma piramidação de alelos favoráveis para as características de interesse (Silva et al. 2014).

3.3.5. CONCLUSÕES

O conhecimento proporcionado pela natureza dos parâmetros genéticos usando a metodologia REML/BLUP irá, sem dúvida, contribuir para o desenvolvimento de estratégias para a continuidade dos programas de melhoramento do maracujazeiro.

O uso da técnica *post-hoc blocking* foi efetiva para a avaliação dos dados, proporcionando estimativas mais precisas que as obtidas pelo delineamento em blocos casualizados, podendo ser aplicada na avaliação dos dados nos ciclos subsequentes do programa de maracujazeiro da UENF.

O presente trabalho revelou o comportamento da diversidade genética e a estrutura da população, proporcionando informação que pode ser utilizada no programa de melhoramento em questão para tomar estratégias considerando futuros cruzamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allard, R.W. (1971) *Princípios do melhoramento genético das plantas*. São Paulo: Edgard Blüchner, 381 p.
- Amaral Júnior, A.T., Thiébaud, J.T.L. (1999) Análise multivariada na avaliação da diversidade em recursos genéticos vegetais. Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF/CCTA, Campos dos Goytacazes -RJ, 55p.
- Angel, E.O., Farjado, D., Grum, M., Tohme, J., Lobo, M. (1998) Genetic variation analysis of the genus *Passiflora* L. using RAPD markers. *Euphytica*, 101(3): 341-347.
- Barbé, T.C., Amaral Júnior, A.T., Gonçalves, L.S.A., Rodrigues, R., Scapim, C. A. (2010) Association between advanced generations and genealogy in inbred lines of snap bean by the Ward-Modified Location Model. *Euphytica*, 173:337–343.
- Bellon, G., Faleiro, F.G., Junqueira, K.P., Junqueira, N.T.V., Santos, E. C., Braga, M.F., Guimarães, C.T. (2007) Variabilidade genética de acessos silvestres e comerciais de *passiflora edulis* Sims., com base em marcadores RAPD. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 29:124-127
- Bernacci, L. C., Cervi, A.C., Milward-de-Azevedo, M.A., Nunes, T.S., Imig, D.C., Mezzonato, A.C. (2013) Passifloraceae In: *Lista de Espécies da Flora do*

Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em:
<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB128567>.

- Bernacci, L.C., Soares-Scott, M.D., Junqueira, N.T.V., Passos, I.R.S., Meletti, L. M.M. (2008) Revisão *Passiflora edulis* Sims: the correct taxonomic way to cite the yellow passion fruit (and of others colors), *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal-SP, 30:566-576.
- Bezerra Neto, F.V., Leal, N.R., Gonçalves, L.S.A., Filho, L.M.R.; Amaral Júnior, A.T.do. (2010) Descritores quantitativos na estimativa da divergência genética entre genótipos de mamoneira utilizando análises multivariadas. *Revista Ciência Agronômica*, 41:294-299.
- Bhateria, S., Sood, S.P., Pathania, A. (2006) Genetic analysis of quantitative traits across environments in Linseed (*Linum usitatissimum* L). *Euphytica*, 150:185-194.
- Borém, A., Caixeta, E.T. (2009) *Marcadores Moleculares*. 2ª Ed, Viçosa, MG, 532p.
- Bruckner, C.H., Meletti, L.M., Otoni, W.C., Junior, F.M.Z. (2002) Maracujazeiro. In: Bruckner, C.H. *Melhoramento de fruteiras tropicais*, Viçosa: UFV:373-410.
- Bruckner, C.H. (1997) Perspectivas do Melhoramento Genético do Maracujazeiro. In: Manica, I. *Maracujá: Temas Selecionados*, Porto Alegre: Cinco continentes, p. 25-46.
- Bruna, E.D., Moreto, A.L., Dalbo, M.A. (2012) Uso do coeficiente de repetibilidade na seleção de clones de pessegueiro para o litoral sul de Santa Catarina. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal-SP, 34:206-215.
- 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. (2010) Quantification of the diversity among

- common bean accessions using Ward-MLM strategy. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 45:1124-1132.
- Campos, B.M., Viana, A.P., Quintal, S.S.R., Gonçalves, L.S.A., Pessanha, P. G.O (2013) Quantificação da divergência genética entre acessos de goibeira por meio da estratégia Ward-MLM. *Revista Brasileira de Fruticultura Bras. Fruticultura*, 35:87–94.
- Cargnelutti Filho, A., Ribeiro, N.D., Reis, R.C.P., Souza, J.R., Jost, E. (2008) Comparação de métodos de agrupamento para o estudo da divergência genética em cultivares de feijão. *Ciência Rural*, 38:2138-2145.
- Cerqueira-Silva, C.B.M., Conceição, L.D.H.C.S., Souza, A.P., Correa, R.X. (2014) A history of passion fruit woodiness disease with emphasis on the current situation in Brazil and prospects for Brazilian passion fruit cultivation. *Eur. J. Plant. Pathol.*, 139:255-264.
- Choudhary, P., Khanna, S.M., Jain, P.K., Bharadwaj, C., Kumar, J., Lakhera, P.C., Srinivasan, S. (2012) Genetic structure and diversity analysis of the primary gene pool of chickpea using SSR markers. *Genet. Mol. Res.*, 11(2):891-905.
- Comstock, R.E., Robinson, H.F. (1948) The components of genetic variance in populations of biparental progenies and their use in estimating the average degree of dominance. *Biometrics*, Washington, 4:254-266.
- Costa e Silva, J., Dutkowski, G.W., Gilmour, A.R. (2001) Analysis of early tree height in forest genetic trials is enhanced by including a spatially correlated residual. *Can. J. For. Res.*, 31: 1887-1893.
- Cruz, C.D. (2013) Genes – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 35:271-276.
- Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S. (2006) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 2. ed, Viçosa, 585p.

- Cruz, C.D., Regazzi, A.J., Carneiro, P.C.S. (2004) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 480p.
- Cruz C.D, Regazzi AJ. (2001) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 2. ed. rev. Viçosa: Editora UFV, 390p.
- Cunha, M.A.P. da, Barbosa, L.V., Junqueira, N. T. V. (2002) Aspectos botânicos. *In: Lima, A. A. (Ed.) Maracujá produção: aspectos técnicos*. Embrapa mandioca e Fruticultura Cruz das Almas. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, p. 15-24.
- Doyle, J.J, Doyle, J.L. (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*,12: 13-15.
- Elston, R.C. (1963) A weight-free index for the purpose of ranking or selection with respect to several traits at a time. *Biometrics*. Alexandria, 19(1):85-97
- EMBRAPA (2006) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa do Solo. Sistema brasileiro de classificação de solos. 2 ed. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 306p.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: A simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8): 2611-2620.
- Falconer, D.S. (1987) *Introduction to quantitative genetics*. Viçosa, MG: UFV, Imprensa Universitária, 279p.
- Faleiro, F.G.F., Farias Neto, A.L., Ribeiro Júnior, W.Q. (2008) *Pré-melhoramento, melhoramento e pós-melhoramento: estratégias e desafios*. Embrapa Cerrados.1. Ed. Planaltina, Brasil, 183p.
- Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Braga, M.F., Bellon, G., Peixoto, J.R. (2005) Diversidade genética de variedades comerciais de maracujazeiro-azedo com base em marcadores RAPD. *In: Reunião Técnica De Pesquisas Em Maracujazeiro*, 4. ed, Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p.105-109.

- Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Bellon, G., Borges, T.A., Anjos, J.R.N., Peixoto, JR., Braga, M.F. e Santos, D.G. (2004) Diversidade genética de espécies silvestres de maracujazeiro com resistência múltipla a doenças com base em marcadores RAPD. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.29, p.325.
- Farias Neto, J.T., Lins, P.M.P., Resende, M.D.V.de, Oliveira, M.S.P. (2011) Seleção simultânea de açazeiro irrigado para produção e peso do fruto. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal-SP, 33(2):532-539.
- Farias Neto, J.T., Lins, P.M.P., Resende, M.D.V.de, Muller, A.A. (2009) Seleção genética em progênies híbridas de coqueiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal-SP, 31(1):190-196.
- Ferraz, J.V., Lot, L. Fruta para consumo *in natura* tem boa perspectiva de renda. (2007) *In: Agrianual 2007: anuário da agricultura brasileira*. Maracujá. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, p. 387-388.
- Ferreira, R. T. (2009) *Seleção de Genótipos de cedro australiano (Toona ciliata) via metodologia REML/BLUP e marcadores de DNA*. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas), Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 88p.
- Ferreira, D.F. (2008) *Estatística multivariada*. 1. ed. Lavras: Ed. UFLA, 662p.
- Ferreira, M. E., Grattapaglia, D. (1998) *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. 3 ed. Brasília: EMBRAPA/CENARGEN, 220p.
- Fonseca, A.F.A., Sediya, T., Cruz, C.D., Sakiyama, N.S., Ferrão, R.G., Ferrão, M.A.G., Bragança, S.M. (2004) Discriminant analysis for the classification and clustering of robusta coffee genotypes. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. 4(3): 285-288.

- Franco, J., Crossa, J., Villaseñor, J., Taba, S., Eberhart, S.A. (1998) Classifying genetic resources by categorical and continuous variables. *Crop Science*. 38(6):1688-1696.
- Freitas, I.L de J., Amaral Junior, A.T. do., Viana, A.P., Pena, G.F., Cabral, P. S., Vittorazzi, C., Silva, T. R da C. (2013) Ganho genético avaliado com índices de seleção e com REML/Blup. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(11):1464-1471.
- Freitas, J.P.X. de., Oliveira, E.J., Jesus, O.N. de., Cruz Neto, A.J. da., Santos, L.R. dos. (2012) Formação de população base para seleção recorrente em maracujazeiro-amarelo com uso de índices de seleção. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47 (3):803-814.
- Freitas Júnior, S.P., Amaral Júnior, A.T., Rangel, R.M., Viana, A.P. (2009) Predição de ganhos genéticos na população de milho-pipoca UNB-2U sob seleção recorrente utilizando-se diferentes índices de seleção. *Semina* 30:803-814.
- Garcia, A.A.F., Souza Júnior, C.L. de. (1999) Comparação de índices de seleção não paramétricos para a seleção de cultivares. *Bragantia*, 58:253-267.
- Gezan, S.A., Huber, D.A., White, T.L. (2006) Post hoc blocking to improve heritability and precision of best linear unbiased genetic predictions. *Can. J. For. Res.*, 36:2141-2147.
- Giordani, S.C.O., Fernandes, J.S.C., Titon, M., Santana, R.C. (2012) Parâmetros genéticos para caracteres de crescimento em pequizeiro em estágio precoce. *Revista Ciência Agrônômica*, Fortaleza, 43(1): 146-153.
- Gonçalves, G.M., Viana, A.P., Bezerra Neto, F.V., Amaral Junior, A.T., Pereira, M.G. (2009a) Genetic parameter estimates in yellow passion fruit based on design I. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, (52): 523- 530.

- Gonçalves, G.M., Viana, A.P., Reis, L.S., Bezerra Neto, F.V., Amaral Júnior, A.T. do., Reis, L.S. (2008a) Correlações fenotípicas e genético-aditivas em maracujá-amarelo pelo delineamento I. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, (32) 1413-1418.
- Gonçalves, L.S.A., Rodrigues, R., Amaral Júnior, A.T., Karasawa, M., Sudré, C.P. (2008b) Comparison of multivariate statistical algorithms to cluster tomato heirloom accessions. *Genetics and Molecular Research*, Ribeirão Preto, 7(4):1289-1297.
- Gonçalves, M.G.; Viana, A.P.; Bezerra Neto, F.V.; Pereira, M.G.; Pereira, T.N. S. (2007) Seleção e herdabilidade na predição de ganhos genéticos em maracujá-amarelo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, (2)42: 93-198.
- Gonçalves, G.M. (2005) *Estimativas de parâmetros genéticos em características produtivas de maracujazeiro amarelo (Passiflora edulis f. flavicarpa), baseado no delineamento I*. 87 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes.
- Gower, J.C. (1971) A general coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics*, Washington, 27:857-874.
- Gilmour, A.R., Gogel, B.J., Cullis, B.R., Thompson, R. (2009) *ASReml user Guide release 3.0*. VSN International Ltd., Hemel Hempstead, UK, 372p.
- Gilmour, A.R., Gogel, B.J., Cullis, B.R., Welham, S.J., Thompson, R. (2002) *ASReml User Guide Release 1.0* VSN International Ltd., Hemel Hempstead, UK, 372p.
- Hallauer, A.R., Miranda Filho, J.B., Carena, M.J. (2010) *Quantitative genetics in maize breeding*. Springer, New York. 663p.
- Hallauer, A.R, Carena, M.J. (2009) *Maize breeding*. In: Handbook of plant breeding: cereals, Springer, New York, 3-98.

- Hallauer, A.R., Miranda Filho, J.B. (1988) *Quantitative genetics in maize breeding*. Ames: Iowa State University Press, 468p.
- Hazel, L.N. (1943) *The genetic basis for constructing selection indexes*. *Genetics*, 28(6):476-490.
- Henderson, C.R. (1949), Estimates of changes in herd environment. *Journal of Dairy Science*, Champaign, (Abstr.), v.32, p.706.
- IBGE (2014). Sistema IBGE de recuperação automática – Sidra. **Produção agrícola municipal**: produção de maracujá. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 27 ago. 2014.
- IBGE (2013). Sistema IBGE de recuperação automática – Sidra. Produção agrícola municipal: produção de maracujá. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 15 jun. 2013.
- Jung, M.S., Vieira, E.A., Brancker, A., Nodari, R.O. (2008) Heritability and genetic gain in sweet passion fruit traits. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30: 209-214.
- Junqueira, N.T.V., Anjos, J.R.N. Dos, Silva, A.P.D.O., Chaves, R.D.C., Gomes, A.C. (2003) Reação às doenças e produtividade de onze cultivares de maracujá-azedo cultivadas sem agrotóxicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38(8):1005-1010.
- Junqueira, N.T.V., Veras, M.C.M., Nascimento, A.C., Chaves, R.C., Matos, A.P., Junqueira, K.P. (2001) Importância da polinização manual para aumentar a produtividade do maracujazeiro. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 18p.
- Kempton, R.A., Seraphin, J.C., Sword, A.M. (1994) Statistical analysis of two-dimensional variation in variety yield trials. *Journal of Agricultural Science*, 122: 335-342.
- Krause, W., Souza, R.S., Neves, L.G., Carvalho, M.L.S., Viana, A.P., Faleiro, F.G. (2012) Ganho de seleção no melhoramento genético intrapopulacional do

- maracujazeiro-amarelo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 47(1):51-57.
- Laviola, B.G., Rosado, T.B., Bhering, L.L., Kobayashi, A.K., Resende, M.D.V. de. (2010) Genetic parameters and variability in physic nut accessions during early developmental stages. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 45(10), 1117-1123.
- Lawrence, C.J., Krzanowski, W.J. (1996) Mixture separation for mixed-mode data. *Statistic Computational*, 6(85-92) 1996.
- Lima, A. de A. (2005) Aspectos fitotécnicos: desafios da pesquisa. In: Faleiro, F.G.; Junqueira, N.T.V.; Braga, M.F. (Ed.). *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina: Embrapa Cerrados, p.643-677.
- Lima, A.A., Cunha, M.A.P. (2004) Práticas culturais. In: Lima, A. A., Cunha, M. A. P. *Maracujá: produção e qualidade na passicultura*. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p.169-178.
- Luz, L.N da., Santos, R.C. dos., Melo Filho, P.A., Gonçalves, L.S.A. (2014) Combined selection and multivariate analysis in early generations of intraspecific progenies of peanuts. *Chilean J. Agric. Res.*, Chillán , (74): p.16-22.
- MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Disponível em:http://extranet.agricultura.gov.br/php/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php. Acesso em: 12 Maio. 2015.
- Marin, A.L.A., Costa, M.R., Sartorato, A., Peloso, M.J.D., Barros, E.G., Moreira M.A. (2003) Genetic variability and pedigree analysis of Brazilian common bean elite genotypes. *Scientia Agricola*, 60(2): 283-290.
- Martin, F.W., Nakasome, Y. (1970) The edible species of *passiflora*. *Economic Botany*, Bronx, 24(333-343).

- Martins, I.S., Martins, R. de C.C., Pinho, D. dos S. (2006) Alternativas de índices de seleção em uma população de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. *Cerne*, (12): 287-291.
- Martins, M.R., Oliveira, J.C., Di Mauro, A.O., Silva, P.C. (2003) Evaluation of sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis) populations obtained by open pollination. *Rev. Bras. Frutic.* 25(1): 111-114.
- Medeiros, S.A.F. de, Yamanishi, O.K., Peixoto, J.R., Pires, MC., Junqueira, V., Galvarros, J., Lobo, B. (2009) Caracterização físico-química de progênies de maracujá-roxo e maracujá-azedo cultivados no Distrito Federal. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 31(2): 492–499.
- Melchinger, A.E., Gumber, R.K. (1998) Overview of heterosis and heterotic groups in agronomic crops. *In: Lamkey, K.R.; Staub, J.E. Concepts and Breeding of Heterosis in Crop Plants*. Madison, WI. p. 29-44.
- Meletti, L.M.M., Bruckner, C.H. (2001) Melhoramento Genético. *In: Bruckner, C. H.; Picanço, M. C. Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado*. Porto Alegre: Cinco Continentes, p. 345-385.
- Mingoti, S.A. (2005) *Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada*, Editora UFMG. 297p.
- Moraes, M.C. de, Geraldi, I.O., Matta, F.P., Vieira, M.L.C. (2005) Genetic and phenotypic parameter estimates for yield and fruit quality traits from a single wide cross in yellow passion fruit. *HortScience*, 40(7):1978-1981.
- Moraes, M.C. (2005) *Mapas de ligação e mapeamento de QTL ("Quantitative Trait Loci") em maracujá-amarelo (Passiflora edulis Sims f. flavicarpa Deg.)*. 142 P. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), Piracicaba-SP.

- Mulamba, N.N., Mock, J.J. (1978) Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. *Egyptian Journal of Genetics and Cytology*. Alexandria, 7:40–51.
- Muse, S.V., Gault, S. (1994) A likelihood approach for comparing synonymous and non-synonymous substitution rates, with application to the chloroplast genome. *Molecular Biology and Evolution*, 11: 715-724.
- Neves, L.G., Bruckner, C.H., Cruz, C.D., Viana, A.P., Barelli, M.A.A. (2011) Predição de ganhos, com diferentes índices de seleção, para características de frutos do maracujazeiro-amarelo. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33(4):1322-1330.
- Oliveira, E.J., Fraife Filho, G. de A., Freitas, J.P.X. de, Dantas, J.L.L., Resende, M.D.V. de. (2012) Plant selection in F2 segregating populations of *papaya* from commercial hybrids. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 12:191–198.
- Oliveira, E.J. de, Santos, V.S., Lima, D.S., Machado, M.L., Lucena, R.S., Motta, T.B.N. (2011) Genotypic and phenotypic correlation estimates from passion fruit germplasm. *Bragantia*, 70(2): 255-261.
- Oliveira, E.J., Santos, V. da S., Lima, D.L. de., Machado, M.D., Lucena, R.S., Motta, T.B.N.; Castellen, M.da.S. (2008) Seleção em progênies de maracujazeiro-amarelo com base em índices multivariados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43(11):1543-1549.
- Oliveira, E. J. (2006) *Desenvolvimento e uso de marcadores microssatélites para construção e integração de mapas genéticos de maracujá-amarelo (Passiflora edulis Sims f. flavicarpa Deg.)*. Tese de Doutorado (Genética e Melhoramento de Plantas)- Piracicaba-SP, / ESALQ / USP. 152p.
- Oliveira, J.C., Nakamura, K., Mauro, A.O., Centurion, M.A.P.C. (1994) Aspectos gerais do melhoramento do maracujazeiro. *In: Maracujá: produção e mercado*. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, p. 27-37.

- Ortiz, D.C., Bohórquez, A., Duque, M.C., Tohme, J., Cuéllar, D., Vásquez, T.M. (2012) Evaluating purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *edulis*) genetic variability in individuals from commercial plantations in Colombia. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59: 1089-1099.
- Patterson, H.D., Hunter, E.A. (1983) The efficiency of incomplete block designs in National List and Recommended List cereal variety trials. *J. Agric. Sci. Camb.*, 103: 427-433.
- Pereira, V.M., Borges, C.V., Brandão, L.P., Oliveira, L.S. (2012) Genetic diversity between improved banana diploids using canonical variables and the Ward MLM method. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(10): 1480–1488.
- Pesek, J., Baker, R.J. (1969) Desired improvement in relation to selection indices. *Canadian Journal of Plant Science*, 49(6):803-804.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnell, Y.P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2): 945-959.
- Quintal, S.S.R. (2013) *Melhoramento da goiabeira P. guajava via metodologia de modelos mistos*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 181p.
- Quirino, T.R. (1998) Agricultura e meio ambiente: tendências. *In: Silveira, M.A.; Vilela, S.L.O. (Ed.). Globalização e sustentabilidade da agricultura*. Jaguariúna: Embrapa- CNPMA, p. 109-138.
- Pedrozo, C.A., Benites, F.R.G., Barbosa, M.H.P., Resende, M.D.V. de., Silva, F.L. da. (2009) Eficiência de índices de seleção utilizando a metodologia REML/BLUP no melhoramento da cana-de-açúcar. *Scientia Agraria*, 10:31-36.
- Pereira, M.G.; Pereira, T.N.S.; Viana, A.P. (2005) Marcadores moleculares aplicados ao melhoramento genético do maracujazeiro. *In: Fábio Gelape Faleiros; Nilton Tadeu Vilela Junqueira; Marcelo Fidelis Braga; (Org.)*.

Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. 1 ed. Brasília: EMBRAPA, v. 1, p. 277-294.

Ramalho, M.A.P., Santos, J.B., Zimmermann, M.J.O. (1993) *Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro*. Editora UFG, Goiânia, 271p.

Ramos, H. C. C. (2007) *Melhoramento populacional do mamoeiro (Carica papaya L.) assistido por marcadores microssatélites*. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 149 p.

Reis, R.V., Viana, A.P., Oliveira, E.J., Silva, M.G.M. (2012) Phenotypic and molecular selection of yellow passion fruit progenies in the second cycle of recurrent selection. *Crop Breed. Appl. Biotechnol*, 12(1): 17-24.

Reis, R.V., Oliveira, E.J., Viana, A.P., Pereira, T.N.S., Pereira, M.G., Silva, M. G.M. (2011) Diversidade genética em seleção recorrente de maracujazeiro detectada por marcadores microssatélites. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46:51-57.

Reis, R.V. (2010) *Marcadores moleculares microssatélites aplicados ao melhoramento intrapopulacional do maracujazeiro*. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)- Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 101p.

Resende Jr. M.F.R. (2010). *Seleção genômica ampla no melhoramento vegetal*. 2010. 67p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Resende, M.D.V. (2008) *Genômica quantitativa e seleção no melhoramento de plantas perenes e animais*. Colombo: Embrapa Florestas, 330p.

- Resende, M.D.V. (2002) *Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 975p.
- Resende, M.D.V. de; Sturion, J.A. (2001) *Análise genética de dados com dependência espacial e temporal no melhoramento de plantas perenes via modelos geoestatísticos e de séries temporais empregando REML/BLUP ao nível individual*. (Embrapa Florestas. Documentos, 65), Colombo: Embrapa Florestas, 80p.
- Resende, M.D.V. de. (2000) *Análise estatística de modelos mistos via REML/Blup na experimentação em melhoramento de plantas perenes*. (Documentos, 47). Colombo: Embrapa Florestas, 101p.
- Resende, M.D.V., Oliveira, E.B.; Higa, A.R. (1990) Utilização de índices de melhoramento no melhoramento do eucalipto. *Boletim de Pesquisa Florestal*, Colombo, 21:1-13.
- Rocha, M. G. B., Pires, I. E., Rocha, R. B., Xavier, A., Cruz, C. D., ED (2007) Seleção de genitores de *Eucalyptus grandis* e de *Eucalyptus urophylla* para produção de híbridos interespecíficos utilizando REML/BLUP e informação de divergência genética. *Rev.Árvore*.v.31, Viçosa.
- Rodrigues, W.P., Vieira, H.D., Barbosa, D.H., Souza filho, G.R., Candido, L.S. (2013) Adaptability and genotypic stability of *Coffea arabica* genotypes based on REML/BLUP analysis in Rio de Janeiro State, Brazil. *Genetics and Molecular Research*, 12:2391-2399.
- Rosemburg, H.C. (1984) Cluster analysis for researchers. Malabar, Robert E. Krieger Publishing, XV. 334p.
- Santos, E.A., Viana, A.P., Freitas, J.C.O., Rodrigues, D.L., Tavares, R.F., Paiva, C.L., Souza, M.M. (2015) Genotype selection by REML/BLUP methodology in a segregating population from an interspecific *Passiflora* spp. crossing. *Euphytica* 204(1):1-11.

- Santos, E. A. (2013) *Melhoramento do maracujazeiro-azedo (Passiflora edulis Sims) visando à resistência ao Cowpea aphid-borne mosaic virus*. 143p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.
- Santos, E.A., Souza, M.M., Viana, A.P., Almeida, A.A., Freitas, J.C.O., Lawinsky, P.R. (2011) Multivariate analysis of morphological characteristics of two species of passion flower with ornamental potential and of hybrids between them. *Genetics and Molecular Research*, 10(4):2457–2471.
- SAS Institute (2009). SAS/STAT: user's guide. Version 9.2. Cary, North Carolina: SAS Institute. 7869p.
- Searle, S.R., Casella, G., McCulloch, C.E. (1992) *Variance components*. New York: J. Wiley, 528p.
- Silva, F.H. L. de., Viana, A.P., Ferreira, R.T., Freitas, J.C. de O., Santos J.O., Rodrigues, D.L. (2014) Measurement of genetic diversity in progenies of sour passion fruit by Ward-MLM methodology: a strategy for heterotic group formation. *Revista Ciência e Agrotecnologia*, 38:1234-1239.
- Silva, M.G. de M., Viana, A.P. (2012) Alternativas de seleção em população de maracujazeiro-azedo sob seleção recorrente intrapopulacional. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34(2):525–531.
- Silva, M.G.M., Viana, A.P., Gonçalves, G.M., Júnior, A.T.A., Pereira, M.G. (2009) Intrapopulation recurrent selection in yellow passion fruit: alternative to accumulate genetic gains. *Ciência agrotécnica*, 33(1):170–176.
- Silva, M.G.M. (2009) *Seleção recorrente intrapopulacional no maracujazeiro amarelo*. 157 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.
- Smith, H.F. (1936) A discriminant function for plant selection. *Annals of Eugenics*, 7(3): 240-250.

- Song, Q.J., Marek, L.F., Shoemaker, R.C., Lark, K.G., Concibido, V.C., Delannay, X., Specht, J.E. (2004) A new integrated genetic linkage map of the soybean. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, 109(122-128).
- Souza, G.A. de, Carvalho, M.R.O., Martins, E.R., Guedes, R.N.C.; Oliveira, L.O. de. (2008) Diversidade genética estimada com marcadores ISSR em populações brasileiras de *Zabrotes subfasciatus*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 43(7):843-849.
- Souza, J.S.I., Meletti, L.M.M. (1997) *Maracujá: espécies, variedades, cultivo*. Piracicaba: FEALQ, 179p.
- Subandi, W., Compton, A., Empig, L.T. (1973) Comparison of the efficiencies of selection indices for three traits in two variety crosses of corn. *Crop Sci.*, Madison, (13):184-186.
- Tardin, F.D. (2006) *Seleção recorrente recíproca, em famílias de irmãos completos, monitorada por marcadores moleculares*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes- RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 75p.
- Ulmer t., Macdougall, J.M. (2004) *Passiflora: Passionflowers of the world*. Portland: Timber Press, 27 p.
- Vanderplank, J. (2000) *Passion flowers*. 3. ed. Cambridge: The MIT Press, p. 224.
- Viana, A.P., Resende, M.D.V. (2014) *Genética quantitativa no melhoramento de Fruteiras*, Editora Interciência, Rio de Janeiro, 298p.
- Viana, A.P., Detmann, E., Pereira, M.G., Souza, M.M. de., Pereira, T.N.S., Amaral Junior, A.T., Gonçalves, G.M. (2007) Polinização seletiva em maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) monitorada por vetores canônicos. *Ciência Rural*. 37(5): 1627-1633.

- Viana, A.P., Gonçalves, G.M. (2005) Genética quantitativa aplicada ao melhoramento genético do maracujazeiro. *In*: Fábio Gelape Faleiros; Nilton Tadeu Vilela Junqueira; Marcelo Fidelis Braga; (Org.). *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. 1 ed. Brasília: EMBRAPA, p. 277-294.
- Viana, A.P., Pereira, T.N.S., Pereira, M.G., Amaral Júnior, A.T., Souza, M.M. e Maldonado, J.F.M. (2004) Parâmetros genéticos em populações de maracujazeiro-amarelo. *Revista Ceres, Viçosa*, 51: 545-555.
- Viana, A.P., Pereira, T.N.S.; Pereira, M.G.; Souza, M.M. de; Maldonado, J.F. M.; Amaral Júnior, A.T. do. (2003) 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(2): 133-140.
- Vieira, M.L.C.; Oliveira, E.J.; Matta, F.P.; Pádua, J.G.; Monteiro, M. (2005) Métodos biotecnológicos aplicados ao melhoramento genético de maracujá. *In*: Faleiro, F. G.; Junqueira, N. T. V. e Braga, M. F. *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 411-453.
- Vieira, M.L.C., Oliveira, C.A., Mayeda, L.Y., Dornelas, M.C., Fungaro, M.H.P. (1997) Estudo do cariótipo e da variabilidade genética detectada por RAPD em espécies de maracujazeiro. *Brazilian Journal of Genetics, Ribeirão Preto*, 20(3) p. 88. Suplemento.
- Vilarinho, A.A., Viana, J.M.S., Santos, J.F., Câmara, T.M.M. (2003) Eficiência da seleção de progênies S1 e S2 de milho-pipoca, visando à produção de linhagens. *Bragantia*, 6(1):9-17.
- Vivas, M., Silveira, S.F., Cardoso, D.L., Pereira, M.G., Santos, P.H.D, Ferregueti, G. A. (2012) Capacidade combinatória e heterose para resistência a pinta-preta em mamoeiro por meio de análise dialélica. *Tropical Plant Pathology*, 37(5): p.326-332.

- Ward Junior, J.H. (1963) Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association*, 58:236-244.
- Willians, J.S. (1962) The evaluation of a selection index. *Biometrics*, North Carolina, 18:375–393.
- Wong, Y.S., Sia, C.M., Khoo, H.E., Ang, Y.K., Chang, S.K., Yim, H.S. (2014) Influence of extraction conditions on antioxidant properties of passion fruit (*Passiflora edulis*) peel. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 13(3):257-265.