

DIVERSIDADE GENÉTICA EM MARACUJAZEIRO-AMARELO UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES fAFLP¹

RITA MARIA DEVÓS GANGA², CARLOS RUGGIERO³, ELIANA GERTRUDES DE MACEDO LEMOS³, GISELE VENTURA GARCIA GRILI⁴, MICHELE MANTOVANI GONÇALVES⁵, EDVAN ALVES CHAGAS⁴, ESTER WICKERT⁴

RESUMO – Marcadores moleculares fAFLP foram utilizados para estimar a diversidade genética entre 36 acessos de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) coletados em 18 estados do Brasil. Os resultados obtidos permitiram concluir que os marcadores fAFLP se mostraram consistentes na avaliação da variabilidade genética, detectando e quantificando a ampla divergência genética entre os 36 acessos analisados, bem como a não-formação de estruturação geográfica. Tais resultados podem auxiliar na definição de estratégias mais eficientes a serem utilizadas em programas de melhoramento de maracujá-amarelo.

Termos para Indexação: maracujá, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg., variabilidade genética.

GENETIC DIVERSITY IN YELLOW PASSION FRUIT UTILIZING fAFLP MOLECULAR MARKERS

ABSTRACT – fAFLP molecular markers were utilized to estimate genetic diversity among 36 yellow passion fruit accessions (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) collected in 18 Brazilian states. The obtained results led to the conclusion that the fAFLP markers were consistent regarded to the evaluation of genetic variability, detecting and quantifying the ample genetic divergence among the 36 analysed accessions, as well as to the no geographic structural formation. Such results can be useful to the definition of more efficient strategies to be applied in breeding programmes of yellow passion fruit.

Index Terms: passion fruit, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg., genetic variability.

INTRODUÇÃO

Os maracujazeiros pertencem à família *Passifloraceae* e ao gênero *Passiflora*, reunindo mais de 500 espécies distribuídas pelos trópicos, principalmente no Brasil, centro de origem de pelo menos 1/3 das espécies. Maior produtor mundial da fruta, o Brasil tem cerca de 35 mil hectares de área cultivada e produção superior a 317 mil toneladas por ano, das quais somente as regiões Nordeste e Sudeste respondem por 80% do total. Bahia, São Paulo e Sergipe destacam-se entre os estados, somando mais de 50% da produção no País (Agrarianal, 2002). Os cultivos comerciais baseiam-se em *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg., o maracujá-amarelo, representando 95% dos pomares devido à qualidade de seus frutos, vigor, produtividade e rendimento em suco (Meletti, 1998).

O Brasil, por ser centro de origem do maracujá, possui ampla variabilidade genética, que é o ponto de partida para qualquer programa de melhoramento genético de uma espécie, e cuja caracterização e avaliação são ferramentas indispensáveis aos trabalhos de fitomelhoramento, pois são responsáveis pelo desenvolvimento sustentável da agricultura e da agroindústria. A pesquisa sobre a espécie é incipiente, e a grande maioria refere-se ao manejo da cultura. Estudos de melhoramento genético normalmente visam ao desenvolvimento de materiais superiores, principalmente com relação a caracteres de interesse agrônomo e tendem a utilizar a hibridação intra-específica para a transferência de genes de interesse (Bruckner, 1997).

A técnica AFLP tem muitas vantagens para estudos sistemáticos; ela é reproduzível, rápida e confiável, além de haver um número ilimitado de marcadores (Kardolus et al., 1998). Tem sido usada em estudos sobre bactéria (Janssen et al., 1997), fungos (Mueller & Wolfenbarger, 1999) e plantas (Sanchez et al., 1999 e Kardolus et al., 1998). Com o desenvolvimento dessas ferramentas para as análises genéticas a nível molecular, como os AFLPs, tornou-se possível examinar em maiores detalhes a origem evolucionária dos genomas vegetais, assim como acessar o grau de variabilidade genética relatado em grupos de plantas. Por exemplo, estudos têm sido conduzidos em *Manihot esculenta* Crantz (Sanchez et al., 1999; Colombo et al., 2000), *Humulus lupulus* (Jakše et al., 2001), *Nicotiana* sp. (Ren & Timko, 2001) e girassol (Hongtrakul et al., 1997), entre outros, produzindo significativo avanço

nas relações filogenéticas e no grau de diversidade genética entre indivíduos e populações. Em maracujá, a diversidade genética foi avaliada por Viana et al. (2003a) utilizando marcadores RAPD.

Este trabalho teve por objetivo a utilização de marcadores moleculares fAFLP (técnica AFLP com a utilização de iniciadores com corantes fluorescentes) para estimar a diversidade genética entre acessos de maracujá-amarelo coletados em 18 estados do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Bioquímica de Microorganismos e Plantas do Departamento de Tecnologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal, São Paulo. Sementes ou mudas de 36 acessos de maracujazeiro-amarelo foram obtidas em 18 estados do Brasil (Tabela 01), plantadas e mantidas em casa de vegetação até a coleta de folhas para a extração do DNA.

O DNA foi extraído usando algumas modificações do método de Doyle & Doyle (1991). 750 L de tampão de extração CTAB (75 L de Tris-HCl 1M pH 7,5; 210 L de NaCl 5M; 30 L de EDTA 0,5M pH 8,0; mercaptoetanol 0,5%, CTAB 1%, 427,75 L de água) foram adicionados a 0,10-0,14g de folhas jovens previamente maceradas em nitrogênio líquido. Após 30min de incubação a 65°C, adicionaram-se 450 L de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1), centrifugando a 17.000xg por 15min. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo, com 2/3 do volume de isopropanol gelado, permanecendo a -20°C por 2h ou durante a noite. Seguiu-se centrifugação a 17.000xg, 4°C por 15min, o sobrenadante foi descartado, adicionou-se 1mL de etanol 76%, centrifugou-se a 17.000xg, 4°C por 5min e o sobrenadante foi descartado. Ao precipitado, adicionaram-se 200 L de tampão TE (10mM Tris-HCl pH8,0; 1mMEDTA) e 2 L de RNase (100 g/mL), incubando a 37°C por 1h. Em seguida, adicionaram-se 200 L de água Milli Q filtrada, 80 L de acetato de amônio e 1.000mL de etanol absoluto gelado, permanecendo a -80°C por 1h. Depois de centrifugado a 17.000xg, 4°C por 5min, descartou-se o sobrenadante, ressuspendendo o precipitado em 20 L de TE (10:1). A quantificação do DNA foi feita em Biofotômetro, nos comprimentos de onda de 260 e 280nm.

¹ (Trabalho 051/2004). Recebido: 25/03/2004. Aceito para publicação: 01/12/2004. Auxílio Financeiro cedido pelo Fundo Passiflora.

² Eng^a Agr^a Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas, FCAV/UNESP, Rua Maestro Grossi, 177, Jaboticabal-SP CEP 14887-036 ritaganga@yahoo.com.br

³ Prof. Dr. FCAVJ/UNESP, ruggiero@fcav.unesp.br, lemos@fcav.unesp.br

⁴ Eng^o Agr^o Doutorando, FCAV/UNESP, gisele@fcav.unesp.br, echagas@fcav.unesp.br, ewickert@fcav.unesp.br

⁵ Bióloga, Mestre em Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, mmantovanig@hotmail.com

TABELA 01 - Identificação dos trinta e seis acessos de maracujazeiros provenientes de dezoito Estados da Federação.

Amostra	Descrição	Código	Origem	Amostra	Descrição	Código	Origem
1	EC-3-0	BRA/A	Brasília, DF	19	SE	SE	Aracaju, SE
2	EC-3-L	BRA/B	Brasília, DF	20	PR	PR	Londrina, PR
3	MSC	BRA/C	Brasília, DF	21	Barbalha	CE/A	Barbalha, CE
4	Vermelhão	BRA/D	Brasília, DF	22	Ipiapaba	CE/B	São Benedito, CE
5	EC-RAM	BRA/E	Brasília, DF	23	AL	AL	Maceió, AL
6	Local	PA/A	Belém, PA	24	Sooretama	ES/A	Sooretama, ES
7	Golden	PA/B	Belém, PA	25	Linhares	ES/B	Linhares, ES
8	Seleção EMBRAPA	PA/C	Belém, PA	26	Sinop	MT	Sinop, MT
9	IAC 273	SP/A	Monte Alegre do Sul, SP	27	AC	AC	Rio Branco, AC
10	IAC 277	SP/B	Monte Alegre do Sul, SP	28	PB	PB	Areia, PB
11	Rafael 1	MG/A	Araguari, MG	29	Paulista 1	RR/A	Boa Vista, RR
12	Rafael 2	MG/B	Araguari, MG	30	Paulista 2	RR/B	Boa Vista, RR
13	SC	SC	Urussanga, SC	31	Peroba	RR/C	Boa Vista, RR
14	RS	RS	Pelotas, RS	32	Regional	RR/D	Boa Vista, RR
15	Camacho	MS/A	Campo Grande, MS	33	Amarelo 1	RO/A	Candeias do Jamari, RO
16	IAC 275	MS/B	Dourados, MS	34	Amarelo 2	RO/B	Candeias do Jamari, RO
17	AFRUEVC	SP/C	Vera Cruz, SP	35	Bananal 1	ES/C	Bananal, ES
18	CNPMF	BA	Cruz das Almas, BA	36	Bananal 2	ES/D	Bananal, ES

A análise com marcadores fAFLP foi realizada de acordo com o AFLP "Plant Mapping Protocol" da Applied Biosystems (1997). **Digestão:** O DNA foi digerido utilizando-se da seguinte reação: a 500ng de DNA (10 μ l), adicionaram-se 1,25 μ l de tampão React 1 (500mM Tris-HCl pH 8,0; 100mM MgCl₂), 5U de EcoRI (0,5 μ l) e 1,5U de MseI (0,3 μ l). A reação foi incubada por 14h a 37°C e, após esse período, as enzimas foram inativadas a 65°C por 10min. **Ligação dos adaptadores:** retiraram-se 3,67 μ l da reação de digestão e acrescentaram-se 1 μ l de tampão T₄ DNA ligase, 0,5 μ l da enzima T₄ DNA ligase, 0,33 μ l do adaptador para o corte da MseI e 0,33 μ l do adaptador para o corte da EcoRI (ambos previamente pareados a 95°C por 5min). A ligação ocorreu por 2h a 20°C e, em seguida, a amostra foi diluída 10 vezes. **Amplificação pré-seletiva:** Retiraram-se 2 μ l da reação diluída preparada a partir das reações de digestão e ligação dos adaptadores e acrescentaram-se 0,5 μ l da mistura dos primers pré-seletivos AFLP EcoRI e MseI e 7,5 μ l de AFLP Core Mix. As amostras foram colocadas no termociclador com o seguinte programa: 1°) um ciclo de 2' a 72°C; 2°) 20 ciclos de 20" a 94°C, 30" a 56°C e 2' a 72°C; 3°) um ciclo de 30' a 60°C. Os produtos amplificados na reação pré-seletiva foram diluídos 2 vezes. **Amplificação seletiva:** retirou-se 1,5 μ l da reação pré-seletiva diluída e acrescentaram-se 7,5 μ l do AFLP Core Mix, 0,7 μ l do primer AXX da EcoRI marcado por fluorescência e 0,7 μ l do primer CXX da MseI. Após o preparo das reações, as amostras foram colocadas no termociclador com o seguinte programa: 1°) 2' a 94°C; 2°) um ciclo de 20" a 94°C, 30" a 66°C e 2' a 72°C; 3°) um ciclo de 20" a 94°C, 30" a 65°C e 2' a 72°C, sendo que até o 10° passo foram marcados pela diminuição em 1°C do ciclo intermediário da fase anterior até chegar à temperatura de 57°C, e o restante igual; 11°) 21 ciclos de 20" a 94°C, 30" a 56°C e 2' a 72°C; 12°) um ciclo de 30' a 60°C. Retirou-se 1,5 μ l da reação seletiva e adicionaram-se 1,6 μ l de um mix contendo 1,07 μ l de formamida deionizada, 0,44 μ l de blue dextran e 0,09 μ l do padrão interno de peso molecular GeneScan-500 [ROX] marcado por fluorescência vermelha. No termociclador, desnaturou-se a reação a 95°C por 5min. Foi aplicado 1,5 μ l de cada amostra num gel 5% desnaturante Long-ranger usando como tampão de corrida TEB 1x. Pares de primers utilizados: AAG-CAT (JOE) e AAG-CTG (JOE).

O programa "Paup"[4.0b10] foi utilizado para o cálculo da dissimilaridade genética entre as amostras através do Método da Distância, construindo o dendrograma pelo padrão de agrupamento "Neighbor-Joining".

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os pares de "primers" utilizados (AAG-CAT e AAG-CTG) revelaram um total de 123 marcas polimórficas (93,89%), variando entre 50 e 500pb. A dissimilaridade ou distância genética entre as plantas

variou de 0,065 (ou 8 marcas), entre AFRUEVC e Sooretama, a 0,496 (ou 61 marcas), entre IAC 273 e Sinop. A Tabela 02 revela a alta divergência observada entre as plantas de maracujazeiro-amarelo.

A análise de agrupamento com base nas distâncias genéticas (Figura 01) mostrou a formação de dois grupos, um composto pelos dois acessos de Rondônia (RO/A e RO/B) e outro composto pelos acessos SE, de Aracaju-SE, IAC 273, de Monte Alegre do Sul-SP e Vermelhão, de Brasília-DF, sendo que os demais acessos não se agruparam em razão da alta diversidade genética entre os mesmos. Deste modo, verifica-se que não houve uma estruturação geográfica em relação à similaridade entre acessos de mesmo Estado ou região, exceto para os dois acessos provenientes de Rondônia, havendo entre eles uma dissimilaridade de 0,098 ou 12 marcas polimórficas. Pelo fato de terem a mesma procedência, esperava-se esta proximidade genética entre eles, inclusive porque foram coletados na mesma propriedade.

Ausência de correlação entre grau de similaridade genética e procedência de acessos também foi obtida por Salla et al. (2002), estudando a variabilidade genética de *Malpighia emarginata* por RAPD e por Yee et al. (1999), analisando diversidade entre acessos de *Vigna angularia* com RAPD e AFLP.

Elevado polimorfismo também é citado entre acessos de *Malpighia emarginata* por Salla et al. (2002) através de marcadores RAPD. Crochemore et al. (2003), em estudo de caracterização agromorfológica de 34 acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa* provenientes de 5 estados brasileiros (SP, PR, MG, ES e SC), entre outras espécies, concluíram que limitada variabilidade foi encontrada dentro do grupo *flavicarpa*. Os dados obtidos no presente estudo sugerem o oposto, sendo que tal contradição pode ser explicada através do efeito de interação e variância de ambiente, como o demonstrado por Viana et al. (2003b) para o caráter largura de frutos em maracujazeiro-amarelo, o qual mostrou um forte efeito de ambiente. Oliveira (1980) também não detectou endogamia e heterose na produção de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. e inferiu que estes efeitos podem não ter se manifestado em função da grande influência ambiental sobre esta característica.

A alta diversidade apresentada também se explica pelo fato de ser o maracujá uma espécie alógama, com presença de um sistema genético de auto-incompatibilidade que favorece a polinização cruzada e, conseqüentemente, o fluxo gênico entre genótipos distintos, inclusive entre espécies, pois, segundo Bruckner (1997), existe alta compatibilidade interespecífica em cruzamentos dentro do gênero *Passiflora*. Todos os acessos foram obtidos via semente, a maioria de plantios comerciais, o que não exclui, portanto, a possibilidade de cruzamentos com outras espécies compatíveis. Além disso, diversos acessos provêm de Programas de melhoramento, como os do Distrito Federal (EC-3-0, EC-3-L, EC-RAM e Vermelhão, que são híbridos, e MSC = Marília Seleção Cerrado), Pará

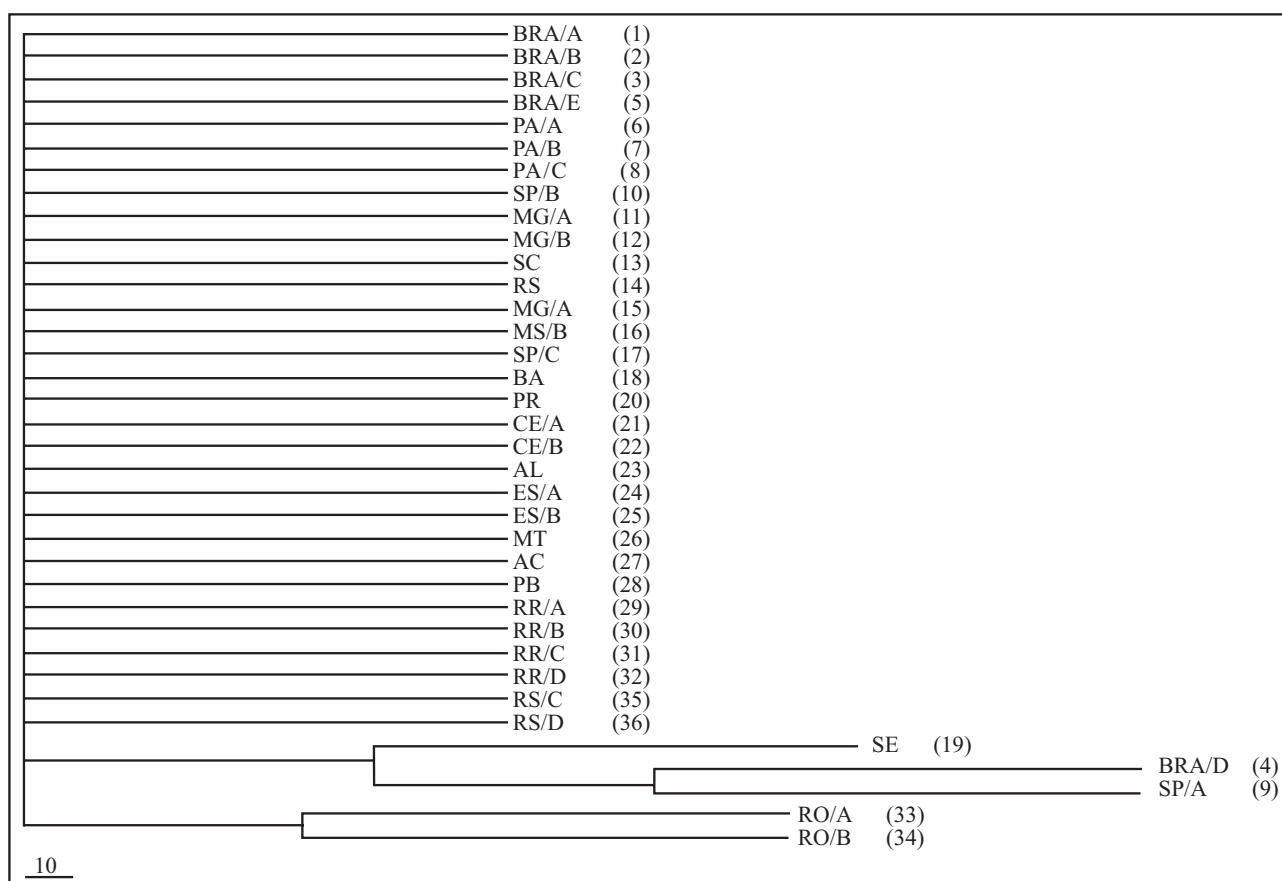


FIGURA 01 - Dendrograma de 36 acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa*, baseado na técnica fAFLP, utilizando o padrão de agrupamento “Neighbor-Joining”.

(tipo Local, Golden Star e Seleção EMBRAPA Amazônia Oriental), São Paulo (IAC 273, IAC 277, IAC 275 coletado no Mato Grosso do Sul e AFRUVEC), Minas Gerais (Rafael 1 e Rafael 2) e Roraima (Paulista 1 e Paulista 2), indicando que são materiais já submetidos a cruzamentos dirigidos e/ou a processos intensos de seleção.

Outro fator considerável no tocante à diversidade refere-se ao trânsito de material pelo País e sua relação com a obtenção de sementes para os plantios comerciais. Sabe-se que o produtor de maracujá, de modo geral, produz suas próprias mudas, com sementes colhidas de frutos de plantios anteriores, de vizinhos ou ainda adquiridos no próprio mercado de frutas frescas, sem nenhum controle sobre a procedência, suas qualidades ou características agrônomicas. Além disso, o gênero *Passiflora* tem origem na América do Sul, com o Centro-Norte do Brasil como o maior centro de distribuição geográfica (Lopes, 1991). Esta diversidade dos locais de coleta implica diferentes capacidades adaptativas dos acessos analisados, o que é de extremo interesse para programas de melhoramento genético visando à obtenção de variedades adaptadas a diferentes regiões e/ou sistemas agrícolas do País. A avaliação da divergência genética possibilita selecionar combinações com maiores possibilidades de complementação gênica e recuperação de genótipos superiores nas gerações segregantes.

No agrupamento composto pelos acessos SE, Vermelhão e IAC 273, nota-se que um subgrupo foi formado pelos dois últimos; como são materiais oriundos de programas de melhoramento genético, é possível que tenham algum ancestral em comum, e que inclusive possa ser o que os deixou mais próximos de SE. ‘Vermelhão’ é um híbrido entre ‘Marília Comum’ e *Passiflora caerulea* f. *rubra*. O acesso SE se originou de sementes de frutos obtidos em feira livre, característica de pequenos produtores, podendo ser resultado de cruzamentos com materiais já cultivados ou até mesmo silvestres, pois, embora a bibliografia não relate

a ocorrência natural da forma selvagem de *flavicarpa* no Brasil, existem informações que indicam a existência destas formas em algumas regiões de Sergipe e Santa Catarina (Crochemore et al., 2003). Espécies silvestres do gênero *Passiflora* têm sido utilizadas como fonte de genes para resistência a doenças e pragas, bem como para outras características ausentes na espécie cultivada. Estudos biotecnológicos têm sido realizados em espécies de *Passiflora* e tentativas têm sido feitas para obtenção de híbridos com o objetivo tanto do aumento do valor ornamental quanto da obtenção de plantas resistentes a doenças, a baixas temperaturas e com características agrônomicas superiores (Souza et al., 2003).

A identificação de genitores com alta divergência tem sido objetivo de muitos trabalhos de melhoramento, para que, realizada a hibridação, ocorra uma segregação tal na progênie que aumente as possibilidades de ocorrência de genótipos superiores com constituições ajustadas ao ambiente. Assim, a caracterização de germoplasma é necessária, visando a assegurar informações sobre fontes de genes para utilização futura, que, além de prevenir a perda desses recursos, também são fundamentais para o sucesso da sua produção agrícola.

Este estudo de diversidade genética entre acessos de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) de diversas procedências do País permitiu a obtenção de informações úteis ao seu manejo, pois, na literatura, não há relatos sobre trabalhos que tenham quantificado a variabilidade existente na espécie com técnicas tão consistentes, gerando resultados precisos por não serem influenciados pelo ambiente. Acredita-se que esta abordagem seja válida, porém deve ser aliada ao desempenho destes materiais em condições de cultivo, orientando programas de melhoramento na busca de uma cultivar que se adapte às reais necessidades dos agricultores.

CONCLUSÕES

Os marcadores fAFLP se mostraram consistentes na avaliação da variabilidade genética, detectando e quantificando a ampla divergência genética entre os 36 acessos de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. analisados, bem como a não-formação de estruturação geográfica. Tais resultados podem auxiliar na definição de estratégias mais eficientes a serem utilizadas em programas de melhoramento de maracujá-amarelo.

REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL 2002: anuário da agricultura brasileira: São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2002. p.408.
- APPLIED BIOSYSTEMS – PE. **AFLP Plant Mapping Protocol**. 1997. 45p.
- BRUCKNER, C.H. **Perspectivas do melhoramento genético do maracujazeiro. Maracujá: temas selecionados**. Porto Alegre: Cinco Continentes Editora, 1997. p. 25-46.
- COLOMBO, C.; SECOND, G.; CHARRIER, A. Genetic relatedness between cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and *M. flabellifolia* and *M. peruviana* based on both RAPD and AFLP markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.23, n.2, p.417-423, 2000.
- CROCHEMORE, M. L.; MOLINARI, H. B.; STENZEL, N. M. C. Caracterização agromorfológica do maracujazeiro (*Passiflora* spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p.5-10, 2003.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus Rosário**, v. 1, p. 13-15, 1991.
- HONGTRAKUL, V.; HUESTIS, G. M.; KNAPP, S. J. Amplified fragment length polymorphisms as a tool for fingerprinting sunflower germoplasm: genetic diversity among oilseed inbred lines. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 95: p.400-407, 1997.
- JAKŠE, J.; KINDLHOFER, K.; JAVORNIK, B. Assessment of genetic variation and differentiation of hop genotypes by microsatellite and AFLP markers. **Genome**, Ottawa, v.44, n.5, p.773-782, 2001.
- JANSSEN, P.; MAQUELIN, K.; COOPMAN, R.; TJERNBERG, I.; BOUVET, P.; KERSTERS, K.; DIJKSHOORN, L. Discrimination of *Acinetobacter* genomic species by AFLP fingerprinting. **International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology**, Reading, v.47, p.1179-1187, 1997.
- KARDOLUS, J.; ECK, H.; BERG, R. The potential of AFLP in biosystematics: a first application in *Solanum* taxonomy. **Plant Systems Evolutive**. v.2, p.87-103, 1998.
- LOPES, S. C. Citogenética do maracujá, *Passiflora* spp. In: SÃO JOSÉ, A. R. **A cultura do maracujá no Brasil**. Jaboticabal: FUNEP, 1991. p.201-209.
- MELETTI, L. M. M. **Caracterização agronômica de progênies de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener)**. 1998. 92f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 1998.
- MUELLER, U.; WOLFENBARGER, L. AFLP genotyping and fingerprinting. **Trends Plants Science**, Oxford, v.14, p.389-394, 1999.
- OLIVEIRA J. C. de. **Melhoramento genético de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. Visando ao aumento de produtividade**. 1980. 113f. Tese (Livre-Docência) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1980.
- REN, N.; TIMKO, M.P. AFLP analysis of genetic polymorphism and evolutionary relationships among cultivated and wild *Nicotiana* species. **Genome**, Ottawa, v.44, n.4, p.559-571, 2001.
- SALLA, M. F. S.; RUAS, C. de F.; RUAS, P. M.; CARPENTIERI-PÍPOLO, V. Uso de marcadores moleculares na análise da variabilidade genética em acerola (*Malpighia emarginata* D. C.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, p.15-22, 2002.
- SANCHEZ, G.; RESTREPO, S.; DUQUE, M.C.; FREGENE, M.; BONIERBALE, M.; VERDIER, V. AFLP assessment of genetic variability in cassava accessions (*Manihot esculenta*) resistant and susceptible to the cassava bacterial blight (CBB). **Genome**, Ottawa, v.42, n.2, p.163-172, 1999.
- SOUZA, M. M.; PALOMINO, G.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; VIANA, A. P.; SILVA, L. da C.; SUDRÉ, C.P. Variação interespecífica do tamanho do genoma em *Passiflora* spp. (*Passifloraceae*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2., 2003, Porto Seguro. CD-ROM.
- VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JR, A. T. do; SOUZA, M. M.; MALDONADO, J. F. M. Diversidade genética entre genótipos comerciais de maracujazeiro-amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de *Passifloras* nativas determinada por marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal v. 25, n. 3, p.489-493, 2003a.
- VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JR, A. T. do; SOUZA, M. M.; MALDONADO, J. F. M. Parâmetros genéticos em populações de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2., 2003b, Porto Seguro. CD-ROM.
- YEE, E.; KIDWELL, K.K.; SILLS, G.R.; LUMPKIN, T.A.. Diversity among selected *Vigna angularis* (azuki) accessions on the basis of RAPD and AFLP markers. **Crop Science**, Madson, v.39, p.268-275. 1999.