

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

MATHEUS ALVES SILVA

**VARIAÇÃO NO CONTEÚDO DE DNA, NA PROPORÇÃO DE CG E
EM GENES DE TERPENO SINTASE DE ESPÉCIES DE *Psidium* E
RELAÇÃO COM A PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS
ESSENCIAIS**

ALEGRE

2020

MATHEUS ALVES SILVA

**VARIAÇÃO NO CONTEÚDO DE DNA, NA PROPORÇÃO DE CG E
EM GENES DE TERPENO SINTASE DE ESPÉCIES DE *Psidium* E
RELAÇÃO COM A PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS
ESSENCIAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, na área de concentração Produção Vegetal.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Marcia Flores da Silva Ferreira. Coorientadores: Prof. Dr. Adésio Ferreira e Dr.^a Fernanda Aparecida Ferrari Soares.

ALEGRE

2020

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

S586v Silva, Matheus Alves, 1994-
Variação no conteúdo de DNA, na proporção de CG e em genes de terpeno sintase de espécies de Psidium e relação com a produção e composição de óleos essenciais / Matheus Alves Silva. - 2020.
93 f. : il.

Orientadora: Marcia Flores da Silva Ferreira.

Coorientadores: Adésio Ferreira, Fernanda Aparecida Ferrari Soares.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Goiabeira. 2. Araça. 3. Genoma. 4. Epigenética. 5. Polimorfismo. 6. Terpenos. I. Ferreira, Marcia Flores da Silva. II. Ferreira, Adésio. III. Soares, Fernanda Aparecida Ferrari. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. V. Título.

CDU: 63

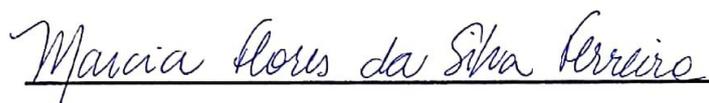
MATHEUS ALVES SILVA

**VARIAÇÃO NO CONTEÚDO DE DNA, NA PROPORÇÃO DE CG E EM GENES
DE TERPENOSINTASE DE ESPÉCIES DE *Psidium* E RELAÇÃO COM A
PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS**

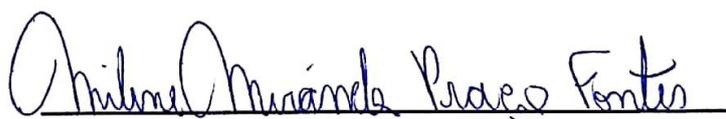
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, na área de concentração Produção Vegetal.

Aprovada em 17 de abril de 2020.

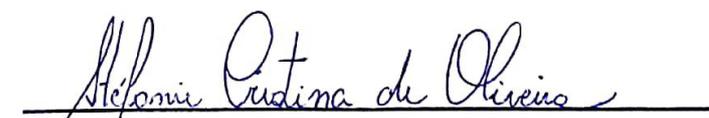
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a Marcia Flores da Silva Ferreira
Universidade Federal do Espírito Santo
(Orientadora)



Prof.^a Dr.^a Milene Miranda Praça-Fontes
Universidade Federal do Espírito Santo



Dr.^a Stéfanie Cristina de Oliveira
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. Wellington Ronildo Clarindo
Universidade Federal de Viçosa

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por me permitir ter saúde e força para enfrentar as dificuldades pelo caminho;

Ao Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo pela oportunidade de ter cursado a graduação em Agronomia e o Mestrado em Produção Vegetal;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (Fapes), que forneceram apoio financeiro para realização deste trabalho. O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001;

A minha orientadora Prof.^a Dr.^a Marcia Flores da Silva Ferreira agradeço pela confiança depositada em mim e oportunidade de orientação desde a graduação, pela contribuição para meu crescimento acadêmico, profissional e pessoal!

Aos meus coorientadores Prof. Dr. Adésio Ferreira e Dr.^a Fernanda Aparecida Ferrari Soares pelos ensinamentos, dedicação e auxílio na execução desse trabalho;

A Prof.^a Dr.^a Milene Miranda Praça Fontes, Dr.^a Stéfanie Cristina de Oliveira e Prof. Dr. Wellington Ronildo Clarindo por aceitarem participar da banca deste trabalho, e pela contribuição para o enriquecimento do mesmo;

Aos demais professores, técnicos e funcionários da Universidade Federal do Espírito Santo que contribuíram de forma direta ou indireta para minha formação;

Ao Sr. Corti, à Dona Isabel e ao Sr. Erli Ropke, juntamente a empresa Frucafé e seus funcionários pelo desenvolvimento, confiança e disponibilidade de parte dos materiais vegetais utilizados nesse estudo;

Aos membros do Laboratório de Genética e Melhoramento e do Laboratório de Biometria Vegetal pela companhia, aprendizado e amizade! Agradeço a todos, em especial aos que pude trabalhar mais diretamente nesse projeto: Amélia, Luara, Luziane, Miquéias, Paola e Drielli! Muito obrigado por tudo!

Ao Prof. Wellington Clarindo do Laboratório de Pesquisa em Citogenética e Citometria da Universidade Federal de Viçosa pela parceria, disponibilidade e boa vontade nas análises de citometria de fluxo e aos demais membros do laboratório pela ajuda no processamento das amostras, em especial à minha coorientadora Dra. Fernanda Ferrari;

Aos meus familiares: tios, primos, e em especial aos meus pais Elza e Roberto e à minha irmã Roberta que sempre me apoiaram e pelo esforço para que eu pudesse estar aqui hoje! Agradeço pela criação, valores, incentivo, apoio e ajuda!

A todos os amigos que fiz nessa caminhada, em especial os de Lajinha, Alegre e Viçosa, no qual tive a oportunidade de conhecer antes e durante a graduação e pós-graduação. Muito obrigado por todos os momentos bons que passamos juntos! Dedico a cada um essa conquista!

E, por fim, a todos aqueles que direta ou indiretamente fizeram parte desta conquista, o meu muito obrigado!

BIOGRAFIA

Matheus Alves Silva, filho de Elza Maria da Conceição Alves Silva e José Roberto da Silva, nasceu em Belo Horizonte, Minas Gerais, no dia 21 de abril de 1994. Em setembro de 2012 ingressou no curso de Bacharelado em Agronomia da Universidade Federal do Espírito Santo no município de Alegre, Espírito Santo, graduando-se em fevereiro de 2018. Em março de 2018 ingressou no curso de Mestrado em Produção Vegetal, atuando na linha de Biotecnologia e Ecofisiologia do Desenvolvimento de Plantas, sob orientação da Prof.^a Dr.^a Marcia Flores da Silva Ferreira e coorientação do Prof. Dr. Adésio Ferreira e Dr.^a Fernanda Aparecida Ferrari Soares, submetendo-se à defesa da dissertação no dia 17 de abril de 2020.

SILVA, Matheus Alves. **Variação no conteúdo de DNA, na proporção de CG e em genes de terpeno sintase de espécies de *Psidium* e relação com a produção e composição de óleos essenciais.** 2020. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo. Orientadora: Prof.^a Dr.^a Marcia Flores da Silva Ferreira. Coorientadores: Prof. Dr. Adésio Ferreira e Dr.^a Fernanda Aparecida Ferrari Soares.

RESUMO

O gênero *Psidium*, pertencente à família Myrtaceae está distribuído em todas as regiões brasileiras e em diversos domínios fitogeográficos. A euploidia, ocorrente no gênero, bem como mutações pontuais no genoma podem ocasionar alterações na expressão gênica. Podem, dessa forma, influenciar nos fenótipos importantes, como a produção e composição dos óleos essenciais. Nesse trabalho objetivou-se estudar a variação no genoma de espécies de *Psidium* por meio do conteúdo de DNA nuclear (valor 2C), percentual de bases CG (%CG) e polimorfismos em genes de terpeno sintase (TPS) e relacionar esses caracteres com a produção e composição de óleos essenciais, bem como indicar a ocorrência de controle epigenético (%5-mC) envolvido no fenótipo. O valor 2C e %CG foi determinado em cerca de 10 espécies incluindo famílias de meios-irmãos. Valores 2C variaram de 0,90 pg (*P. guajava*) a 7,40 pg (*P. gaudichaudianum*). Em *P. cattleyanum* e *P. gaudichaudianum* houve variação intraespecífica e dentro de família no valor 2C, evidenciando ocorrência de células reprodutivas, sugerindo a ocorrência de células reprodutivas com diferentes euploidias ou aneuploidias resultantes de erros de disjunção na meiose. A variação na %CG foi de 34,33% (*P. guineense*) a 48,95 (*P. myrtoides*), com ocorrência intraespecífica e dentro de famílias, mesmo em espécies com maior estabilidade no valor 2C. O rendimento de óleos essenciais foi positivamente correlacionado com o tamanho do genoma (valor 2C) e metilação global do genoma (%5mC), indicando pela primeira vez em *Psidium* o efeito do aumento do genoma no fenótipo, bem como do controle epigenético. Nove sequências contendo SNPs (Polimorfismo de Nucleotídeo Único) de 29 a 69 pb (STAGs) oriundas de DArTseq alinharam-se em 12 genes TPS de *P. guajava* em 17 alinhamentos. SNPs foram identificados em regiões de éxons, íntrons e em

5'UTR, bem como foi evidenciado polimorfismo quanto à presença e ausência de STAGs, entre genótipos. A partir dos polimorfismos identificados, verificou-se em geral, que o perfil do agrupamento dos genótipos coincidiu com quimiotipos de óleos essenciais detectados anteriormente. Quanto ao avanço dos conhecimentos para as espécies de *Psidium* obtidos nesse trabalho, destaca-se a caracterização intra e interespecífica de aspectos genômicos e epigenômicos (valor 2C, %CG, %5-mC, SNPs) e sua relação com respostas fenotípicas. As evidências aqui reportadas podem estimular a formulação de novas hipóteses relacionadas ao controle de caracteres no gênero, exploração racional dos recursos genéticos e agregação de valor econômico, em especial relacionado aos óleos essenciais.

Palavras-chave: Goiabeira. Araça. Genoma. Epigenética. Polimorfismo. Terpenos.

SILVA, Matheus Alves. **Variation in DNA content, proportion of CG and in terpene synthase genes from *Psidium* species and relationship with the production and composition of essential oils.** 2020. Dissertation (Master in Plant Production) - Federal University of Espírito Santo. Advisor: Prof. Dr. Marcia Flores da Silva Ferreira. Co-supervisors: Dr. Adésio Ferreira and Dr. Fernanda Aparecida Ferrari Soares.

ABSTRACT

The genus *Psidium*, belonging to the Myrtaceae family is distributed in all Brazilian regions and in several phytogeographic domains. Euploidy, occurring in the genus, as well as point mutations in the genome can cause changes in gene expression. In this way, they can influence important phenotypes, such as production and composition, essential oils. This work aimed to study the variation in the genome of *Psidium* species by means of nuclear DNA content (value 2C), percentage of CG bases (%CG) and polymorphisms in terpene synthase (TPS) genes and to relate these characters to the production and composition of essential oils, as well as indicating the occurrence of epigenetic control (%5-mC) involved in the phenotype. The 2C and % CG values were determined in about 10 species including half-brother families. 2C values ranged from 0.90 pg (*P. guajava*) to 7.40 pg (*P. gaudichaudianum*). In *P. cattleyanum* and *P. gaudichaudianum* there was intraspecific and family variation in the value 2C, evidencing the occurrence of reproductive cells with suggesting the occurrence of reproductive cells with different euploidies or aneuploidies resulting from disjunction errors in meiosis. The variation in % of CG was 34.33% (*P. guineense*) to 48.95% (*P. myrtoides*), with intraspecific occurrence and within families, even in species with greater stability in the value 2C. The yield of essential oils was positively correlated with the size of the genome (value 2C) and overall methylation of the genome (% 5mC), indicating for the first time in *Psidium* the effect of the increase of the genome on the phenotype, as well as of the epigenetic control. Nine sequences containing 29 to 69 bp SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) (STAGs) from DArTseq were aligned in 12 *P. guajava* TPS genes in 17 alignments. SNPs were identified in regions of exons, introns and in 5'UTR, as well as polymorphism

regarding the presence and absence of STAGs, among genotypes. From the polymorphisms identified, it was found in general, that the profile of the genotypes cluster coincided with chemotypes of essential oils previously detected. As for the advance of knowledge for the *Psidium* species obtained in this work, the intra and interspecific characterization of genomic and epigenomic aspects (value 2C,% CG,% 5-mC, SNPs) and their relationship with phenotypic responses are highlighted. The evidence reported here may stimulate the formulation of new hypotheses related to the control of characters in the genre, rational exploitation of genetic resources and aggregation of economic value, especially related to essential oils.

Keywords: Guava. Araça. Genome. Epigenetics. Polymorphism. Terpenes.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2: VARIABILIDADE DE GENES DE TERPENO SINTASE EM GENÓTIPOS DE *Psidium guajava* L.....64

Figura 01. (A) Heatmap dos genótipos de goiabeiras e polimorfismos de genes de TPS amostrados. Representação na cor verde = homozigoto do alelo de referência; cor laranja = homozigoto do SNP; cor azul = heterozigoto, cor cinza = ausência da STAG na representação genômica. G = grupo. Genótipos em destaque (Cor azul – G1; vermelho – G2; roxo – G4) possuem a caracterização da composição do óleo essencial (Vide Anexo 01). Genes na cor verde = TPS-a; azul = TPS-b-1; vermelho = TPS-b-2; cinza = TPS-g. (B) Teor percentual médio de compostos identificados no óleo essencial de genótipos de goiabeiras em seis avaliações independentes, sendo duas realizadas por Souza et al. (2018) e quatro por Mendes et al. (2018).....77

Figura 2. Heatmap obtido através de polimorfismos em genes de TPS de 16 genótipos de goiabeiras (A) e teor percentual médio de quatro compostos (B) e do total de sesquiterpenos (C) identificados no óleo essencial desses materiais, por meio de seis avaliações, sendo duas por Souza et al. (2018) e quatro por Mendes et al. (2018). C_ = Cortibel; PAL = Paluma PS = Pedro Sato; SXXI = Século XXI, SSK = Sassaoka, RX = Roxa.....80

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1: VARIAÇÃO NO CONTEÚDO DE DNA NUCLEAR E PERCENTUAL DE CG EM ESPÉCIES DE *Psidium* E RELAÇÃO COM A PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS.....22

Tabela 01. Origem, forma de vida, região de ocorrência, domínios fitogeográficos e número cromossômico de espécies de *Psidium*.....28

Tabela 02. Tamanho amostral das espécies de *Psidium* estudadas quanto ao conteúdo de DNA nuclear (2C), percentual de bases CG (%CG), percentual de citosinas metiladas (%5-mC) e rendimento de extração do óleo essencial (REND).....29

Tabela 03. Conteúdo de DNA nuclear (valor 2C) e percentual de bases CG (%CG) de espécies e família de meios-irmãos (MI) de *Psidium*.....34

Tabela 04. Agrupamento pelo método de Tocher (otimizado) de genótipos de *Psidium* em relação ao conteúdo de DNA nuclear (2C) e percentual de bases CG (%CG).....36

Tabela 05. Conteúdo de DNA nuclear (2C), percentual de bases CG (%CG), percentual de citosinas metiladas (%5-mC) e rendimento de extração (REND) do óleo essencial de genótipos de *P. guajava* e *P. cattleianum*.....37

Tabela 06. Correlação do conteúdo de DNA (2C), percentual de bases CG (%CG) e percentual de 5-mC (%5-mC) em relação ao rendimento de extração (REND) e composição química do óleo essencial de *P. guajava* e *P. cattleianum*.....38

CAPÍTULO 2: VARIABILIDADE DE GENES DE TERPENO SINTASE EM GENÓTIPOS DE *Psidium guajava* L.....64

Tabela 01. Informações das sequências de goiabeiras, SNPs e genes de TPS alinhados.....75

Tabela 02. Anotação dos genes de terpeno sintase obtidos nos bancos de dados *Universal Protein* (UniProt), *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) e *Gene Ontology* (GO).....78

LISTA DE APÊNDICES

CAPÍTULO 1: VARIAÇÃO NO CONTEÚDO DE DNA NUCLEAR E PERCENTUAL DE CG EM ESPÉCIES DE *Psidium* E RELAÇÃO COM A PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS.....22

Apêndice 01. Município de origem e atual na coleção de germoplasma, local no germoplasma, anotação de campo, identificação individual (ID) e da família de meios-irmãos (ID MI), conteúdo de DNA (2C) e percentual de bases CG (%CG) dos genótipos de *Psidium*.....48

CAPÍTULO 2: VARIABILIDADE DE GENES DE TERPENO SINTASE EM GENÓTIPOS DE *Psidium guajava* L.....64

Apêndice 01. Informações dos alinhamentos de sequências de goiabeiras de 29 a 69 pb (STAGs) oriundas de DArTseq em genes de terpeno sintase (TPS).....87

LISTA DE ANEXOS

CAPÍTULO 1: VARIAÇÃO NO CONTEÚDO DE DNA NUCLEAR E PERCENTUAL DE CG EM ESPÉCIES DE *Psidium* E RELAÇÃO COM A PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS.....22

Anexo 01. Composição química em percentual de área relativa de compostos químicos dos óleos essenciais extraídos de folhas, considerando teores maiores que 1%, rendimento de extração (REND) e percentual de citosinas metiladas (%5-mC) de 21 genótipos de *P. guajava* (Gua_) e seis de *P. cattleyanum* (Cat_).....62

CAPÍTULO 2: VARIABILIDADE DE GENES DE TERPENO SINTASE EM GENÓTIPOS DE *Psidium guajava* L.....64

Anexo 01. Composição química em percentual de área relativa de compostos químicos encontrados nos óleos essenciais extraídos das folhas de 16 genótipos de goiabeiras, considerando teores maiores que 1%.....88

Anexo 02. Anotação dos genes de terpeno sintase obtidos nos bancos de dados *Universal Protein* (UniProt), *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) e *Gene Ontology* (GO).....91

Anexo 03. Teor percentual médio de compostos identificados no óleo essencial de 16 genótipos de goiabeiras: sesquiterpenos abundantes (A), compostos com o radical “selin” (B), monoterpenos oxigenados e hidrogenados (C), (E)-nerolidol e compostos com o radical “farnes”92

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	17
2 OBJETIVOS.....	19
2.1 Objetivo geral.....	19
2.2 Objetivos específicos.....	19
3 REFERÊNCIAS.....	20
CAPÍTULO 1: VARIAÇÃO NO CONTEÚDO DE DNA NUCLEAR E PERCENTUAL DE CG EM ESPÉCIES DE <i>Psidium</i> E RELAÇÃO COM A PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS.....	22
1 INTRODUÇÃO.....	25
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
2.1 Material vegetal.....	27
2.2 Conteúdo de DNA nuclear (valor 2C) e percentual de bases CG (%CG).....	30
2.3 Determinação do percentual de citosinas metiladas (%5-mC), rendimento de extração e do teor de compostos químicos presentes no óleo essencial.....	32
3 RESULTADOS.....	33
3.1 Variação no valor 2C e %CG.....	33
3.2 Relação do valor 2C com %CG, %5-mC, rendimento e composição do óleo.....	36
4 DISCUSSÃO.....	38
5 CONCLUSÃO.....	42
6 AGRADECIMENTOS.....	43
7 REFERÊNCIAS.....	44
APÊNDICE.....	48
ANEXO.....	62
CAPÍTULO 2: VARIABILIDADE DE GENES DE TERPENO SINTASE EM GENÓTIPOS DE <i>Psidium guajava</i> L.....	64
1 INTRODUÇÃO.....	68
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	70
2.1 Material vegetal.....	70
2.2 Obtenção do DNA genômico e das sequências.....	70
2.3 Localização dos SNPs em genes de TPS.....	72
2.4 Obtenção do heatmap.....	73

2.5 Composição do óleo.....	73
3 RESULTADOS.....	74
4 DISCUSSÃO	81
5 CONCLUSÃO.....	82
6 AGRADECIMENTOS	83
7 REFERÊNCIAS.....	84
APÊNDICE.....	87
ANEXO.....	88
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	93

1 INTRODUÇÃO GERAL

A família Myrtaceae é pertencente à classe Equisetopsida, subclasse Magnolididae, superordem Rosanae e ordem Myrtales (CHASE; REVEAL, 2009) e possui mais de 130 gêneros e 5000 espécies. Centros de diversidade para representantes da família estão localizados na Ásia Tropical, América do Sul e Austrália (GOVAERTS et al., 2020). Sua distribuição no Brasil é ampla, com representação de suas espécies em todos os biomas (MORAIS; DA CONCEIÇÃO; NASCIMENTO, 2014). Espécies pertencentes à Myrtaceae são exploradas comercialmente em especial para fins de utilização da madeira, especiarias, óleos essenciais e frutos (GOVAERTS et al., 2020), demonstrando sua importância econômica e ecológica. Os frutos de Myrtaceae que se apresentam como suculentos e carnosos são fonte de alimento à fauna silvestre. Muitas espécies de aves e macacos utilizam esses frutos para alimentação, o que contribui com a dispersão de sementes, favorecendo a sobrevivência e permanência das espécies das quais se beneficiam (BEZERRA et al., 2006).

O gênero *Psidium*, pertencente à família Myrtaceae, contém cerca de 100 espécies (GOVAERTS et al., 2020), das quais 61 ocorrem no Brasil (SOBRAL et al., 2020). As formas de vida dessas espécies são geralmente arbusto e árvore. Espécies de *Psidium* estão distribuídas em todas as regiões brasileiras, em diversos domínios fitogeográficos, como amazônia, caatinga, cerrado e mata atlântica. Dentre as espécies do gênero, há destaque para goiabeira (*Psidium guajava*), que é naturalizada, ocorre em todas as regiões brasileiras (FLORA DO BRASIL, 2020) e é a mais explorada comercialmente. Além da goiabeira, “araçazeiros” como *P. cattleianum*, *P. guineense* e *P. myrtoides* destacam-se em virtude de seus frutos, os quais são muito apreciados pelas populações locais onde ocorrem de forma nativa (BEZERRA et al., 2006).

No que se trata do genoma, a proporção de bases em *Psidium* não é reportada. Já o conteúdo de DNA nuclear (valor 2C) de *Psidium* sabe-se que é variável, e comumente as variações são relacionadas ao número cromossômico, que é derivado geralmente de um conjunto básico $x = 11$ (DA COSTA, 2009; MACHADO, 2016; MARQUES et al., 2016; TULER et al., 2019). É relatada uma série euploide baseada no número cromossômico básico, com ocorrência de

espécies diploides, tetraploides, hexaploides e octoploides, indicando uma alta frequência de poliploidia no gênero (DA COSTA, 2009; FORNI-MARTINS; MARTINS, 2000). Além disso, são reportados citótipos em espécies de *Psidium*, e até mesmo dentro de famílias de meios-irmãos (MACHADO, 2016), indicando que alterações cromossômicas numéricas ocorrem naturalmente com frequência.

Os organismos poliploides tendem a possuir características superiores, quando comparados a seus parentes diploides. Eles podem apresentar tolerância a estresses bióticos e abióticos, com maior vigor, e incremento em órgãos da planta, causando o conhecido efeito “giga” (SATTLER; CARVALHO; CLARINDO, 2016). Alterações no genoma, em especial relacionadas ao controle epigenético, como a 5-metilcitosina (5-mC), são ocorrentes em organismos poliploides, o que pode influenciar na expressão gênica (OSBORN et al., 2003). Assim, a caracterização do genoma de espécies que constituem um germoplasma, possibilita investigar a variabilidade existente, e auxiliar na compreensão da influência de caracteres genômicos em fenótipos de interesse, a exemplo dos óleos essenciais em Myrtaceae.

A produção de óleos essenciais é uma característica marcante no gênero *Psidium*. Os compostos voláteis presentes no óleo possuem importância ecológica, por estabelecer relações da planta com o meio. Apresentam também possibilidade de aproveitamento pela indústria em diferentes aplicações, uma vez que os óleos essenciais de *Psidium* possuem atividades larvicida (MENDES et al., 2017; RWANG et al., 2016), fungicida e bactericida (CHATURVEDI et al., 2019; SOLIMAN et al., 2016).

A constituição dos óleos essenciais é majoritariamente de terpenos (KESZEI; BRUBAKER; FOLEY, 2008). A família numerosa de enzimas terpeno sintases (TPSs) é responsável por catalisar a biossíntese de hemiterpenos (C5), monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15) e diterpenos (C20) (DUDAREVA et al., 2013). Variações na composição do óleo em indivíduos da mesma espécie não ocorrem. Dentre possíveis fatores que contribuem para essa diversificação, está incluso o genótipo. Nesse contexto o estudo de polimorfismos é importante, como os Polimorfismos de Nucleotídeos Únicos (SNPs), em genes de terpeno sintase, responsáveis pela síntese de compostos terpênicos presentes no óleo. Esses polimorfismos podem resultar em uma mudança fisiológica para o

organismo, portanto são importantes marcadores utilizados para compreender as bases moleculares da variabilidade fenotípica (RODRIGUES CAETANO, 2009).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar a variação no genoma de espécies de *Psidium* por meio do conteúdo de DNA nuclear (valor 2C), percentual de bases CG (%CG) e polimorfismos em genes de terpeno sintase (TPS) e relacionar esses caracteres com a produção e composição de óleos essenciais, bem como verificar o possível controle epigenético (%5-mC) envolvido nesse fenótipo.

2.2 Objetivos específicos

- Estudar a variabilidade intra e interespecífica do valor 2C e o %CG em pelo menos 10 espécies de *Psidium*;
- Determinar o valor 2C e o %CG em nove famílias de meios-irmãos distribuídas nas espécies *P. cattleyanum*, *P. guajava*, *P. myrtoides* e *P. gaudichaudianum*;
- Relacionar o valor 2C com %CG, %5-mC, com rendimento e composição de óleos essenciais em indivíduos de *P. guajava* e *P. cattleyanum*;
- Identificar SNPs em genes de TPS em *P. guajava* e caracterizar os polimorfismos detectados;
- Estudar diversidade de *P. guajava* pelos polimorfismos em genes de TPS;
- Associar a variabilidade detectada nos genes de TPS de *P. guajava* com a composição do óleo essencial.

3 REFERÊNCIAS

- BEZERRA, J.E.F.; LEDERMAN, I. E.; SILVA JUNIOR, J. F.; PROENÇA, C. E. B. Araçá. In: VIEIRA, R. F.; COSTA, T. S. A.; SILVA, D. B.; SANO, S. M.; FERREIRA, F. R.. Frutas Nativas da Região Centro-Oeste do Brasil. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, p. 42-62, 2006.
- CHASE, M. W.; REVEAL, J. L. A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, n. 2, p. 122–127, 2009.
- CHATURVEDI, T. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of senescent leaves of guava (*Psidium guajava* L.). **Natural Product Research**, p. 1–5, 2019.
- DA COSTA, I. R. Estudos evolutivos em Myrtaceae: aspectos citotaxonômicos e filogenéticos em Myrteae, enfatizando *Psidium* e gêneros relacionados. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia - Campinas/SP, 2009.
- DUDAREVA, N. et al. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. **New Phytologist**, v. 198, n. 1, p. 16–32, 2013.
- FLORA DO BRASIL. *Psidium* L. - Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB10853>>. Acesso em: 10 jan. 2020.
- FORNI-MARTINS, E. R.; MARTINS, F. R. Chromosome studies on Brazilian cerrado plants. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 4, p. 947–955, 2000.
- GOVAERTS, R. et al. World Checklist of Myrtaceae. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Disponível em: <<http://wcsp.science.kew.org/>>. Acesso em: 10 jan. 2020.
- KESZEI, A.; BRUBAKER, C. L.; FOLEY, W. J. A molecular perspective on terpene variation in Australian Myrtaceae. **Australian Journal of Botany**, v. 56, n. 3, p. 197–213, 2008.
- MACHADO, R. M. Distribuição geográfica e análise cariotípica dos citótipos de *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae). Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. Campinas-SP, 2016.
- MARQUES, A. M. et al. Refinement of the karyological aspects of *Psidium guineense* (Swartz, 1788): A comparison with *Psidium guajava* (Linnaeus, 1753). **Comparative Cytogenetics**, v. 10, n. 1, p. 117–128, 2016.
- MENDES, L. A. et al. Larvicidal effect of essential oils from Brazilian cultivars of guava on *Aedes aegypti* L. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 684–689, 2017.

MORAIS, L. M.; DA CONCEIÇÃO, G.; NASCIMENTO, J. Família Myrtaceae: análise morfológica e distribuição geográfica de uma coleção botânica. **Agrarian Academy**, v. 1, n. 1, p. 317–346, 2014.

OSBORN, T. C. et al. Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids. **Trends in Genetics**, v. 19, n. 3, p. 141–147, 2003.

RODRIGUES CAETANO, A. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 3598, p. 64–71, 2009.

RWANG, P. G. et al. Effects of *Psidium guajava* (Guava) extracts on immature stage of mosquito. **International Journal of Complementary & Alternative Medicine**, v. 4, n. 5, 2016.

SATTLER, M. C.; CARVALHO, C. R.; CLARINDO, W. R. The polyploidy and its key role in plant breeding. **Planta**, v. 243, n. 2, p. 281–296, 2016.

SOBRAL, M. et al. Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB171>>. Acesso em: 10 jan. 2020.

SOLIMAN, F. M. et al. Comparative study of the volatile oil content and antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. and *Psidium cattleianum* Sabine leaves. **Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University**, v. 54, n. 2, p. 219–225, 2016.

TULER, A. C. et al. Diversification and geographical distribution of *Psidium* (Myrtaceae) species with distinct ploidy levels. **Trees - Structure and Function**. 2019.

CAPÍTULO 1

VARIAÇÃO NO CONTEÚDO DE DNA NUCLEAR E PERCENTUAL DE CG EM ESPÉCIES DE *Psidium* E RELAÇÃO COM A PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Matheus Alves Silva¹, Fernanda Aparecida Ferrari Soares¹, Wellington Ronildo Clarindo², Adésio Ferreira¹, Marcia Flores da Silva Ferreira¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias - Departamento de Agronomia - Alto Universitário, s/n, Guararema - Alegre - ES, 29500-000.

²Universidade Federal de Viçosa - Departamento de Biologia Geral - Av. Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário - Viçosa - MG, 36570-900.

RESUMO

No gênero neotropical *Psidium* (Myrtaceae) há espécies diploides e poliploides, derivadas da série euploide $x = 11$, além da ocorrência de citótipos intraespecíficos. A euploidia pode ocasionar alterações na expressão gênica, proporcionando aos organismos maior vigor, tolerância a estresses, influenciando em caracteres de interesse econômico, como a produção de óleos essenciais. Assim, é importante o conhecimento da estrutura do genoma de *Psidium* por meio do conteúdo de DNA (valor $2C$), composição de bases (%CG), da possível influência do tamanho do genoma no rendimento e composição de óleos essenciais, bem como do controle epigenético envolvido (%5-mC), o que constitui o objetivo deste trabalho. O valor $2C$ e o %CG foram determinados em indivíduos de pelo menos 10 espécies, e dentro de famílias de meios-irmãos. A relação desses aspectos, bem como de %5-mC no rendimento e composição de óleos essenciais foi estudada considerando duas espécies, uma diploide (*P. guajava*) e

uma poliploide (*P. cattleyanum*). Valores $2C = 0,90$ pg (*P. guajava*) a $2C = 7,40$ pg (*P. gaudichaudianum*) foram observados. Em *P. cattleyanum* e *P. gaudichaudianum* o valor $2C$ variou entre indivíduos da espécie e nas famílias de meios-irmãos, sugerindo a ocorrência de células reprodutivas com diferentes euploidias ou aneuploidias resultantes de erros de disjunção na meiose. O %CG foi muito variável, de 34,33% (*P. guineense*) a 48,95 (*P. myrtoides*). Essa variação ocorreu dentro de espécies e dentro de famílias de meios-irmãos, mesmo naquelas com estabilidade quanto ao valor $2C$. O rendimento foi positivamente correlacionado com valor $2C$ e com o %5mC, e os compostos α -Copaene e (E)-Caryophyllene com o valor $2C$, e este último composto positivamente com o %5-mC confirmando pela primeira vez em *Psidium* com efeito do aumento do genoma no fenótipo, bem como do controle epigenético. Esse trabalho fornece uma importante caracterização do genoma do gênero *Psidium*, com informações e evidências que podem ser incorporadas e dirigidas a diversos estudos futuros, em especial em respostas fenotípicas relacionadas a caracteres de interesse econômico.

Palavras-chave: Goiabeira. Araça. Genoma. Epigenética. Sesquiterpenos.

ABSTRACT

In the neotropical genus *Psidium* (Myrtaceae) there are diploid and polyploid species, derived from the euploid series $x = 11$, in addition to the occurrence of intraspecific cytotypes. Euploidy can cause changes in gene expression, providing organisms with greater vigor, tolerance to stresses, influencing characters of economic interest, such as the production of essential oils. Thus, it is important to know the structure of the *Psidium* genome through DNA content (value 2C), base composition (% CG), the possible influence of the size of the genome on the yield and composition of essential oils, as well as the control epigenetic involved (% 5-mC), which is the objective of this work. The 2C value and the % CG were determined in individuals of at least 10 species, and within half-brother families. The relationship between these aspects, as well as % 5-mC in the yield and composition of essential oils were studied considering two species, a diploid (*P. guajava*) and a polyploid (*P. cattleianum*). Values 2C = 0.90 pg (*P. guajava*) to 2C = 7.40 pg (*P. gaudichaudianum*) were observed. In *P. cattleianum* and *P. gaudichaudianum* the value 2C varied between individuals of the species and in the families of half brothers, suggesting the occurrence of reproductive cells with different euploidies or aneuploidies resulting from errors of disjunction in meiosis. The % CG was very variable, from 34.33% (*P. guineense*) to 48.95 (*P. myrtilloides*). This variation occurred within species and within half-brothers families, even in those with stability in the 2C value. Yield was positively correlated with value 2C and % 5mC, and the compounds α -Copaene and (E)-Caryophyllene with value 2C, and the latter compound positively with % 5-mC confirming for the first time in *Psidium* the effect of increase of the genome in the phenotype, as well as of the epigenetic control. This work provides an important characterization of the genome of the genus *Psidium*, with information and evidence that can be incorporated and directed to several future studies, especially in phenotypic responses related to characters of economic interest.

Keywords: Guava. Araça. Genome. Epigenetics. Sesquiterpenes.

1 INTRODUÇÃO

O gênero neotropical *Psidium*, pertencente à família Myrtaceae, contém cerca de 100 espécies (GOVAERTS et al., 2020), das quais 61 ocorrem no Brasil (SOBRAL et al., 2020). Espécies de *Psidium* estão distribuídas em todas as regiões brasileiras, em diversos domínios fitogeográficos, representando grande diversificação (FLORA DO BRASIL, 2020). A goiabeira (*P. guajava* L.) é a espécie mais amplamente conhecida do gênero e a mais utilizada comercialmente. Embora menos conhecidas, outras espécies, algumas denominadas popularmente de “araçás”, representam possibilidade de agregação de valor com impacto socioeconômico.

O valor 2C e o número cromossômico de espécies naturais de *Psidium* revelam a ocorrência de diploides com $2n = 2x = 22$ e poliploides de diferentes ploidias, derivadas da série euploide $x = 11$. Foi verificada no gênero uma relação da ploidia com o valor C, no qual um conjunto cromossômico básico ($x = 11$) corresponde a $C = 0,47$ a $0,64$ pg (TULER et al., 2019). Apesar da importância da contagem do número de cromossomos, o valor 2C nuclear pode ser usado principalmente quando se trata de um grande número de indivíduos. O valor 2C é possível ser obtido por meio da técnica de citometria de fluxo (PRAÇA-FONTES et al., 2011), rápida, acurada e reprodutível. Além do conteúdo de DNA nuclear, a proporção de bases AT/CG também pode ser mensurada por meio da citometria de fluxo, ampliando as informações acerca do genoma (DOLEŽEL; SGORBATI; LUCRETTI, 1992).

Embora o valor 2C seja reportado para algumas espécies de *Psidium*, a amostragem de um maior número de espécies, indivíduos e análise em estrutura de famílias, permite ampliar os conhecimentos sobre a estrutura e organização dos genomas no gênero, dado a ocorrência de espécies com diferentes ploidias, de citótipos, incluindo em famílias de meios-irmãos reportado para espécie de ampla distribuição *P. cattleyanum* (MACHADO, 2016). Adicionalmente, a proporção de bases nas espécies de *Psidium*, ainda não relatada, permite inferir sobre a estrutura e dinâmica do genoma nas espécies, a ser incorporado a estudos taxonômicos, sistemáticos, evolutivos e genômicos.

A poliploidia é um importante evento em espécies vegetais. Organismos poliploides tendem a superar seus parentes diploides em aspectos como o vigor, tolerância a estresses, e incremento em órgãos da planta, causando o conhecido efeito “giga”. De forma a obter materiais com características superiores e aprimoradas de interesse, têm-se como recurso genético, os poliploides naturais ou induzidos (SATTLER; CARVALHO; CLARINDO, 2016). Em muitos casos, esses organismos são obtidos *in vitro*, utilizando substâncias antimitóticas. Nesse sentido, muitos trabalhos que buscam alterar a composição química e aumentar o rendimento dos óleos essenciais por meio da poliploidia induzida, têm tido êxito (HANNWEG et al., 2016; HOMAIDAN SHMEIT et al., 2020; IANNICELLI et al., 2016; SADAT NOORI et al., 2017; TALEBI et al., 2016).

Em espécies de *Psidium* é possível o estudo direto do efeito da poliploidia em caracteres de interesse, como a produção de óleos essenciais, por meio de organismos existentes na natureza. A produção de óleos essenciais, ricos em terpenos foliares, é uma característica marcante da família Myrtaceae (KULHEIM et al., 2015; PADOVAN et al., 2014), os quais possuem interesse comercial por suas atividades biológicas e fitoterápicas (BARDAWEEL et al., 2015; LOBO et al., 2015). Em espécies de *Psidium* são reportadas variabilidade na composição química dos óleos e sua potencial aplicabilidade (DO NASCIMENTO et al., 2018; MEDEIROS et al., 2018; SCUR et al., 2016). Adicionalmente, a importância ecológica dos terpenos é relacionada à manutenção e colonização das plantas em novos ambientes (PICHERSKY; GERSHENZON, 2002).

Também é reportado a ocorrência de alterações na expressão gênica com a duplicação do genoma (OSBORN et al., 2003). Neste sentido, evidências evolutivas foram relatadas relacionando o aumento do genoma com o aumento no percentual global de 5-metilcitosina (%5-mC) (ALONSO et al., 2015, 2016), um importante marcador de controle epigenético no DNA, relacionado à adaptação edafoclimática (ALVES et al., 2020).

Considerando ocorrência de poliploidia em *Psidium*; a importância da caracterização do genoma do germoplasma de um gênero com conhecida plasticidade inter e intraespecífica no conteúdo de DNA e dos valores que representam um conjunto cromossômico; dos possíveis efeitos “giga” em organismos com genoma duplicados, bem como de mecanismos relacionados à

expressão gênica; da atribuição à possibilidade de colonização de novos ambientes dos organismos poliploides; da importância ecológica e econômica dos óleos essenciais; nesse trabalho propõe-se como objetivos: estudar a variação inter e intraespecífica do valor 2C e do %CG em 10 espécies de *Psidium*, além de híbridos e indivíduos não classificados, bem como dentro de nove famílias de meios-irmãos; avaliar a relação da variação do valor 2C, com %CG, %5-mC, e a produção e composição dos óleos essenciais, considerando as espécies *P. guajava* (diploide) e *P. cattleyanum* (uma espécie poliploide com variados níveis de ploidia).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

As espécies avaliadas foram: *P. acutangulum* DC. (Acu), *P. cattleyanum* Sabine (Cat), *P. guajava* L. (Gua), híbridos de *P. guajava* L. x *P. guineense* Sw. (Hib); *P. guineense* Sw. (Gui), *P. myrtoides* O. Berg (Myr), *P. gaudichaudianum* Proença & Faria (Gau), *P. friedrichsthalianum* (O.Berg) Nied (Fri), *P. macahense* O.Berg (Mac), *P. oblongatum* O.Berg (Obl), *P. rufum* Mart. ex DC. (Ruf) e outros genótipos pertencentes ao gênero *Psidium* (Psi). As informações de origem, forma de vida, ocorrência, domínio fitogeográfico e número de cromossomos dessas espécies estão apresentadas na Tabela 01. O número amostral das espécies avaliadas encontra-se na Tabela 02. O município de origem e atual na coleção de germoplasma, local no germoplasma, anotação de campo, identificação do individual (ID) e da família de meios-irmãos (ID MI) de cada genótipo estão apresentados no Apêndice 01.

Tabela 01. Origem, forma de vida, região de ocorrência, domínios fitogeográficos e número cromossômico de espécies de *Psidium*.

Espécie	Origem ^[1]	Forma de vida ^[1]	Ocorrência ^[1]	Domínio fitogeográfico ^[1]	Número cromossômico (2n)
<i>P. acutangulum</i> DC.	Nativa	Arbusto, Árvore	Norte, Centro-Oeste	Amazônia	44 (4x) ^[2]
<i>P. cattleyanum</i> Sabine	Nativa	Árvore	Nordeste, Sudeste, Sul	Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica	44 (4x), 66 (6x), 77 (7x), 88 (8x) ^[2] , 46, 55, 58, 82 ^[3] , 33, 99, 110, 132 ^[4]
<i>P. guajava</i> L.	Naturalizada	Árvore	Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste, Sul	Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica	22 (2x) ^[3]
<i>P. guajava</i> L.x <i>P. guineense</i> Sw.	-	-	-	-	-
<i>P. guineense</i> Sw.	Nativa	Arbusto, Árvore	Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste, Sul	Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica	44 (4x) ^[5]
<i>P. myrtoides</i> O.Berg	Nativa	Árvore	Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste, Sul	Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica	66 (6x) ^[6] ; 88 (8x) ^[2]
<i>P. gaudichaudianum</i> Proença & Faria	Nativa	Árvore	Sudeste	Mata Atlântica	-
<i>P. friedrichsthalianum</i> (O.Berg) Nied	-	-	-	-	44 (4x) ^[2]
<i>P. macahense</i> O.Berg	Nativa	Arbusto	Sudeste	Mata Atlântica	-
<i>P. oblongatum</i> O.Berg	Nativa	Árvore	Sudeste	Mata Atlântica	22 (2x) ^[6]
<i>P. rufum</i> Mart. ex DC.	Nativa	Árvore	Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste, Sul	Cerrado, Mata Atlântica	-
<i>Psidium</i> sp.	-	-	-	-	-

Fonte: ^[1]Flora da Brasil (2020), ^[2]Da Costa (2009), ^[3]De Souza et al. (2014), ^[4]Machado (2016), ^[5]Marques et al. (2016), ^[6]Tuler et al. (2019).

Tabela 02. Tamanho amostral das espécies de *Psidium* estudadas quanto ao conteúdo de DNA nuclear (2C), percentual de bases CG (%CG), percentual de citosinas metiladas (%5-mC) e rendimento de extração do óleo essencial (REND).

Espécie	Identificação da família de meios-irmãos	Número de genótipos					%5-mC	REND
		Total	Total		Meios-irmãos			
			2C	%CG	2C	%CG		
<i>P. acutangulum</i> DC.	-	4	4	2	-	-	-	-
<i>P. cattleyanum</i> Sabine	01				12	-		
	02	104	104	35	5	-	6	6
	03				30	5		
	04				30	2		
<i>P. guajava</i> L.	05	54	54	51	6	6	21	21
	06				17	17		
<i>P. guajava</i> L.x <i>P. guineense</i> Sw.	-	15	15	4	-	-	-	-
<i>P. guineense</i> Sw.	-	7	7	5	-	-	-	-
<i>P. myrtoides</i> O.Berg	07				18	18		
	08	54	54	26	30	2	-	-
<i>P. gaudichaudianum</i> Proença & Faria	09	30	30	6	29	5	-	-
<i>P. friedrichsthalianum</i> (O.Berg) Nied	-	1	1	1	-	-	-	-
<i>P. macahense</i> O.Berg	-	1	1	1	-	-	-	-
<i>P. oblongatum</i> O.Berg	-	1	1	1	-	-	-	-
<i>P. rufum</i> Mart. ex DC.	-	1	1	-	-	-	-	-
<i>Psidium</i> sp.	-	11	11	5	-	-	-	-
Total de genótipos	-	283	283	137	177	55	27	27

2.2 Conteúdo de DNA nuclear (valor 2C) e percentual de bases CG (%CG)

Folhas jovens de cada genótipo, livres de qualquer dano por doenças, pragas ou deformidades, foram utilizadas para determinação do valor 2C e do %CG. As análises foram conduzidas no Laboratório de Citogenética e Citometria, pertencente a Universidade Federal de Viçosa, localizada no município de Viçosa – Minas Gerais. O padrão interno utilizado para as análises foi *Solanum lycopersicum* Linnaeus, 1753, 'Stupické' (2C = 2,00 pg) (PRAÇA-FONTES et al., 2011).

Um fragmento foliar (cerca de 01 cm²) de cada genótipo de *Psidium* e do padrão foi simultaneamente submetido ao procedimento de *chopping* (GALBRAITH et al., 1983) por cerca de 30 segundos em placa de petri contendo 0,5 mL do tampão OTTO-I (OTTO, 1990) (0,1 M de ácido cítrico, 0,5% de Tween 20 e 50 µg/mL de RNase, 2 mM de ditioneitol, suplementado com polietilenoglicol – PEG), incubado por 3 min e acrescentado 0,5 mL do mesmo tampão. A suspensão foi filtrada em filtro de nylon (Partec[®]) de 30 µm de diâmetro, para um tubo Eppendorf[®] de 2,0 mL. Após centrifugação a 100 g por 5 min, o sobrenadante foi descartado e 100 µL do tampão de extração foram adicionados ao pellet, o material homogeneizado e incubado durante 10 min. Posteriormente foi adicionado 0,5 mL de tampão de coloração OTTO-II (400 mM de Na₂HPO₄.H₂O, 2 mM de ditioneitol, e 50 µg/mL de RNase e 50 µg/ml de iodeto de propídeo – IP – comprimentos de onda de excitação/emissão: 480–575/550–740 nm). As suspensões foram filtradas em malha de nylon (Partec[®]) de 20 µm para os tubos de leitura (Partec[®]) e mantidas por 30 minutos no escuro para coloração dos núcleos. Em seguida foram analisadas em citômetro de fluxo (BD Accuri™ C6 Flow Cytometer), acoplado com laser de 488 nm para excitação do IP. Os picos de fluorescência G₀/G₁ da amostra e do padrão foram observados a partir de histogramas utilizando o software BD Accuri™ C6. Foram considerados os picos G₀/G₁ com coeficiente de variação (CV) menor do que 5%. Para obtenção do conteúdo de DNA nuclear de cada amostra em picogramas (pg), foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{Conteúdo de DNA amostra (pg)} = [(IF_{\text{amostra}})^2]/(IF_{\text{padrão}})$$

Em que: IF = Intensidade de Fluorescência.

Cerca de 01 cm² de tecido foliar de cada genótipo de *Psidium* e do padrão foram simultaneamente submetidos ao *chopping* (GALBRAITH et al., 1983) sobre placa de petri contendo 0,5 mL do tampão OTTO-I (OTTO, 1990) (0,1 M de ácido cítrico, 0,5% de Tween 20, 2 mM de ditioneitol, suplementados com polietilenoglicol – PEG), por cerca de 30 segundos. Após 3 min, 0,5 mL do tampão foi acrescentado e a suspensão foi filtrada por meio de filtro de nylon (Partec[®]) de 30 µm de diâmetro, em tubo Eppendorf[®] de 2,0 mL. Posteriormente foi realizada a centrifugação a 100 g por 5 min, o sobrenadante foi descartado e 100 µL do tampão de extração foi adicionado ao pellet, que foi ressuspenso e incubado durante 10 min. Em seguida foram acrescentados 1,5 mL de tampão de coloração OTTO-II (400 mM de Na₂HPO₄.H₂O, 2 mM de ditioneitol, e 1,3 µL/mL de 4',6-diamidino-2-phenylindole – DAPI – comprimentos de onda de excitação/emissão: 320–385/400–580 nm), feita dupla filtragem em malha de nylon (Partec[®]) de 20 µm para os tubos de leitura (Partec[®]) e mantido por 30 minutos no escuro para coloração dos núcleos. Foi conduzida a análise em citômetro de fluxo (Partec PAS[®] Flow Cytometer) acoplado com lâmpada de mercúrio de (388 nm), no qual os picos de fluorescência G₀/G₁ da amostra e do padrão foram observados a partir de histogramas utilizando o software FlowMax (Partec[®]). Foram considerados picos G₀/G₁ com CV abaixo de 5%. Foi determinada porcentagem de bases AT das amostras, foi utilizada a seguinte fórmula (GODELLE et al., 1993):

$$\%AT_{\text{amostra}} = \%AT_{\text{padrão}} * ((R_{\text{DAPI}}/R_{\text{IP}})^{1/r})$$

Em que: %AT_{padrão} = 64,50 (DOLEŽEL; SGOBATI; LUCRETTI, 1992; MEISTER; BAROW, 2007); R = Razão da intensidade de fluorescência da amostra em relação ao padrão; r = 3 (DAPI) (MEISTER; BAROW, 2007).

A partir do %AT foi determinado o %CG pela seguinte fórmula:

$$\%CG = 100 - \%AT$$

Os dados correspondentes ao valor 2C e %CG dos genótipos de *Psidium* foram submetidos ao agrupamento pelo método de Tocher otimizado por meio da distância Euclidiana, no qual as variáveis foram avaliadas separadamente (2C e %CG). Essas análises foram conduzidas no programa computacional Genes (CRUZ, 2013).

2.3 Determinação do percentual de citosinas metiladas (%5-mC), rendimento de extração e do teor de compostos químicos presentes no óleo essencial

O %5-mC dos 21 genótipos de *P. guajava* (Gua_26, Gua_27, Gua_28, Gua_29, Gua_30, Gua_31, Gua_32, Gua_33, Gua_34, Gua_35, Gua_36, Gua_37, Gua_38, Gua_39, Gua_40, Gua_41, Gua_42, Gua_44, Gua_45, Gua_46, Gua_54) foi extraído de Alves et al. (2020) e corresponde à média dos valores obtidos a partir de cinco momentos de coleta do material vegetal: 54, 91, 119, 182 e 302 dias após a poda realizada em 13/05/2015, no município de Mimoso do Sul, Espírito Santo. Para os genótipos de *P. cattleyanum* (Cat_20, Cat_21, Cat_22, Cat_25, Cat_26, Cat_39) a coleta do material vegetal ocorreu no mês de maio de 2018, e não foram utilizadas repetições nas análises. A metodologia para obtenção dos valores foi a utilizada em *P. guajava*, conforme Alves et al. (2020). Esses dados (ainda não publicados) foram obtidos pelo grupo de pesquisa.

A produção de óleo foi determinada a partir do rendimento de extração nos tecidos foliares, nos mesmos genótipos de *P. guajava* e *P. cattleyanum* avaliados quanto ao %5-mC. As médias de rendimento dos genótipos de *P. guajava* foram extraídas de Souza et al. (2018), no qual as datas de coleta das folhas foram 15/06/2013 e 21/06/2013, nos municípios de Linhares e Mimoso do Sul, respectivamente, ambos no Espírito Santo. Para obtenção das médias do teor dos compostos presentes no óleo essencial foram incluídos dados de mais quatro avaliações além das duas realizadas por Souza et al. (2018), com coleta dos tecidos foliares nos dias 24/04/15, 11/08/15, 11/11/15 e 20/02/16, nas plantas

localizadas no município de Alegre, Espírito Santo (MENDES et al., 2018). Já as médias dos valores de rendimento e composição do óleo dos genótipos de *P. cattleyanum* foram extraídas de Spadeto (2019), no qual a coleta dos tecidos foliares ocorreu em fevereiro de 2018 e junho de 2019.

Os dados de rendimento e teor dos compostos químicos presentes no óleo, juntamente com os de 2C, %CG e de %5-mC foram submetidos à correlação de Pearson. Os compostos utilizados como variáveis foram os presentes em pelo menos um indivíduo de *P. guajava* e *P. cattleyanum*, ou seja, compostos comuns das duas espécies. A análise foi conduzida pelo software R (R CORE TEAM, 2018) utilizando o pacote “Agricolae”.

3 RESULTADOS

3.1 Variação no valor 2C e %CG

O valor 2C das espécies de *Psidium* variou de 2C = 0,90 pg (*P. guajava*) a 2C = 7,40 pg (*P. gaudichaudianum*), corroborando com as expectativas de poliploidia no gênero. Os valores individuais estão apresentados no Apêndice 01. Dentre as espécies com menor valor 2C, *P. guajava* e *P. oblongatum* foram reportadas previamente como diploides, entretanto para *P. macahense* não há relatos de estudos citogenéticos, sugerindo ser uma espécie com essa ploidia, pela proximidade dos valores 2C.

Dentre as espécies estudadas, *P. guajava* seguida de *P. mytoides* apresentaram maior estabilidade no valor 2C, tanto entre indivíduos, como dentro de famílias, assim como *P. guineense* e *P. acutangulum*. As espécies com maior variação no valor 2C foram *P. cattleyanum* e *P. gaudichaudianum*, entre indivíduos e dentro de famílias. As espécies *P. rufum*, *P. gaudichaudianum* e os materiais denominados *Psidium* sp. não possuem caracterização citogenética, sugerindo serem tratadas de espécies poliploides, pela comparação do valor 2C com outras espécies já estudadas (Tabela 03).

Tabela 03. Conteúdo de DNA nuclear (valor 2C) e percentual de bases CG (%CG) de espécies e família de meios-irmãos (MI) de *Psidium*.

Espécie	Valor 2C (pg)		%CG	
	Médio	Min. e máx.	Médio	Min. e máx.
<i>P. macahense</i>	0,93	-	37,56	-
<i>P. guajava</i>	0,96	0,90 - 1,10	37,97	36,16 - 40,74
<i>P. oblongatum</i>	0,99	-	39,81	-
<i>P. guajava x P. guineense</i>	1,90	1,90 - 1,90	35,64	35,07 - 36,08
<i>P. guineense</i>	1,90	1,80 - 2,00	36,86	34,33 - 43,07
<i>P. acutangulum</i>	2,04	2,00 - 2,08	40,29	40,04 - 40,54
<i>P. myrtoides</i>	2,95	2,72 - 3,12	39,62	37,63 - 48,95
<i>P. cattleyanum</i>	3,92	2,00 - 7,03	40,40	36,37 - 48,91
<i>P. rufum</i>	4,23	-	-	-
<i>Psidium</i> sp.	4,70	1,92 - 4,94	38,98	35,90 - 40,92
<i>P. friedrichsthalianum</i>	4,72	-	38,59	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	4,99	4,64 - 7,40	39,67	38,38 - 40,48
<i>P. guajava</i> - MI 06	0,96	0,92 - 1,00	37,91	36,27 - 39,29
<i>P. guajava</i> - MI 05	0,97	0,95 - 1,03	38,59	37,32 - 40,33
<i>P. myrtoides</i> - MI 08	2,93	2,72 - 3,12	43,83	38,71 - 48,95
<i>P. myrtoides</i> - MI 07	3,00	2,82 - 3,09	39,38	38,37 - 40,49
<i>P. cattleyanum</i> - MI 03	3,67	3,34 - 4,27	39,94	37,99 - 41,46
<i>P. cattleyanum</i> - MI 02	3,82	3,45 - 3,98	-	-
<i>P. cattleyanum</i> - MI 01	3,86	3,29 - 5,68	-	-
<i>P. cattleyanum</i> - MI 04	4,16	3,63 - 4,38	41,91	41,23 - 42,59
<i>P. gaudichaudianum</i> - MI 09	4,99	4,64 - 7,40	39,72	38,38 - 40,48

Em *P. friedrichsthalianum*, o valor 2C confirma a condição poliploide, embora tenha sido superior ao esperado para uma espécie tetraploide, conforme caracterização citogenética anterior (Tabela 01 e Tabela 03). Em relação aos indivíduos *P. guajava x P. guineense* avaliados, verificou-se o mesmo valor 2C (1,90 pg), que foi superior a um valor intermediário esperado para um híbrido dessas duas espécies (um triploide com 2C = 1,40 pg, aproximadamente). Foi observado um indivíduo híbrido (Hib_11) com 30% das células com 2C = 0,95 pg (similar a uma espécie diploide) e 70% das células com 2C = 1,90 pg (similar a um tetraploide) (Apêndice 01).

Variação no %CG foi observada no germoplasma, com valores entre 34,33 (*P. guineense*) e 48,95 (*P. myrtoides*). As maiores variações intraespecíficas (cerca de 10%) foram em *P. myrtoides* e *P. cattleyanum*. Para as demais espécies, o %CG variou entre 0,5 a 4,58% dentro de cada. A variação nas duas

famílias de meios-irmãos de *P. myrtoides* foi de 2,12% e 10,24%. Em *P. cattleyanum* dentro das famílias, pequena variação foi observada (1,36 e 3,47%), considerando a amplitude de variação na espécie. Para as duas famílias de *P. guajava* foi cerca de 3% e em *P. gaudichaudianum* 2,1% (Tabela 03).

Pelo agrupamento obtido por meio do valor 2C foram formados seis grupos. O grupo de indivíduos com menores genomas ($2C = 0,9$ a $2C = 1,10$) foi formado pelas espécies diploides *P. guajava*, *P. oblongatum* e *P. machaense*. A maior parte dos indivíduos (número) agrupou-se no grupo ($2C = 2,72$ a $2C = 4,38$ pg) que englobou genótipos das espécies *P. cattleyanum*, *P. myrtoides*, *P. rufum* e *Psidium* sp. A maior flutuação no tamanho de genoma foi verificada em *P. cattleyanum*, com indivíduos representados em cinco dos seis grupos. O pequeno grupo com indivíduos de maiores genomas foi constituído de indivíduos de *P. cattleyanum* e *P. gaudichaudianum* ($2C = 6,83$ a $7,40$ pg). Os tetraploides *P. guineense* e *P. acutangulum* agruparam-se com os híbridos. Os indivíduos de *Psidium* sp. ficaram distribuídos em três grupos demonstrando a variabilidade destas amostras. A diversidade nesta característica foi observada para as espécies *P. cattleyanum* e *P. gaudichaudianum*, respectivamente, e também evidenciada dentro de famílias (Tabela 04).

Sete grupos foram formados considerando o percentual de bases CG. As espécies *P. cattleyanum*, *P. guajava*, Híbridos *P. guajava* x *P. guineense*, *P. guineense*, *P. myrtoides*, *P. gaudichaudianum* e *Psidium* sp. foram representadas em pelo menos dois grupos, indicando variabilidade quanto ao percentual de bases do genoma. Grupos mistos de espécies diploides e poliploides foram formados nesta avaliação. Somente uma família de meios-irmãos de *P. cattleyanum* apresentou-se com maior estabilidade, sendo alocada apenas em um grupo (Tabela 04).

Tabela 04. Agrupamento pelo método de Tocher (otimizado) de genótipos de *Psidium* em relação ao conteúdo de DNA nuclear (2C) e percentual de bases CG (%CG).

Grupo	Genótipos	Média (pg)	Valor mínimo e máximo (pg)
----- Conteúdo de DNA nuclear (2C) -----			
I	Gua ⁽⁰⁶⁾ , Gua ⁽¹⁷⁾ , Gua ⁽³¹⁾ , Mac ⁽⁰¹⁾ , Obl ⁽⁰¹⁾	0,96	0,90 - 1,10
II	Acu ⁽⁰⁴⁾ , Cat ⁽⁰¹⁾ , Hib ⁽¹⁴⁾ , Gui ⁽⁰⁷⁾ , Psi ⁽⁰⁷⁾	1,94	1,80 - 2,08
III	Cat ⁽¹⁹⁾ , Cat ⁽¹¹⁾ , Cat ⁽⁰⁵⁾ , Cat ⁽³⁰⁾ , Cat ⁽³⁰⁾ , Myr ⁽⁰⁶⁾ , Myr ⁽¹⁸⁾ , Myr ⁽³⁰⁾ , Ruf ⁽⁰¹⁾ , Psi ⁽⁰¹⁾	3,51	2,72 - 4,38
IV	Cat ⁽⁰⁵⁾ , Gau ⁽⁰¹⁾ , Gau ⁽²⁸⁾ , Fri ⁽⁰¹⁾ , Psi ⁽⁰³⁾	4,88	4,47 - 5,19
V	Cat ⁽⁰¹⁾	5,68	-
VI	Cat ⁽⁰²⁾ , Gau ⁽⁰¹⁾	7,09	6,83 - 7,40
----- Percentual de bases CG (%CG) -----			
I	Gui ⁽⁰¹⁾	34,33	-
II	Hib ⁽⁰²⁾ , Gui ⁽⁰²⁾	35,29	35,07 - 35,37
III	Cat ⁽⁰¹⁾ , Gua ⁽⁰²⁾ , Gua ⁽⁰¹⁾ , Hib ⁽⁰²⁾ , Gui ⁽⁰¹⁾ , Psi ⁽⁰¹⁾	36,15	35,90 - 36,37
IV	Cat ⁽⁰³⁾ , Cat ⁽⁰¹⁾ , Gua ⁽⁰³⁾ , Gua ⁽⁰⁷⁾ , Gua ⁽¹⁸⁾ , Myr ⁽⁰¹⁾ , Mac ⁽⁰¹⁾ , Psi ⁽⁰²⁾	37,40	36,72 - 38,17
V	Cat ⁽¹²⁾ , Cat ⁽⁰¹⁾ , Gua ⁽⁰²⁾ , Gua ⁽⁰⁸⁾ , Gua ⁽⁰⁶⁾ , Myr ⁽⁰⁴⁾ , Myr ⁽¹¹⁾ , Myr ⁽⁰¹⁾ , Gau ⁽⁰¹⁾ , Gau ⁽⁰¹⁾ , Fri ⁽⁰¹⁾ , Psi ⁽⁰¹⁾	38,92	38,29 - 39,62
VI	Acu ⁽⁰²⁾ , Cat ⁽⁰⁵⁾ , Cat ⁽⁰²⁾ , Gua ⁽⁰¹⁾ , Gua ⁽⁰³⁾ , Myr ⁽⁰¹⁾ , Myr ⁽⁰⁷⁾ , Gau ⁽⁰⁴⁾ , Obl ⁽⁰¹⁾	40,14	39,67 - 40,74
VII	Cat ⁽⁰⁶⁾ , Cat ⁽⁰²⁾ , Cat ⁽⁰²⁾ , Gui ⁽⁰¹⁾ , Myr ⁽⁰²⁾ , Psi ⁽⁰¹⁾	43,80	40,92 - 48,95

Legenda: Acu = *P. acutangulum*; Cat = *P. cattleyanum*; Gua = *P. guajava*; Hib = *P. guajava* x *P. guineense*; Gui = *P. guineense*; Myr = *P. myrtoides*; Gau = *P. gaudichaudianum*; Fri = *P. friedrichsthalianum*; Mac = *P. macaense*; Obl = *P. oblongatum*; Ruf = *P. rufum*; Psi = *Psidium* sp. Valor sobrescrito entre parênteses = número de genótipos da espécie presentes no grupo, exceto os genótipos pertencentes às famílias de meios-irmãos que foram representados e contabilizados separadamente. Representações em cores = família de meios-irmãos 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09.

3.2 Relação do valor 2C com %CG, %5-mC, rendimento e composição do óleo

Considerando os 27 indivíduos estudados quanto ao %5-mC e rendimento e composição dos óleos essenciais, o valor 2C foi similar em *P. guajava* (2C =

0,94 a 2C = 0,95 pg) e variável em *P. cattleyanum* (2C = 3,31 a 2C = 7,03 pg). O %CG foi variável para as duas espécies, sendo *P. guajava* = 36,16 a 40,74%, *P. cattleyanum* = 38,50 a 42,45%. O %5-mC e foi determinado com valores entre 16,34 a 26,19% e 17,02 a 30%, e o rendimento com valores entre 0,20 a 0,54% e 0,70 a 0,95%; para *P. guajava* e *P. cattleyanum*, respectivamente (Tabela 05).

Tabela 05. Conteúdo de DNA nuclear (2C), percentual de bases CG (%CG), percentual de citosinas metiladas (%5-mC) e rendimento de extração (REND) do óleo essencial de genótipos de *P. guajava* e *P. cattleyanum*.

Espécie	Genótipo	2C (pg)	%CG	%5-mC*	REND**
<i>P. guajava</i>	Gua_26	0,95	38,09	19,45	0,54
	Gua_27	0,95	38,69	21,03	0,40
	Gua_28	0,95	38,80	18,35	0,22
	Gua_29	0,95	38,38	19,65	0,52
	Gua_30	0,95	36,72	19,91	0,32
	Gua_31	0,95	36,72	16,70	0,20
	Gua_32	0,95	36,95	19,74	0,34
	Gua_33	0,95	38,69	20,00	0,42
	Gua_34	0,95	37,57	21,34	0,30
	Gua_35	0,94	37,96	17,01	0,44
	Gua_36	0,95	36,85	20,63	0,42
	Gua_37	0,95	37,34	21,47	0,47
	Gua_38	0,95	36,95	19,79	0,35
	Gua_39	0,95	37,88	19,73	0,30
	Gua_40	0,95	36,85	16,34	0,54
	Gua_41	0,95	36,16	19,79	0,44
	Gua_42	0,95	37,63	20,44	0,41
	Gua_44	0,95	36,95	22,26	0,39
	Gua_45	0,95	37,34	26,19	0,42
	Gua_46	0,95	36,85	21,12	0,32
Gua_54	0,95	40,74	22,30	0,51	
<i>P. cattleyanum</i>	Cat_20	6,83	42,45	24,88	0,95
	Cat_21	7,03	41,78	17,02	0,90
	Cat_22	4,26	40,98	23,80	0,75
	Cat_25	3,31	38,50	26,17	0,70
	Cat_26	3,45	39,05	30,00	0,73
	Cat_39	3,71	40,47	26,67	0,70

*Valores médios de %5-mC de *P. guajava* extraídos de Alves et al. (2020).

**Rendimento de extração médio em duas avaliações em *P. guajava* (DE SOUZA et al., 2018) e duas em *P. cattleyanum* (SPADETO, 2019).

Alta correlação positiva e significativa entre o valor 2C e %CG foi observada, sem correlação destas variáveis com %5-mC. Entretanto, o aumento do valor 2C, %CG e %5-mC culminou positivamente no aumento do rendimento.

Considerando grupos de compostos houve correlação positiva da %5-mC com monoterpenos hidrogenados e oxigenados, e negativa com sesquiterpenos oxigenados. Especificamente os monoterpenos 1,8-cineol, α -Terpineol apresentaram correlação positiva com %5-mC. Tanto o valor 2C, como %CG correlacionaram-se positivamente com α -Copaene, (E)-Caryophyllene, sesquiterpenos hidrogenados e negativamente com sesquiterpenos oxigenados (Tabela 06).

Tabela 06. Correlação do conteúdo de DNA (2C), percentual de bases CG (%CG) e percentual de 5-mC (%5-mC) em relação ao rendimento de extração (REND) e composição química do óleo essencial de *P. guajava* e *P. cattleyanum*.

Variáveis	2C	%CG	%5-mC
2C	1,00	-	-
%CG	0,82**	1,00	-
%5-mC	0,35	0,33	1,00
REND	0,89**	0,78**	0,46*
1,8-cineol ¹	0,10	-0,08	0,53**
α -Terpineol ¹	0,08	-0,10	0,49*
α -Copaene ²	0,79**	0,67**	0,17
(E)-Caryophyllene ²	0,93**	0,80**	0,48*
Monoterpeno Hidrogenado	0,34	0,20	0,53**
Monoterpeno Oxigenado	0,10	-0,08	0,53**
Sesquiterpeno Hidrogenado	0,86**	0,80**	0,23
Sesquiterpeno Oxigenado	-0,89**	-0,73**	-0,57**

*p-value \leq 0,05; **p-value \leq 0,01. ¹Monoterpeno Oxigenado, ²Sesquiterpeno Hidrogenado.

4 DISCUSSÃO

No presente estudo são reportadas pela primeira vez informações do valor 2C nuclear e do %CG de um considerável número de espécies e indivíduos de *Psidium*. Os resultados trazem avanços nos conhecimentos sobre aspectos relacionados à estrutura, organização e evolução dos genomas das espécies de *Psidium* nos contextos inter e intraespecíficos, incluindo análises de indivíduos aparentados.

Baseado no estudo prévio, um conjunto cromossômico básico de *Psidium* ($x = 11$) variou de $1C = 0,47$ a $1C = 0,64$ pg e o aumento na ploidia culminou no aumento no conteúdo de DNA nuclear (TULER et al., 2019). A grande variação intraespecífica no valor $2C$ foi claramente demonstrada para *P. cattleyanum* ($2C = 2,00$ a $2C = 7,03$ pg), corroborando relatos de indivíduos de ocorrência natural com números cromossômicos variados para a espécie, com citótipos de: $2n = 44, 66, 77, 88$ (DA COSTA, 2009), $46, 55, 58, 82$ (DE SOUZA et al., 2014), $33, 99, 110$ e 132 (MACHADO, 2016). Assim, a constatação de alterações cromossômicas numéricas frequentes e recentes na espécie, também pode ser sustentada pela observação da variação no valor $2C$ em todas as famílias de meios-irmãos dessa espécie, indicando que o fenômeno é frequente. Além disso, é possível inferir que as alterações cromossômicas ocorrem no gênero não somente em uma espécie, *P. cattleyanum*, mas também em *P. gaudichaudianum* (incluindo a família de meios-irmãos), pela amplitude de variação no valor $2C$ e em *P. friedrichsthalianum*, pela comparação do valor $2C$ observado com o esperado, considerando a ploidia anteriormente reportada.

Os gametas (óvulo - genitor feminino; e grão de pólen - genitor masculino) podem ser normais (reduzidos) ou alterados (não-reduzidos), no qual esse último pode se dar possivelmente por erros na anáfase I ou II durante a meiose, pela não disjunção cromossômica (MASON; PIRES, 2015). Assim, células reprodutivas com diferentes euploidias ou aneuploidias podem ser geradas. Indivíduos de *P. cattleyanum* e *P. gaudichaudianum*, incluindo nas famílias de meios-irmãos, apresentaram expressivas variações no conteúdo de DNA (que refletem possivelmente na ploidia), podem ter sido formados pela união de gametas reduzidos e não reduzidos. Esses gametas podem ser oriundos de uma mesma planta, ou doador de pólen pode ser uma planta diferente, ocorrendo assim fecundação cruzada (SARMENTO; CAROLINA; SANTOS, 2012). É possível ainda que ocorram eventos de mutação em regiões meristemáticas que podem levar à ocorrência de mixoploidia, no qual ramos de uma mesma planta podem ter níveis de ploidia diferentes. Assim, as flores formadas nesses ramos poderiam estar envolvidas na produção de células gaméticas com números cromossômicos variados (MACHADO, 2016).

Nesse contexto, é importante destacar a ocorrência de um indivíduo mixoploide (Hib_11), ainda não reportada em *Psidium*. A mixoploidia pode comprometer a estabilidade e fertilidade de plantas em campo sendo, portanto pouco desejável a utilização dessas plantas para fins de melhoramento genético (PEREIRA et al., 2012).

De forma geral, espécies poliploides de *Psidium* ocorrem em um maior número de ambientes naturais, comparadas às diploides, com exceção de *P. guajava* que é amplamente explorada e cultivada e, portanto presente nas mais variadas regiões (Tabela 01). Esse fato foi confirmado pelo grupo de pesquisa, considerando espécies *P. guajava* L., *P. guineense* Sw., *P. myrtoides* O. Berg, *P. cattleyanum* Sabine, *P. longipetiolatum* D. Legrand, *P. oblongatum* O. Berg, *P. cauliflorum* Landrum & Sobral (TULER et al., 2019). Além disso, Machado (2016) investigou a distribuição geográfica de citótipos de *P. cattleyanum*, sendo observado que plantas com maiores ploidias se estabeleceram em regiões onde as condições ambientais eram mais adversas, com temperaturas mais altas, maior incidência de radiação solar e menor precipitação. Foi também destacada a possibilidade de reprodução assexuada por apomixia, em especial para citótipos ímpares (MACHADO, 2016). Dessa forma, a condição poliploide observada nas espécies aqui avaliadas, incluindo especialmente as estudadas de forma pioneira, pode ser favorável para expansão da sua área de ocorrência, tanto por ação natural, quanto por ação antrópica. Assim, acesso, exploração e utilização desses recursos naturais podem ser proporcionados.

Nas espécies *P. acutangulum*, *P. guajava*, *P. guineense* e *P. myrtoides*, foi observada estabilidade nos valores 2C (TULER et al., 2019) e pela distribuição restrita dos representantes de cada espécie no agrupamento. Entretanto, variação do percentual de bases CG na espécie *P. guajava*, *P. guineense* e *P. myrtoides* foi observada. Modificações no genoma após especiação, anteriormente não reportadas, podem ter ocorrido, com possíveis ocorrências de aumento e diminuição de fragmentos ricos em sequências repetitivas.

Embora o percentual de bases CG tenha variado tanto dentro quanto entre espécies diploides e poliploides de *Psidium*, a média geral de 38,92% está próxima ao valor médio de 38,06%, obtido por meio de 22 espécies diploides do

gênero *Eucalyptus* e três do gênero *Corymbia*, também percententes à família Myrtaceae (CARVALHO; CARVALHO; SOARES, 2017).

As variações observadas no valor 2C e no %CG, em especial nas famílias de meios-irmãos, e suas potenciais influências no fenótipo, sugerem, por exemplo, em um contexto prático, o cuidado na escolha de materiais para compor um projeto experimental ou cultivo. Nesse caso, a partir do objetivo, pode ser considerada a utilização de materiais de *Psidium* oriundos de propagação vegetativa (ALTOÉ et al., 2010), que possuirão uniformidade no conteúdo de DNA, %CG, além das mutações pontuais no genoma. Por outro lado, a diversidade genômica é importante como fonte de variabilidade para o melhoramento genético e estímulo na conservação do germoplasma.

De forma geral, em organismos poliploides pode ocorrer ou não o silenciamento de genes por meio de processos mutacionais ou epigenéticos (WENDEL, 2000), além de alterações na expressão gênica, variações na interação de regulação e efeito de dosagem gênica e interações regulatórias alteradas (LIU et al., 2017; OSBORN et al., 2003). Nesse contexto, a produção de óleo essencial foi fortemente aumentada em organismos com o genoma maior, certificando a ocorrência do efeito “giga”. Na espécie *Lippia integrifolia* um comportamento similar é reportado, no qual tetraploides induzidos ($2n = 4x = 72$) apresentaram significativamente maior produção de óleo, em relação aos diploides ($2n = 2x = 36$), além de folhas e tricomas maiores, o que pode estar relacionado com a produção desses metabólitos secundários (IANNICELLI et al., 2016). Além disso, deve ser considerado o aumento da cópia de genes de terpeno sintase advindos de alterações numéricas de cromossomos. Esses genes codificam enzimas que atuam nas vias de síntese do óleo essencial (ALICANDRI et al., 2020; GAO; HONZATKO; PETERS, 2012; JIANG et al., 2019).

O aumento do genoma, da quantidade de CG e da metilação global (%5-mC) foram relacionados com o aumento de rendimento de óleo essencial e um importante composto de *Psidium*, o sesquiterpeno hidrogenado (E)-Caryophyllene. Assim, além do efeito “giga” demonstrado para as características, também foi possível inferir sobre a presença de controle epigenético. Interessantemente, a forte correlação positiva da %5mC com as classes de monoterpenos e também com um dos principais compostos monoterpenicos da

família Myrtaceae (1,8-Cineol) sugere regulação epigenética negativa destes compostos em *Psidium*, dado que os mesmos são em geral pouco representados nos óleos essenciais nestas espécies neotropicais de Myrtaceae, mas curiosamente são os mais abundantes nos óleos essenciais de espécies australianas de Myrtaceae, como *Eucalyptus*, *Melaleuca* e *Leptospermum*, sugerindo a hipótese de que o controle epigenético pode estar relacionado ao perfil diferencial de monoterpenos entre espécies de Myrtaceae que ocupam distintos. Adicionalmente, embora tenha ocorrido correlação positiva da %5mC com o (E)-Caryophyllene, a mesma não foi mantida para a classe de compostos de sesquiterpenos hidrogenados, os mais numerosos nas espécies de *Psidium* estudados, evidenciando controle epigenético específico para este composto, o qual tem sido sugerido que em espécies neotropicais ocorre em substituição aos monoterpenos mais ocorrentes na família (PADOVAN et al., 2014). Por outro lado, a maior abundância de sesquiterpenos oxigenados, foi relacionada à ocorrência de genomas menores, com menor porcentagem de CG e de metilação global, indicando a forte influência genômica e epigenômica nesta classe. Em estudos prévios a presença de sesquiterpenos oxigenados foi claramente aumentada em detrimento dos sesquiterpenos hidrogenados na primavera nos genótipos de *P. guajava* (MENDES et al., 2018) e a floração foi o estágio de desenvolvimento de maior estabilidade epigenética nestes mesmos genótipos (ALVES et al., 2020). Coletivamente estes dados evidenciam pela primeira vez a influência do genoma e do controle epigenético no rendimento e na composição de óleos essenciais de *Psidium*, sugerem evidências para o estabelecimento de novas hipóteses relacionadas de controle epigenético via ambiente para classes de terpenos em Myrtaceae, bem como revelam evidências de presença do controle de compostos terpênicos relacionados à sazonalidade e à floração.

5 CONCLUSÃO

Por meio do valor 2C foi possível caracterizar o germoplasma de *Psidium*, gerando conhecimento em relação a espécies com prévia caracterização, e também de outras não ainda avaliadas, sendo identificadas diploides (*P.*

macaense) e poliploides no germoplasma (híbridos de *P. guajava* x *P. guineense*, *P. gaudichaudianum*, *P. rufum*, e *Psidium* sp).

O valor 2C é variável em *Psidium*, ocorrendo espécies com estabilidade genômica (*P. acutangulum*, *P. guajava*, *P. guineense*; *P. myrtoides*), bem como muita variabilidade intraespecífica e dentro de famílias de meios-irmãos (*P. gaudichaudianum* e *P. cattleyanum*).

O %CG é variável intra e interespecificamente em *Psidium* e em especial dentro de famílias de meios-irmãos.

O valor 2C é fortemente relacionado com o %CG. O tamanho do genoma influencia positivamente na produção e na composição de óleos essenciais, além da ação de controle epigenético (%5-mC).

Esse trabalho fornece uma importante caracterização do genoma do gênero *Psidium*. Por meio das descobertas, em especial na variação no valor 2C e %CG anteriormente não reportadas, considerando diferentes espécies e famílias de meios-irmãos é evidenciada a relevância dessa investigação. Essas informações podem ser incorporadas e comparadas em variados estudos futuros em diferentes áreas. Especialmente nas respostas fenotípicas relacionadas a caracteres de interesse econômico como a produção e composição de óleos essenciais, evidenciada aqui pela primeira vez no gênero, por essas abordagens.

6 AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (Fapes). O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

7 REFERÊNCIAS

- ALICANDRI, E. et al. On the evolution and functional diversity of terpene synthases in the *Pinus* species: a review. **Journal of Molecular Evolution**, 2020.
- ALONSO, C. et al. Global DNA cytosine methylation as an evolving trait : phylogenetic signal and correlated evolution with genome size in angiosperms. **Frontiers in Genetics**, v. 6, n. January, p. 1–9, 2015.
- ALONSO, C. et al. Epigenetic contribution to successful polyploidizations: variation in global cytosine methylation along an extensive ploidy series in *Dianthus broteri* (Caryophyllaceae). **New Phytologist**, p. 571–576, 2016.
- ALTOÉ, J. A. et al. Propagação de araçazeiro e goiabeira via miniestaquia de material juvenil. **Bragantia**, v. 70, p. 312–318, 2010.
- ALVES, L. B. et al. Epigenetic variation in guava (*Psidium guajava*) genotypes during the vegetative and reproductive phases of the production cycle. **Genetics and Molecular Research**, v. 19, n. 2, 2020.
- BARDAWEEL, S. K. et al. Studies on the in vitro antiproliferative, antimicrobial, antioxidant, and acetylcholinesterase inhibition activities associated with chrysanthemum coronarium essential oil. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2015.
- CARVALHO, G. M. A.; CARVALHO, C. R.; SOARES, F. A. F. Flow cytometry and cytogenetic tools in eucalypts: genome size variation x karyotype stability. **Tree Genetics and Genomes**, v. 13, n. 5, 2017.
- CRUZ, C. D. GENES - Software para análise de dados em estatística experimental e em genética quantitativa. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 35, n. 3, p. 271–276, 2013.
- DA COSTA, I. R. Estudos evolutivos em Myrtaceae: aspectos citotaxonômicos e filogenéticos em Myrteae, enfatizando *Psidium* e gêneros relacionados. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. Campinas/SP, 2009.
- DE SOUZA, A. D. G. et al. Chromosome number and nuclear DNA amount in *Psidium* spp. resistant and susceptible to *Meloidogyne enterolobii* and its relation with compatibility between rootstocks and commercial varieties of guava tree. **Plant Systematics and Evolution**, v. 301, n. 1, p. 231–237, 2014.
- DE SOUZA, T. DA S. et al. Chemotype diversity of *Psidium guajava* L. **Phytochemistry**, v. 153, n. June, p. 129–137, 2018.
- DO NASCIMENTO, K. F. et al. Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 210, n. August 2017, p. 351–358, 2018.

DOLEŽEL, J.; SGORBATI, S.; LUCRETTI, S. Comparison of three DNA fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. **Physiologia Plantarum**, v. 85, n. 4, p. 625–631, 1992.

FLORA DO BRASIL. *Psidium* L. - Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB10853>>. Acesso em: 10 jan. 2020.

GALBRAITH, D. W. et al. Flow cytometric analysis of the cell cycle. **Laboratory Procedures and their Applications**, p. 765–777, 1983.

GAO, Y.; HONZATKO, R. B.; PETERS, R. J. Terpenoid synthase structures: a so far incomplete view of complex catalysis. **Natural Product Reports**, v. 29, n. 10, p. 1153–1175, out. 2012.

GODELLE, B. et al. Heterochromatin study demonstrating the non linearity of fluorometry useful for calculating genomic base composition. **Cytometry**, v. 14, n. 6, p. 618–626, 1993.

GOVAERTS, R. et al. World Checklist of Myrtaceae. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Disponível em: <<http://wcsp.science.kew.org/>>. Acesso em: 10 jan. 2020.

HANNWEG, K. et al. In vitro-induced polyploidy and its effect on horticultural characteristics, essential oil composition and bioactivity of *Tetradenia riparia*. **South African Journal of Botany**, v. 106, p. 186–191, 2016.

HOM Aidan SHMEIT, Y. et al. Autopolyploidy effect on morphological variation and essential oil content in *Thymus vulgaris* L. **Scientia Horticulturae**, v. 263, 2020.

IANNICELLI, J. et al. Effect of polyploidization in the production of essential oils in *Lippia integrifolia*. **Industrial Crops and Products**, v. 81, p. 20–29, 2016.

JIANG, S. Y. et al. A comprehensive survey on the terpene synthase gene family provides new insight into its evolutionary patterns. **Genome Biology and Evolution**, v. 11, n. 8, p. 2078–2098, 2019.

KULHEIM, C. et al. The *Eucalyptus* terpene synthase gene family. **BMC genomics**, v. 16, p. 450, jun. 2015.

LIU, S. et al. Autopolyploidy leads to rapid genomic changes in *Arabidopsis thaliana*. **Theory in Biosciences**, v. 136, n. 3–4, p. 199–206, 2017.

LOBO, P. L. D. et al. Atividade farmacológica do óleo essencial de *Lippia sidoides* em odontologia: uma revisão de literatura. **Saúde e Pesquisa**, v. 8, n. 2, p. 373, 2015.

MACHADO, R. M. Distribuição geográfica e análise cariotípica dos citótipos de *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae). Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas-SP, 2016.

- MARQUES, A. M. et al. Refinement of the karyological aspects of *Psidium guineense* (Swartz, 1788): A comparison with *Psidium guajava* (Linnaeus, 1753). **Comparative Cytogenetics**, v. 10, n. 1, p. 117–128, 2016.
- MASON, A. S.; PIRES, J. C. Unreduced gametes: meiotic mishap or evolutionary mechanism? **Trends in Genetics**, v. 31, n. 1, p. 5–10, 2015.
- MEDEIROS, F. C. M. et al. Scents from Brazilian cerrado: chemical composition of the essential oil from *Psidium laruotteanum* Cambess (Myrtaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 30, n. 4, p. 253–257, 2018.
- MEISTER, A.; BAROW, M. DNA base composition of plant genomes. **Flow Cytometry with Plant Cells: Analysis of Genes, Chromosomes and Genomes**, p. 177–215, 2007.
- MENDES, L. A. et al. Spring alterations in the chromatographic profile of leaf essential oils of improved guava genotypes in Brazil. **Scientia Horticulturae**, v. 238, n. April, p. 295–302, 2018.
- OSBORN, T. C. et al. Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids. **Trends in Genetics**, v. 19, n. 3, p. 141–147, 2003.
- OTTO, F. DAPI Staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. **Methods in Cell Biology**, v. 33, p. 105–110, 1990.
- PADOVAN, A. et al. The evolution of foliar terpene diversity in Myrtaceae. **Phytochemistry Reviews**, v. 13, n. 3, p. 695–716, 2014.
- PEREIRA, R. C. et al. Duplicação cromossômica de gramíneas forrageiras: uma alternativa para programas de melhoramento genético. **Ciencia Rural**, v. 42, n. 7, p. 1278–1285, 2012.
- PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 5, n. 3, p. 237–243, 2002.
- PRAÇA-FONTES, M. M. et al. Revisiting the DNA C-values of the genome size-standards used in plant flow cytometry to choose the “best primary standards”. **Plant Cell Reports**, v. 30, n. 7, p. 1183–1191, 2011.
- R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2018. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>> Acesso em: 12 dez. 2018.
- SADAT NOORI, S. A. et al. Effect of colchicine-induced polyploidy on morphological characteristics and essential oil composition of ajowan (*Trachyspermum ammi* L.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 130, n. 3, p. 543–551, 2017.
- SARMENTO, M. B.; CAROLINA, A.; SANTOS, C. Recursos genéticos de frutas nativas da família Myrtaceae no Sul do Brasil. **Magistra**, v. 24, p. 250–262, 2012.
- SATTLER, M. C.; CARVALHO, C. R.; CLARINDO, W. R. The polyploidy and its

key role in plant breeding. **Planta**, v. 243, n. 2, p. 281–296, 2016.

SCUR, M. C. et al. Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and different plant extracts of *Psidium cattleianum* Sabine. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 1, p. 101–108, 2016.

SOBRAL, M. et al. Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB171>>. Acesso em: 10 jan. 2020.

SPADETO, M. S. *Psidium cattleyanum* Sabine: a influência da poliploidia na formação de quimiotipos e na atividade em diferentes modelos biológicos. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre/ES, 2019.

TALEBI, S. F. et al. Effect of ploidy level on the nuclear genome content and essential oil composition of anise hyssop (*Agastache foeniculum* [Pursh.] Kuntze) . **Analytical Chemistry Letters**, v. 6, n. 5, p. 678–687, 2016.

TULER, A. C. et al. Diversification and geographical distribution of *Psidium* (Myrtaceae) species with distinct ploidy levels. **Trees - Structure and Function**, n. 0123456789, 2019.

WENDEL, J. F. Genome evolution in polyploids. **Plant molecular biology**, v. 42, n. 1, p. 225–249, jan. 2000.

APÊNDICE

Apêndice 01. Município de origem e atual na coleção de germoplasma, local no germoplasma, anotação de campo, identificação individual (ID) e da família de meios-irmãos (ID MI), conteúdo de DNA (2C) e percentual de bases CG (%CG) dos genótipos de *Psidium*.

(continua)

Espécie	Município de origem	Município da coleção	Local na coleção de germoplasma	Anotação de campo	ID	ID MI	2C (pg)	%CG
<i>P. acutangulum</i>	-	Alegre - ES	Área do Viveiro de Mudanças - IFES	Acutangulum IFES (P1=myr; P3=Acut) ⁷⁸	Acu_01	-	2,07	40,54
<i>P. acutangulum</i>	-	Alegre - ES	Área do Viveiro de Mudanças - IFES	Acutangulum IFES (P1=myr; P5=Acut.DArT) ⁷⁹	Acu_02	-	2,08	40,04
<i>P. acutangulum</i>	-	Viçosa - MG	Departamento de Fitotecnia - UFV	Araçá Pera (Planta próxima ao portão da avenida) ^{1-UFV}	Acu_03	-	2,00	-
<i>P. acutangulum</i>	-	Viçosa - MG	Departamento de Fitotecnia - UFV	Araçá Pera (Última planta) ^{2-UFV}	Acu_04	-	2,00	-
<i>P. cattleyanum</i>	Campinas - SP	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Cat Unicamp (Copo 01) (Planta 01) ²⁰	Cat_01	-	4,47	47,71
<i>P. cattleyanum</i>	Campinas - SP	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Cat Unicamp (Copo 01) (Planta 02) ²¹	Cat_02	-	4,74	48,16
<i>P. cattleyanum</i>	Campinas - SP	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Cat Unicamp (Copo 02) (Planta 01) ²²	Cat_03	-	4,74	48,91
<i>P. cattleyanum</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Cat Iretama (Planta 1) ²³	Cat_04	-	3,77	40,57
<i>P. cattleyanum</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Cat Iretama (Planta 2) ²⁴	Cat_05	-	3,39	37,50
<i>P. cattleyanum</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Cat Iretama (Planta 3) ²⁵	Cat_06	-	3,51	39,62
<i>P. cattleyanum</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Cat Iretama (Planta 4) ²⁶	Cat_07	-	3,28	37,20
<i>P. cattleyanum</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Cat Iretama (Planta 5) ²⁷	Cat_08	-	3,43	38,17
<i>P. cattleyanum</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Cat Iretama (Planta 6) ¹⁰⁵	Cat_09	-	3,42	38,81
<i>P. cattleyanum</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Cat Iretama (Planta 7) ¹⁰⁶	Cat_10	-	3,43	38,96
<i>P. cattleyanum</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Cat Iretama (Planta 8) ¹⁰⁷	Cat_11	-	3,47	39,42
<i>P. cattleyanum</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Cat Iretama (Planta 9) ¹⁰⁸	Cat_12	-	3,44	38,64
<i>P. cattleyanum</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Cat Iretama (Planta 10) ¹⁰⁹	Cat_13	-	3,57	39,91
<i>P. cattleyanum</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Cat Iretama (Planta 11) ¹¹⁰	Cat_14	-	3,47	39,50

Apêndice 01. Município de origem e atual na coleção de germoplasma, local no germoplasma, anotação de campo, identificação individual (ID) e da família de meios-irmãos (ID MI), conteúdo de DNA (2C) e percentual de bases CG (%CG) dos genótipos de *Psidium*.

(continuação)

Espécie	Município de origem	Município da coleção	Local na coleção de germoplasma	Anotação de campo	ID	ID MI	2C (pg)	%CG
<i>P. cattleianum</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Cat Iretama (Planta 12) ¹¹¹	Cat_15	-	3,59	39,49
<i>P. cattleianum</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Cat Iretama (Planta 13) ¹¹²	Cat_16	-	3,74	40,71
<i>P. cattleianum</i>	Bertioga - SP	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Ind. 24 Bertioga (2n=44) ²⁵⁰	Cat_17	-	2,00	36,37
<i>P. cattleianum</i>	Curitiba - PR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Ind. 31 Amarelo ²⁵¹	Cat_18	-	3,44	39,12
<i>P. cattleianum</i>	Campinas - SP	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Cat Unicamp (Copo 02) (Planta 02) ²⁵⁴	Cat_19	-	4,98	39,60
<i>P. cattleianum</i>	-	Alegre - ES	Área experimental - UFES	CAT 3 (Resistente) - Área ⁵⁸	Cat_20	-	6,83	42,45
<i>P. cattleianum</i>	-	Alegre - ES	Área experimental - UFES	CAT 2 (Araçá Paulista Gigante) – Área ⁵⁹	Cat_21	-	7,03	41,78
<i>P. cattleianum</i>	-	Alegre - ES	Área experimental - UFES	CAT 1 – Área ⁶⁰	Cat_22	-	4,26	40,98
<i>P. cattleianum</i>	-	Alegre - ES	Área experimental - UFES	CAT 7 (Amarelo) (DBIO) ¹⁹	Cat_23	-	3,66	40,31
<i>P. cattleianum</i>	-	Alegre - ES	Área experimental - UFES	CAT 8 (Inobert) – Área ⁶¹	Cat_24	-	4,71	38,70
<i>P. cattleianum</i>	-	Alegre - ES	Área do Viveiro de Mudanças - IFES	CAT 4 (P1=myr; P2=Cat.4) Micheli (ARAÇÁ AMARELO) ⁷⁶	Cat_25	-	3,31	38,50
<i>P. cattleianum</i>	-	Alegre - ES	Área do Viveiro de Mudanças - IFES	CAT 5 Micheli (ARAÇÁ AMARELO) - Lado direito ⁷⁷	Cat_26	-	3,45	39,05
<i>P. cattleianum</i>	Alegre - ES	Viçosa - MG	Meio de cultura - UFV	Progênie Cat 5 (1) ^{1-CULTURA}	Cat_27	1	3,62	-
<i>P. cattleianum</i>	Alegre - ES	Viçosa - MG	Meio de cultura - UFV	Progênie Cat 5 (2) ^{2-CULTURA}	Cat_28	1	4,21	-
<i>P. cattleianum</i>	Alegre - ES	Viçosa - MG	Meio de cultura - UFV	Progênie Cat 5 (3) ^{3-CULTURA}	Cat_29	1	4,22	-
<i>P. cattleianum</i>	Alegre - ES	Viçosa - MG	Meio de cultura - UFV	Progênie Cat 5 (4) ^{4-CULTURA}	Cat_30	1	4,22	-
<i>P. cattleianum</i>	Alegre - ES	Viçosa - MG	Meio de cultura - UFV	Progênie Cat 5 (5) ^{5-CULTURA}	Cat_31	1	3,60	-
<i>P. cattleianum</i>	Alegre - ES	Viçosa - MG	Meio de cultura - UFV	Progênie Cat 5 (6) ^{6-CULTURA}	Cat_32	1	3,57	-
<i>P. cattleianum</i>	Alegre - ES	Viçosa - MG	Meio de cultura - UFV	Progênie Cat 5 (7) ^{7-CULTURA}	Cat_33	1	3,44	-
<i>P. cattleianum</i>	Alegre - ES	Viçosa - MG	Meio de cultura - UFV	Progênie Cat 5 (8) ^{8-CULTURA}	Cat_34	1	5,68	-
<i>P. cattleianum</i>	Alegre - ES	Viçosa - MG	Meio de cultura - UFV	Progênie Cat 5 (9) ^{9-CULTURA}	Cat_35	1	3,41	-

Apêndice 01. Município de origem e atual na coleção de germoplasma, local no germoplasma, anotação de campo, identificação individual (ID) e da família de meios-irmãos (ID MI), conteúdo de DNA (2C) e percentual de bases CG (%CG) dos genótipos de *Psidium*.

(continuação)

Espécie	Município de origem	Município da coleção	Local na coleção de germoplasma	Anotação de campo	ID	ID MI	2C (pg)	%CG
<i>P. cattleianum</i>	Alegre - ES	Viçosa - MG	Meio de cultura - UFV	Progênie Cat 5 (10) ^{10-CULTURA}	Cat_36	1	3,29	-
<i>P. cattleianum</i>	Alegre - ES	Viçosa - MG	Meio de cultura - UFV	Progênie Cat 5 (11) ^{11-CULTURA}	Cat_37	1	3,64	-
<i>P. cattleianum</i>	Alegre - ES	Viçosa - MG	Meio de cultura - UFV	Progênie Cat 5 (12) ^{12-CULTURA}	Cat_38	1	3,45	-
<i>P. cattleianum</i>	-	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	CAT 6 (Biblioteca) ¹⁸	Cat_39	-	3,71	40,47
<i>P. cattleianum</i>	Alegre - ES	Viçosa - MG	Meio de cultura - UFV	Progênie Cat 6 (1) ^{13-CULTURA}	Cat_40	2	3,85	-
<i>P. cattleianum</i>	Alegre - ES	Viçosa - MG	Meio de cultura - UFV	Progênie Cat 6 (2) ^{14-CULTURA}	Cat_41	2	3,98	-
<i>P. cattleianum</i>	Alegre - ES	Viçosa - MG	Meio de cultura - UFV	Progênie Cat 6 (3) ^{15-CULTURA}	Cat_42	2	3,45	-
<i>P. cattleianum</i>	Alegre - ES	Viçosa - MG	Meio de cultura - UFV	Progênie Cat 6 (4) ^{16-CULTURA}	Cat_43	2	3,97	-
<i>P. cattleianum</i>	Alegre - ES	Viçosa - MG	Meio de cultura - UFV	Progênie Cat 6 (5) ^{17-CULTURA}	Cat_44	2	3,82	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (1) ¹¹⁸	Cat_45	3	3,85	41,25
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (2) ¹¹⁹	Cat_46	3	3,63	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (3) ¹²⁰	Cat_47	3	3,86	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (4) ¹²¹	Cat_48	3	3,95	41,46
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (5) ¹²²	Cat_49	3	3,66	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (6) ¹²³	Cat_50	3	3,68	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (7) ¹²⁴	Cat_51	3	3,67	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (8) ¹²⁵	Cat_52	3	3,39	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (9) ¹²⁶	Cat_53	3	3,68	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (10) ¹²⁷	Cat_54	3	3,68	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (11) ¹²⁸	Cat_55	3	3,65	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (12) ¹²⁹	Cat_56	3	3,39	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (13) ¹³⁰	Cat_57	3	3,64	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (14) ¹³¹	Cat_58	3	3,60	39,87

Apêndice 01. Município de origem e atual na coleção de germoplasma, local no germoplasma, anotação de campo, identificação individual (ID) e da família de meios-irmãos (ID MI), conteúdo de DNA (2C) e percentual de bases CG (%CG) dos genótipos de *Psidium*.

(continuação)

Espécie	Município de origem	Município da coleção	Local na coleção de germoplasma	Anotação de campo	ID	ID MI	2C (pg)	%CG
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (15) ¹³²	Cat_59	3	3,34	37,99
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (16) ¹³³	Cat_60	3	3,52	39,21
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (17) ¹³⁴	Cat_61	3	3,44	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (18) ¹³⁵	Cat_62	3	3,66	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (19) ¹³⁶	Cat_63	3	3,38	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (20) ¹³⁷	Cat_64	3	3,68	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (21) ¹³⁸	Cat_65	3	3,69	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (22) ¹³⁹	Cat_66	3	3,64	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (23) ¹⁴⁰	Cat_67	3	3,91	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (24) ¹⁴¹	Cat_68	3	3,65	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (25) ¹⁴²	Cat_69	3	3,91	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (26) ¹⁴³	Cat_70	3	3,59	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (27) ¹⁴⁴	Cat_71	3	4,27	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (28) ¹⁴⁵	Cat_72	3	3,54	39,89
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (29) ¹⁴⁶	Cat_73	3	3,74	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Paulista (30) ¹⁴⁷	Cat_74	3	3,86	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (1) ¹⁴⁸	Cat_75	4	4,10	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (2) ¹⁴⁹	Cat_76	4	4,31	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (3) ¹⁵⁰	Cat_77	4	4,35	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (4) ¹⁵¹	Cat_78	4	4,06	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (5) ¹⁵²	Cat_79	4	4,38	41,23
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (6) ¹⁵³	Cat_80	4	4,34	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (7) ¹⁵⁴	Cat_81	4	4,34	-

Apêndice 01. Município de origem e atual na coleção de germoplasma, local no germoplasma, anotação de campo, identificação individual (ID) e da família de meios-irmãos (ID MI), conteúdo de DNA (2C) e percentual de bases CG (%CG) dos genótipos de *Psidium*.

(continuação)

Espécie	Município de origem	Município da coleção	Local na coleção de germoplasma	Anotação de campo	ID	ID MI	2C (pg)	%CG
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (8) ¹⁵⁵	Cat_82	4	4,05	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (9) ¹⁵⁶	Cat_83	4	4,24	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (10) ¹⁵⁷	Cat_84	4	4,28	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (11) ¹⁵⁸	Cat_85	4	4,23	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (12) ¹⁵⁹	Cat_86	4	4,31	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (13) ¹⁶⁰	Cat_87	4	4,30	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (14) ¹⁶¹	Cat_88	4	4,27	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (15) ¹⁶²	Cat_89	4	4,27	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (16) ¹⁶³	Cat_90	4	4,26	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (17) ¹⁶⁴	Cat_91	4	4,27	42,59
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (18) ¹⁶⁵	Cat_92	4	4,25	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (19) ¹⁶⁶	Cat_93	4	4,08	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (20) ¹⁶⁷	Cat_94	4	4,08	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (21) ¹⁶⁸	Cat_95	4	4,05	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (22) ¹⁶⁹	Cat_96	4	3,63	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (23) ¹⁷⁰	Cat_97	4	3,97	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (24) ¹⁷¹	Cat_98	4	4,11	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (25) ¹⁷²	Cat_99	4	4,12	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (26) ¹⁷³	Cat_100	4	4,05	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (27) ¹⁷⁴	Cat_101	4	4,05	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (28) ¹⁷⁵	Cat_102	4	4,03	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (29) ¹⁷⁶	Cat_103	4	3,96	-
<i>P. cattleianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Vermelho (30) ¹⁷⁷	Cat_104	4	4,08	-

Apêndice 01. Município de origem e atual na coleção de germoplasma, local no germoplasma, anotação de campo, identificação individual (ID) e da família de meios-irmãos (ID MI), conteúdo de DNA (2C) e percentual de bases CG (%CG) dos genótipos de *Psidium*.

(continuação)

Espécie	Município de origem	Município da coleção	Local na coleção de germoplasma	Anotação de campo	ID	ID MI	2C (pg)	%CG
<i>P. guajava</i>	Alegre - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Goiaba Amarela (Edson 01) (1) ⁰¹	Gua_01	5	0,98	37,81
<i>P. guajava</i>	Alegre - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Goiaba Amarela (Edson 01) (2) ⁰²	Gua_02	5	0,99	39,58
<i>P. guajava</i>	Alegre - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Goiaba Amarela (Edson 01) (3) ⁰³	Gua_03	5	0,95	38,09
<i>P. guajava</i>	Alegre - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Goiaba Amarela (Edson 01) (4) ⁰⁴	Gua_04	5	0,96	37,32
<i>P. guajava</i>	Alegre - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Goiaba Amarela (Edson 01) (PV 01) (Planta de cima) ⁶⁷	Gua_05	5	0,95	38,44
<i>P. guajava</i>	Alegre - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Goiaba Amarela (Edson 01) (PV 02) (Planta de baixo) ¹¹³	Gua_06	5	1,03	40,33
<i>P. guajava</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Nego (Planta 1) ⁰⁵	Gua_07	6	0,98	39,29
<i>P. guajava</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Nego (Planta 2) ⁰⁶	Gua_08	6	0,95	38,60
<i>P. guajava</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Nego (Planta 3) ⁰⁷	Gua_09	6	0,95	37,64
<i>P. guajava</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Nego (Planta 4) ⁰⁸	Gua_10	6	0,96	38,29
<i>P. guajava</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Nego (Planta 5) ⁰⁹	Gua_11	6	0,98	37,71
<i>P. guajava</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Nego 01 DARt (PV 01) ⁶⁶	Gua_12	6	0,96	38,93
<i>P. guajava</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Nego (6) ⁸¹	Gua_13	6	0,92	36,24
<i>P. guajava</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Nego (7) ⁸²	Gua_14	6	1,00	38,95
<i>P. guajava</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Nego (8) ⁸³	Gua_15	6	0,99	38,47
<i>P. guajava</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Nego (9) ⁸⁴	Gua_16	6	0,94	38,39
<i>P. guajava</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Nego (10) ⁸⁵	Gua_17	6	0,95	37,66
<i>P. guajava</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Nego (11) ⁸⁶	Gua_18	6	0,94	36,24
<i>P. guajava</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Nego (12) ⁸⁷	Gua_19	6	0,95	37,42
<i>P. guajava</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Nego (13) ⁸⁸	Gua_20	6	0,95	36,91
<i>P. guajava</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Nego (14) ⁸⁹	Gua_21	6	0,96	38,60

Apêndice 01. Município de origem e atual na coleção de germoplasma, local no germoplasma, anotação de campo, identificação individual (ID) e da família de meios-irmãos (ID MI), conteúdo de DNA (2C) e percentual de bases CG (%CG) dos genótipos de *Psidium*.

(continuação)

Espécie	Município de origem	Município da coleção	Local na coleção de germoplasma	Anotação de campo	ID	ID MI	2C (pg)	%CG
<i>P. guajava</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Nego (15) ⁹⁰	Gua_22	6	0,99	37,45
<i>P. guajava</i>	Iretama - PR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Nego (16) ⁹¹	Gua_23	6	0,99	37,76
<i>P. guajava</i>	Rio de Janeiro - RJ	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Goiaba Amarela (Edson 02 - RJ) (Frente - 1) ⁶⁸	Gua_24	-	0,95	38,73
<i>P. guajava</i>	Rio de Janeiro - RJ	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Goiaba Amarela (Edson 02 - RJ) (Atrás - 2) ⁶⁹	Gua_25	-	0,99	40,00
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Paluma ²⁸	Gua_26	-	0,95	38,09
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Cortibel I (LG) ²⁹	Gua_27	-	0,95	38,69
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Cortibel X ³⁰	Gua_28	-	0,95	38,80
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Cortibel XI ³¹	Gua_29	-	0,95	38,38
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Cortibel XII ³²	Gua_30	-	0,95	36,72
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Cortibel XIII ³³	Gua_31	-	0,95	36,72
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Cortibel XIV (RG) ³⁴	Gua_32	-	0,95	36,95
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Cortibel XV (SLG) ³⁵	Gua_33	-	0,95	38,69
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Cortibel XVI ³⁶	Gua_34	-	0,95	37,57
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Cortibel XVII ³⁷	Gua_35	-	0,94	37,96
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Cortibel II (LM) ³⁸	Gua_36	-	0,95	36,85
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Cortibel III ³⁹	Gua_37	-	0,95	37,34
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Cortibel IV (Branca LG) ⁴⁰	Gua_38	-	0,95	36,95

Apêndice 01. Município de origem e atual na coleção de germoplasma, local no germoplasma, anotação de campo, identificação individual (ID) e da família de meios-irmãos (ID MI), conteúdo de DNA (2C) e percentual de bases CG (%CG) dos genótipos de *Psidium*.

(continuação)

Espécie	Município de origem	Município da coleção	Local na coleção de germoplasma	Anotação de campo	ID	ID MI	2C (pg)	%CG
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Cortibel V ⁴¹	Gua_39	-	0,95	37,88
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Cortibel VII ⁴²	Gua_40	-	0,95	36,85
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Cortibel VIII (Branca RM) ⁴³	Gua_41	-	0,95	36,16
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Cortibel IX (RM2) ⁴⁴	Gua_42	-	0,95	37,63
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES	Área experimental - UFES	Indiana ⁴⁵	Gua_43	-	0,95	37,68
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Pedro Sato ⁴⁶	Gua_44	-	0,95	36,95
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Sassaoka (Petri) ⁴⁷	Gua_45	-	0,95	37,34
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Século XXI ⁴⁸	Gua_46	-	0,95	36,85
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES	Área experimental - UFES	Sassaoka (Antiga) ⁴⁹	Gua_47	-	1,10	40,51
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES	Área experimental - UFES	Cascão ⁵⁰	Gua_48	-	0,94	37,20
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES	Área experimental - UFES	Maçã ⁵¹	Gua_49	-	0,94	36,98
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES	Área experimental - UFES	Rica ⁵²	Gua_50	-	0,99	38,97
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Rocha ²³⁹	Gua_51	-	0,93	-
<i>P. guajava</i>	Boa Vista - RR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Goiaba branca Bloco IV Paricana ²⁵²	Gua_52	-	0,90	-
<i>P. guajava</i>	Alegre - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Rive 2 ²⁵³	Gua_53	-	0,91	-
<i>P. guajava</i>	-	Alegre - ES / Mimoso do Sul - ES / Linhares - ES	Área experimental - UFES / Pomar comercial "Palmeiras" / Pomar comercial "Frucafé"	Cortibel VI (RM) ¹¹⁷	Gua_54	-	0,95	40,74
<i>P. guajava</i> x <i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Híbrido 01 ⁷⁰	Hib_01	-	1,90	36,05
<i>P. guajava</i> x <i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Híbrido 05 ⁷¹	Hib_02	-	1,90	35,07
<i>P. guajava</i> x <i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Híbrido 14 ⁷²	Hib_03	-	1,90	36,08

Apêndice 01. Município de origem e atual na coleção de germoplasma, local no germoplasma, anotação de campo, identificação individual (ID) e da família de meios-irmãos (ID MI), conteúdo de DNA (2C) e percentual de bases CG (%CG) dos genótipos de *Psidium*.

(continuação)

Espécie	Município de origem	Município da coleção	Local na coleção de germoplasma	Anotação de campo	ID	ID MI	2C (pg)	%CG
<i>P. guajava</i> x <i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Híbrido 21 ⁷³	Hib_04	-	1,90	35,35
<i>P. guajava</i> x <i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Híbrido 06 ²⁴⁰	Hib_05	-	1,90	-
<i>P. guajava</i> x <i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Híbrido 07 ²⁴¹	Hib_06	-	1,90	-
<i>P. guajava</i> x <i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Híbrido 09 ²⁴²	Hib_07	-	1,90	-
<i>P. guajava</i> x <i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Híbrido 17 ²⁴³	Hib_08	-	1,90	-
<i>P. guajava</i> x <i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Híbrido 04 ²⁵⁵	Hib_09	-	1,90	-
<i>P. guajava</i> x <i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Híbrido 08 ²⁵⁶	Hib_10	-	1,90	-
<i>P. guajava</i> x <i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Híbrido 12 ²⁵⁷	Hib_11*	-	0,95 (30%)/1,90 (70%)	-
<i>P. guajava</i> x <i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Híbrido 15 ²⁵⁸	Hib_12	-	1,90	-
<i>P. guajava</i> x <i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Híbrido 16 ²⁵⁹	Hib_13	-	1,90	-
<i>P. guajava</i> x <i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Híbrido 19 ²⁶⁰	Hib_14	-	1,90	-
<i>P. guajava</i> x <i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Híbrido 22 ²⁶¹	Hib_15	-	1,90	-
<i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Gui 04 (Em frente ao alojamento CCAE-UFES) ¹⁰	Gui_01	-	1,80	34,33
<i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Área experimental - UFES	Gui 02 (Ruimário II) – Área ⁵⁶	Gui_02	-	1,90	35,37
<i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Área experimental - UFES	Gui 01 (Ruimário I) – Área ⁵⁷	Gui_03	-	1,90	35,36
<i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Gui 05 (Ao lado do alojamento CCAE-UFES) ⁷⁴	Gui_04	-	2,00	36,14
<i>P. guineense</i>	-	Alegre - ES	Área experimental - UFES	Gui 03 ¹¹⁴	Gui_05	-	2,00	43,07
<i>P. guineense</i>	-	Viçosa - MG	Departamento de Fitotecnia - UFV	Planta da esquerda (Acima da caixa dagua) ^{3-UFV}	Gui_06	-	1,84	-

Apêndice 01. Município de origem e atual na coleção de germoplasma, local no germoplasma, anotação de campo, identificação individual (ID) e da família de meios-irmãos (ID MI), conteúdo de DNA (2C) e percentual de bases CG (%CG) dos genótipos de *Psidium*.

(continuação)

Espécie	Município de origem	Município da coleção	Local na coleção de germoplasma	Anotação de campo	ID	ID MI	2C (pg)	%CG
<i>P. guineense</i>	-	-	Departamento de Fitotecnia - UFV	Planta da direita (Acima da caixa dagua) ^{4-UFV}	Gui_07	-	1,85	-
<i>P. myrtoides</i>	-	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Araçá Roxo (13) ¹¹	Myr_01	-	2,97	38,63
<i>P. myrtoides</i>	-	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Araçá Roxo (14) ¹²	Myr_02	-	2,96	39,52
<i>P. myrtoides</i>	-	Alegre - ES	Área experimental - UFES	Myr 01 (Baixo) (Araçáúna - 1) – Área ⁵³	Myr_03	-	2,87	39,94
<i>P. myrtoides</i>	-	Alegre - ES	Área experimental - UFES	Myr 02 (Cima) (Araçáúna - 2) – Área ⁵⁴	Myr_04	-	2,87	37,63
<i>P. myrtoides</i>	-	Alegre - ES	Área experimental - UFES	Myr 03 (Meio) – Área ⁵⁵	Myr_05	-	2,88	38,44
<i>P. myrtoides</i>	-	Alegre - ES	Área do Viveiro de Mudanças - IFES	Myr IFES P1=Próx. Cooperativa (Araçá Roxo) ⁷⁵	Myr_06	-	3,02	39,34
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 01) ¹³	Myr_07	7	2,98	38,72
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 02) ¹⁴	Myr_08	7	3,02	39,54
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 03) ¹⁵	Myr_09	7	3,02	40,12
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 04) ¹⁶	Myr_10	7	3,02	39,23
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 05) ¹⁷	Myr_11	7	3,01	39,40
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 06) ⁹²	Myr_12	7	2,93	38,37
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 07) ⁹³	Myr_13	7	2,94	38,66
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 08) ⁹⁴	Myr_14	7	3,03	39,35
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 09) ⁹⁵	Myr_15	7	2,82	38,59
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 10) ⁹⁶	Myr_16	7	3,02	39,10
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 11) ⁹⁷	Myr_17	7	3,02	39,72
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 12) ⁹⁸	Myr_18	7	3,02	40,49
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 13) ⁹⁹	Myr_19	7	2,95	39,01
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 14) ¹⁰⁰	Myr_20	7	3,01	39,05
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 15) ¹⁰¹	Myr_21	7	3,02	39,70
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 16) ¹⁰²	Myr_22	7	3,05	39,67

Apêndice 01. Município de origem e atual na coleção de germoplasma, local no germoplasma, anotação de campo, identificação individual (ID) e da família de meios-irmãos (ID MI), conteúdo de DNA (2C) e percentual de bases CG (%CG) dos genótipos de *Psidium*.

(continuação)

Espécie	Município de origem	Município da coleção	Local na coleção de germoplasma	Anotação de campo	ID	ID MI	2C (pg)	%CG
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 17) ¹⁰³	Myr_23	7	3,03	40,24
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Myr Linhares (Planta 18) Planta de baixo PV ¹¹⁵	Myr_24	7	3,09	39,92
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (1) ²⁰⁸	Myr_25	8	3,05	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (2) ²⁰⁹	Myr_26	8	3,12	48,95
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (3) ²¹⁰	Myr_27	8	2,96	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (4) ²¹¹	Myr_28	8	2,98	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (5) ²¹²	Myr_29	8	2,88	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (6) ²¹³	Myr_30	8	2,98	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (7) ²¹⁴	Myr_31	8	3,01	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (8) ²¹⁵	Myr_32	8	2,96	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (9) ²¹⁶	Myr_33	8	2,95	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (10) ²¹⁷	Myr_34	8	3,07	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (11) ²¹⁸	Myr_35	8	3,01	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (12) ²¹⁹	Myr_36	8	2,96	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (13) ²²⁰	Myr_37	8	3,02	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (14) ²²¹	Myr_38	8	2,98	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (15) ²²²	Myr_39	8	2,97	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (16) ²²³	Myr_40	8	2,72	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (17) ²²⁴	Myr_41	8	2,76	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (18) ²²⁵	Myr_42	8	2,76	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (19) ²²⁶	Myr_43	8	2,91	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (20) ²²⁷	Myr_44	8	2,77	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçáúna (21) ²²⁸	Myr_45	8	2,96	-

Apêndice 01. Município de origem e atual na coleção de germoplasma, local no germoplasma, anotação de campo, identificação individual (ID) e da família de meios-irmãos (ID MI), conteúdo de DNA (2C) e percentual de bases CG (%CG) dos genótipos de *Psidium*.

(continuação)

Espécie	Município de origem	Município da coleção	Local na coleção de germoplasma	Anotação de campo	ID	ID MI	2C (pg)	%CG
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá (22) ²²⁹	Myr_46	8	2,91	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá (23) ²³⁰	Myr_47	8	2,95	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá (24) ²³¹	Myr_48	8	2,93	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá (25) ²³²	Myr_49	8	2,99	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá (26) ²³³	Myr_50	8	2,85	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá (27) ²³⁴	Myr_51	8	2,83	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá (28) ²³⁵	Myr_52	8	2,92	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá (29) ²³⁶	Myr_53	8	3,02	-
<i>P. myrtoides</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá (30) ²³⁷	Myr_54	8	2,77	38,71
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Área experimental - UFES	Araçá Perinha – Área ⁶³	Gau_01	-	4,91	39,47
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (1) ¹⁷⁸	Gau_02	9	4,91	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (2) ¹⁷⁹	Gau_03	9	4,93	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (3) ¹⁸⁰	Gau_04	9	4,85	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (4) ¹⁸¹	Gau_05	9	4,83	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (5) ¹⁸²	Gau_06	9	4,86	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (6) ¹⁸³	Gau_07	9	4,64	38,38
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (7) ¹⁸⁴	Gau_08	9	4,84	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (8) ¹⁸⁵	Gau_09	9	5,15	40,48
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (9) ¹⁸⁶	Gau_10	9	4,83	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (10) ¹⁸⁷	Gau_11	9	4,81	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (11) ¹⁸⁹	Gau_12	9	4,90	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (12) ¹⁹⁰	Gau_13	9	5,02	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (13) ¹⁹¹	Gau_14	9	4,86	-

Apêndice 01. Município de origem e atual na coleção de germoplasma, local no germoplasma, anotação de campo, identificação individual (ID) e da família de meios-irmãos (ID MI), conteúdo de DNA (2C) e percentual de bases CG (%CG) dos genótipos de *Psidium*.

(continuação)

Espécie	Município de origem	Município da coleção	Local na coleção de germoplasma	Anotação de campo	ID	ID MI	2C (pg)	%CG
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (14) ¹⁹²	Gau_15	9	5,14	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (15) ¹⁹³	Gau_16	9	4,83	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (16) ¹⁹⁴	Gau_17	9	4,79	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (17) ¹⁹⁵	Gau_18	9	5,02	39,97
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (18) ¹⁹⁶	Gau_19	9	4,81	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (19) ¹⁹⁷	Gau_20	9	5,04	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (20) ¹⁹⁸	Gau_21	9	4,73	40,06
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (21) ¹⁹⁹	Gau_22	9	4,76	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (22) ²⁰⁰	Gau_23	9	4,79	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (23) ²⁰¹	Gau_24	9	5,19	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (24) ²⁰²	Gau_25	9	4,87	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (25) ²⁰³	Gau_26	9	5,12	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (26) ²⁰⁴	Gau_27	9	4,79	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (27) ²⁰⁵	Gau_28	9	4,83	-
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (28) ²⁰⁶	Gau_29	9	7,40	39,68
<i>P. gaudichaudianum</i>	Linhares - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Progênie Araçá Perinha (29) ²⁰⁷	Gau_30	9	5,17	-
<i>P. friedrichsthalianum</i>	-	Alegre - ES	Área experimental - UFES	Friedsch. (Araçá Boi) – Área ⁶²	Fri_01	-	4,72	38,59
<i>P. macahense</i>	Anchieta - ES	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Macahense (1) ²³⁸	Mac_01	-	0,93	37,56
<i>P. oblongatum</i>	Águia Branca - ES	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Oblon 04 ¹⁰⁴	Obl_01	-	0,99	39,81
<i>P. rufum</i>	-	Viçosa - ES	Meio de cultura - UFV	Rufum X ^{18-CULTURA}	Ruf_01	-	4,23	-
<i>Psidium</i> sp.	-	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Araçá Cagão / Araçá Amarelo Ribeirão Preto (19) ⁶⁴	Psi_01	-	4,94	40,92
<i>Psidium</i> sp.	Iretama - PR	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Araçá Vermelho de Iretama (21) ⁶⁵	Psi_02	-	4,22	37,22
<i>Psidium</i> sp.	-	Alegre - ES	Alto universitário - UFES	Araçá Açú (Nordeste) ¹¹⁶	Psi_03	-	4,92	38,80

Apêndice 01. Município de origem e atual na coleção de germoplasma, local no germoplasma, anotação de campo, identificação individual (ID) e da família de meios-irmãos (ID MI), conteúdo de DNA (2C) e percentual de bases CG (%CG) dos genótipos de *Psidium*.

(conclusão)

Espécie	Município de origem	Município da coleção	Local na coleção de germoplasma	Anotação de campo	ID	ID MI	2C (pg)	%CG
<i>Psidium</i> sp.	Boa Vista - RR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Araçá 01 2013 ²⁴⁴	Psi_04	-	2,00	-
<i>Psidium</i> sp.	Quipapá - PE	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Quipapá PE ²⁴⁵	Psi_05	-	2,00	-
<i>Psidium</i> sp.	Escada - PE	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	ARA 43 PE ²⁴⁶	Psi_06	-	2,00	-
<i>Psidium</i> sp.	Santa Luzia do Itanhi - SE	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	ARA 57 SE ²⁴⁷	Psi_07	-	2,00	36,80
<i>Psidium</i> sp.	Boa Vista - RR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Araçá Paricana 11/04 ²⁴⁸	Psi_08	-	2,00	-
<i>Psidium</i> sp.	Boa Vista - RR	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	Araçá Centro 2013 ²⁴⁹	Psi_09	-	2,00	-
<i>Psidium</i> sp.	Igrapiúna - BA	Alegre - ES	Casa de vegetação - UFES	ARA 154 BA – Igrapiúna ⁸⁰	Psi_10	-	1,92	35,90
<i>Psidium</i> sp.	-	Viçosa - ES	Departamento de Fitotecnia - UFV	Maior planta (70 anos) próxima às uvas ^{8-UFV}	Psi_11	-	4,84	-

Legenda: Acu = *P. acutangulum*; Cat = *P. cattleyanum*; Gua = *P. guajava*; Hib = *P. guajava* x *P. guineense*; Gui = *P. guineense*; Myr = *P. myrtoides*; Gau = *P. gaudichaudianum*; Fri = *P. friedrichsthalianum*; Mac = *P. macaense*; Obl = *P. oblongatum*; Ruf = *P. rufum*; Psi = Psi = *Psidium* sp. Hib_11* = 30 e 70 % das células com conteúdo de DNA de 0,95 e 1,90 pg, respectivamente. MI 01, 02, 03, 04 = famílias de meios-irmãos da espécie *P. cattleyanum*; MI 05 e 06 = famílias de meios-irmãos da espécie *P. guajava*; MI 07 e 08 = famílias de meios-irmãos da espécie *P. myrtoides*; MI 09 = família de meio-irmãos de *P. gaudichaudianum*. Os genitores femininos de MI 01 e 02 (*P. cattleyanum*) são os genótipos Cat_26 e Cat_39, respectivamente. Valor sobrescrito nos itens da coluna “Anotação de campo” = Identificação da amostra no citômetro de fluxo.

ANEXO

Anexo 01. Composição química em percentual de área relativa de compostos químicos dos óleos essenciais extraídos de folhas, considerando teores maiores que 1%, rendimento de extração (REND) e percentual de citosinas metiladas (%5-mC) de 21 genótipos de *P. guajava* (Gua_) e seis de *P. cattleyanum* (Cat_).

(continua)

Composto/ Genótipo	Gua_ 26	Gua_ 27	Gua_ 28	Gua_ 29	Gua_ 30	Gua_ 31	Gua_ 32	Gua_ 33	Gua_ 34	Gua_3 5	Gua_ 36	Gua_ 37	Gua_ 39	Gua_ 38	Gua_ 40	Gua_ 41	Gua_ 42	Gua_ 44	Gua_ 45	Gua_ 46	Gua_ 54	Cat_ 20	Cat_ 21	Cat_ 22	Cat_ 25	Cat_ 26	Cat_ 39
Limonene ¹	0,70	0,10	5,88	0,25	12,12	7,65	0,30	-	-	7,45	6,48	5,53	-	11,43	0,20	3,22	8,85	1,20	0,50	0,25	6,55	-	-	-	-	-	2,05
α-Pinene ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,06	2,03	10,35	23,80	19,56	5,70
β-Pinene ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Myrcene ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,01
β-Ocimene ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,17
1,8-Cineol ²	4,45	1,93	2,52	3,63	3,36	3,46	3,35	1,23	2,56	3,34	2,98	2,32	1,85	3,07	3,23	2,48	2,50	3,45	4,12	3,96	2,10	-	-	-	27,70	24,34	-
α-Terpineol ²	1,44	0,20	0,45	0,50	0,60	0,45	0,45	0,20	0,35	0,45	0,30	-	0,25	0,35	0,40	0,55	0,30	0,70	0,55	1,40	0,35	-	-	-	4,38	3,45	-
α-Copaene ³	1,38	0,30	0,60	-	-	0,70	-	-	0,30	0,40	-	-	-	-	-	0,30	0,40	1,82	0,30	1,68	-	9,90	9,88	-	-	-	10,20
α-Cedrene ³	-	1,25	-	-	0,60	-	0,65	1,05	1,15	0,55	0,90	0,70	0,90	0,85	-	1,05	1,00	-	-	-	0,65	-	-	-	-	-	-
cis-α-Bergamotene ³	-	1,10	-	-	0,45	-	0,55	0,75	0,90	0,60	0,80	0,60	0,80	0,80	0,40	0,90	0,85	-	-	-	0,50	-	-	-	-	-	-
α-Humulene ³	2,94	12,42	4,30	12,52	9,40	4,54	19,93	12,68	12,50	12,60	15,68	18,47	12,85	1,77	14,47	10,73	1,80	3,18	2,12	3,22	18,03	13,38	13,93	6,68	-	3,11	13,06
γ-Murolene ³	-	5,40	-	-	2,45	-	1,65	5,20	5,30	1,85	3,30	2,70	3,70	2,85	-	3,45	3,60	-	-	-	1,60	-	-	-	-	-	-
β-Selinene ³	6,07	0,50	0,50	7,37	-	0,60	0,65	-	-	7,27	-	0,70	-	3,10	9,52	-	1,05	10,72	9,08	6,80	0,55	-	-	-	-	-	6,39
α-Selinene ³	5,25	0,40	-	6,92	-	0,60	0,65	-	-	5,50	-	0,70	-	3,08	7,85	-	1,00	9,42	7,57	6,03	0,55	-	-	-	-	-	2,90
α-Bisabolene ³	-	1,90	0,50	-	1,94	-	1,22	2,06	2,02	0,50	1,30	1,27	1,55	1,93	-	1,95	1,80	-	-	-	1,52	-	-	-	-	-	-
β-Bisabolene ³	-	7,27	1,00	-	4,52	2,90	5,00	9,00	8,63	3,60	6,67	5,67	6,72	6,05	-	7,27	7,88	-	-	-	5,17	-	-	-	-	-	-
δ-Amorphene ³	-	2,35	-	-	1,00	-	1,65	-	2,00	-	-	1,90	2,00	2,65	-	2,90	2,50	-	-	-	1,45	-	-	2,65	-	3,57	-
δ-Candinene ³	1,05	4,85	0,50	-	1,35	0,50	1,90	3,70	3,75	0,90	2,55	1,95	2,55	3,00	-	3,40	3,65	1,50	0,95	1,25	1,60	6,30	6,80	-	-	-	-
(E)-α-Bisabolene ³	-	2,55	0,50	-	0,95	-	1,45	1,00	1,80	0,85	2,00	1,45	1,75	2,00	-	2,30	2,30	-	-	-	1,30	-	-	-	-	-	-
Aromadendrene ³	2,67	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,40	-	0,40	-	-	0,60	0,40	-	-	-	3,15	-	-	-	-	-	-
(E)-Caryophyllene ³	3,82	2,13	5,54	4,52	2,07	4,88	1,56	2,00	1,87	3,56	2,06	2,38	2,01	1,67	3,40	2,31	1,74	3,89	5,39	3,50	2,15	58,45	62,27	72,16	35,30	41,80	57,69
(E)-Farnesene ³	-	1,30	-	-	1,80	-	-	1,85	1,80	-	-	-	-	-	-	1,60	2,40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-Acoradiene ³	-	-	-	-	1,60	-	-	1,80	1,80	-	-	-	-	-	-	1,50	2,10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
γ-Gurjunene ³	-	-	-	-	-	-	-	-	1,40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,15	-	-	-	-	-	-	-	-
γ-Curcumene ³	-	1,50	-	-	1,30	-	1,60	-	-	-	-	-	-	-	-	1,40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-Curcumene ³	-	4,45	-	-	4,05	2,20	4,05	6,08	5,70	-	4,48	4,23	4,13	7,03	-	5,25	6,75	-	-	-	3,43	-	-	-	-	-	-
β-Himachalene ³	-	2,80	-	-	4,30	-	1,85	3,43	3,27	-	2,10	1,95	2,13	2,57	-	2,63	2,17	-	-	-	2,03	-	-	-	-	-	-
β-Sesquiphellandrene ³	-	3,50	-	-	3,43	-	2,05	4,88	4,50	-	2,63	2,85	3,05	3,40	-	3,35	4,97	1,63	-	-	2,55	-	-	-	-	-	-
γ-Candinene ³	-	1,05	-	0,30	0,50	2,10	0,70	0,75	0,90	0,50	0,85	0,65	0,80	1,00	-	1,05	1,00	-	1,10	0,30	0,60	-	-	-	-	-	-
Elemol ⁴	0,50	-	2,65	0,50	2,40	-	-	-	-	0,40	-	-	0,50	-	0,60	0,70	0,40	0,85	0,75	0,40	-	-	-	-	-	-	-
(E)-Nerolidol ⁴	3,05	5,53	15,60	3,18	4,95	14,40	6,92	4,83	5,17	3,60	7,18	5,70	9,23	6,02	3,52	5,83	8,23	3,24	-	3,35	6,62	-	-	-	-	-	-
Caryophyllene oxide ⁴	16,40	4,13	6,93	7,63	3,07	7,17	3,92	3,90	3,23	8,15	4,60	4,28	4,18	4,35	7,40	3,33	4,58	6,43	7,35	15,02	3,68	-	-	-	-	-	-
Ledol ⁴	1,02	0,75	-	-	1,40	-	0,85	0,85	0,95	0,75	0,80	0,75	0,90	0,95	-	1,10	1,15	1,44	-	1,00	0,90	-	-	-	-	-	-
Humulene epoxide ⁴	0,60	5,17	-	5,40	4,10	1,10	5,93	4,53	4,18	5,18	6,13	6,27	4,47	0,75	5,02	4,48	0,80	0,60	-	0,60	5,70	-	-	-	-	-	-
γ-Eudesmol ⁴	3,53	3,30	4,28	9,16	2,33	3,95	3,90	2,38	2,38	8,28	3,94	4,28	2,72	1,33	7,34	2,67	1,43	3,27	3,87	3,18	3,68	-	-	-	-	-	-
epi-β-Cubenol ⁴	3,18	3,60	-	1,70	2,63	3,40	2,43	3,25	3,25	1,45	2,50	2,58	2,73	3,03	1,70	3,13	3,33	3,50	6,55	3,18	2,50	-	-	-	-	-	-
epi-α-Cadinol ⁴	5,17	8,90	2,23	1,95	2,63	4,10	1,98	5,58	1,90	4,00	2,90	4,00	2,47	1,10	3,18	6,90	2,10	1,78	5,85	3,13	2,27	-	-	-	-	-	-
Hinesol ⁴	7,80	-	10,25	7,70	-	9,30	1,00	-	3,55	-	-	0,90	-	-	5,30	-	-	8,95	10,75	6,60	1,10	-	-	-	-	-	-
β-Eudesmol ⁴	1,55	1,20	3,00	0,80	1,65	2,70	1,15	1,45	1,50	1,10	1,20	1,10	1,20	1,20	0,65	1,25	1,80	1,10	1,20	1,35	1,30	-	-	-	-	-	-
Selina-6-en-4-ol ⁴	9,10	0,60	2,60	1,37	-	-	1,60	2,00	-	5,17	-	1,40	-	3,48	1,70	2,50	2,33	1,78	2,33	9,10	2,40	-	-	-	-	-	-
14-Hydroxy-epi-(E)-Caryophyllene ⁴	9,30	2,40	3,20	13,85	4,35	2,65	2,45	2,80	2,85	-	2,55	2,50	2,75	1,70	11,95	3,10	3,10	14,40	17,00	8,20	1,05	-	-	-	-	-	-
β-Bisabolol ⁴	2,97	19,17	3,90	2,32	18,63	3,72	14,27	18,13	18,07	4,23	14,18	13,92	17,98	18,15	2,02	19,37	18,62	2,48	3,20	2,55	13,95	-	-	-	-	-	-
α-Bisabolol ⁴	0,50	2,88	1,25	1,15	5,87	1,45	3,20	3,56	3,32	4,00	4,06	3,45	2,95	3,40	1,05	3,27	3,07	1,05	1,05	0,50	3,83	-	-	-	-	-	-
trans-(2Z-6Z)-Farnesol ⁴	-	0,70	3,20	-	0,85	3,50	0,65	0,90	1,25	-	0,65	0,55	0,55	0,50	-	0,70	0,90	-	-	-	0,55	-	-	-	-	-	-
α-Cedrol ⁴	-	2,00	-	1,30	2,00	-	1,80	1,50	1,60	1,10	1,90	1,80	1,60	-	1,20	1,90	-	-	-	-	1,60	-	-	-	-	-	-

Anexo 01. Composição química em percentual de área relativa de compostos químicos dos óleos essenciais extraídos de folhas, considerando teores maiores que 1%, rendimento de extração (REND) e percentual de citosinas metiladas (%5-mC) de 21 genótipos de *P. guajava* (Gua_) e seis de *P. cattleyanum* (Cat_).

(conclusão)

Composto/ Genótipo	Gua_ 26	Gua_ 27	Gua_ 28	Gua_ 29	Gua_ 30	Gua_ 31	Gua_ 32	Gua_ 33	Gua_ 34	Gua_3 5	Gua_ 36	Gua_ 37	Gua_ 39	Gua_ 38	Gua_ 40	Gua_ 41	Gua_ 42	Gua_ 44	Gua_ 45	Gua_ 46	Gua_ 54	Cat_ 20	Cat_ 21	Cat_ 22	Cat_ 25	Cat_ 26	Cat_ 39		
Aromadendrene epoxide ¹	11,20	3,80	10,80	8,48	2,60	12,03	2,60	2,70	2,40	7,90	2,53	-	2,70	2,75	-	2,80	3,05	8,38	12,33	10,25	2,20	-	-	-	-	-	-	-	
α-Muurolol ⁴	2,25	1,60	3,33	1,30	-	3,13	-	-	1,50	1,20	-	-	1,35	-	1,30	-	1,93	1,73	2,53	2,13	-	-	-	-	-	-	-	-	
Selin-11-en-4a-ol ⁴	8,75	1,80	3,30	11,73	-	3,55	1,60	-	-	9,85	1,80	1,75	-	4,60	10,60	-	2,47	15,10	20,15	8,15	1,30	-	-	-	-	-	-	-	
(Z,E)-α-Bergamotol ⁴	-	4,58	-	-	4,23	-	4,55	4,48	4,08	-	3,30	2,85	5,45	5,35	-	4,43	5,18	-	-	-	2,50	-	-	-	-	-	-	-	
(2Z,6E)-Farnesol ⁴	-	1,20	2,15	-	-	2,20	-	-	1,20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Viridiflorol ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,61	-	-	-	-	-	
Benzaldehyde	-	2,00	1,60	-	2,60	1,90	2,90	-	2,00	-	1,20	-	1,55	1,70	-	2,30	-	1,20	-	-	1,30	-	-	-	-	-	-	-	
Monoterpeno Hidrogenado	0,70	0,10	6,02	0,25	12,67	7,98	0,30	-	-	7,45	6,73	5,75	-	11,78	0,20	3,40	9,20	1,20	0,50	0,25	6,72	6,06	2,03	18,51	32,62	23,73	9,76	-	
Monoterpeno Oxigenado	5,83	2,07	2,78	4,00	3,76	3,80	3,60	1,33	2,84	3,66	3,18	2,42	2,00	3,30	3,48	2,84	2,72	3,90	4,64	5,26	2,28	-	-	-	32,08	27,79	-	-	
Sesquiterpeno Hidrogenado	38,32	42,17	37,72	40,85	32,87	35,20	45,72	46,97	46,35	42,53	42,68	43,58	41,35	33,90	48,35	38,67	34,30	45,20	31,90	43,65	43,35	88,07	92,86	81,49	35,30	48,48	90,24	-	-
Sesquiterpeno Oxigenado	53,83	53,12	51,57	53,17	48,78	52,37	48,43	48,83	48,67	50,35	48,57	46,23	54,33	48,70	47,07	53,10	51,78	48,38	62,17	49,57	46,08	-	2,61	-	-	-	-	-	-
Outros	4,05	6,75	5,20	9,65	6,30	2,45	4,90	9,85	6,60	4,80	5,85	6,00	5,30	6,00	3,20	6,05	5,85	4,55	5,80	5,10	4,00	5,87	2,5	-	-	-	-	-	
REND	0,54	0,40	0,22	0,52	0,32	0,20	0,34	0,42	0,30	0,44	0,42	0,47	0,30	0,35	0,54	0,44	0,41	0,39	0,42	0,32	0,51	0,95	0,90	0,75	0,70	0,73	0,70	-	
%5-mC (%)	19,45	21,03	18,35	19,65	19,91	16,70	19,74	20,00	21,34	17,01	20,63	21,47	19,73	19,79	16,34	19,79	20,44	22,26	26,19	21,12	22,30	24,88	17,02	23,80	26,17	30,00	26,67	-	

¹Monoterpeno Hidrogenado, ²Monoterpeno Oxigenado, ³Sesquiterpeno Hidrogenado, ⁴Sesquiterpeno Oxigenado. Teor percentual médio dos compostos encontrados no óleo essencial em seis avaliações em *P. guajava*, sendo duas realizadas por De Souza et al. (2018) e quatro por Mendes et al. (2018), e duas avaliações em *P. cattleyanum* realizada por Spadeto (2019). Rendimento de extração médio em duas avaliações em *P. guajava* (DE SOUZA et al., 2018) e duas em *P. cattleyanum* (SPADETO, 2019). Percentual de citosinas metiladas em *P. guajava* extraídas de Alves et al. (2020).

CAPÍTULO 2

VARIABILIDADE DE GENES DE TERPENO SINTASE EM GENÓTIPOS DE *Psidium guajava* L.

**Matheus Alves Silva, Luara Lopes Sousa, Miquéias Fernandes, Drielli Canal,
Paola de Avelar Carpinetti-Oliveira, Adésio Ferreira, Marcia Flores da Silva
Ferreira**

Universidade Federal do Espírito Santo – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias –
Departamento de Agronomia – Alto Universitário, s/n, Guararema, Alegre - ES, 29500-
000.

RESUMO

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) é uma importante frutífera da família Myrtaceae, produz óleos essenciais foliares ricos em terpenos que representam uma possibilidade de agregação de valor à cultura. Nesse contexto, o efeito do genótipo é muitas vezes desconsiderado em estudos químicos, levando a interpretações generalizadas que não correspondem à realidade, dificultando a repetibilidade de resultados. Embora a família de genes terpeno sintase (TPS) responsáveis pela síntese de terpenos seja bem estudada, a variabilidade de sequência dos genes é pouco conhecida, constituindo o objetivo desse estudo. Para isso, sequências de 29 a 69 pb contendo SNPs (Polimorfismo de Nucleotídeo Único) denominadas STAGs, oriundas de 62 genótipos por genotipagem por sequenciamento, via DArTseq, foram alinhadas em genes de TPS anotados para a espécie. Nove STAGs alinharam-se em 12 genes TPS e 17 alinhamentos. Foram identificados SNPs em éxons ocasionando mutações não sinônimas, bem como em íntrons, o que pode influenciar na expressão gênica, bem como na região 5'UTR que é capaz de suprimir a tradução. Presença e ausência de STAGs foram verificadas entre genótipos compreendendo regiões de 3'UTR, éxon e íntron foram observadas. A análise de agrupamento revelou quatro grupos de genótipos, um construído pela maior parte dos genótipos Cortibel

oriundos de uma mesma população segregante; e outros três constituídos de genótipos comerciais e espontâneos distribuídos nos dois maiores grupos. Em uma análise geral a diversidade dos materiais, em especial entre os genótipos Cortibel (melhorados e comerciais) e os comerciais pôde ser acessada por meio dos polimorfismos nos genes de TPS, o que correspondeu aos quimiotipos reportados. Em uma análise mais específica, em 16 genótipos de goiabeiras fenotipados previamente foi observada a variabilidade no gene com os compostos caracterizados nos óleos em que estes são responsáveis pela síntese, sendo α -selinene, (E)-Nerolidol, sesquiterpenos hidrogenados e/ou oxigenados, 1,8-cineol e Limonene. Entretanto, não foram estabelecidas relações do polimorfismo dos genes com a presença ou quantidade do composto específico, o que pode ser devido à complexidade das vias de síntese de óleos, ocasionada pela capacidade das TPS sintetizarem diferentes produtos a partir de um mesmo substrato e de diferentes substratos serem utilizados por uma mesma TPS. Os resultados obtidos nesse trabalho fornecem o primeiro resultado de variação alélica em genes TPS de goiabeiras, constituindo um importante passo para o entendimento desta característica na espécie.

Palavras-chave: Goiabeira. Polimorfismo. Sesquiterpenos.

ABSTRACT

Guava (*Psidium guajava* L.), is an important fruit of the Myrtaceae family, produces leaf essential oils rich in terpenes that represent a possibility of adding value to the crop. In this context, the effect of the genotype is often disregarded in chemical studies, leading to widespread interpretations that do not correspond to reality, making it difficult to repeat results. Although the family of terpene synthase (TPS) genes responsible for the synthesis of terpenes is well studied, the sequence variability of the genes is little known, constituting the objective of this study. For this, sequences of 29 to 69 bp containing SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) called STAGs, originating from 62 genotypes by genotyping by sequencing, via DArTseq, were aligned in TPS genes annotated for the species. Nine STAGs lined up in 12 TPS genes and 17 alignments. SNPs have been identified in exons causing non-synonymous mutations, as well as in introns, which can influence gene expression, as well as in the 5'UTR region that is capable of suppressing translation. Presence and absence of STAGs were verified between genotypes comprising regions of 3'UTR, exon and intron were observed. The cluster analysis revealed four groups of genotypes, one constructed by most of the Cortibel genotypes from the same segregating population; and three others consisting of commercial and spontaneous genotypes distributed in the two largest groups. In a general analysis, the diversity of the materials, especially between the Cortibel (improved and commercial) and commercial genotypes, could be accessed through the polymorphisms in the TPS genes, which corresponded to the reported chemotypes. In a more specific analysis, in 16 genotypes of guava trees previously phenotyped, the variability in the gene was observed with the compounds characterized in the oils in which they are responsible for the synthesis, being α -selinene, (E)-Nerolidol, hydrogenated sesquiterpenes and / or oxygenated, 1,8-cineole and Limonene. However, relations between the polymorphisms of the genes with the presence or quantity of the specific compound have not been established, which may be due to the complexity of the oil synthesis pathways, caused by the ability of TPS to synthesize different products from the same substrate and from different substrates to be used by the same TPS. The results obtained in this work provide the first result of allelic

variation in TPS genes of guava trees, constituting an important step towards understanding this characteristic in the species.

Keywords: Guava. Polymorphism. Sesquiterpenes.

1 INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais são compostos orgânicos voláteis sintetizados pelas plantas, oriundos do metabolismo secundário. Por meio desses compostos, relações entre a planta e o meio são estabelecidas, como, por exemplo, servindo como atrativo para polinizadores, na defesa da planta em relação à herbivoria e na atração de inimigos naturais dos herbívoros (HOLOPAINEN et al., 2013; PICHERSKY; GERSHENZON, 2002; THOLL, 2015).

A constituição dos óleos essenciais é majoritariamente de terpenos (KESZEI; BRUBAKER; FOLEY, 2008). Os precursores universais dos terpenos são difosfato de isopentenil (IPP) e o difosfato de dimetilalil (DMAPP), produzidos a partir da via do mevalonato (MVA) localizada no citoplasma ou pelo metileritritol fosfato (MEP) localizado nos cloroplastos. A partir das enzimas preniltransferases, os DMAPPs são fundidos com variadas unidades de IPP para sintetizar o difosfato de geranil (GPP), difosfato de farnesil (FPP) e difosfato de geranilgeranil (GGPP). A família de enzimas terpeno sintases (TPSs) catalisa a biossíntese de hemi (C5), mono (C10), sesqui (C15) e diterpenos (C20) usando os substratos DMAPP, GPP, FPP ou GGPP, respectivamente (DUDAREVA et al., 2013). A família de TPS é caracterizada por dois domínios conservados (terminais N e C). A partir da análise filogenética as TPSs foram divididas nas subfamílias TPS-a, TPS-b, TPS-c, TPS-d, TPS-e/f, TPS-g e TPS-h (CHEN et al., 2011; JIANG et al., 2019; KULHEIM et al., 2015).

Espécies de Myrtaceae constituem um importante recurso natural, pela alta concentração de terpenos encontrados predominantemente em suas folhas (PADOVAN et al., 2014). A goiabeira, cultivada em diversos países tropicais e subtropicais para a produção de frutos, também é reconhecida por suas propriedades medicinais (MORAIS-BRAGA et al., 2017), terapêuticas (JOSEPH; PRIYA, 2011) e com potencial de ser incorporada em produtos nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética (WANG et al., 2017). O óleo essencial de goiabeiras apresenta atividades fungicida, bactericida (CHATURVEDI et al., 2019; SOLIMAN et al., 2016), larvicida (MENDES et al., 2017) e possui efeitos alelopáticos (VASCONCELOS et al., 2019).

A variabilidade genotípica interfere na composição fenotípica dos óleos essenciais, o que por sua vez, influencia na atividade biológica dos mesmos. Todavia, muitas vezes o efeito do genótipo é desconsiderado em estudos químicos, levando a interpretações generalizadas que não correspondem à realidade, dificultando a repetibilidade de resultados. Em seis avaliações independentes em campo, genótipos cultivados experimentalmente no Brasil foram classificados em três grupos de perfis quimiotípicos, com rendimento variando de 0,17 a 0,58% m/m (DE SOUZA et al., 2018). Estes genótipos, na maioria, mantiveram proximidade de constituição, em diferentes épocas e locais de avaliação. Os compostos identificados foram majoritariamente sesquiterpenos hidrogenados e oxigenados (DE SOUZA et al., 2018; MENDES et al., 2018).

Para *P. guajava* foram relatados mais de 100 genes da família TPS (<http://guava.ufes.br/>). Dentre esses, a subfamília TPS-a relacionada à produção de sesquiterpenos foi a mais numerosa (CANAL, 2019). Assim, além do conhecimento dos genes, também é importante gerar conhecimentos sobre a variabilidade alélica, visando entender a relação dos mesmos com os fenótipos e possibilitar novas perspectivas de utilização no melhoramento genético.

A detecção de polimorfismos em sequências gênicas pode ser realizada com o uso de marcadores de cobertura ampla no genoma, obtidos por meio de sequenciamento de nova geração - NGS (*Next Generation Sequencing*). Dentre as metodologias utilizadas para detecção de SNPs, a genotipagem por sequenciamento via metodologia DArTseq, adaptada à plataforma NGS, busca a redução da complexidade do genoma por seleção da fração do genoma correspondendo predominantemente a genes ativos, por meio de enzimas de restrição, e possibilita a genotipagem e sequenciamento de centenas ou milhares de SNPs (Diversity Arrays Technology Pty. Ltd. - <https://www.diversityarrays.com/>).

O estudo da variabilidade alélica de genes TPS pode auxiliar na compreensão da variabilidade relacionada à composição de óleos essenciais, bem como na relação genótipo/fenótipo. Assim, neste estudo propõe-se como objetivos: identificar SNPs em genes TPS em genótipos de goiabeiras e caracterizar os polimorfismos detectados; estudar variabilidade de genótipos de goiabeiras pelos polimorfismos em genes TPS; estudar a relação de

polimorfismos com a variabilidade de terpenos nos óleos essenciais de goiabeiras.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

Foram utilizadas nesse estudo 62 goiabeiras, das quais: 11 são cultivares registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (<http://sistemas.agricultura.gov.br/>) (Paluma, Pedro Sato, Século XXI, Cortibel LG, Cortibel LM, Cortibel Branca LG, Cortibel RM, Cortibel Branca RM, Cortibel RM2, Cortibel RG e Cortibel SLG), oito materiais cultivados (Chinesa Branca, Indiana, Kuse, Maçã, Roxa, Tailandesa, Tailandesa Branca e Petri); 32 materiais oriundos de seleção massal em pomar de origem seminal denominados Cortibel (VII, XI, XIII, XVIII, XIX, XX, XXII, XXIII, XXIV, XXV, XXVI, XXVII, XXVIII, XXIX, XXX, XXXI, XXXII, XXXIII, XXXIV, XXXV, XXXVI, XXXVII, XXXVIII, XXXIX, XL, XLI, XLII, XLIII, XLV, XLVI, XLVII e XLVIII); 11 goiabeiras de ocorrência natural dos municípios brasileiros Maceió/AL, Descobrimento/BA, Rio Real/BA, Araçoiaba/CE, Alegre/ES (denominada goiabeira Amarela), Quipapá/PE, Taperoa/PB, Laranjeiras/SE, Iretama/PR (denominadas goiabeira Nego 1 e Nego 2) e São Paulo/SP (denominada goiabeira Rocha).

2.2 Obtenção do DNA genômico e das sequências

O isolamento e a verificação qualitativa e quantitativa do DNA genômico foram realizados no Laboratório de Genética e Melhoramento Vegetal pertencente ao Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo. Para extração foi utilizado o protocolo descrito por Doyle e Doyle (1990) (DOYLE; DOYLE, 1990) com modificações. Folhas jovens foram maceradas em nitrogênio líquido e cerca de 60 mg foi homogeneizado em 700µl da solução tampão de extração (NaCl -1,4 mol/L, TrisHCl pH 8,0 – 100 mmol/L, EDTA pH 8,0 – 20 mmol/L, PVP - 1%, CTAB - 2%, β-mercaptoetanol - 0,2%, água

de osmose reversa) e incubado a 37 °C em banho seco por 30 min. Em seguida adicionou-se 650 µl de clorofórmio-álcool isoamílico (CIA) na proporção 24:1, homogeneizado a mão por 10 min e centrifugado por 10 min a 12.000 rpm. O sobrenadante foi transferido para um tubo de 2,0 mL. Adicionou-se 200 µL de extração e 650 µL de CIA e homogeneizou-se novamente por 5 min. A solução foi centrifugada por mais 10 min a 12.000 rpm. Posteriormente, a fase aquosa foi transferida para um tubo de 1,5 ml, adicionando 650 µL de CIA e centrifugado por mais 12.000 rpm por 10 min. O sobrenadante foi adicionado a novos tubos de 1,5 ml e o DNA precipitado com 500 µl de isopropanol gelado, mais 230 µL de acetato de amônio e homogeneizado por 5 min. A mistura foi centrifugada por 12.000 rpm por 10 min. Nessa fase foi formado o pellet e o sobrenadante foi descartado. Utilizando 250 µL de etanol 70%, foi feita a lavagem do pellet por três vezes, centrifugando a 12.000 rpm por 3 min a cada lavagem. Em seguida foi feita a secagem do pellet incubando-o por 40 min a 37°C. Para a eliminação de resquícios de RNA, o DNA foi ressuspense em 40 µL de TE com RNase (40 µg/mL) e mantido em banho-maria a 37°C por 30 min. A caracterização inicial da quantidade e qualidade das amostras de DNA foi verificada em NanoDrop™ 2000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) e visualizada em gel de agarose a 0,8%.

Para atender à exigência da metodologia de genotipagem DArTseq, 2 µL de cada amostra do DNA genômico purificado foi submetido a uma incubação, com tampão da enzima HINF1 e corante loading buffer 10x, totalizando um volume final de 12 µL, por 2 horas a 37°C. As amostras submetidas à eletroforese, em gel de agarose a 0,8% com tampão TAE 1X. Apenas as amostras que permaneceram integras foram aceitas para o sequenciamento. Um volume de 60 µL de cada amostra contendo entre 60 a 100 ng de DNA foi pipetado em placa de PCR e enviado para a empresa Diversity Arrays Technology Pty. Ltd, de acordo com as recomendações da empresa (<https://www.diversityarrays.com/faq/>) em Canberra – Austrália para produção da biblioteca e da genotipagem por sequenciamento.

A representação do genoma foi obtida a partir de biblioteca genômica adquirida a partir de digestão com as enzimas de restrição PstI (corte raro) e MseI (corte comum). As extremidades dos fragmentos clivados foram ligadas a um adaptador com *barcode* e um adaptador comum. Os fragmentos misturados

foram amplificados utilizando dois iniciadores com sequências complementares aos adaptadores ligados e aos oligonucleotídios da plataforma de sequenciamento Illumina HiSeq2000. Todas as amplificações que tiveram sucesso foram agrupadas e levadas a uma *flowcell* para amplificação, onde foram gerados vários moldes de moléculas de DNA. Posteriormente os clusters foram sequenciados em plataforma NGS (KILIAN et al., 2012).

O arquivo contendo as sequências de 29 a 69 pb contendo SNPs (STAGs) e demais informações foi enviado pela empresa no formato “.csv” (Comma Separated Values – Arquivo de Valores Separados por Vírgula).

2.3 Localização dos SNPs em genes de TPS

Os genes anotados de goiabeiras estão disponíveis na página <http://guava.ufes.br/>. Estes genes foram alinhados contra o banco de dados <http://www.bioinformatics.nl/sesquiterpene/synthasedb/> para determinar os genes de TPS. Os genes cujas sequências alinharam com e-value de até $1e^{-5}$ foram selecionados para esta análise. A anotação desses genes foi realizada nos bancos de dados *Universal Protein* (UniProt) (<https://www.uniprot.org/>), *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) (<https://www.genome.jp/kegg/>) e *Gene Ontology* (GO) (<http://geneontology.org/>).

As STAGs foram exportadas para um arquivo no formato “.fasta” e alinhadas contra as sequências de genes de TPS, por meio de softwares da suíte Blast+ (CAMACHO et al., 2009) utilizando os parâmetros padrão. Foram selecionados os alinhamentos significativos estatisticamente, isto é, com e-value de até $1e^{-5}$ e cobertura da *query* de pelo menos 60%.

Estes alinhamentos foram identificados em estruturas gênicas com a anotação da goiabeira (CANAL, 2019). Para isso foi necessário implementar um *script* em Python, e por meio deste foi analisado o arquivo de alinhamentos, o arquivo de genes e o arquivo de sequências do genoma de goiabeira. Foi exportada uma tabela contendo as seguintes informações: parte estrutural do gene em que ocorre o SNP, trinca de bases (caso ocorra em região codificadora), aminoácido referente à trinca e tipo de mutação (sinônima/não sinônima - transição/transversão).

2.4 Obtenção do heatmap

As STAGs que possuíram alinhamentos significativos em genes de TPS foram utilizadas para essa análise. Os marcadores SNPs são considerados bi-alélicos, ou seja, geralmente são encontrados apenas duas variantes em uma espécie (RODRIGUES CAETANO, 2009). Nesse caso, foi considerado um alelo de referência (alelo mais comum) e um alelo alternativo (alelo SNP), e três estados alélicos para cada *locus*: aa (homozigoto em relação ao alelo de referência) - codificado por 0, bb (homozigoto em relação ao alelo SNP) - codificado por 1, e ab (heterozigoto) - codificado por 2. Também foram observados casos de ausência de STAGs na representação genômica para alguns genótipos, nesse caso codificado por 3. Essas informações foram exportadas para um arquivo no formato “.txt” (Arquivo de Texto Delimitado), e por meio do software R (R CORE TEAM, 2018), utilizando os pacotes “pheatmap” e “RColorBrewer” foi gerado o heatmap. A distância utilizada foi Euclidiana e o método de agrupamento UPGMA (*Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages*).

2.5 Composição do óleo

Dos 62 genótipos aqui estudados, em 16 a composição química do óleo essencial foi determinada: Cortibel XI, Cortibel XIII, Cortibel VII, Cortibel Branca LG, Cortibel Branca RM, Cortibel LG, Cortibel LM, Cortibel RG, Cortibel RM, Cortibel RM2, Cortibel SLG, Paluma, Pedro Sato, Roxa, Século XXI e Sassaoka (DE SOUZA et al., 2018; MENDES et al., 2018). As avaliações ocorreram a partir de plantas instaladas em três municípios, sendo Linhares, Mimoso do Sul e Alegre, todos pertencentes ao Estado do Espírito Santo. Em Linhares a coleta das folhas ocorreu no dia 15/06/2013, em Mimoso do Sul 21/06/2013 e nos dias 24/04/15, 11/08/15, 11/11/15 e 20/02/16 em Alegre. A partir dos valores obtidos para essas seis avaliações independentes foi determinado o valor médio de cada composto. Esses valores são apresentados no Anexo 01.

3 RESULTADOS

Foram obtidas 19.537 STAGs, as quais foram submetidas ao alinhamento, em genes TPS. Também foram consideradas a presença ou ausência das STAGs relacionadas a estes genes em cada genótipo, visando indicar polimorfismos no sítio de reconhecimento das enzimas de restrição utilizadas no preparo da biblioteca pela metodologia DArTseq (<https://www.diversityarrays.com/>). Em ambos os casos, foi possível acessar a variabilidade no gene de TPS.

Nove STAGs alinharam-se em 12 genes de TPS. Uma mesma STAG alinhou-se em diferentes genes, assim como diferentes STAGs alinharam-se em um mesmo gene, totalizando 17 alinhamentos. As informações dos alinhamentos, como posição de início e fim do alinhamento na STAGs e no gene, posição que ocorre o SNP e o parâmetro e-value associado estão apresentadas no Apêndice 01.

Em diferentes partes estruturais dos genes de TPS amostrados, foram observados SNPs, incluindo éxon, íntron e 5'UTR, sendo a maioria dos localizados em éxons. Em éxons o polimorfismo detectado foi a troca de C (citosina) por A (adenina) em Pg15480.1, Pg16967.1_2, Pg16967.1_3, Pg16969.1_2, Pg16979.1_2 e Pg16979.1_3. Em íntrons foi observada a troca de C (citosina) por T (timina) (Pg10950.1) e C por A (Pg23613.1). Na região 5'UTR foi observada a troca de C por A em Pg42505.1. Em regiões de 3'UTR (Pg00544.1), éxon (Pg00545.1, Pg16967.1_1, Pg16969.1_1, Pg16979.1_1, Pg25655.1 e Pg55458.1) e íntron (Pg54796.1) foi verificada presença e ausência de STAGs na representação genômica, para parte dos genótipos (Tabela 01).

A partir da posição do SNP no éxon, foi verificada a trinca de bases (códon) responsável pela codificação de aminoácidos durante a etapa de tradução do mRNA, e o local na trinca em que ocorre o polimorfismo. Na trinca de Pg15480.1 a troca correspondeu ao mesmo aminoácido (leucina), significando mutação sinônima do tipo transversão, assim como em Pg16967.1_2 e Pg16979.1_2. Já em Pg16967.1_3 e Pg16979.1_3 houve mutação não sinônima do tipo transversão, em que representou a troca do aminoácido alanina por ácido aspártico. Em Pg16969.1_2 esse tipo de mutação foi também observado, com a troca de treonina por asparagina (Tabela 01).

Tabela 01. Informações das sequências de goiabeiras, SNPs e genes de TPS alinhados.

STAG	Gene / subfamília TPS	Splicing alternativo *	Local no gene	SNP	Trinca com alelo de referência	Trinca com alelo SNP	Alteração do aminoácido	Tipo de mutação
STAG_1	Pg00544 / TPS-a	Pg00544.1	3'UTR	**	-	-	-	-
STAG_1	Pg00545 / TPS-a	Pg00545.1	Éxon	**	-	-	-	-
STAG_2	Pg10950 / TPS-b-1	Pg10950.1	Íntron	C/T	-	-	-	-
STAG_3	Pg15480 / TPS-a	Pg15480.1	Éxon	C/A	CTC	CTA	Leucina > Leucina	Sinônima - Transversão
STAG_4	Pg16967 / TPS-g	Pg16967.1_1	Éxon	**	-	-	-	-
STAG_5		Pg16967.1_2	Éxon	C/A	CGC	CGA	Arginina > Arginina	Sinônima - Transversão
STAG_6		Pg16967.1_3	Éxon	C/A	GCT	GAT	Alanina > Ácido aspártico	Não sinônima - Transversão
STAG_4	Pg16969 / TPS-g	Pg16969.1_1	Éxon	**	-	-	-	-
STAG_5		Pg16969.1_2	Éxon	C/A	ACT	AAT	Treonina > Asparagina	Não sinônima - Transversão
STAG_4	Pg16979 / TPS-g	Pg16979.1_1	Éxon	**	-	-	-	-
STAG_5		Pg16979.1_2	Éxon	C/A	CGC	CGA	Arginina > Arginina	Sinônima - Transversão
STAG_6		Pg16979.1_3	Éxon	C/A	GCT	GAT	Alanina > Ácido aspártico	Não sinônima - Transversão
STAG_7	Pg23613 / TPS-a	Pg23613.1	Íntron	C/A	-	-	-	-
STAG_8	Pg25655 / TPS-a	Pg25655.1	Éxon	**	-	-	-	-
STAG_3	Pg42505 / TPS-a	Pg42505.1	5'UTR	C/A	-	-	-	-
STAG_9	Pg54796 / TPS-b-2	Pg54796.1	Íntron	**	-	-	-	-
STAG_1	Pg55458 / TPS-a	Pg55458.1	Éxon	**	-	-	-	-

* “_1”; “_2” e “_3” = STAGs diferentes alinhadas em um mesmo *splicing* alternativo do gene. **Representam presença e ausência STAG na representação genômica.

Baseados nos polimorfismos dos genes TPS, quatro grupos de genótipos foram obtidos. No Grupo 1 foram alocados os genótipos Sassaoka, Kuse, os genótipos Cortibel (incluindo os comerciais e melhorados, exceto Cortibel XXIII), além de Nego 1, Nego 2, Amarela e os provenientes de Araçoiaba/CE e Taperoa/PB. O Grupo 2 foi formado pelos genótipos comerciais Paluma, Século XXI e Pedro Sato, e por Tailandesa Branca, Chinesa Branca e os materiais provenientes de Quipapá/PE, Laranjeiras/SE, Rio Real/BA, Descobrimento/BA, Maceió/AL além das goiabeiras Rocha e Cortibel XXIII. Os genótipos Indiana, Maçã e Roxa formaram o Grupo 4, e o genótipo Tailandesa não agrupou com outros materiais, constituindo o grupo 3 (Figura 01A).

O teor dos compostos presentes no óleo das goiabeiras Cortibel RM, Paluma e Roxa é apresentado na Figura 01B. É possível observar a diversidade qualitativa e quantitativa entre esses materiais para a maior parte dos compostos. Em uma análise geral, essa diversidade é possível ser acessada por meio dos polimorfismos nos genes de TPS, verificada por meio do agrupamento (Figura 01A).

Com base na anotação funcional em bancos de dados as enzimas sintetizadas a partir dos genes amostrados estão apresentadas na Tabela 02. As informações mais detalhadas obtidas nos bancos de dados consultados estão apresentadas no Anexo 02. Dos compostos identificados no óleo dos 16 genótipos de goiabeiras caracterizados previamente, foi possível identificar polimorfismos nos genes que têm anotação para a síntese α -selinene (genes Pg00544, Pg00545, Pg23613, Pg25655, Pg42505 e Pg55458), (E)-Nerolidol (genes Pg16967, Pg16969 e Pg16979), sesquiterpenos hidrogenados e/ou oxigenados (gene Pg23613), 1,8-cineol e Limonene (Pg10950). Dos 12 genes amostrados, um é responsável pela síntese de compostos classificados como monoterpenos (Pg10950) e os onze demais são responsáveis por compostos sesquiterpenos (Tabela 02; Anexo 02).

Figura 01. (A) Heatmap dos genótipos de goiabeiras e polimorfismos de genes de TPS amostrados. Representação na cor verde = homocigoto do alelo de referência; cor laranja = homocigoto do SNP; cor azul = heterocigoto, cor cinza = ausência da STAG na representação genômica. G = grupo. Genótipos em destaque (Cor azul – G1; vermelho – G2; roxo – G4) possuem a caracterização da composição do óleo essencial (Vide Anexo 01). Genes na cor verde = TPS-a; azul = TPS-b-1; vermelho = TPS-b-2; cinza = TPS-g. (B) Teor percentual médio de compostos identificados no óleo essencial de genótipos de goiabeiras em seis avaliações independentes, sendo duas realizadas por Souza et al. (2018) e quatro por Mendes et al. (2018).

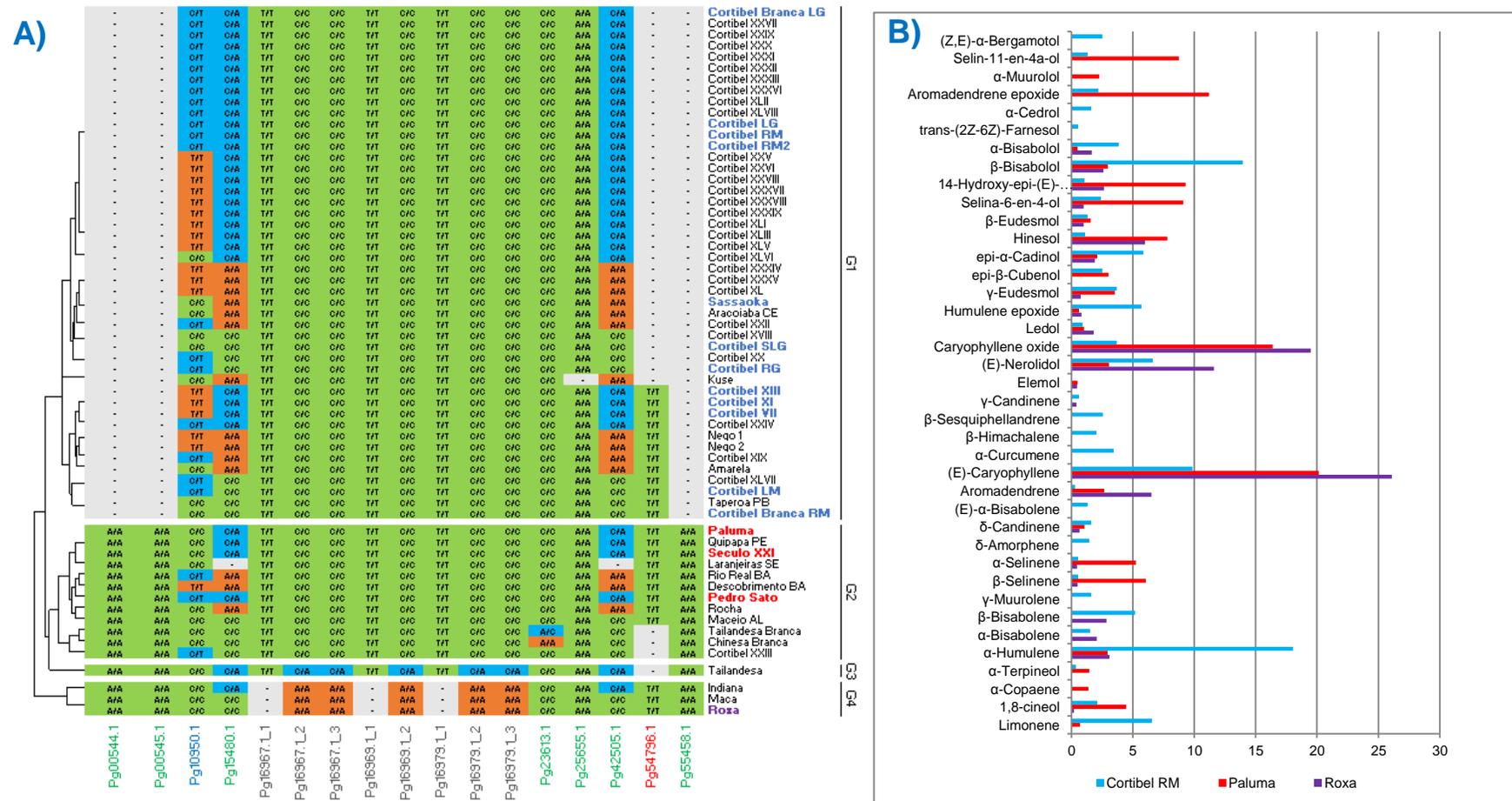


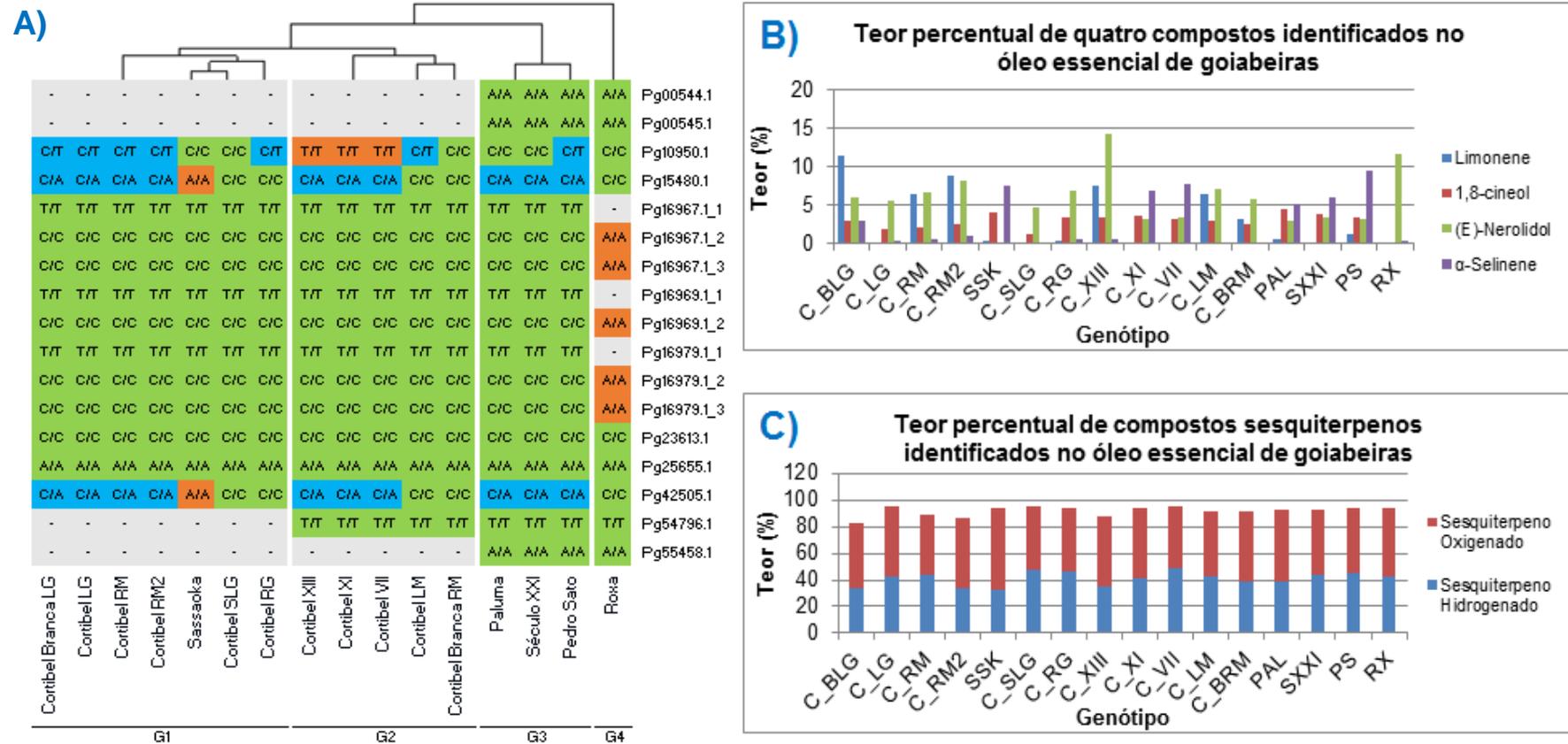
Tabela 02. Anotação dos genes de terpeno sintase obtidos nos bancos de dados *Universal Protein* (UniProt), *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) e *Gene Ontology* (GO).

Gene	Banco de dados		
	Uniprot	KEGG	GO
Pg00544	Valencene sintase / 7-epi-α-selinene sintase	(S)- β -macrocarpene sintase	Terpene sintase
Pg00545	(-)-germacrene D sintase	Valencene sintase / 7-epi-α-selinene sintase / (-)-germacrene D sintase	Terpene sintase
Pg10950	-	1,8-cineol sintase / Myrcene sintase / Ocimene sintase / Isoprene sintase / (E)- β -ocimene sintase	Myrcene sintase / (R)-limonene sintase / α -farnesene sintase / (E)- β -ocimene sintase / (4S)-limonene sintase / Sabinene sintase / Pinene sintase
Pg15480	Pinene sintase	(S)- β -macrocarpene sintase	Terpene sintase
Pg16967	(3S,6E)-nerolidol sintase	(3S)-linalool sintase	S-linalool sintase
Pg16969	(3S,6E)-nerolidol sintase	-	-
Pg16979	(3S,6E)-nerolidol sintase	(3S)-linalool sintase	S-linalool sintase
Pg23613	Sesquiterpene sintase	(-)-germacrene D sintase / Valencene sintase / 7-epi-α-selinene sintase	Terpene sintase
Pg25655	(-)-germacrene D sintase	Valencene sintase / 7-epi-α-selinene sintase / (-)-germacrene D sintase	Terpene sintase
Pg42505	(-)-germacrene D sintase	Valencene sintase / 7-epi-α-selinene sintase / (-)-germacrene D sintase	Terpene sintase
Pg54796	α -farnesene sintase / (E,E)- α -farnesene sintase	α -farnesene sintase	Terpene sintase
Pg55458	(-)-germacrene D sintase	Valencene sintase / 7-epi-α-selinene sintase / (-)-germacrene D sintase	Terpene sintase

Itens em negrito: enzimas que possuem o composto resultante presente no óleo essencial dos genótipos de goiabeiras já caracterizados. 7-epi- α -selinene sintase \rightarrow α -selinene; (3S,6E)-nerolidol sintase \rightarrow (E)-Nerolidol; Sesquiterpene sintase \rightarrow classe dos sesquiterpenos hidrogenados e/ou oxigenados; 1,8-cineol sintase \rightarrow 1,8-cineol; (R)-limonene sintase/(4S)-limonene sintase \rightarrow Limonene. As demais informações da anotação estão apresentadas no Anexo 02.

Em uma análise mais específica, foi obtido um agrupamento através dos polimorfismos de genes de TPS de 16 genótipos de goiabeiras caracterizados previamente quanto à composição do óleo (Figura 02A). Além disso, as médias de seis avaliações independentes dos terpenos identificados no óleo, no qual esses genes de TPS são responsáveis pela síntese são apresentadas nas Figuras 02B e 02C. De forma complementar foi feita a comparação dos polimorfismos no gene Pg23613 (Sesquiterpene sintase) (Figura 02A) com sesquiterpenos abundantes presentes no óleo dos genótipos caracterizados (α -Humulene, (E)-Caryophyllene, β -Bisabolol, Hinesol) (Anexo 03A); dos genes Pg00544, Pg00545, Pg23613, Pg25655, Pg42505 e Pg55458 (responsáveis por 7-epi- α -selinene sintase) com os demais compostos com o radical “selin” identificados no óleo (Anexo 03B) e do gene Pg10950 (responsável por compostos monoterpenos) com a classe de monoterpenos hidrogenados e oxigenados (Anexo 03C). Além disso, foi feita a comparação presença/quantidade do composto (E)-nerolidol, e dos polimorfismos nos genes responsáveis por esse composto (Pg16967, Pg16969 e Pg16979) em relação aos compostos identificados no óleo com radical “farnes” ((E)-Farnesene, trans-(2Z-6Z)-Farnesol e (2Z,6E)-Farnesol) (Anexo 03D), uma vez que é reportado que a síntese de (E)-nerolidol antecede a de “farnes” nas vias metabólicas (SANTOS, 2018). Embora seja possível visualizar a diversidade dos genes e dos compostos entre genótipos, não foi possível estabelecer nesse caso específico uma relação da presença e quantidade do composto com o agrupamento geral e com o polimorfismo (variação alélica) no gene responsável por esse composto.

Figura 2. Heatmap obtido através de polimorfismos em genes de TPS de 16 genótipos de goiabeiras (A) e teor percentual médio de quatro compostos (B) e do total de sesquiterpenos (C) identificados no óleo essencial desses materiais, por meio de seis avaliações, sendo duas por Souza et al. (2018) e quatro por Mendes et al. (2018). C_ = Cortibel; PAL = Paluma PS = Pedro Sato; SXXI = Século XXI, SSK = Sassaoka, RX = Roxa.



Pg00544, Pg00545, Pg23613, Pg25655, Pg42505 e Pg55458 = 7-epi- α -selinene sintase \rightarrow α -selinene; Pg16967, Pg16969 e Pg16979 = (3S,6E)-nerolidol sintase \rightarrow (E)-Nerolidol; Pg23613 = Sesquiterpene sintase \rightarrow classe dos sesquiterpenos hidrogenados e/ou oxigenados; Pg10950 = 1,8-cineol sintase \rightarrow 1,8-cineol; Pg10950 = (R)-limonene sintase/(4S)-limonene sintase \rightarrow Limonene.

4 DISCUSSÃO

Alinhamentos de STAGs ocorreram com significância estatística em mais de um gene (Tabela 01 e Apêndice 01). Genes de TPS possuem domínios conservados, e similaridades na sequência gênica, sendo os filogeneticamente semelhantes classificados em uma mesma subfamília (JIANG et al., 2019). Em regiões comuns/similares nesses diferentes genes e em *splicing* alternativos podem ter ocorrido esses alinhamentos.

A localização do SNP no genoma pode representar relevância funcional para o indivíduo. Um SNP localizado na região codificadora pode ter impacto na formação da proteína, se tratando nesse caso de uma mutação não sinônima, ou seja a substituição de base altera um aminoácido na cadeia polipeptídica (RODRIGUES CAETANO, 2009). Esse tipo de mutação foi identificado nos genes Pg16967, Pg16969 e Pg16979 (Tabela 01), responsáveis por (3S,6E)-nerolidol sintase, o que pode exercer influência, suprimindo ou favorecendo a atividade enzimática (DU et al., 2019; UEKI et al., 2019).

A presença de SNPs em íntrons pode influenciar negativamente na função da proteína formada, aumentar a expressão gênica ou influenciar no *splicing* alternativo do gene (KRAWCZAK et al., 2007; WANG; COOPER, 2007). Já os presentes em regiões de 3'UTR e 5'UTR podem suprimir a tradução (BEAUDOIN; PERREAULT, 2010). No gene Pg23613, polimorfismos foram observados somente nos genótipos Tailandesa Branca e Chinesa Branca, e a composição química do óleo desses genótipos não foi determinada, podendo esses SNPs estarem influenciando diretamente na expressão gênica.

Em 23 genótipos de *Lilium*, a maior produção de um composto, Myrcene, foi relacionada com 51 SNPs identificados nas sequências de cDNA (DU et al., 2019). No presente trabalho, em uma análise mais específica, as variações nos genes não foram associadas diretamente com o composto presente no óleo dos 16 genótipos previamente caracterizados. Por outro lado revelam polimorfismos em genes de TPS, que associados a outros podem estar influenciando na composição química dos óleos. Nesse contexto, é válido considerar a complexidade das vias de síntese dos compostos presentes no óleo, e da capacidade das TPS sintetizarem diferentes produtos a partir de um mesmo

substrato (DEGENHARDT; KÖLLNER; GERSHENZON, 2009), e de diferentes substratos serem aceitos por uma mesma TPS (THOLL, 2006).

Pelo agrupamento, obtido por meio dos polimorfismos nos genes de TPS verificou-se a similaridade dos genótipos comerciais Paluma, Século XXI e Pedro Sato que foram semelhantes nas características dos óleos, pertencendo ao mesmo quimiotipo (DE SOUZA et al., 2018; MENDES et al., 2018). Interessantemente, o genótipo Roxa pertencia a esse mesmo grupo dos comerciais, e no presente trabalho foi possível discriminá-lo, por ter constituído outro grupo. Já os genótipos Cortibel, de forma geral, foram também similares pelo agrupamento, e perteceram em sua maioria a um mesmo quimiotipo. Dessa forma, é possível verificar mais uma vez, agora por meio de polimorfismos nos genes, as similaridades dos materiais pertencentes aos dois grupos já descritos, bem como a variabilidade entre esses dois grupos. Já a alocação de genótipos espontâneos nos Grupos 1 e 2 pode ser utilizada de forma favorável no melhoramento, por aumentar a quantidade de materiais disponíveis, mesmo que em análises futuras sejam identificados perfis quimiotípicos similares, esses genótipos podem possuir outras características de interesse que favoreçam a exploração e conservação dos mesmos.

5 CONCLUSÃO

O alinhamento de STAGs foi representativo para amostrar o polimorfismo em genes TPS de cinco subfamílias, permitindo agrupar os 62 genótipos estudados de maneira a corroborar com os quimiotipos fenotípicos definidos em estudos independentes e previamente estabelecidos.

Os genótipos geneticamente aparentados (denominados Cortibel) ficaram agrupados, em grupos divergentes da maioria dos demais cultivares comerciais, revelando pool gênicos distintos a serem explorados comercialmente para as características de óleos essenciais.

Os polimorfismos nos genes de TPS, embora não associados diretamente aos compostos amostrados, forneceram uma informação inicial acerca da variabilidade genética, uma vez que os polimorfismos detectados em conjunto

com outros podem estar influenciando na expressão dos genes responsáveis pela síntese dos óleos essenciais.

Os resultados obtidos nesse trabalho fornecem o primeiro resultado de variação alélica em genes TPS de goiabeiras, constituindo um importante passo para o entendimento desta característica na espécie.

6 AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (Fapes). O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

7 REFERÊNCIAS

- BEAUDOIN, J. D.; PERREAULT, J. P. 5'-UTR G-quadruplex structures acting as translational repressors. **Nucleic Acids Research**, v. 38, n. 20, p. 7022–7036, 2010.
- CAMACHO, C. et al. BLAST+: Architecture and applications. **BMC Bioinformatics**, v. 10, p. 1–9, 2009.
- CANAL, D. The draft genome assembly of *Psidium guajava* L. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal do Espírito Santo - Alegre/ES, 2019.
- CHATURVEDI, T. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of senescent leaves of guava (*Psidium guajava* L.). **Natural Product Research**, p. 1–5, 2019.
- CHEN, F. et al. The family of terpene synthases in plants: a mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the kingdom. **Plant Journal**, v. 66, n. 1, p. 212–229, 2011.
- DE SOUZA, T. DA S. et al. Chemotype diversity of *Psidium guajava* L. **Phytochemistry**, v. 153, n. June, p. 129–137, 2018.
- DEGENHARDT, J.; KÖLLNER, T. G.; GERSHENZON, J. Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. **Phytochemistry**, v. 70, n. 15–16, p. 1621–1637, 2009.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. J. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, p. 13–15, 1990.
- DU, F. et al. Volatile composition and classification of *Lilium* flower aroma types and identification, polymorphisms, and alternative splicing of their monoterpene synthase genes. **Horticulture Research**, v. 6, n. 1, 2019.
- DUDAREVA, N. et al. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. **New Phytologist**, v. 198, n. 1, p. 16–32, 2013.
- HOLOPAINEN, J. K. et al. Ecological functions of terpenoids in changing climates. **Natural Products**, 2013.
- JIANG, S. Y. et al. A comprehensive survey on the terpene synthase gene family provides new insight into its evolutionary patterns. **Genome Biology and Evolution**, v. 11, n. 8, p. 2078–2098, 2019.
- JOSEPH, B.; PRIYA, R. M. Phytochemical and biopharmaceutical aspects of *Psidium guajava* (L.) essential oil: a review. **Research Journal of Medicinal Plant**, v. 5, n. 4, p. 432–442, 2011.
- KESZEI, A.; BRUBAKER, C. L.; FOLEY, W. J. A molecular perspective on terpene variation in Australian Myrtaceae. **Australian Journal of Botany**, v. 56, n. 3, p.

197–213, 2008.

KILIAN, A. et al. Diversity Arrays Technology: A Generic Genome Profiling Technology on Open Platforms. **Methods in Molecular Biology**, v. 888, p. 3–12, 2012.

KRAWCZAK, M. et al. Single base-pair substitutions in exon-intron junctions of human genes: nature, distribution, and consequences for mRNA splicing. **Human mutation**, v. 28, n. 2, p. 150–158, fev. 2007.

KULHEIM, C. et al. The *Eucalyptus* terpene synthase gene family. **BMC genomics**, v. 16, p. 450, jun. 2015.

MENDES, L. A. et al. Larvicidal effect of essential oils from Brazilian cultivars of guava on *Aedes aegypti* L. **Industrial Crops and Products**, v. 108, n. July, p. 684–689, 2017.

MENDES, L. A. et al. Spring alterations in the chromatographic profile of leaf essential oils of improved guava genotypes in Brazil. **Scientia Horticulturae**, v. 238, n. April, p. 295–302, 2018.

MORAIS-BRAGA, M. F. B. et al. Phenolic composition and medicinal usage of *Psidium guajava* Linn.: antifungal activity or inhibition of virulence? **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 24, n. 2, p. 302–313, 2017.

PADOVAN, A. et al. The evolution of foliar terpene diversity in Myrtaceae. **Phytochemistry Reviews**, v. 13, n. 3, p. 695–716, 2014.

PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 5, n. 3, p. 237–243, 2002.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2018. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>> Acesso em: 12 jun. 2018.

RODRIGUES CAETANO, A. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 3598, p. 64–71, 2009.

SANTOS, E. C. DOS. Transcriptoma de *Copaifera multijuga* Hayne: montagem e anotação. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas. Manaus/AM, 2018

SOLIMAN, F. M. et al. Comparative study of the volatile oil content and antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. and *Psidium cattleianum* Sabine leaves. **Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University**, v. 54, n. 2, p. 219–225, 2016.

THOLL, D. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 9, n. 3, p. 297–304, 2006.

THOLL, D. Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, 2015.

UEKI, M. et al. Evaluation of the functional effects of genetic variants—missense and nonsense SNPs, indels and copy number variations—in the gene encoding human deoxyribonuclease I potentially implicated in autoimmunity. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–11, 2019.

VASCONCELOS, L. C. et al. Phytochemical analysis and effect of the essential oil of *Psidium* L. species on the initial development and mitotic activity of plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 25, p. 26216–26228, 2019.

WANG, G. S.; COOPER, T. A. Splicing in disease: Disruption of the splicing code and the decoding machinery. **Nature Reviews Genetics**, v. 8, n. 10, p. 749–761, 2007.

WANG, L. et al. Chemical compositions, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Psidium guajava* L. leaves from different geographic regions in China. **Chemistry & Biodiversity**, v. 14, n. 9, 2017.

APÊNDICE

Apêndice 01. Informações dos alinhamentos de sequências de goiabeiras de 29 a 69 pb (STAGs) oriundas de DArTseq em genes de terpeno sintase (TPS).

Identificação da sequência	Gene	<i>Splicing</i> alternativo*	Posição de início no alinhamento da <i>query</i>	Posição do fim no alinhamento da <i>query</i>	Posição de início do alinhamento no gene	Posição final do alinhamento no gene	Posição do SNP no gene	e-value
STAG_1	Pg00544	Pg00544.1	1	69	1732	1800	1744	3,69E-32
STAG_1	Pg00545	Pg00545.1	1	69	1717	1785	1729	1,72E-30
STAG_2	Pg10950	Pg10950.1	1	57	420	476	449	6,38E-24
STAG_3	Pg15480	Pg15480.1	1	69	1889	1957	1951	3,69E-32
STAG_4		Pg16967.1_1	1	69	2066	1998	2055	3,69E-32
STAG_5	Pg16967	Pg16967.1_2	1	69	2066	1998	2026	1,73E-25
STAG_6		Pg16967.1_3	1	69	2066	1998	2049	1,72E-30
STAG_4		Pg16969.1_1	1	69	267	199	256	8,05E-24
STAG_5	Pg16969	Pg16969.1_2	1	69	267	199	227	1,72E-30
STAG_4		Pg16979.1_1	4	69	2154	2089	2146	7,99E-29
STAG_5	Pg16979	Pg16979.1_2	4	69	2154	2089	2117	1,73E-25
STAG_6		Pg16979.1_3	4	69	2154	2089	2140	3,72E-27
STAG_7	Pg23613	Pg23613.1	1	69	3712	3644	3693	3,69E-32
STAG_8	Pg25655	Pg25655.1	1	69	2369	2437	2382	7,99E-29
STAG_3	Pg42505	Pg42505.1	1	69	3164	3232	3226	3,72E-27
STAG_9	Pg54796	Pg54796.1	1	29	1620	1592	1606	1,80E-10
STAG_1	Pg55458	Pg55458.1	3	69	2189	2254	2199	1,74E-20

*“_1”; “_2” e “_3” = Sequências diferentes alinhadas em um mesmo *splicing* alternativo do gene.

ANEXO

Anexo 01. Composição química em percentual de área relativa de compostos químicos encontrados nos óleos essenciais extraídos das folhas de 16 genótipos de goiabeiras, considerando teores maiores que 1%.

(Continua)

Composto	Genótipo*															
	C_BLG	C_LG	C_RM	C_RM2	SSK	C_SLG	C_RG	C_XIII	C_XI	C_VII	C_LM	C_BRM	PAL	SXXI	PS	RX
Limonene ¹	11,43	0,10	6,55	8,85	0,50	-	0,30	7,65	0,25	0,20	6,48	3,22	0,70	0,25	1,20	-
1,8-cineol ²	3,07	1,93	2,10	2,50	4,12	1,23	3,35	3,46	3,63	3,23	2,98	2,48	4,45	3,96	3,45	0,20
α -Terpineol ²	0,35	0,20	0,35	0,30	0,55	0,20	0,45	0,45	0,50	0,40	0,30	0,55	1,44	1,40	0,70	-
α -Copaene ³	-	0,30	-	0,40	0,30	0,30	-	0,70	-	-	-	0,30	1,38	1,68	1,82	-
α -Cedrene ³	0,85	1,25	0,65	1,00	-	1,05	0,65	-	-	-	0,90	1,05	-	-	-	-
cis- α -Bergamotene ³	0,80	1,10	0,50	0,85	-	0,75	0,55	-	-	0,40	0,80	0,90	-	-	-	-
α -Humulene ³	1,77	12,42	18,03	1,80	2,12	12,68	19,93	4,54	12,52	14,47	15,68	10,73	2,94	3,22	3,18	3,10
γ -Muuroolene ³	2,85	5,40	1,60	3,60	-	5,20	1,65	-	-	-	3,30	3,45	-	-	-	-
β -Selinene ³	3,10	0,50	0,55	1,05	9,08	-	0,65	0,60	7,37	9,52	-	-	6,07	6,80	10,72	0,50
α -Selinene ³	3,08	0,40	0,55	1,00	7,57	-	0,65	0,60	6,92	7,85	-	-	5,25	6,03	9,42	0,45
α -Bisabolene ³	1,93	1,90	1,52	1,80	-	2,06	1,22	-	-	-	1,30	1,95	-	-	-	2,05
β -Bisabolene ³	6,05	7,27	5,17	7,88	-	9,00	5,00	2,90	-	-	6,67	7,27	-	-	-	2,85
δ -Amorphene ³	2,65	2,35	1,45	2,50	-	-	1,65	-	-	-	-	2,90	-	-	-	-
δ -Candinene ³	3,00	4,85	1,60	3,65	0,95	3,70	1,90	0,50	-	-	2,55	3,40	1,05	1,25	1,50	0,65
(E)- α -Bisabolene ³	2,00	2,55	1,30	2,30	-	1,00	1,45	-	-	-	2,00	2,30	-	-	-	-
Aromadendrene ³	-	-	0,30	0,40	-	-	-	-	-	-	0,40	0,60	2,67	3,15	-	6,50
(E)-Caryophyllene ³	9,47	7,77	9,85	9,78	12,05	7,70	10,63	28,73	13,18	15,67	10,48	6,08	20,15	22,98	19,52	26,10
(E)-Farnesene ³	-	1,30	-	2,40	-	1,85	-	-	-	-	-	1,60	-	-	-	-
α -Acoradiene ³	-	-	-	2,10	-	1,80	-	-	-	-	-	1,50	-	-	-	-
γ -Gurjunene ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,15	-

Anexo 01. Composição química em percentual de área relativa de compostos químicos encontrados nos óleos essenciais extraídos das folhas de 16 genótipos de goiabeiras, considerando teores maiores que 1%.

(Continuação)

Composto	Genótipo*															
	C_BLG	C_LG	C_RM	C_RM2	SSK	C_SLG	C_RG	C_XIII	C_XI	C_VII	C_LM	C_BRM	PAL	SXXI	PS	RX
γ -Curcumene ³	-	1,50	-	-	-	1,60	-	-	-	-	-	1,40	-	-	-	-
α -Curcumene ³	7,03	4,45	3,43	6,75	-	6,08	4,05	2,20	-	-	4,48	5,25	-	-	-	-
β -Himachalene ³	2,57	2,80	2,03	2,17	-	3,43	1,85	-	-	-	2,10	2,63	-	-	-	-
β -Sesquiphellandrene ³	3,40	3,50	2,55	4,97	-	4,88	2,05	-	-	-	2,63	3,35	-	-	1,63	-
γ -Candinene ³	1,00	1,05	0,60	1,00	1,10	0,75	0,70	2,10	0,30	-	0,85	1,05	-	0,30	-	0,40
Elemol ⁴	-	-	-	0,40	0,75	-	-	2,40	0,50	0,60	-	0,70	0,50	0,40	0,85	0,45
(E)-Nerolidol ⁴	6,02	5,53	6,62	8,23	-	4,83	6,92	14,40	3,18	3,52	7,18	5,83	3,05	3,35	3,24	11,60
Caryophyllene oxide ⁴	4,35	4,13	3,68	4,58	7,35	3,90	3,92	7,17	7,63	7,40	4,60	3,33	16,40	15,02	6,43	19,50
Ledol ⁴	0,95	0,75	0,90	1,15	-	0,85	0,85	-	-	-	0,80	1,10	1,02	1,00	1,44	1,80
Humulene epoxide ⁴	0,75	5,17	5,70	0,80	-	4,53	5,93	1,10	5,40	5,02	6,13	4,48	0,60	0,60	0,60	0,80
γ -Eudesmol ⁴	1,33	3,30	3,68	1,43	3,87	2,38	3,90	3,95	9,16	7,34	3,94	2,67	3,53	3,18	3,27	0,75
epi- β -Cubanol ⁴	2,65	3,52	2,50	2,90	6,55	3,25	3,53	3,40	1,70	1,70	2,32	2,94	3,00	3,18	3,50	
epi- α -Cadinol ⁴	1,78	2,23	5,85	1,95	5,58	2,47	1,10	4,00	8,90	7,57	4,10	3,18	2,10	1,98	2,63	1,90
Hinesol ⁴	-	-	1,10	-	10,75	-	1,00	9,30	7,70	5,30	-	-	7,80	6,60	8,95	6,00
β -Eudesmol ⁴	1,20	1,20	1,30	1,80	1,20	1,45	1,15	2,70	0,80	0,65	1,20	1,25	1,55	1,35	1,10	1,00
Selina-6-en-4-ol ⁴	3,48	0,60	2,40	2,33	2,33	2,00	1,60	-	1,37	1,70	-	2,50	9,10	9,10	1,78	1,00
14-Hydroxy-epi-(E)-Caryophyllene ⁴	1,70	2,40	1,05	3,10	17,00	2,80	2,45	2,65	13,85	11,95	2,55	3,10	9,30	8,20	14,40	2,65
β -Bisabolol ⁴	18,15	19,17	13,95	18,62	3,20	18,13	14,27	3,72	2,32	2,02	14,18	19,37	2,97	2,55	2,48	2,60
α -Bisabolol ⁴	3,40	2,88	3,83	3,07	1,05	3,56	3,20	1,45	1,15	1,05	4,06	3,27	0,50	0,50	1,05	1,65
trans-(2Z-6Z)-Farnesol ⁴	0,50	0,70	0,55	0,90	-	0,90	0,65	3,50	-	-	0,65	0,70	-	-	-	-
α -Cedrol ⁴	-	2,00	1,60	-	-	1,50	1,80	-	1,30	1,20	1,90	1,90	-	-	-	-

Anexo 01. Composição química em percentual de área relativa de compostos químicos encontrados nos óleos essenciais extraídos das folhas de 16 genótipos de goiabeiras, considerando teores maiores que 1%.

(Conclusão)

Composto	Genótipo*															
	C_BLG	C_LG	C_RM	C_RM2	SSK	C_SLG	C_RG	C_XIII	C_XI	C_VII	C_LM	C_BRM	PAL	SXXI	PS	RX
Aromadendrene epoxide ⁴	2,75	3,80	2,20	3,05	12,33	2,70	2,60	12,03	8,48	-	2,53	2,80	11,20	10,25	8,38	-
α-Muurolol ⁴	-	1,60	-	1,93	2,53	-	-	3,13	1,30	1,30	-	-	2,25	2,13	1,73	-
Selin-11-en-4a-ol ⁴	4,60	1,80	1,30	2,47	20,15	-	1,60	3,55	11,73	10,60	1,80	-	8,75	8,15	15,10	-
(Z,E)-α-Bergamotol ⁴	5,35	4,58	2,50	5,18	-	4,48	4,55	-	-	-	3,30	4,43	-	-	-	-
(2Z,6E)-Farnesol ⁴	-	1,20	-	-	-	-	-	2,20	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzaldehyde	1,70	2,00	1,30	-	-	-	2,90	1,90	-	-	1,20	2,30	-	-	1,20	-
Monoterpeno Hidrogenado	11,78	0,10	6,72	9,20	0,50	-	0,30	7,98	0,25	0,20	6,73	3,40	0,70	0,25	1,20	-
Monoterpeno Oxigenado	3,30	2,07	2,28	2,72	4,64	1,33	3,60	3,80	4,00	3,48	3,18	2,84	5,83	5,26	3,90	0,20
Sesquiterpeno Hidrogenado	33,90	42,17	43,35	34,30	31,90	46,97	45,72	35,20	40,85	48,35	42,68	38,67	38,32	43,65	45,20	42,45
Sesquiterpeno Oxigenado	48,70	53,12	46,08	51,78	62,17	48,83	48,43	52,37	53,17	47,07	48,57	53,10	53,83	49,57	48,38	51,25
Benzaldehyde	1,80	2,10	1,40	-	-	-	3,00	2,00	-	-	1,20	2,40	-	-	1,20	-
Outros	6,00	6,75	4,00	5,85	5,80	9,85	4,90	2,45	9,65	3,20	5,85	6,05	4,05	5,10	4,55	6,15

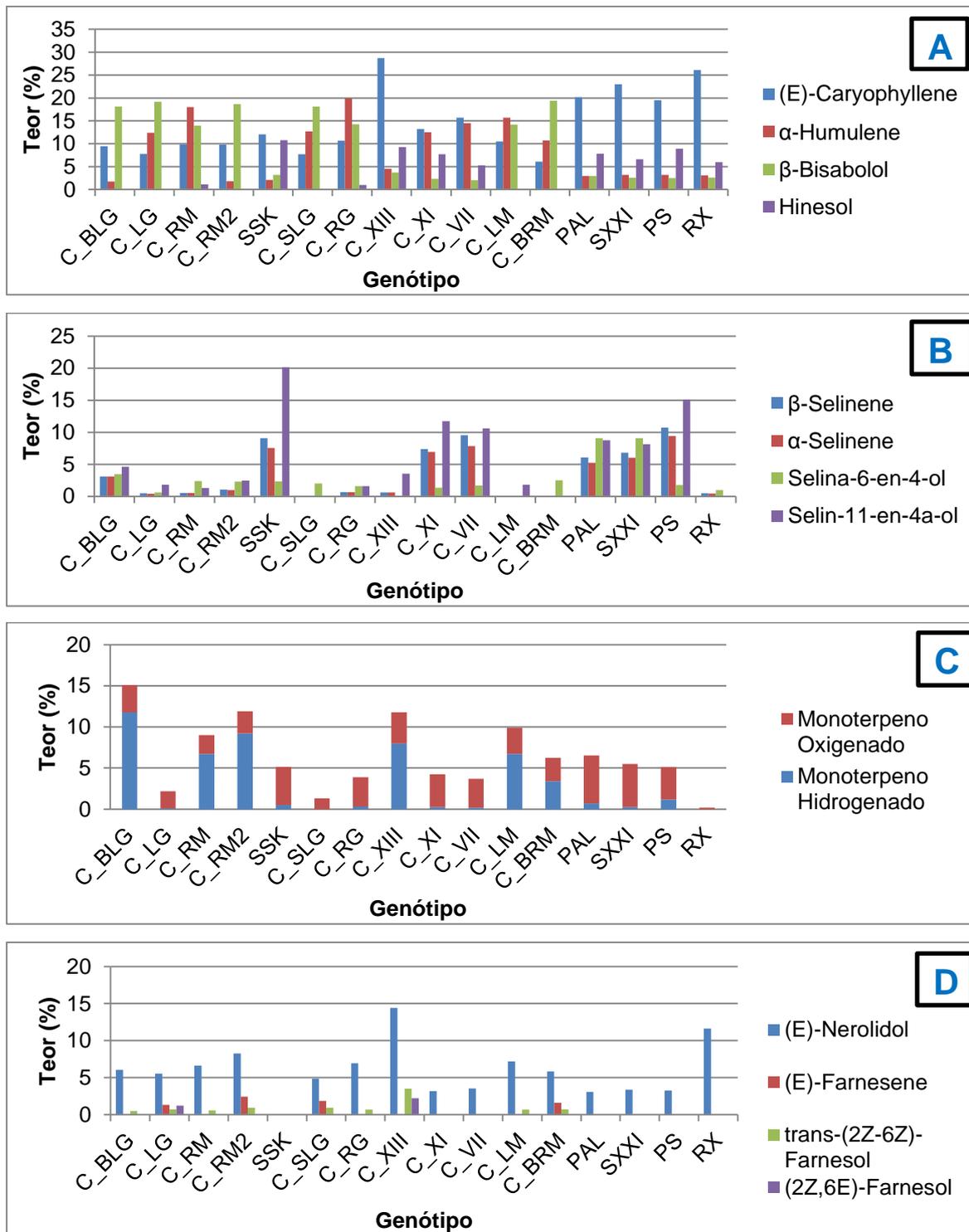
Legenda: C_ = Cortibel; PAL = Paluma PS = Pedro Sato; SXXI = Século XXI, SSK = Sassaoka, RX = Roxa. ¹ Monoterpeno Hidrogenado, ² Monoterpeno Oxigenado, ³ Sesquiterpeno Hidrogenado, ⁴ Sesquiterpeno Oxigenado. *Destaque no nome dos genótipos (cores azul, vermelho e roxo): correspondente aos grupos obtidos na Figura 01A. Teor percentual médio de seis avaliações, sendo duas realizadas por Souza et al. (2018) e quatro por Mendes et al. (2018).

Anexo 02. Anotação dos genes de terpeno sintase obtidos nos bancos de dados *Universal Protein* (UniProt), *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) e *Gene Ontology* (GO).

Gene	Banco de dados		
	Uniprot	KEGG	GO
Pg00544	Valencene sintase (EC 4.2.3.73) / 7-epi- α -selinene sintase (EC 4.2.3.86)	(S)- β -macrocarpene sintase (EC:5.5.1.17)	Terpene sintase (GO:0010333)
Pg00545	(-)-germacrene D sintase (EC 4.2.3.22; EC 4.2.3.75)	Valencene sintase / 7-epi- α -selinene sintase (EC:4.2.3.73; 4.2.3.86) / (-)-germacrene D sintase (EC:4.2.3.75)	Terpene sintase (GO:0010333)
Pg10950	-	1,8-cineol sintase / Myrcene sintase / Ocimene sintase / Isoprene sintase / (E)- β -ocimene sintase	Myrcene sintase (GO:0050551) / (R)-limonene sintase (GO:0034002) / α -farnesene sintase (GO:0052578) / (E)- β -ocimene sintase (GO:0034768) / (4S)-limonene sintase (GO:0050552) / Sabinene sintase (GO:0080015) / Pinene sintase (GO:0050550)
Pg15480	Pinene sintase	(S)- β -macrocarpene sintase (EC:5.5.1.17)	Terpene sintase (GO:0010333)
Pg16967	(3S,6E)-nerolidol sintase	-	-
Pg16969	(3S,6E)-nerolidol sintase	-	-
Pg16979	(3S,6E)-nerolidol sintase	-	-
Pg23613	Sesquiterpene sintase	(-)-germacrene D sintase (EC:4.2.3.75) / Valencene sintase / 7-epi- α -selinene sintase (EC:4.2.3.73; 4.2.3.86)	Terpene sintase (GO:0010333)
Pg25655	(-)-germacrene D sintase	Valencene sintase / 7-epi- α -selinene sintase (EC:4.2.3.73; 4.2.3.86) / (-)-germacrene D sintase (EC:4.2.3.75)	Terpene sintase (GO:0010333)
Pg42505	(-)-germacrene D sintase (EC 4.2.3.22; EC 4.2.3.75)	Valencene sintase / 7-epi- α -selinene sintase (EC:4.2.3.73; 4.2.3.86) / (-)-germacrene D sintase (EC:4.2.3.75)	Terpene sintase (GO:0010333)
Pg54796	α -farnesene sintase / (E,E)- α -farnesene sintase	α -farnesene sintase	Terpene sintase (GO:0010333)
Pg55458	(-)-germacrene D sintase (EC 4.2.3.22; EC 4.2.3.75)	Valencene sintase / 7-epi- α -selinene sintase (EC:4.2.3.73; 4.2.3.86) / (-)-germacrene D sintase (EC:4.2.3.75)	Terpene sintase (GO:0010333)

Legenda: EC 4.2.3.22: (2E,6E)-farnesyl diphosphate + H₂O = (1E,4S,5E,7R)-germacra-1(10),5-dien-11-ol + diphosphate. EC 4.2.3.75: (2E,6E)-farnesyl diphosphate = (-)-germacrene D + diphosphate. EC 4.2.3.73: (2E,6E)-farnesyl diphosphate = (+)-valencene + diphosphate. EC 4.2.3.86: (2E,6E)-farnesyl diphosphate = 7-epi- α -selinene + diphosphate. Fonte: Uniprot (<https://www.uniprot.org/>); KEGG (<https://www.genome.jp/kegg/>); GO (<http://geneontology.org/>).

Anexo 03. Teor percentual médio de compostos identificados no óleo essencial de 16 genótipos de goiabeiras: sesquiterpenos abundantes (A), compostos com o radical “selin” (B), monoterpênos oxigenados e hidrogenados (C), (E)-nerolidol e compostos com o radical “farnes”.



Fonte: De Souza et al. (2018) e Mendes et al. (2018).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir desse trabalho foram gerados importantes informações referentes às espécies do gênero *Psidium*. Quanto ao avanço dos conhecimentos obtidos, para as espécies estudadas, destaca-se a caracterização intra e interespecífica de aspectos genômicos e epigenômicos (valor 2C, %CG, %5-mC, SNPs) e sua relação com respostas fenotípicas. As evidências aqui reportadas podem estimular a formulação de novas hipóteses relacionadas ao controle de caracteres no gênero, exploração racional dos recursos genéticos e agregação de valor econômico, em especial relacionado aos óleos essenciais.