



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS - CB

ARTHUR ROBERTO MONTEIRO DA SILVA

**VARIABILIDADE DA FRAÇÃO REPETITIVA DE DNA DE *Passiflora foetida* L.
(PASSIFLORACEAE)**

RECIFE-PE

2025

ARTHUR ROBERTO MONTEIRO DA SILVA

**VARIABILIDADE DA FRAÇÃO REPETITIVA DE DNA DE *Passiflora foetida* L.
(PASSIFLORACEAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Andrea Pedrosa Harand

Coorientadora: Dr^a. Mariela Analía Sader

Recife-PE

2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Monteiro da Silva, Arthur Roberto .

Variabilidade da Fração Repetitiva de DNA de *Passiflora foetida* L.
(Passifloraceae) / Arthur Roberto Monteiro da Silva. - Recife, 2025.
87 : il., tab.

Orientador(a): Andrea Pedrosa-Harand

Coorientador(a): Mariela Analía Sader

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2025.
Inclui referências.

1. Genômica comparativa. 2. *Passiflora*. 3. Repitoma. 4. Retrotransposons. 5.
Satélite centromérico. I. Pedrosa-Harand, Andrea. (Orientação). II. Sader,
Mariela Analía. (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

ARTHUR ROBERTO MONTEIRO DA SILVA

**VARIABILIDADE DA FRAÇÃO REPETITIVA DE DNA DE *Passiflora foetida* L.
(PASSIFLORACEAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 27/02/2025

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Andrea Pedrosa-Harand (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Dra. Brena Van-Lume do Nascimento
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE



Me. Thiago Henrique do Nascimento
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Dedico este trabalho à minha mãe, por todo amor incondicional, e àqueles que, de alguma forma, contribuíram para minha jornada até aqui.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de iniciar meus agradecimentos olhando para trás e vendo o quanto cresci. Agradeço a mim mesmo por não ter desistido, apesar das incertezas do futuro e dos "e se" que me assombravam a cada decisão mal tomada, ou em cada tentativa frustrada. Dedico este agradecimento à minha criança e ao adolescente que um dia fui, e digo a eles: conseguimos. Conseguimos sair da bolha em que vivíamos, nos libertamos para novas experiências e nos tornamos quem sempre fomos. Seguimos em frente e concluímos algo que tanto desejamos. Então, obrigado por não terem desistido antes, e prometo a vocês que continuarei lutando pelo que queremos daqui para frente.

Quero agradecer aos meus pais, Maria Andreia e Roberto Monteiro, pelo amor incondicional. Apesar de tudo, no final, sempre me incentivaram a dar o meu melhor. Ao meu irmão André Roberto e minha cunhada Daphine Nascimento, principalmente pelo meu futuro(a) sobrinho(a) que está chegando. Sei que nunca fui uma pessoa fácil de lidar, mas saibam que sou grato por tudo o que fazem por mim até hoje. Aos amigos que estiveram ao meu lado na adolescência: Samuel Lucas (meu gêmeo), Mileide Caroline e Adella Myreia, por serem quem são e por sempre comemorarem comigo até as menores conquistas. Vocês merecem o mundo. E aos amigos virtuais que foram minha base na infância e adolescência. Sou grato por ter conhecido pessoas tão incríveis. Obrigado, Flávio, Davi, Victor, Renzo, Robson, Rafaella, Allan, Thomas e todos os outros.

Na graduação, muitos vieram e se foram, mas cada um deixou um pedacinho de si comigo. Mas quero agradecer especialmente àqueles que me acolheram desde o início: Albean Santiago, Bianca Coutinho, Cecília Luckwu e Nathan Gotti. No começo, talvez eu não tenha dado motivos para que continuassem falando comigo, pois fiquei calado na maior parte do tempo, mas agradeço por terem permanecido. Um agradecimento especial a Evellyn Andrade, a primeira pessoa que conheci na graduação! Obrigado por ser sempre tão gentil! Depois, o grupo foi crescendo e conheci outras pessoas incríveis: Débora Leitão, Ewelyn Kailane, Gabriel Ramos, Maria Tawana, Victor Nascimento, Yanka Lira e, por fim, Arthur Cabral, meu xará de nome e de cidade. Obrigado por fazerem parte da minha vida, por me ajudarem a suportar o peso da pandemia com os meets, e por me ajudarem a me soltar mais, e por todas as aventuras. Parte do meu crescimento foi graças a vocês, e se cheguei até aqui, foi também por causa do apoio de vocês. Obrigado por tornarem minha graduação mais leve.

Deixo aqui também meus agradecimentos a todos os outros amigos que conheci no curso e que se tornaram importantes na minha trajetória acadêmica: Aisha Ribeiro, Mayza Muniz, Joanna Silvestre, Pedro Henrique, Eduarda Silva, Gabriel Baiaca, Ana Paula

(ZefinhaLover), Juliana Silva, Jailene Kelley, Nayrton Coelho, Lucas Henrique e todos os outros que, mesmo sem terem seus nomes citados, têm um lugar especial em meu coração. Não poderia deixar de agradecer à minha terapeuta Paloma, por me ajudar a me entender, à Academia de Lutas, por sempre me ajudar a manter o equilíbrio, e a todos os membros do Quintal de Celestia, por todas as risadas e momentos compartilhados.

Não posso esquecer de agradecer ao Laboratório de Citogenética e Evolução Vegetal, que me proporcionou tantas experiências acadêmicas e pessoais. Agradeço a Andrea Pedrosa-Harand e Gustavo Souza por me aceitarem no laboratório há dois anos. Agradeço também a todos os amigos que ainda estão presentes: Júlia, Jéssica, Gustavinho, Leyley, Augusto, Brena e Yris. E àqueles que seguiram novos caminhos, mas que deixaram sua marca: Lucas, Yhanndra, Natália, Géssica, Yennifer, Acalene, Ana e agora Kaiane. Obrigado por todo apoio incondicional, paciência, ensinamentos, diversão e incentivo. Vocês foram essenciais para meu crescimento dentro do laboratório. Obrigado por me fazerem acreditar que sou capaz e por reforçarem essa crença todos os dias. Torço sempre por cada um de vocês!

Gostaria de fazer um agradecimento especial à pessoa que me deu base no laboratório e me ensinou grande parte do que sei hoje a minha mentora e amiga, obrigado, Jéssica! Assim como a Júlia e o Augusto, que estiveram comigo nos desafios da seleção para o mestrado. obrigado por me mostrarem que a loucura acadêmica é mais leve quando compartilhada.

Agradeço também à minha coorientadora Mariela Sader, por toda paciência e disponibilidade para me ajudar em tudo o que precisei. E, claro, à minha orientadora Andrea Pedrosa-Harand, meu mais sincero obrigado. Obrigado por me dar uma segunda chance quando tudo parecia incerto, por sua paciência com minhas inseguranças e por acreditar em mim, mesmo quando eu próprio não acreditava. Sua orientação não só me fez crescer academicamente, mas também pessoalmente. Você é uma das minhas maiores inspirações.

Por fim, agradeço imensamente a todos que fizeram parte da minha trajetória acadêmica: professores que acreditaram em mim quando eu não acreditava, amigos que me ajudaram a enxergar o mundo de outra forma e aqueles que permanecem ao meu lado até hoje. Sei que não sou a melhor pessoa para expressar sentimentos, mas eternizo meu carinho nestas palavras. Talvez eu não demonstre da maneira mais óbvia, talvez tenha formas peculiares de mostrar afeto, mas saibam: do fundo do meu coração, amo cada um de vocês. Obrigado por fazerem parte da minha história.

“Ut ad astra perveniamus in hac itinere”. (Honkai: Star rail, 2024)

RESUMO

O gênero *Passiflora* L. compreende cerca de 500 espécies, com maior diversidade nas regiões neotrópicas, principalmente no subgênero *Passiflora*, com ~250 espécies. *Passiflora foetida* L. foi a primeira linhagem a divergir dentro desse subgênero e apresenta número cromossômico haploide $n = 10$, diferindo das demais, que possuem $n = 9$. Dentro das espécies do subgênero, há uma abundância da fração repetitiva que é compatível ao aumento de tamanho de seus genomas. Para as espécies da seção *Dysosmia*, onde *P. foetida* está inserida, não há estudos detalhados sobre a fração repetitiva. Além disso, dentro dessa espécie, há um complexo de variedades pouco compreendido, com ampla distribuição geográfica, caracterizado principalmente por diferenças morfológicas. O objetivo deste trabalho foi caracterizar detalhadamente a fração repetitiva do genoma de *P. foetida*, e analisar de forma comparativa a organização dos *repeats* em relação as demais espécies do subgênero caracterizadas em estudos anteriores. Com o intuito de investigar a existência de variação intraespecífica na fração repetitiva de *P. foetida*, também analisamos comparativamente variedades. Os resultados demonstraram que *P. foetida* possui uma proporção de fração repetitiva condizente com o tamanho de seu genoma $1C = 440,1$ Mpb, porém com uma acentuada variação intraespecífica. Os retroelementos do tipo Ty1/copia foram os mais abundantes, assim como nas outras espécies do subgênero, porém os do tipo Ty3/gypsy representaram uma fração muito menor em relação às demais. Também foi observada similaridade com DNAs satélites de diferentes subgêneros, corroborando sua posição filogenética ancestral. As análises entre suas variedades evidenciaram grande plasticidade na composição genômica, menor que entre as espécies já descritas da seção *Dysosmia*. Além disso, novos satélites espécie-específicos foram descritos, principalmente compondo a sua região centromérica, destacando-se a identificação do primeiro satélite centromérico do gênero evidenciando eventos recentes no grupo.

Palavras-chave: Genômica comparativa; *Passiflora*; Repitoma; Retrotransposons; satélite centromérico

ABSTRACT

The genus *Passiflora* L. comprises approximately 500 species, with its greatest diversity in Neotropical regions, particularly within the subgenus *Passiflora*, which includes around 250 species. *Passiflora foetida* L. was the first lineage to diverge within this subgenus and has a haploid chromosome number of $n = 10$, differing from the others, which have $n = 9$. Within this subgenus, the repetitive fraction is abundant and correlates with the increase in genome size. However, for species of section *Dysosmia*, to which *P. foetida* belongs, detailed studies on the repetitive fraction are still lacking. Additionally, this species encompasses a poorly understood complex of varieties with a wide geographical distribution, primarily characterized by morphological differences. The objective of this study was to provide a detailed characterization of the repetitive fraction in the genome of *P. foetida* and to comparatively analyze the organization of repeats in relation to other species of the subgenus previously characterized. To investigate the existence of intraspecific variation in the repetitive fraction of *P. foetida*, we also conducted a comparative analysis among its varieties. The results showed that *P. foetida* has a repetitive fraction proportion consistent with its genome size (1C = 440.1 Mbp) but exhibits pronounced intraspecific variation. *Ty1/copia* retroelements were the most abundant, as observed in other species of the subgenus, whereas *Ty3/gypsy* elements represented a much smaller fraction. Similarity with satellite DNAs from different subgenera was also observed, supporting its ancestral phylogenetic position. Analyses among its varieties revealed significant plasticity in genomic composition, though lower than that observed among previously described species of section *Dysosmia*. Additionally, new species-specific satellites were identified, mainly in its centromeric region, highlighting the discovery of the first centromeric satellite in the genus and providing evidence of recent evolutionary events in the group.

Keywords: Comparative genomics; *Passiflora*; Repetome; Retrotransposons; Centromeric satellite

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – *Passiflora foetida* L. – a. ramo; b. estípula; c. flor; d. estrutura interna da flor; e. bráctea. **Fonte:** Modificado de Silva E.O., et al., 2013. 27
- Figura 2 – Flor, bráctea, fruto e folha de *Passiflora foetida* var *foetida* L. Acesso: APH0100; Voucher: UFP90688. Fonte: O autor..... 27
- Figura 3 – *Passiflora foetida* var. *foetida* L. na Ilha de Curaçao. Fotografia: John Vanderplank. A, folha e estípulas, × 0,7; B, brácteas, × 0,7; C, semente, × 4; D, meia flor, × 1; E, pólen, vistas polares (a) e equatorial (b), × 300. Desenhado por John Vanderplank a partir de material coletado em Curaçao. **Fonte:** Modificado de Vanderplank, 2013..... 29
- Figura 4 – *Passiflora foetida* var. *nigelliflora* Hooker em cultivo. Fotografia: John Vanderplank. A, folha e estípulas, × 0,7; B, brácteas, × 0,7; C, meia flor, × 1,4. Desenhado por John Vanderplank a partir de material coletado na natureza. **Fonte:** Modificado de Vanderplank, 2013..... 29
- Figura 5 – *Passiflora foetida* var. *oaxacana* Killip em cultivo. Fotografia: John Vanderplank. A, folha e estípulas, × 2; B, semente, × 3; C, brácteas, × 1. Desenhado por John Vanderplank a partir de material coletado na natureza. **Fonte:** Modificado de Vanderplank, 2013..... 29
- Figura 6 – *Passiflora foetida* var. *acapulcensis* Killip em cultivo. Fotografia: John Vanderplank. A, folha e estípulas, × 1,5; B, brácteas, × 0,7. Desenhado por John Vanderplank a partir de material cultivado na Coleção Nacional de *Passiflora*. **Fonte:** Modificado de Vanderplank, 2013..... 30
- Figura 7 – *Passiflora foetida* var. *ellisonii* Vanderplank em cultivo. Fotografia: John Vanderplank. A, folha e estípulas, × 0,7; B, semente, × 3; C, brácteas, × 0,7. Desenhado por John Vanderplank a partir de material coletado na natureza. **Fonte:** Modificado de Vanderplank, 2013..... 30

Figura 8 – *Passiflora foetida* var. *baraquiniana* Vanderplank em cultivo. Fotografia: Rob McPhail. A. folha e estípulas, $\times 0,7$; B. brácteas, $\times 0,7$. Desenhado por John Vanderplank a partir de material cultivado na Coleção Nacional de *Passiflora*. **Fonte:** Modificado de Vanderplank, 2013..... 30

LISTA DE ILUSTRAÇÕES - ARTIGO

Figura 1 –	Mapa da distribuição geográfica dos principais acessos utilizados para análises <i>in situ</i> de <i>P. foetida</i>	49
Figura 2 –	Mapa da distribuição geográfica dos acessos selecionados das variedades de <i>P. foetida</i>	51
Figura 3 –	Abundância de DNA repetitivo em <i>P. foetida</i>	57
Figura 4 –	<i>Dotplot</i> de <i>contigs</i> de satélites específicos de <i>P. foetida</i> , contendo repetições para PfoSat01-37, PfoSat02-31 e PfoSat03-447.....	58
Figura 5 –	Distribuição das sequências de DNAr 5S e 35S e satélites específicos (PfoSat01-27; PfoSat02-31; PfoSat03-447) em pseudocromossomos de <i>Passiflora foetida</i>	59
Figura 6 –	Distribuição das sequências de DNAr 5S e 35S e satélites compartilhados entre espécies (PquSat01-100; PquSat06-1083; PorSat04-1800) em pseudocromossomos de <i>Passiflora foetida</i>	60
Figura 7 –	Localização <i>in situ</i> dos principais satélites em <i>Passiflora foetida</i>	61
Figura 8 –	Análise comparativa da abundância de DNA repetitivo em diferentes espécies do Subgênero <i>Passiflora</i> e <i>Decaloba</i> (grupo externo).....	65
Figura 9 –	Abundâncias dos <i>clusters</i> identificados com base na análise comparativa do <i>pipeline RepeatExplorer2</i> em diferentes espécies do subgênero <i>Passiflora</i> e <i>Decaloba</i> (grupo externo).....	65
Figura 10 –	Análise comparativa da abundância de DNA repetitivo em diferentes acessos de <i>Passiflora foetida</i> indicando suas distintas variedades.....	70

Figura 11 – Distribuição geográfica dos acessos analisados <i>P. foetida</i> em relação a seu agrupamento filogenético e identificação taxonômica	71
Figura 12 – Análise filogenética da abundância de repetições com base na análise comparativa populacional do pipeline <i>RepeatExplorer2</i>	72
Figura 13 – Abundância comparativa de DNA repetitivo em diferentes espécies da seção <i>Dysosmia</i>	75
Figura 14 – Análise filogenética da abundância de repetições com base na análise comparativa entre espécies da seção <i>Dysosmia</i> do pipeline <i>RepeatExplorer2</i>	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Acessos <i>Passiflora foetida</i> , utilizados para análises <i>in situ</i> provindos de diferentes regiões do Brasil.....	49
Tabela 2 –	Acessos de diferentes acessos de <i>P. foetida</i> e suas respectivas variedades.....	50
Tabela 3 –	Acessos utilizados para análises comparativas entre espécies do subgênero <i>Passiflora</i> , assim como para comparação entre espécies da seção <i>Dysosmia</i>	51
Tabela 4 –	Número cromossômico, tamanho de genoma (Yokoto, 2011), número de sequências (leituras) amostradas automaticamente para a análise de agrupamento, cobertura resultante e proporção de leituras nos principais <i>clusters</i> correspondendo à fração repetitiva e proporção de sequências repetitivas identificadas na análise individual do <i>RepeatExplorer</i> do genoma de <i>Passiflora foetida</i>	55
Tabela 5 –	Proporção de abundância (%), tamanho dos monômeros e similaridade com banco de dados dos satélites.....	57
Tabela 6 –	Número cromossômico, (de acordo com Melo & Guerra, 2021) tamanho de genoma (Yokoto, 2011), número de sequências (leituras) amostradas automaticamente para a análise de agrupamento comparativo, cobertura resultante e proporção de leituras nos principais <i>clusters</i> correspondendo à fração repetitiva de espécies do subgênero <i>Passiflora</i> e <i>Decaloba</i> e Proporção do genoma (%) de sequências repetitivas identificadas na análise comparativa do <i>RepeatExplorer2</i>	64
Tabela 7 –	Proporção de abundância (%), dos principais satélites identificados na análise comparativa.....	66

Tabela 8 –	Número cromossômico, tamanho de genoma (de acordo com Melo; Guerra, 2021; Yokoto, 2011) para <i>P. foetida</i> , número de sequências (leituras) amostradas automaticamente para a análise de agrupamento, cobertura resultante e proporção de leituras nos principais <i>clusters</i> correspondendo à fração repetitiva para diferentes indivíduos das diferentes variedades de <i>P. foetida</i> e Proporção do genoma (%) de sequências repetitivas identificadas na análise comparativa do <i>RepeatExplorer2</i>	68
Tabela 9 –	Proporção de abundância (%), dos principais DNA satélites identificados na análise comparativa entre indivíduos de variedades de <i>P. foetida</i>	72
Tabela 10 –	Proporção do genoma (%) de sequências repetitivas identificadas na análise comparativa do <i>RepeatExplorer2</i> de três espécies da seção <i>Dysosmia</i>	76
Tabela 11 –	Proporção de abundância (%), dos principais satélites identificados na comparativa entre espécies da seção <i>Dysosmia</i>	76

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
2.1	Genoma de Plantas	19
2.1.1	Repitoma	19
2.2	Ferramentas para caracterização do DNA repetitivo	21
2.3	Variabilidade Interespecífica do DNA repetitivo	22
2.4	Citogenética	23
2.5	Ferramentas Citomoleculares	23
2.6	<i>Passiflora</i> L., subgênero <i>Passiflora</i> L.	24
2.7	<i>Passiflora foetida</i>	26
3	OBJETIVO	32
3.1	Objetivos Específicos	32
4	REFERÊNCIAS	33
5	RESULTADO	45
5.1	Artigo: Uma Espécie, Diferentes Repitomas: Plasticidade Genotípica em <i>Passiflora foetida</i> L. (Passifloraceae)	45

1. INTRODUÇÃO

As angiospermas apresentam uma grande variação no seu genoma, desde o conteúdo de DNA ao número cromossômico, além de variações estruturais e de composição de sequências (Jiao et al., 2011; Carta et al., 2020; Carta et al., 2022). Essa variação pode impactar na evolução das plantas de diversas maneiras, podendo interferir na duração do ciclo celular e de vida, na frequência de recombinação, no isolamento reprodutivo e surgimento de novas espécies, e até de novos genes através da inserção de elementos repetitivos (Bennett; Leitch, 2005; Jiao et al., 2011; Contreras et al., 2015; Bourque et al., 2018). No entanto, ainda pouco se sabe sobre o impacto das mudanças cromossômicas na evolução de linhagens específicas de plantas.

Os genomas são compostos por sequências únicas e repetitivas, sendo estas últimas consideradas abundantes na maioria dos genomas vegetais (Heslop-Harrison; Schwarzacher, 2011). As sequências únicas ou de baixo número de cópias incluem grande parte dos genes codificadores de proteínas. Já na fração repetida, encontram-se elementos transponíveis e sequências repetidas em *tandem*, como os DNAs satélites e o DNA ribossomal (DNAr), este último responsável pela síntese do RNA ribossomal (RNAr) e conseqüentemente, pela formação dos ribossomos (Richard et al., 2008). Sequências únicas e repetidas podem servir para a caracterização de cariótipos e distinção entre eles, sendo indispensáveis nos estudos de evolução cromossômica (Jiang et al., 2019).

O gênero *Passiflora* L. compreende cerca de 500 espécies, com maior concentração de diversidade nas regiões neotrópicas. A América do Sul é o centro de origem de mais de 95% das espécies do gênero, sendo o Brasil um dos principais centros de diversidade (Ferreira., 1994; Bernacci et al., 2025). O gênero apresenta importância alimentícia, medicinal e ornamental e é dividido em quatro subgêneros principais: *Astrophea*, *Deidamioides*, *Decaloba* e *Passiflora* (Ulmer; MacDougal., 2004; Cauz-Santos et al., 2020), estando no subgênero *Passiflora* a maioria das espécies de interesse econômico. Além do grande número de espécies e da grande variação morfológica observada, o gênero apresenta extensa variação cromossômica, com cada subgênero apresentando um número cromossômico básico diferente (Sader et al., 2019). Uma análise citogenética de representantes com números cromossômicos distintos pode permitir entender os principais mecanismos que moldaram a evolução cromossômica no grupo.

Estudos sobre o conteúdo de DNA também estão disponíveis para várias espécies do gênero e mostram uma variação maior que 10×, de $2C = 0,42$ pg em *P. organensis* Gardner (subgênero *Decaloba*), a $2C = 5,36$ pg para *P. quadrangularis* L. (subgênero *Passiflora*) (Souza et al, 2004; Yotoko et al, 2011). Nesse último estudo, foi observada correlação positiva entre tamanho do genoma e tamanho das flores, indicando que o tamanho do genoma pode estar

relacionado à evolução adaptativa no grupo. Sader et al. (2021), analisando a fração repetitiva de três espécies, com genomas pequeno (*P. organensis*), intermediário (*P. cincinnata* Mast.) e grande (*P. quadrangularis*), revelaram duas linhagens de retroelementos, Ty1/copia (Angela) e Ty3/gypsy (Tekay), como as principais responsáveis pela variação do tamanho do genoma no gênero. Além disso, enquanto os genomas grandes apresentavam baixa diversidade de DNAs satélite, *P. organensis* apresentou 45 famílias distintas (Sader et al., 2021).

A espécie *Passiflora foetida* L. é uma trepadeira amplamente distribuída, nativa de regiões tropicais das Américas e do Caribe, mas também naturalizada — e, em alguns casos, invasora — em diversas partes do mundo, incluindo África, Sul da Ásia, Oceania e Haváí (Zou et al., 2023). Suas flores, que variam em coloração de roxo a branco, apresentam grande diversidade morfológica, permitindo a identificação de seis variedades: *P. foetida* var. *foetida* L., var. *nigelliflora* Hooker, var. *oaxacana* Killip, var. *acapulsensis* Killip, var. *ellisonii* Vanderplank e var. *baraquiniana* (Lem.) Vanderplank (Vanderplanck, 2013). Apesar da notável plasticidade fenotípica e da diversidade varietal, poucos estudos investigaram essas variações, tratando a espécie de forma generalizada. Essa abordagem limitada compromete a compreensão de sua complexidade evolutiva, tanto no nível específico quanto dentro do grupo ao qual pertence. Em estudos com pimentas (*Capsicum annuum* L.; Moscone et al., 2007; Scaldaferro et al., 2013), quiabo (*Abelmoschus esculentus* L.; Liu et al., 2024) e quinoa (*Chenopodium quinoa* Kuntze.; Heitkam et al., 2020) por exemplo, foram reveladas variações intraespecíficas das sequências repetitivas. Apesar de estudos mais restritos a certos elementos repetitivos, não são muitos os trabalhos que mostram diferenças na fração repetitiva de maneira mais ampla entre indivíduos de uma mesma espécie, tornando estudos como esses essenciais para a compreensão do processo evolutivo e adaptativo de certas espécies.

Diante desse cenário, nosso principal objetivo foi investigar a composição e organização da fração repetitiva do genoma de *P. foetida* ($n = 10$), contribuindo para a compreensão dos mecanismos evolutivos que moldam a diversidade genômica da espécie a níveis intra- e interespecíficos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Genoma de Plantas

Os genomas vegetais nucleares variam amplamente entre espécies e outros níveis taxonômicos, tanto em número cromossômico quanto em composição e conteúdo de DNA (Bennett; Leitch, 2005; Jiao et al., 2011). Apesar da relativa constância do conteúdo de DNA dentro de espécies, há variações significativas entre grupos filogenéticos distintos (Greilhuber et al., 2006; Pellicer et al., 2010; Fernández et al., 2024). Além disso, espécies com grandes genomas não estão distribuídas de forma uniforme na árvore evolutiva, mas restritas a alguns clados específicos, como *Liliales* (monocotiledôneas), *Santalales* (eudicotiledôneas) e *Ophioglossales* (pteridófitas) (Leitch et al., 2005; Leitch et al., 2010). Esses padrões sugerem que a expansão do genoma ocorre de maneira recorrente e independente ao longo da evolução das plantas (Leitch et al., 2005; Greilhuber, 2005; Bennet; Leitch, 2011).

O tamanho do genoma das espécies não está diretamente relacionado à sua complexidade biológica, fenômeno conhecido como paradoxo do valor C (Swift, 1950). O aumento do genoma em plantas decorre, em grande parte, da amplificação de sequências não codificantes, como elementos transponíveis, que podem representar mais da metade do genoma e variam de 14% em mamão (*Carica papaya* L.) a mais de 85% no milho (*Zea mays* L.; Bennetzen, 2000; Baucom et al., 2009).

A dinâmica evolutiva dos elementos transponíveis é influenciada por fatores genômicos e ambientais, como estresses abióticos e eventos de poliploidia. Proliferações abundantes de retrotransposons já foram documentadas em espécies como milho (*Zea mays*), arroz (*Oryza sativa* L.) e algodão (*Gossypium hirsutum* L.), frequentemente associadas a expansões rápidas do genoma (Piegu et al., 2006; Hawkins et al., 2009). No entanto, mecanismos de redução genômica, como recombinação desigual, contrabalanceiam esses aumentos e promovem a perda de DNA, como observado em *Arabidopsis Heynh.* e *O. sativa* (Devos et al., 2002; Grover; Wendel, 2010). Espécies com genomas pequenos, como *Arabidopsis thaliana* L., possuem mecanismos eficientes para limitar a proliferação desses elementos, enquanto espécies com genomas grandes frequentemente apresentam baixa taxa de deleção e maior tolerância à proliferação (Bennetzen et al., 2005; Grover; Wendel, 2010).

2.1.2 Repitoma

Uma fração considerável do genoma de eucariotos, o repitoma, é composta por sequências de DNA repetitivo (Wells; Feschotte, 2020). Essas repetições surgem através de mecanismos que dão origem a cópias extras de uma sequência, que pode estar dispersa (DNA

repetitivo disperso), ou adjacentes formando blocos ao longo do genoma (sequências repetidas em *tandem*) (Treangen; Salzberg, 2012). Por muito tempo, o DNA repetitivo foi considerado como DNA “lixo” ou “egoísta”, porém, sabe-se hoje que essas sequências repetidas desempenha importante papel na composição e evolução dos genomas (Biscotti et al., 2015; Sader, 2020), como estabilidade do genoma, recombinação, modulação da cromatina e modificação da expressão gênica (Biscotti et al. 2015). Assim como a poliploidia, o aumento e diminuição no número de cópias de sequências repetitivas, contribui para a variação do tamanho do genoma em plantas, refletindo diferentes estratégias evolutivas na especiação (Albach e Greilhuber 2004; Sader et al., 2021).

A fração repetitiva do genoma é composta tanto por sequências organizadas em repetições dispersas, como elementos transponíveis, quanto por repetições em tandem, como DNAs satélites e DNA ribossomal (DNAr) responsável pela síntese de RNA ribossomal (RNAr) (Richard et al., 2008). Essas sequências, tanto únicas quanto repetitivas, são fundamentais para caracterização cariotípica e distinção entre espécies, tornando-se indispensáveis para estudos de evolução cromossômica (Jiang et al., 2019).

Os elementos transponíveis (TEs - do inglês “*transposable element*”) recebem esse nome devido a sua capacidade de se mover no genoma e se inserir de forma autônoma em distintos sítios, podendo representar até 90% do tamanho do genoma (Mehrotra; Goyal, 2014). O genoma humano, por exemplo, é formado por 45% de sequências repetidas (Lander et al. 2001), enquanto essa fração corresponde a 52% do genoma do gambá (Mikkelsen et al. 2007) ou 85% do genoma do milho (Schnable et al. 2009). Os TEs podem ser classificados de acordo com seu mecanismo de transposição em duas classes, os elementos de Classe I e de Classe II. Os elementos de Classe I (também chamados de retrotransposons) se transpõem por meio de um mecanismo de “copiar e colar” (do inglês, *copy-and-paste*). Através da transcriptase reversa, intermediários de RNA geram cópias de DNA complementares, posteriormente reintegradas no genoma. Os retrotransposons podem ser classificados em LTR (do inglês, *Long Terminal Repeat*), elementos com longas repetições terminais, e não-LTR, que incluem elementos nucleares intercalados longos e curtos (LINEs e SINEs) (Bourque et al., 2018; Wicker et al., 2018; Neumann et al., 2019).

Já os elementos de Classe II, ou transposons de DNA, são elementos que possuem em seus terminais sequências invertidas que são reconhecidas por uma enzima transposase, que é responsável pelo corte e reinserção destes elementos em outros locais do genoma (Wicker et al., 2018; Bourque et al., 2018), sendo este mecanismo de transposição conhecido como “cortar e colar” (do inglês *cut-and-paste*). Além dessas classificações, os TEs são ordenados em

superfamílias e famílias de acordo com a similaridade e organização dos seus domínios proteicos (Neumann et al., 2019). Os retrotransposons do tipo LTR, por exemplo, possuem uma estrutura bem conservada com os domínios GAG, protease (PROT), transcriptase reversa (RT), ribonuclease H (RH) e integrase (INT). A ordem desses domínios classifica os elementos LTRs nas subfamílias Ty1/copia e Ty3/gypsy (Neumann et al., 2019).

As sequências em *tandem* ou DNA satélite (DNAsat) são sequências geralmente não codificantes, abundantes e dispostas em uma conformação *head-to-tail*, ou seja, orientadas na mesma direção. São formadas por monômeros que podem variar em comprimento, composição de nucleotídeos, complexidade das sequências e abundância (Plohl et al., 2012). São consideradas sequências de rápida evolução, visto que se alteram rapidamente em número e posição de sítios (Biscotti et al., 2015; Garrido-Ramos, 2015).

Dentre os mecanismos responsáveis por essa dinâmica evolução está o *crossing over* desigual entre regiões homólogas, um dos mecanismos que podem levar à expansão ou redução dos arranjos de sequências, por promover a transferência não recíproca de segmentos de DNA por meio da recombinação (Plohl et al., 2012). Esse processo está diretamente relacionado à evolução em concerto, fenômeno no qual a fixação de uma variante da sequência na população ocorre por meio da recombinação na meiose e da segregação cromossômica (Plohl et al., 2012; Louzada et al., 2020). Como resultado, surgem padrões variados de famílias de DNA repetitivo, o que gera diversidade dentro e entre espécies distintas (Feliner; Rosselló, 2012; Plohl et al., 2012; Sader, 2020; Louzada et al., 2020). Assim, espécies distintas podem apresentar famílias de DNA satélites diferentes, embora, em alguns casos, esses satélites sejam compartilhados entre espécies relacionadas. Esse último caso ocorre, por exemplo, em *Phaseolus L.*, em que diferentes famílias de satélites, como o satélite *hipu* e o satélite *junper* compõem as regiões subteloômicas e pericentroméricas de algumas espécies analisadas deste gênero (Ribeiro et al., 2017a).

Assim, a evolução do tamanho do genoma reflete um equilíbrio entre proliferação e eliminação de elementos repetitivos. Essa variação no tamanho e na composição dos genomas tem profundas implicações na sistemática, ecologia e no melhoramento genético, tornando essencial a compreensão dos fatores que regulam a dinâmica da fração repetitiva e sua influência na evolução das plantas (Bennett; Leitch, 2005).

2.2 Ferramentas Para Caracterização Do DNA Repetitivo

O estudo do DNA repetitivo progrediu significativamente desde a introdução das tecnologias de sequenciamento de nova geração (NGS) (Margulies et al., 2005) associadas a

novas e aprimoradas análises bioinformáticas. Por exemplo, o procedimento de agrupamento de leituras de sequência do genoma com base na similaridade foi aprimorado pelo emprego de métodos baseados em grafos (Novák et al., 2010), o que permitiu não apenas a montagem mais rápida de genomas plastidiais, mitocondriais e nucleares, mas também facilitou a caracterização de sequências repetitivas, como elementos transponíveis e DNAs satélites (Buermans; Den Dunnen, 2014). Esta abordagem tem sido eficiente na identificação e caracterização de elementos repetidos em diversos organismos (Aversano et al., 2015; Gaiero et al., 2019; Van-Lume et al., 2019; Ferretti et al., 2020; McCann et al., 2020; Ribeiro et al., 2020; Sader et al., 2021).

A plataforma online *RepeatExplorer2* (<http://www.repeatexplorer.org/>) utiliza o princípio de agrupamento por similaridade para realizar a caracterização dos *repeats* por meio de uma comparação par-a-par de todas as leituras (*reads*) disponíveis geradas no sequenciamento (*all-to-all pairwise*). Essa análise pode ser feita de forma comparativa entre diferentes indivíduos da mesma espécie ou em espécies diferentes (Novák et al., 2010; Novák et al., 2013). A abundância e similaridade de *clusters* de *repeats* podem ter um sinal filogenético em nível de gênero e família, podendo ser, inclusive, mais informativa que sequências tradicionalmente utilizadas por sequenciamento tipo Sanger (Dodsworth et al., 2015a; 2015b; 2016; 2017; 2018).

Outras ferramentas apropriadas para a análise de dados de DNAs repetitivos incluem o DensityMap (Guizard et al., 2016) e o shinyCircos (Yu et al., 2018), ambos pacotes vinculados ao RStudio/Linux. O DensityMap pode ser utilizado para delimitar sequências repetitivas e suas respectivas densidades ao longo dos cromossomos, enquanto o shinyCircos permite a montagem de gráficos ilustrativos. Essas metodologias estão entre as mais eficientes para visualizar a composição genômica (Yu et al., 2018) e têm se mostrado eficazes na identificação e caracterização de elementos repetitivos em diversos organismos (Campa et al., 2020; De Assis et al., 2023; Wang et al., 2024).

2.3 Variabilidade Intraespecífica do DNA Repetitivo

Análises referentes à existência de variabilidade da fração repetitiva ainda tem sido pouco observada entre diferentes acessos de uma mesma espécie. As abordagens mais comuns encontradas em trabalhos focam em apenas um tipo específico de DNA repetitivo, em geral, com o DNAsat. Estudos com acessos de quiabo (*Abelmoschus esculentus* L.), demonstraram variações em relação ao número de cópias entre os cromossomos (Liu et al., 2024). Outro estudo em quinoa (*Chenopodium quinoa* Kuntze.), que várias subfamílias de DNAsat se tornaram

subgenoma-específicas e exibiram padrões de abundância genômica variados (Heitkam et al., 2020).

Em pimentas (*Capsicum annuum* L.) foi evidenciada relação entre variabilidade do DNA repetitivo e diferenças cariotípicas entre seus citótipos, incluindo o número e tipo de cromossomos (metacêntricos, submetacêntricos e telocêntricos) e padrões de heterocromatina, entre variedades de uma espécie e diferentes acessos de uma mesma variedade (Moscone et al., 2007; Scaldaferrro et al., 2013). Esse comportamento pode demonstrar como as pressões evolutivas e os processos de adaptação podem moldar de maneira distinta os elementos repetitivos em diferentes contextos genômicos (Oliver et al., 2013; Ricc et al., 2018).

2.4 Citogenética

A citogenética compreende o estudo dos cromossomos, isolados ou em conjunto, distendidos ou condensados, tanto no que se refere à sua morfologia, função, organização e replicação, como a sua variação e evolução (Guerra, 1988; Silva, 2018). Os cromossomos são as unidades herdáveis dentro do núcleo das células eucarióticas, e cada um deles é composto por uma única molécula de DNA linear e de dupla fita que corresponde geneticamente a um grupo de ligação (Lewin, 2007). Estas moléculas permitem a acumulação de DNA (geralmente redundante), o que pode ocasionar a alta diversificação tanto qualitativa, quanto quantitativa, observada nos cromossomos de eucariotos (Sader, 2020).

O conjunto cromossômico de uma espécie (cariótipo) pode ser caracterizado quanto ao número e morfologia dos cromossomos (metacêntricos, submetacêntricos e acrocêntricos); número de bandas heterocromáticas; e com a utilização de sondas de sequências de DNA através da técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH) (Guerra, 2008). Além disso, a partir do estudo dos cariótipos de espécies relacionadas, é possível observar variações tanto interespecíficas, quanto intraespecíficas que podem ser características de determinado gênero ou espécie (Souza et al., 2008). Dessa forma, os estudos citogenéticos podem contribuir significativamente para diversas áreas, tais como a genética, evolução, sistemática e até mesmo melhoramento de plantas.

2.5 Ferramentas Citomoleculares

Uma das técnicas de coloração mais utilizadas para a caracterização cromossômica em plantas é o bandeamento com os fluorocromos cromomicina A3 (CMA) e 4', 6-diamidino- 2-fenilindol (DAPI). Esses fluorocromos marcam as regiões mais ricas em GC e AT, respectivamente, e o bandeamento com tais fluorocromos é empregado para análise da

heterocromatina cromossômica (Guerra, 2000), sendo útil tanto para investigar sua distribuição e padrões encontrados entre espécies relacionadas, quanto entre espécies de diferentes gêneros (Cordeiro et al, 2017).

O desenvolvimento de técnicas como a de hibridização *in situ* fluorescente (FISH) marca a transição da citogenética clássica para a citogenética molecular. A técnica tornou possível visualizar sequências de DNA nos cromossomos através de sondas fluorescentes. Essas sondas consistem principalmente em um segmento complementar de DNA ou RNA selecionado, isolado, amplificado e marcado, que é hibridizado nas células de interesse. Elas podem ser marcadas de forma direta ou indiretamente com fluoróforos de diferentes comprimentos de onda, como o isotiocianato de fluoresceína (FITC) ou Cy3, permitindo assim, a sua visualização por microscópios de fluorescência (Guerra, 2004).

As sequências mais utilizadas na FISH são os DNAs ribossomais, 5S e 35S, pois essas sequências repetitivas são dispostas em *tandem*, ou seja, formando blocos os quais podem ser facilmente detectados pela técnica (Guerra, 2004). Além disso, as sequências dos DNAr 35S e 5S são altamente conservadas, podendo ser detectadas com sondas heterólogas em análises comparativas entre táxons. O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), por exemplo, apresenta um acúmulo de números de sítios de DNAr 35S nas linhagens dos Andes em relação às linhagens mesoamericanas (Pedrosa-Harand et al., 2006).

Dentre diversas outras abordagens que podem ser feitas com a técnica, a distribuição de sítios de DNA ribossomal ou outros DNAsat é uma das mais usadas, seja para analisar a variabilidade desses sítios entre espécies relacionadas (Souza et al., 2008), sua relação com regiões heterocromáticas (Cabral et al., 2006) ou para investigar o número cromossômico básico de um gênero (Melo, 2003). Além disso, auxiliam em uma das mais importantes aplicações da FISH: a construção de mapas citogenéticos (Fonsêca et al., 2010; Silva et al, 2011; Van-Lume et al., 2019; Ramos et al., 2023; Mata-Sucre et al., 2024; Nascimento et al., 2025).

2.6 *Passiflora* Subgênero *Passiflora* L.

O gênero *Passiflora* L. é o maior gênero da família, e engloba ~500 espécies, distribuídas especialmente nos Neotrópicos (Ulmer; MacDougal, 2004). A América do Sul é o centro de origem de mais de 95% das espécies do gênero, sendo o Brasil um dos principais centros de diversidade do grupo (Bernacci, 2025).

Sua ampla variação morfológica pode ser resultado de seu habitat diverso, assim como suas relações coevolutivas com muitos organismos, incluindo uma ampla variedade de

polinizadores, como pequenos e grandes insetos, pássaros e morcegos (Ocampo; Coppens, 2017). Devido a essa grande variação de caracteres florais e vegetativos, o gênero foi tradicionalmente dividido em 22 subgêneros (Killip, 1938), mais recentemente reorganizados em quatro subgêneros principais: *Astrophea*, *Deidamioides*, *Decaloba* e *Passiflora* (Ulmer & MacDougal, 2004).

O subgênero *Passiflora* inclui 250 espécies que exibem grandes flores com múltiplas séries de filamentos coronais. É o mais diversificado grupo dentro da América do Sul e é o maior e mais conhecido dos subgêneros, em parte pela importância econômica de algumas de suas espécies, como o maracujá azedo ou amarelo (*P. edulis* Sims) ou o maracujá doce (*P. alata* Curtis) (Ulmer; MacDougal, 2004). Muitas de suas espécies selvagens possuem frutos comestíveis e são plantadas na América Latina, mas não são amplamente exploradas comercialmente, sendo um exemplo o maracujá da caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast), da qual recentemente foi lançada uma cultivar BRS Sertão Forte com fins agronômicos (Biasoto et al., 2021). A seção *Dysosmia* DC. é um pequeno grupo de 21 espécies intimamente relacionadas dentro do subgênero *Passiflora*, que possui relações ainda muito incertas entre elas, já que muitas de suas espécies, antes eram consideradas como parte de *P. foetida*, e ainda pouco exploradas (Vanderplanck 2013).

Cruzamentos interespecíficos também são realizados como uma alternativa para a introdução de genes selvagens para as espécies cultivadas (Vanderplank, 1991). Alguns híbridos sexuais podem ser obtidos com o objetivo de aumentar o valor ornamental das plantas (Vanderplank, 1991), tolerar baixas temperaturas (Knight, 1991) ou melhorar as características agronômicas (Ruberté-Torres; Martin, 1974; Knight, 1991). Híbridos somáticos também podem ser produzidos para obter plantas resistentes a doenças ou baixas temperaturas (Dornelas et al., 1995; Otoni et al., 1995; Barbosa; Vieira, 1997).

Do ponto de vista citogenético, o subgênero *Passiflora* apresenta o número cromossômico básico $x = 9$ (Melo; Guerra, 2001; Hansen et al., 2006; Sader et al., 2019), com exceção de *P. foetida* L. ($n = 10$). Em estudos filogenéticos, *P. foetida* é a primeira linhagem a divergir e aparece como irmã das demais espécies do subgênero (Krosnick et al., 2013; Cauz-Santos et al., 2020; Cauz-Santos et al., 2025). Considerando o ancestral do gênero como tendo $x = 12$ (Melo; Guerra, 2021), é possível que o $n = 10$ seja um número intermediário em uma série de dispoloidia descendente até o $n = 9$ e o real número ancestral do subgênero.

Em relação às bandas heterocromáticas e DNAr no subgênero, todas as espécies analisadas até o momento apresentaram os sítios de DNAr, tanto 35S quanto 5S terminais ou subteloéricos (Coelho et al., 2016; Dias et al., 2020). A exceção é *P. foetida*, que apresenta

sítios subteloméricos de 5S, mas pericentroméricos para 35S (Melo; Guerra, 2003; Parisi, 2022), sugerindo alterações cromossômicas estruturais ou mudança nas posições dos sítios. Os tamanhos de genoma variam entre os subgêneros, sendo menores em *Decaloba* (0,207Mpb para *P. organensis* Rose) e maiores em *Passiflora* (2,68Mpb para *P. quadrangularis* L.), com *P. foetida* apresentando o menor tamanho dentro do subgênero (Yotoko et al. 2011). Sendo assim, novamente *P. foetida* aparenta caracter intermediário, corroborando sua posição filogenética ancestral.

Referente à fração repetitiva caracterizada dentro do grupo, estudos recentes descrevem a fração repetitiva do genoma de *P. edulis* (Araya et al., 2017; Costa et al., 2019; Pamponét et al., 2019), bem como para, *P. cincinnata*, *P. quadrangularis* (subgênero *Passiflora*) e *P. organensis* (subgênero *Decaloba*). Os genomas de *Passiflora* apresentam variações significativas na fração repetitiva, refletindo diferenças na composição e expansão de elementos transponíveis (TEs). A proporção de TEs no genoma varia entre as espécies, sendo maior em *P. edulis* (86,3%) (Ma et al., 2021) e menor em *P. organensis* (28%) (Sader et al., 2021). As superfamílias Ty3/gypsy e Ty1/copia mostram padrões distintos: *P. quadrangularis* e *P. edulis* possuem maior abundância de Ty3/gypsy, representando 35% e 33,33% do genoma, respectivamente (Sader et al., 2021). Já *P. cincinnata* é dominada por Ty1/copia, que corresponde a 35,7% do genoma, com destaque para a linhagem Angela (Sader et al., 2021). Em *P. organensis*, a linhagem Tekay (Ty3/gypsy) predomina, sem a presença de Angela (Sader et al., 2021). Essas diferenças sugerem expansões independentes dessas famílias de TEs, influenciando o tamanho genômico e fornecendo pistas sobre a evolução e relações filogenéticas dentro do gênero.

2.7 *Passiflora foetida* L.

Passiflora foetida é uma espécie trepadeira, amplamente distribuída, nativa de regiões mais quentes das Américas e do Caribe (Figs. 1, 2). No entanto, também se tornou naturalizada (e em alguns casos invasora) em várias partes do mundo, incluindo África, Sul da Ásia e Havaí (Zou et al., 2023). Tem raízes lenhosas, caule sólido, gavinhas e folhas que variam no tamanho e forma, carregando tricomas em toda a extensão da planta, os quais secretam um líquido com cheiro específico, dando a fama da espécie de maracujá fedorento.

Ao contrário de outras espécies do gênero, *P. foetida* possui brácteas persistentes que circundam as flores e permanecem durante a frutificação. Essas brácteas produzem tricomas pegajosos que produzem enzimas digestivas e, portanto, essa espécie é considerada uma planta protocarnívora (Radhamani et al., 1995; Zou et al., 2023). Como o epíteto sugere, *P. foetida*

emite um forte odor quando as folhas são manuseadas. Apesar disso, os frutos são comestíveis, e a planta tem sido usada na medicina tradicional (Patil; Paikrao, 2012). Essa espécie tem sido considerada uma planta de potencial nutracêutico (Song et al., 2018), farmacológico (Chiavaroli et al., 2020), além de potencial antifúngico (Elangovan et al., 2022), e seus genes têm potencial para introgressão em plantas comerciais (Vijay et al., 2021).

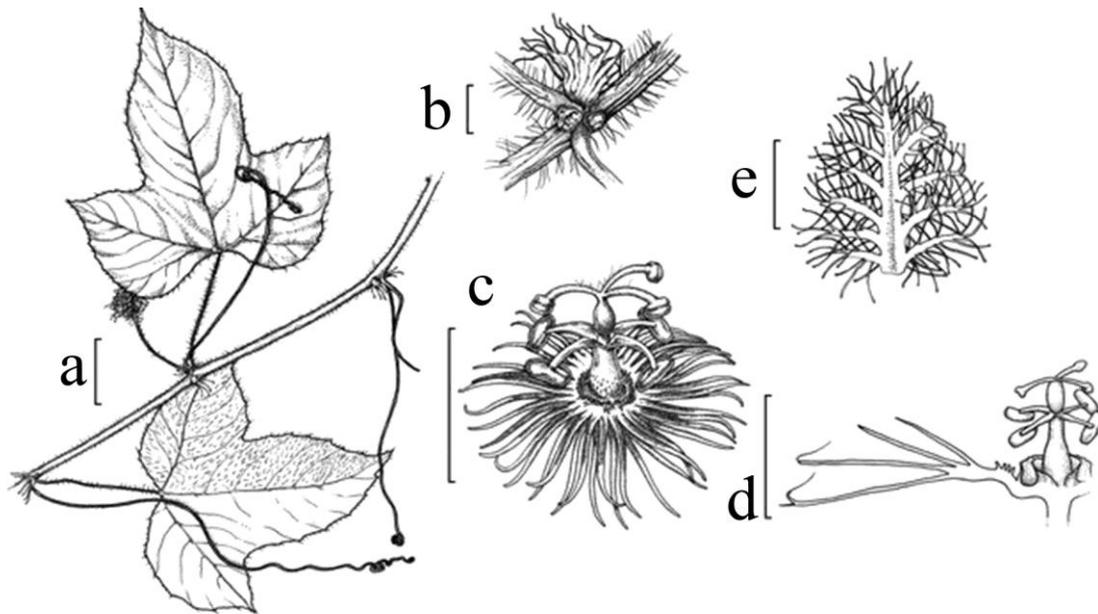


Figura 1. *Passiflora foetida* L. – a. ramo; b. estípula; c. flor; d. estrutura interna da flor; e. bráctea. **Fonte:** Modificado de Silva E.O., et al., 2013.



Figura 2. Flor, bráctea, fruto e folha de *Passiflora foetida* var *foetida* L. Acesso: APH0100; Voucher: UFP90688. **Fonte:** o autor.

Suas flores coloridas variam de roxas à brancas e apresentam uma grande diversidade morfológica, sendo atualmente aceitas seis variedades: *P. foetida* var. *foetida* L., var. *nigelliflora* Hooker, var. *oaxacana* Killip, var. *acapulsensis* Killip, var. *ellisonii* Vanderplank e var. *baraquiniana* Vanderplank (Vanderplanck, 2013).

As variedades de *P. foetida* apresentam semelhanças em sua morfologia geral, como o hábito trepador, caule piloso, presença de estípulas glandulares e folhas trilobadas. Todas possuem flores com pétalas e sépalas lanceoladas, variando de 4 a 7 cm de diâmetro, além de frutos ovoides ou globosos com sementes comprimidas e reticuladas. No entanto, há diferenças entre as variedades em aspectos específicos de morfologia floral, distribuição geográfica e adaptação ambiental (Vanderplanck, 2013).

A nível comparativo, *P. foetida* var. *foetida* L. (Figura 3) é amplamente distribuída e apresenta alta plasticidade fenotípica, com folhas de 3 a 8 cm e flores que variam em cor e tamanho de acordo com as condições ambientais (Vanderplanck, 2013). Em contraste, var. *nigelliflora* (Figura 4), encontrada na América do Sul subtropical, exibe flores maiores (até 7 cm de diâmetro) e sépalas reflexas, além de folhas mais serrilhadas (Vanderplanck, 2013). A var. *oaxacana* (Figura 5), restrita a Oaxaca, México, apresenta folhas pequenas (2,5–5,5 cm) e flores brancas com antese antes das 9 h, diferenciando-se da var. *acapulcensis* (Figura 6), que possui folhas densamente velutinas e flores menores (2–3,5 cm), ocorrendo exclusivamente em Guerrero, México (Vanderplanck, 2013). Ambas compartilham características morfológicas com var. *foetida*, mas mostram adaptações locais que justificam sua distinção taxonômica (Vanderplanck, 2013).

A *P. foetida* var. *ellisonii* (Figura 7), amplamente distribuída nas regiões tropicais, é notável por sua capacidade de rápido crescimento e adaptação a condições adversas, com folhas maiores (5–19 cm) e flores lilases, destacando-se pela tolerância ao sal e rápido ciclo de vida (Vanderplanck, 2013). Por fim, var. *baraquiniana* (Figura 8), encontrada no Brasil e noroeste da Argentina, distingue-se pelas flores azul e branca com filamentos coroados bicolors e antese pós-meridiana. As distinções entre as variedades refletem suas adaptações a diferentes habitats e condições climáticas, além de variações morfológicas sutis, como o tamanho das folhas, a coloração floral e o horário de antese (Vanderplanck, 2013). Essas diferenças, associadas às amplas semelhanças estruturais, ressaltam a complexidade evolutiva dentro do grupo.

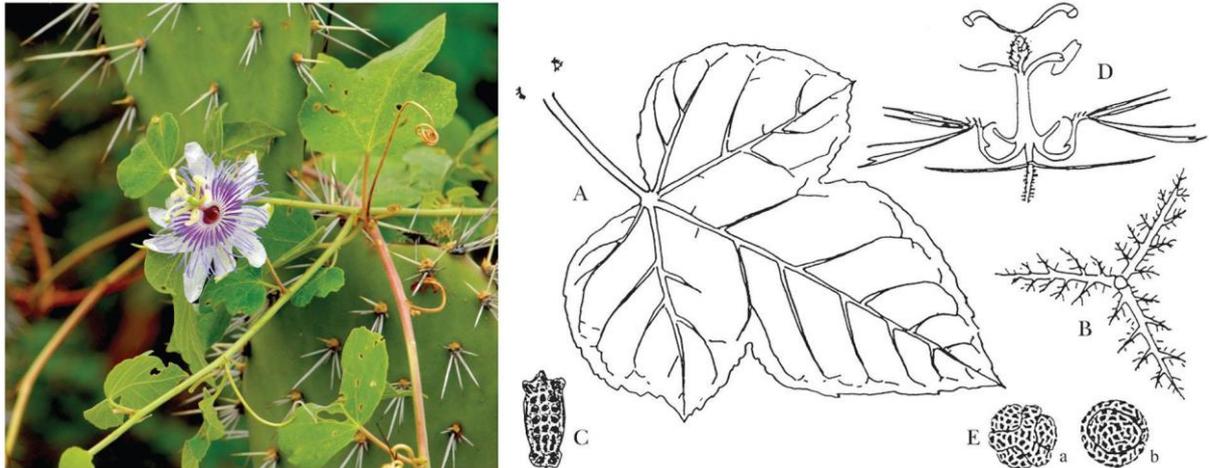


Figura 3. *Passiflora foetida* var. *foetida* L. na Ilha de Curaçao. Fotografia: John Vanderplank. A, folha e estípulas, $\times 0,7$; B, brácteas, $\times 0,7$; C, semente, $\times 4$; D, meia flor, $\times 1$; E, pólen, vistas polares (a) e equatorial (b), $\times 300$. Desenhado por John Vanderplank a partir de material coletado em Curaçao. **Fonte:** Modificado de Vanderplank, 2013.

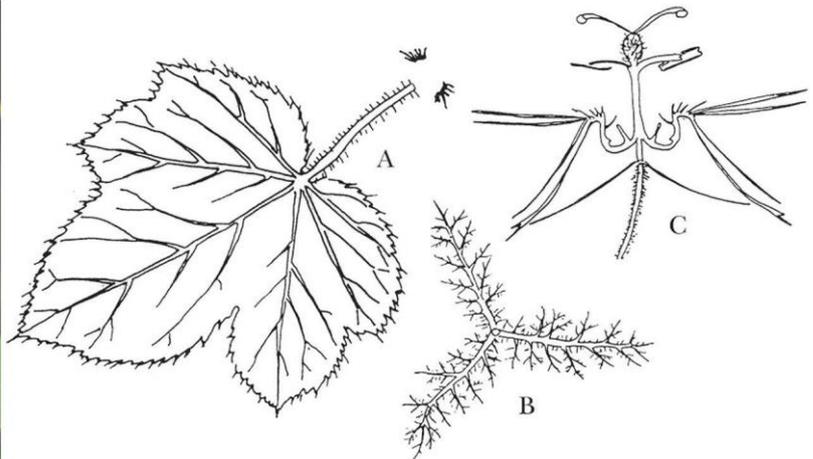


Figura 4. *Passiflora foetida* var. *nigelliflora* Hooker em cultivo. Fotografia: John Vanderplank. A, folha e estípulas, $\times 0,7$; B, brácteas, $\times 0,7$; C, meia flor, $\times 1,4$. Desenhado por John Vanderplank a partir de material coletado na natureza. **Fonte:** Modificado de Vanderplank, 2013.

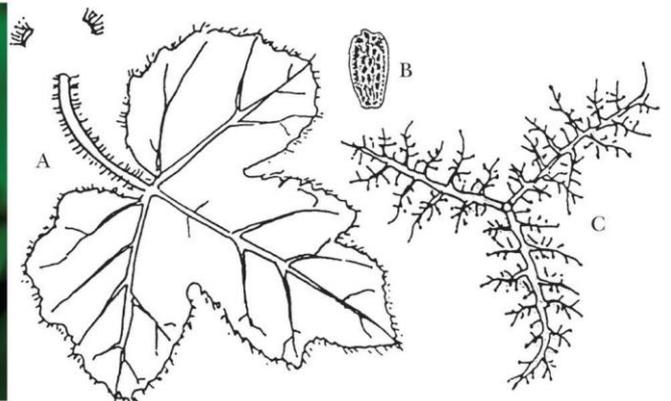


Figura 5. *Passiflora foetida* var. *oaxacana* Killip em cultivo. Fotografia: John Vanderplank. A, folha e estípulas,

× 2; B, semente, × 3; C, brácteas, × 1. Desenhado por John Vanderplank a partir de material coletado na natureza.
Fonte: Modificado de Vanderplank, 2013.

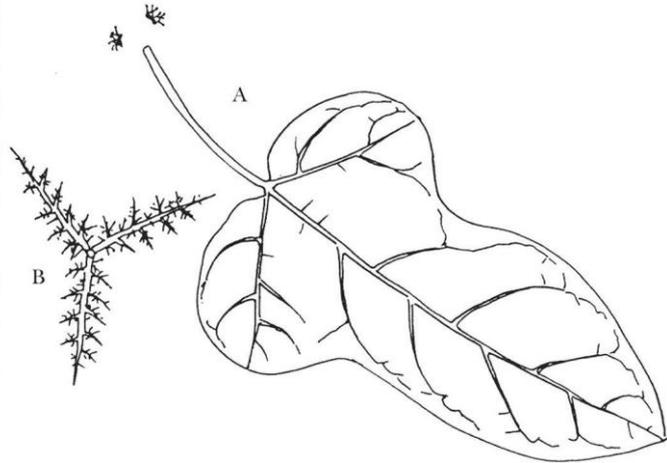


Figura 6. *Passiflora foetida* var. *acapulcensis* Killip em cultivo. Fotografia: John Vanderplank. A, folha e estípulas, × 1,5; B, brácteas, × 0,7. Desenhado por John Vanderplank a partir de material cultivado na Coleção Nacional de *Passiflora*. **Fonte:** Modificado de Vanderplank, 2013.

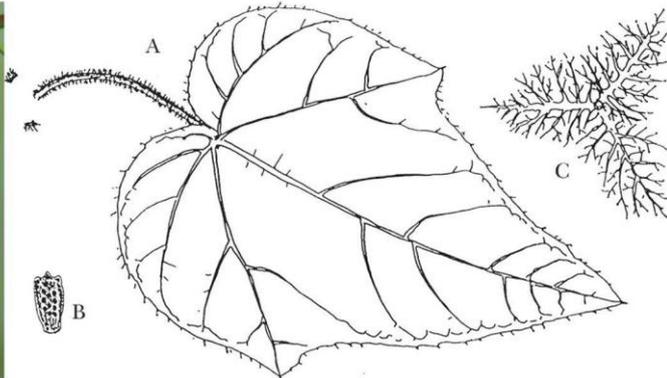


Figura 7. *Passiflora foetida* var. *ellisonii* Vanderplank em cultivo. Fotografia: John Vanderplank. A, folha e estípulas, × 0,7; B, semente, × 3; C, brácteas, × 0,7. Desenhado por John Vanderplank a partir de material coletado na natureza. **Fonte:** Modificado de Vanderplank, 2013.

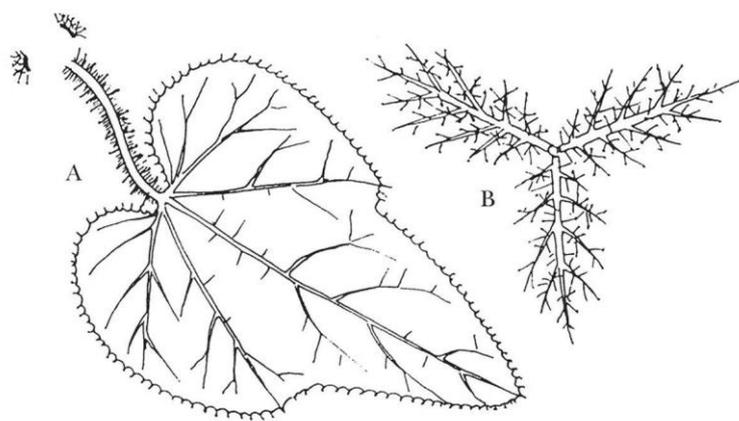


Figura 8. *Passiflora foetida* var. *baraquiniana* Vanderplank em cultivo. Fotografia: Rob McPhail. A, folha e

estípulas, $\times 0,7$; B. brácteas, $\times 0,7$. Desenhado por John Vanderplank a partir de material cultivado na Coleção Nacional de *Passiflora*. **Fonte:** Modificado de Vanderplank, 2013.

Apesar dessa grande variedade e plasticidade fenotípica entre as variedades, ainda existem poucos estudos que as diferenciem, optando pela utilização apenas a nível de espécie. Esse fato dificulta a compreensão da sua complexidade evolutiva, tanto para espécie em si, quanto para o grupo a que pertence. Com os avanços da NGS, indivíduos de diferentes acessos amplamente distribuídos de *P. foetida* foram sequenciados para realização de estudos filogenéticos baseados em dados plastidiais. O objetivo foi a compreensão do histórico de introdução da espécie *P. foetida sensu lato* na Austrália e esclarecer sua relação com outras espécies de *Passiflora* presentes (Hopley, et al., 2021). Além disso, recentemente a espécie teve seu genoma completo montado em escala cromossômica, onde foi descrita a abundância de Ty1/copia, e escassez de Ty3/gypsy (Zou et al., 2023). Esses conjuntos de dados abrem novas oportunidades para explorar a composição do cariótipo usando ferramentas de citogenômicas, incluindo uma análise detalhada da porção repetitiva do genoma da espécie e do ponto de vista intraespecífico, levando em consideração a identificação e ocorrência de suas variedades.

3. OBJETIVO

Caracterizar a fração repetitiva do genoma de variedades de *Passiflora foetida* ($n = 10$) de forma comparativa com outras espécies do subgênero *Passiflora* ($n = 9$), a fim de melhor compreender o papel das sequências repetitivas na evolução do grupo.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar de forma detalhada a fração repetitiva de *P. foetida*;
- Comparar a composição da fração repetitiva de variedades de *P. foetida* (15 acessos);
- Comparar a composição da fração repetitiva entre *P. foetida* e outras espécies da seção *Dysosmia* e do subgênero *Passiflora*, ainda não caracterizadas;
- Investigar a distribuição cromossômica das principais sequências repetitivas em diferentes acessos de *P. foetida*.

4. REFERÊNCIAS

- ALBACH, D. C.; GREILHUBER, J. Genome size variation and evolution in *Veronica*. **Annals of Botany**, v. 94, n. 6, p. 897–911, 2004.
- ARAYA, S. et al. Microsatellite marker development by partial sequencing of the sour passion fruit genome (*Passiflora edulis* Sims). **BMC Genomics**, v. 18, n. 1, 2017.
- AVERSANO, R. et al. The *Solanum commersonii* genome sequence provides insights into adaptation to stress conditions and genome evolution of wild potato relatives. **The Plant Cell**, v. 27, n. 4, p. 954–968, 2015.
- BARBOSA, L. V.; VIEIRA, M. L. Meiotic behavior of passion fruit somatic hybrids, *Passiflora edulis* f. flavicarpa Degener+ *P. amethystina* Mikan. **Euphytica**, v. 98, p. 121–127, 1997.
- BAUCOM, R. S. et al. Exceptional diversity, non-random distribution, and rapid evolution of retroelements in the B73 maize genome. **PLoS Genetics**, v. 5, n. 11, p. e1000732, 2009.
- BENNETT, M. D.; LEITCH, I. J. Nuclear DNA amounts in angiosperms: targets, trends and tomorrow. **Annals of Botany**, v. 107, n. 3, p. 467–590, 2011.
- BENNETT, M. D.; LEITCH, I. J. Genome size evolution in plants. In: Gregory, R. T. (ed) **The Evolution of the Genome**. Elsevier Academic Press, Burlington, p. 90-162, 2005.
- BENNETZEN, J. L. Transposable element contributions to plant gene and genome evolution. Em: **Plant Molecular Evolution**. Dordrecht: Springer Netherlands, p. 251–269, 2000.
- BENNETZEN, J. L.; MA, J.; DEVOS, K. M. Mechanisms of recent genome size variation in flowering plants. **Annals of Botany**, v. 95, n. 1, p. 127–132, 2005.
- BERNACCI, L.C.; NUNES, T.S.; MEZZONATO, A.C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A.; D.C. IMIG; CERVI, A.C. (in memoriam) *Passiflora in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2025.
- BIASOTO, A., ROCHA, C., CAMPECHE, D., Bianchini, F., Kiill, L. H. P., FERREIRA, R., ... & RODRIGO CESAR FLORES FERREIRA, S. I. N. BRS Sertão Forte: maracujá-da-caatinga como um novo nicho de mercado. **Embrapa**, 2021.

- BISCOTTI, M. A.; OLMO, E.; HESLOP-HARRISON, J. S. P. Repetitive DNA in eukaryotic genomes. **Chromosome Research**, v. 23, n. 3, p. 415–420, 2015.
- BOURQUE, G. et al. Ten things you should know about transposable elements. **Genome Biology**, v. 19, n. 1, p. 199, 2018.
- BUERMANS, H. P. J.; DEN DUNNEN, J. T. Next generation sequencing technology: Advances and applications. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1842, n. 10, p. 1932–1941, 2014.
- CABRAL, J. S.; FELIX, L. P.; GUERRA, M. Heterochromatin diversity and its colocalization with 5S and 45S rDNA sites in chromosomes of four *Maxillaria* species (Orchidaceae). **Genetics and Molecular Biology**, p. 659–664, 2006.
- CAMPA, A.; GARCÍA-FERNÁNDEZ, C.; FERREIRA, J. J. Genome-wide association study (GWAS) for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in common bean. **Genes**, v. 11, n. 12, p. 1496, 2020.
- CARTA, A. et al. Correlated evolution of seed mass and genome size varies among life forms in flowering plants. **Seed Science Research**, v. 32, n. 1, p. 46-52, 2022.
- CARTA, A.; BEDINI, G.; PERUZZI, L. A deep dive into the ancestral chromosome number and genome size of flowering plants. **New Phytologist**, v. 228, n. 3, p. 1097-1106, 2020.
- CAUZ-SANTOS, L. A. et al. A repertory of rearrangements and the loss of an inverted repeat region in *Passiflora* chloroplast genomes. **Genome Biology and Evolution**, v. 12, n. 10, p. 1841–1857, 2020.
- CAUZ-SANTOS, L. A. et al. Chloroplast genomic insights into adaptive evolution and rapid radiation in the genus *Passiflora* (Passifloraceae). **BMC Plant Biology**, v. 25, n. 1, p. 192, 2025.
- CHIAVAROLI, A. et al. Pharmacological properties and chemical profiles of *Passiflora foetida* L. extracts: Novel insights for pharmaceuticals and nutraceuticals. **Processes**, v. 8, n. 9, p. 1034, 2020.
- COELHO, M.; DO, S. Cytogenetic characterization of the *Passiflora edulis* Sims × *Passiflora cincinnata* Mast. Interspecific hybrid and its parents. **Euphytica**, v. 210, p. 93–104, 2016.

- CONTRERAS, B. et al. The impact of transposable elements in the evolution of plant genomes: From selfish elements to key players. Em: **Evolutionary Biology: Biodiversification from Genotype to Phenotype**. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 93–105.
- CORDEIRO, J. M. P. et al. Karyotype analysis in Bignoniaceae (Bignoniaceae): chromosome numbers and heterochromatin. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 89, n. 4, p. 2697–2706, 2017.
- COSTA, Z. Transposable element discovery and characterization of LTR-retrotransposon evolutionary lineages in the tropical fruit species *Passiflora edulis*. **Molecular Biology Reports**, v. 46, p. 6117–6133, 2019.
- DE ASSIS, R. et al. Abundance of distal repetitive DNA sequences in *Capsicum* L. (Solanaceae) chromosomes. **Genome**, v. 66, n. 10, p. 269–280, 2023.
- DEVOS, K. M.; BROWN, J. K. M.; BENNETZEN, J. L. Genome size reduction through illegitimate recombination counteracts genome expansion in *Arabidopsis*. **Genome Research**, v. 12, n. 7, p. 1075–1079, 2002.
- DIAS, Y. et al. Comparative cytogenetic maps of *Passiflora alata* and *P. watsoniana* (Passifloraceae) using BAC-FISH. **Plant Systematics and Evolution**, v. 306, n. 3, p. 51, 2020.
- DODSWORTH, S. et al. Genomic repeat abundances contain phylogenetic signal. **Systematic Biology**, v. 64, n. 1, p. 112–126, 2015a.
- DODSWORTH, S. Genome skimming for next-generation biodiversity analysis. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 9, p. 525–527, 2015b.
- DODSWORTH, S. Using genomic repeats for phylogenomics: a case study in wild tomatoes (*Solanum* section *Lycopersicon*: Solanaceae). **Biological Journal of the Linnean Society**, n. 1, p. 96–105, 2016.
- DODSWORTH, S. et al. Genome-wide repeat dynamics reflect phylogenetic distance in closely related allotetraploid *Nicotiana* (Solanaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 303, n. 8, p. 1013–1020, 2017

- DODSWORTH, S. et al., Potential of Herbariomics for Studying Repetitive DNA in Angiosperms. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 6, 29 out. 2018.
- DODSWORTH, S. et al. Hyb-Seq for flowering plant systematics. **Trends in Plant Science**, v. 24, n. 10, p. 887–891, 2019.
- DORNELAS, M. C. Plant regeneration from protoplast fusion in *Passiflora* spp. **Plant Cell Reports**, v. 15, p. 106–110, 1995.
- ELANGOVAN, D. et al. Coating of wallpaper with green synthesized silver nanoparticles from *Passiflora foetida* fruit and its illustrated antifungal mechanism. **Process Biochemistry (Barking, London, England)**, v. 112, p. 177–182, 2022.
- FELINER, G. N.; ROSSELLÓ, J. A. Concerted evolution of multigene families and homoeologous recombination. Em: **Plant Genome Diversity**. Volume 1. Vienna: Springer, 2012. p. 171–193.
- FERNÁNDEZ, P. et al. A 160 Gbp fern genome shatters size record for eukaryotes. **iScience**, v. 27, n. 6, p. 109889, 2024.
- FERREIRA, F. R.; OLIVEIRA, J.C. Germoplasma de Passiflora no Brasil. **Maracujá: Produção e Mercado**. p, p. 24-26, 1994.
- FERRETTI, A. B. S. M. et al. High dynamism for neo-sex chromosomes: satellite DNAs reveal complex evolution in a grasshopper. **Heredity**, v. 125, n. 3, p. 124–137, 2020.
- FEUILLET, C.; JOHN, M. Checklist of recognized species names of passion flowers. **Passiflora**, v. 12, n. 2, p. 41–43, 2002.
- FONSÊCA, A. Cytogenetic map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Chromosome Research**, v. 18, p. 487–502, 2010.
- GAIERO, P. et al. Comparative analysis of repetitive sequences among species from the potato and the tomato clades. **Annals of Botany**, v. 123, n. 3, p. 521–532, 2019.
- GARRIDO-RAMOS, M. A. Satellite DNA in plants: More than just rubbish. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 146, n. 2, p. 153–170, 2015.

- GREILHUBER, J. Intraspecific variation in genome size in angiosperms: identifying its existence. **Annals of Botany**, v. 95, n. 1, p. 91–98, 2005.
- GREILHUBER, J. et al. Smallest angiosperm genomes found in lentibulariaceae, with chromosomes of bacterial size. **Plant Biology (Stuttgart, Germany)**, v. 8, n. 6, p. 770–777, 2006.
- GROVER, C. E.; WENDEL, J. F. Recent insights into mechanisms of genome size change in plants. **Journal of Botany**, v. 2010, p. 1–8, 2010.
- GUERRA, M. Conceitos e aplicações na citogenética. **Sociedade Brasileira de Genética**. p. 1–32, 2004.
- GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 120, n. 3–4, p. 339–350, 2008.
- GUERRA, M. Poliploidia: A mutação que mudou a história dos seres vivos. **Genética na Escola**, v. 15, n. 2, p. 128–141, 2020.
- GUERRA, M. Introdução à Citogenética Geral. **Editores Guanabara - RJ**, 1998.
- GUIZARD, S.; PIÉGU, B.; BIGOT, Y. DensityMap: a genome viewer for illustrating the densities of features. **BMC Bioinformatics**, v. 17, n. 1, p. 204, 2016.
- HANSEN, A. K. et al. Phylogenetic relationships and chromosome number evolution in *Passiflora*. **Systematic Botany**, v. 31, n. 1, p. 138–150, 2006.
- HAWKINS, J. S. et al. Rapid DNA loss as a counterbalance to genome expansion through retrotransposon proliferation in plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 42, p. 17811–17816, 2009.
- HEITKAM, T. et al. Satellite DNA landscapes after allotetraploidization of quinoa (*Chenopodium quinoa*) reveal unique A and B subgenomes. **The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology**, v. 103, n. 1, p. 32–52, 2020.
- HESLOP, H. J. S. P. Organisation of the plant genome in chromosomes. **The Plant Journal**, v. 66, p. 18–33, 2011.

- JIANG, J. Fluorescence in situ hybridization in plants: recent developments and future applications. **Chromosome Research**, v. 27, n. 3, p. 153–165, 2019.
- JIAO, Y. et al. Ancestral polyploidy in seed plants and angiosperms. **Nature**, v. 473, n. 7345, p. 97–100, 2011.
- JUDD, W. S. et al. Plant systematics: a phylogenetic approach. **Ecología Mediterránea**, v. 25, n. 2, p. 215, 1999.
- KILLIP, E. P. **The American species of Passifloraceae**. [Chicago]: [s.n.], 1938
- KNIGHT, R. J. Development of tetraploid hybrid passion fruit clones with potential for the north temperate zone. **HortScience**, v. 26, n. 12, p. 1541–1543, 1991.
- KROSNICK, S. E. et al. New Insights into the Evolution of *Passiflora* subgenus *Decaloba* (Passifloraceae): Phylogenetic Relationships and Morphological Synapomorphies. **Systematic Botany**, v. 38, n. 3, p. 692–713, 2013.
- LANDER, E. S. Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature**, v. 409, p. 860–921, 2001.
- LEITCH, I. J. et al. Evolution of DNA amounts across land plants (embryophyta). **Annals of Botany**, v. 95, n. 1, p. 207–217, 2005.
- LEITCH, I. J. et al. Genome size dynamics and evolution in monocots. **Journal of Botany**, v. 2010, p. 1–18, 2010.
- LEWIN, B. **Genes IX**. 9. ed. Sudbury, MA, USA: Jones and Bartlett, 2007.
- LIU, J. et al. Genomic and cytogenetic analyses reveal satellite repeat signature in allotetraploid okra (*Abelmoschus esculentus*). **BMC Plant Biology**, v. 24, n. 1, p. 71, 2024.
- LOUZADA, S. et al. Decoding the role of satellite DNA in genome architecture and plasticity—an evolutionary and clinical affair. **Genes**, v. 11, n. 1, p. 72, 2020.
- MA, D. et al. Chromosome-level reference genome assembly provides insights into aroma biosynthesis in passion fruit (*Passiflora edulis*). **Molecular Ecology Resources**, v. 21, n. 3, p. 955–968, 2021.

- MATA-SUCRE, Y. et al. Repeat-based holocentromeres of the woodrush *Luzula sylvatica* reveal insights into the evolutionary transition to holocentricity. **Nature Communications**, v. 15, n. 1, p. 9565, 2024.
- MARGULIES, M. et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. **Nature**, v. 437, n. 7057, p. 376–380, 2005.
- MCCANN, J. et al. Differential genome size and repetitive DNA evolution in diploid species of *Melampodium* sect. *Melampodium* (Asteraceae). **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 362, 2020.
- MEHROTRA, S.; GOYAL, V. Repetitive sequences in plant nuclear DNA: types, distribution, evolution and function. **Genomics, Proteomics and Bioinformatics**, v. 12, n. 4, p. 164-171, 2014.
- MELO, N. F.; CERVI, A. C.; GUERRA, M. Karyology and cytotaxonomy of the genus *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 226, p. 69-84, 2001.
- MELO, N. F.; GUERRA, M. Variability of the 5S and 45S rDNA sites in *Passiflora* L. species with distinct base chromosome numbers. **Annals of Botany**, n. 2, p. 309–316, 2003.
- MELO, N. F.; GUERRA, M. The karyotype of *Adenia* and the origin of the base number $x = 12$ in Passifloroideae (Passifloraceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, 2021.
- MIKKELSEN, T. S. et al. Genome of the marsupial *Monodelphis domestica* reveals innovation in non-coding sequences. **Nature**, v. 447, n. 7141, p. 167–177, 2007.
- MOSCONE, E. A. The evolution of chili peppers (*Capsicum*-Solanaceae): a cytogenetic perspective. **Acta Horticulturae**, v. 745, 2007.
- MUSCHNER, V. C. et al. Phylogeny, biogeography and divergence times in *Passiflora* (Passifloraceae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, p. 1036-1043, 2012.
- NASCIMENTO, J. et al. Influence of Ty3/gypsy and Ty1/copia LTR-retrotransposons on the large genomes of Alstroemeriaceae: genome landscape of *Bomarea edulis* (Tussac) Herb. **Protoplasma**, 2025.

- NEUMANN, P. et al. Systematic survey of plant LTR-retrotransposons elucidates phylogenetic relationships of their polyprotein domains and provides a reference for element classification. **Mobile DNA**, v. 10, n. 1, p. 1, 2019.
- NOVÁK, P. et al. *RepeatExplorer*: a Galaxy-based web server for genome-wide characterization of eukaryotic repetitive elements from next-generation sequence reads. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 29, n. 6, p. 792–793, 2013.
- NOVÁK, P.; NEUMANN, P.; MACAS, J. Graph-based clustering and characterization of repetitive sequences in next-generation sequencing data. **BMC Bioinformatics**, v. 11, n. 1, p. 378, 2010.
- OCAMPO PÉREZ, J.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G. Morphological characterization in the genus *Passiflora* L.: an approach to understanding its complex variability. **Plant Systematics and Evolution**, v. 303, n. 4, p. 531–558, 2017.
- OLIVER, K. R.; MCCOMB, J. A.; GREENE, W. K. Transposable elements: powerful contributors to angiosperm evolution and diversity. **Genome Biology and Evolution**, v. 5, n. 10, p. 1886–1901, 2013.
- OTONI, W. C. Somatic hybridization of the *Passiflora* species, *P. edulis* f. *flavicarpa* Degener. and *P. incarnata* L. **Journal of Experimental Botany**, v. 46, n. 7, p. 777–785, 1995.
- PAMPONÉT, V. C. C. et al. Low coverage sequencing for repetitive DNA analysis in *Passiflora edulis* Sims: cytogenomic characterization of transposable elements and satellite DNA. **BMC Genomics**, v. 20, n. 1, p. 262, 2019.
- PARISI, Bruna Zirpoli Leite. **Duas espécies e dois cariótipos? Diferenciação cariotípica entre *Passiflora foetida* L. E *P. vesicaria* L. (Passifloraceae)**. Trabalho de Conclusão de Curso. 2022.
- PATIL, A. S.; Bioassay Guided Phytometabolites Extraction for Screening of Potent Antimicrobials in *Passiflora foetida* L. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 2, n. 9, p. 137-142, 2012.

- PEDROSA-HARAND, A. et al. Extensive ribosomal DNA amplification during Andean common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) evolution. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 112, n. 5, p. 924-933, 2006.
- PELLICER, J.; FAY, M. F.; LEITCH, I. J. The largest eukaryotic genome of them all?: The Largest Eukaryotic Genome? **Botanical Journal of the Linnean Society. Linnean Society of London**, v. 164, n. 1, p. 10–15, 2010.
- PIEGU, B. et al. Doubling genome size without polyploidization: dynamics of retrotransposon-driven genomic expansions in *Oryza australiensis*, a wild relative of rice. **Genome Research**, v. 16, n. 10, p. 1262–1269, 2006.
- PLOHL, M.; MEŠTROVIĆ, N.; MRAVINAC, B. Satellite DNA evolution. **Repetitive DNA**, v. 7, p. 126-152, 2012.
- RADHAMANI, T. R.; SUDARSHANA, L.; KRISHNAN, R. Defense and carnivory: dual role of bracts in *Passiflora foetida*. **Journal of Biosciences**, v. 20, p. 657–664, 1995.
- RAMOS, L. C. et al. Differential repeat accumulation in the bimodal karyotype of *Agave L.* **Genes**, v. 14, n. 2, 2023.
- RIBEIRO, T. et al. Evolutionary dynamics of satellite DNA repeats from *Phaseolus* beans. **Protoplasma**, v. 254, n. 2, p. 791–801, 2017.
- RIBEIRO, T. et al. Diversity of repetitive sequences within compact genomes of *Phaseolus* L. beans and allied genera *Cajanus* L. and *Vigna* Savi. **Chromosome Research**, v. 28, n. 2, p. 139–153, 2020.
- RICHARD, G.-F.; KERREST, A.; DUJON, B. Comparative genomics and molecular dynamics of DNA repeats in eukaryotes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR**, v. 72, n. 4, p. 686–727, 2008.
- RICCI, M. et al. Transposable elements activity is positively related to rate of speciation in mammals. **Journal of Molecular Evolution**, v. 86, n. 5, p. 303–310, 2018.
- RUBERTÉ-TORRES, R.; MARTIN, F. W. First-generation hybrids of edible passion fruit species. **Euphytica; Netherlands Journal of Plant Breeding**, v. 23, n. 1, p. 61–70, 1974.

- SADER, M. A. **Evolução cariotípica em *Passiflora* L. (Passifloraceae)**. Tese de Doutorado, 2020.
- SADER, M. et al. Large vs small genomes in *Passiflora*: the influence of the mobilome and the satellitome. **Planta**, v. 253, n. 4, p. 86, 2021
- SADER, M. A. et al. Identification of passion fruit (*Passiflora edulis*) chromosomes using BAC-FISH. **Chromosome Research**, v. 27, n. 4, p. 299–311, 2019.
- SCALDAFERRO, M. A.; GRABIELE, M.; MOSCONE, E. A. Heterochromatin type, amount and distribution in wild species of chili peppers (*Capsicum*, Solanaceae). **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 60, n. 2, p. 693–709, 2013.
- SCHNABLE, P. S. et al. The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. **Science (New York, N.Y.)**, v. 326, n. 5956, p. 1112–1115, 2009.
- SILVA, E. O.; SANTOS, J. U. M. DOS; DIAS, A. C. A. DE A. Passifloraceae na área de proteção ambiental de Belém, PA, Brasil. **Rodriguésia**, v. 64, n. 4, p. 829–845, 2013.
- SILVA, S. C. The Cytogenetic Map of the *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.-A Nomenclature System for Chromosomes of All Citric Species. **Tropical Plant Biology**, n. 2, p. 99–105, 2011.
- SILVA, Y. K. D. **Mapeamento citogenético de *Passiflora alata* e *Passiflora watsoniana* revela conservação de sintenia no subgênero *Passiflora* (Passifloraceae)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2018.
- SONG, Y. et al. Nutritional composition and antioxidant properties of the fruits of a Chinese wild *Passiflora foetida*. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 23, n. 2, p. 459, 2018
- SOUZA, M. M. et al. Flow cytometric analysis of genome size variation in some *Passiflora* species. **Hereditas**, v. 141, n. 1, p. 31–38, 2004.
- SOUZA, M. M.; PEREIRA, T. N. S.; VIEIRA, M. L. C. Cytogenetic studies in some species of *Passiflora* L. (Passifloraceae): a review emphasizing Brazilian species. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 2, p. 247–258, 2008.

- SWIFT, H. The constancy of desoxyribose nucleic acid in plant nuclei. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 36, n. 11, p. 643–654, 1950.
- TOKUOKA, T. Molecular phylogenetic analysis of Passifloraceae sensu lato (Malpighiales) based on plastid and nuclear DNA sequences. **Journal of Plant Research**, v. 125, n. 4, p. 489–497, 2012.
- TREANGEN, T. J.; SALZBERG, S. L. Erratum: Repetitive DNA and next-generation sequencing: computational challenges and solutions. **Nature Reviews. Genetics**, v. 13, n. 2, p. 146–146, 2012.
- ULMER, T.; MACDOUGAL, J. **Passiflora: passionflowers of the world**. [s.l.] Timber Press, 2004.
- VANDERPLANK, J. A revision of *Passiflora* section *Dysosmia*: Passifloraceae. **Curtis s Botanical Magazine**, v. 30, n. 4, p. 318–387, 2013.
- VANDERPLANK, J. **Passion flowers and passion fruit**. **Cassell Publishers Limited**. 1991.
- VAN-LUME, B. et al. Evolutionary convergence or homology? Comparative cytogenomics of Caesalpinia group species (Leguminosae) reveals diversification in the pericentromeric heterochromatic composition. **Planta**, v. 250, n. 6, p. 2173–2186, 2019.
- VIJAY, A. et al. Comparative study of ovule development between wild (*Passiflora foetida* L.) and cultivated (*P. edulis* Sims) species of *Passiflora* L. provide insights into its differential developmental patterns. **Journal of Zoological and Botanical Gardens**, v. 2, n. 3, p. 502–516, 2021.
- WANG, K. et al. The complete telomere-to-telomere genome assembly of lettuce. **Plant Communications**, v. 5, n. 10, p. 101011, 2024.
- WELLS, J. N.; FESCHOTTE, C. A field guide to eukaryotic transposable elements. **Annual Review of Genetics**, v. 54, n. 1, p. 539–561, 2020.
- WICKER, T. et al. Impact of transposable elements on genome structure and evolution in bread wheat. **Genome Biology**, v. 19, n. 1, p. 103, 2018

- YOCKTENG R.; NADOT S. Phylogenetic relationships among *Passiflora* species based on the glutamine synthetase nuclear gene expressed in chloroplast (ncpGS). **Molecular Phylogenetics and Evolution** 31:379-396. 2004a.
- YOCKTENG R.; NADOT S. Infrageneric phylogenies: A comparison of chloroplast-expressed glutamine synthetase, cytosol-expressed glutamine synthetase and cpDNA maturase K in *Passiflora*. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 31:397-402. 2004b.
- YOTOKO, K. S. C. et al. Does variation in genome sizes reflect adaptive or neutral processes? New clues from *Passiflora*. **PloS One**, v. 6, n. 3, p. e18212, 2011.
- YU, Y.; OUYANG, Y.; YAO, W. shinyCircos: an R/Shiny application for interactive creation of Circos plot. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 34, n. 7, p. 1229–1231, 2018.
- ZOU, Y. et al. Multi-integrated genomic data for *Passiflora foetida* provides insights into genome size evolution and floral development in *Passiflora*. **Molecular Horticulture**, v. 3, n. 1, p. 27, 2023.

5. RESULTADO

5.1 ARTIGO: UMA ESPÉCIE, DIFERENTES REPITOMAS: VARIAÇÃO GENÔMICA EM *Passiflora foetida* L. (PASSIFLORACEAE)

Arthur Roberto Monteiro da Silva¹; Mariela A. Sader²; Jéssica Nascimento de Aguiar¹; Luiz Gustavo Santana Luna¹; Daniela Imig³; Andrea Pedrosa Harand¹

¹Laboratório de Citogenética e Evolução Vegetal, Departamento de Botânica, Centro de Biocências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife PE, 50670-901, Brasil;

²Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina;

³ Centro Universitário Campos de Andrade: Curitiba, Paraná, Brasil.

RESUMO

O gênero *Passiflora* L. compreende ~500 espécies, com grande diversidade nos neotrópicos, principalmente no subgênero *Passiflora*. Várias espécies desse subgênero possuem uma fração repetitiva abundante, compatível com o aumento do tamanho de seus genomas. No entanto, ainda não há uma descrição detalhada da fração repetitiva de *P. foetida*, ($n = 10$), irmã das demais espécies do subgênero ($n = 9$). Além disso, essa espécie abriga um complexo de variedades morfológicas com ampla distribuição geográfica. O objetivo deste projeto foi caracterizar a fração de DNA repetitivo de *P. foetida*, comparando diferentes acessos de suas variedades e às demais espécies da seção *Dysosmia* e a outras do mesmo subgênero. Os resultados demonstraram que *P. foetida* possui uma proporção de fração repetitiva condizente com o tamanho de seu genoma, mas com uma acentuada variação intraespecífica. Os retrotransposons LTR Ty1/copia foram mais abundantes, assim como nas outras espécies do subgênero, porém os Ty3/gypsy representaram uma fração muito menor em relação às demais. A variação observada dentro de *P. foetida* foi maior que a detectada entre espécies de *Dysosmia*. Os DNAs satélites foram em parte exclusivos e em parte similares a de espécies de diferentes subgêneros, corroborando sua posição filogenética. Além disso, um satélite espécie-específico apresentou localização proximal, sendo o primeiro possível satélite centromérico do gênero, indicando eventos evolutivos recentes na seção *Dysosmia*, e insights sobre a evolução da fração repetitiva dentro do subgênero *Passiflora*.

Palavras-chave: Centrômero; DNA Satélite; Genômica comparativa; Retrotransposons; Variação intraespecífica.

ABSTRACT

The genus *Passiflora* L. comprises approximately 500 species, with great diversity in the Neotropics, especially within the subgenus *Passiflora*. Several species of this subgenus possess an abundant repetitive fraction, consistent with the increase in their genome size. However, a detailed description of the repetitive fraction of *P. foetida* ($n = 10$), the sister species of other subgenus members ($n = 9$), is still lacking. Moreover, this species encompasses a complex of morphological varieties with a wide geographical distribution. This project's objective was to characterize the repetitive DNA fraction of *P. foetida*, comparing different accessions of its varieties with other species from section *Dysosmia* and others within the same subgenus. The results demonstrated that *P. foetida* has a repetitive fraction proportion consistent with its genome size but exhibits marked intraspecific variation. LTR retrotransposons Ty1/copia were the most abundant, as observed in other species of the subgenus, whereas Ty3/gypsy represented a much smaller fraction compared to the others. The variation observed within *P. foetida* was greater than that detected among species of *Dysosmia*. Satellite DNAs were partially exclusive and partially similar to those of species from different subgenera, corroborating its phylogenetic position. Furthermore, a species-specific satellite exhibited a proximal location, representing the first possible centromeric satellite in the genus. This finding suggests recent evolutionary events in section *Dysosmia* and provides insights into the evolution of the repetitive fraction within the subgenus *Passiflora*.

Keywords: Centromere; Comparative genomics; Intraspecific variation; Retrotransposons; Satellite DNA.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* L. possui cerca de 500 espécies com maior distribuição nas regiões neotropicais, sendo divididas em quatro subgêneros principais: *Astrophea*, *Deidamioides*, *Decaloba* e *Passiflora* (Ulmer & MacDougal, 2004). O subgênero *Passiflora* inclui 250 espécies que são conhecidas principalmente por exibir grandes flores com múltiplas séries de filamentos coronais. É o grupo mais diversificado dentro da América do Sul e o maior e mais conhecido dos subgêneros, em grande parte pela importância econômica de algumas espécies como o maracujá azedo (*Passiflora edulis* Sims.) e o maracujá doce (*Passiflora alata* Curtis; Ulmer; MacDougal, 2004).

Do ponto de vista citogenético, o subgênero *Passiflora* apresenta número cromossômico básico $x = 9$ (Hansen et al., 2006; Sader et al., 2019), com exceção de *Passiflora foetida* L. que, em decorrência de eventos de dispoloidia, apresenta o número cromossômico $n = 10$. Estudos filogenéticos apontam *P. foetida* como a primeira linhagem a divergir e aparece como irmã das demais espécies do subgênero (Krosnick et al., 2013; Cauz-Santos et al., 2020). Considerando o ancestral do gênero com $x = 12$ (Melo; Guerra, 2021), é possível hipotetizar que o $n = 10$ seja um número intermediário em uma série dispoloide descendente até o $n = 9$.

As espécies do gênero variam mais de 10× em relação ao conteúdo de DNA, sendo os maiores genomas observados no subgênero *Passiflora* com $2C = 5,36$ pg para *P. quadrangularis* L., (Yotoko et al, 2011). *Passiflora foetida* apresentando o menor genoma dentro do subgênero, com $2C = 0,96$ pg (Yotoko et al. 2011). Nesse último estudo, foi observada correlação positiva entre tamanho do genoma e tamanho das flores, indicando que o tamanho do genoma pode estar relacionado à evolução adaptativa do grupo (Yotoko et al. 2011). O estudo da fração repetitiva de três espécies (*P. cincinnata* Mast., *P. organensis* Rose e *P. quadrangulares* L.) revelou duas linhagens de retroelementos (Ty1/copia/Angela e Ty3/gypsy/Tekay) como as principais responsáveis pelo aumento no tamanho do genoma dessas espécies (Sader et al., 2021). Apesar dessas variações na organização da fração repetitiva, nenhuma sequência exclusivamente centromérica foi identificada no grupo até o momento, mesmo entre as espécies mais estudadas, como o maracujá-azedo (*P. edulis*), o qual conta com montagens do genoma a nível cromossômico (Ma et al., 2021; Xia et al., 2021). Mais recentemente, *P. foetida* teve seu genoma também montado a nível cromossômico, revelando abundância de elementos Ty1/copia e escassez de Ty3/gypsy (Zou et al., 2023).

Passiflora foetida é uma trepadeira amplamente distribuída, nativa de regiões mais quentes das Américas e do Caribe. No entanto, também se tornou naturalizada (e em alguns casos, invasora) em várias partes do mundo, incluindo África, Sul da Ásia e Havaí (Zou et al.,

2023). Suas flores variam em cores, desde tonalidades roxas à brancas, e apresentam uma grande diversidade morfológica, sendo possível a identificação de seis variedades: *P. foetida* var. *foetida* L., var. *nigelliflora* (Hooker), var. *oaxacana* Killip, var. *acapulsensis* Killip, var. *ellisonii* Vanderplank e var. *baraquiniana* (Lem.) Vanderplank (Vanderplanck, 2013). Apesar dessa grande quantidade de variedades e da plasticidade fenotípica entre elas, suas relações ainda são incertas.

Indivíduos de variedades amplamente distribuídos de *P. foetida* foram sequenciados para compreensão do histórico de introdução da espécie *P. foetida sensu lato* na Austrália e esclarecer sua relação com outras espécies de *Passiflora* presentes por meio de filogenia com dados plastidiais (Hopley et al., 2021). Esses dados oferecem novas oportunidades para investigar a composição e variação genômica nuclear por meio de ferramentas de bioinformática, permitindo uma análise da fração repetitiva do genoma da espécie, considerando a identificação e a distribuição de suas variedades.

O objetivo desse trabalho foi explorar a composição e organização da fração repetitiva no genoma de *P. foetida* ($n = 10$), visando contribuir para compreensão dos mecanismos evolutivos que moldam a fração repetitiva em *Passiflora* e seu papel na diversidade genômica da espécie. A partir disso, pretendemos responder às seguintes perguntas: 1) Existe variação intraespecífica no repitoma de *P. foetida*? 2) Quais elementos repetitivos estão associados à possível diferenciação genômica das variedades? 3) Existem padrões específicos na organização da fração repetitiva que corroboram as variedades dessa espécie e variação entre espécies do subgênero? 4) Há variação intraespecífica na distribuição cromossômica das principais sequências de DNA satélites identificados?

2. METODOLOGIA

2.1 Material Vegetal

Diferentes acessos de *P. foetida* foram adquiridos para análises citogenéticas a partir da parceria com Bancos de Germoplasma de *Passiflora* localizados na Embrapa Cerrado e Embrapa Mandioca e Fruticultura, situada em Planaltina-DF e Cruz das Almas-BA, respectivamente. Além disso, outros acessos foram coletados em diferentes estados no Nordeste do Brasil (Tabela 1, Figura 1). As plantas obtidas a partir das sementes germinadas foram mantidas no Jardim Experimental do Laboratório de Citogenética e Evolução Vegetal do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Sequências de DNA de baixa cobertura previamente disponibilizadas para diferentes acessos herborizados de *P. foetida* var. *foetida* e sequenciadas via plataforma illumina foram obtidos do ENA (*European Nucleotide Archive* PRJEB43378, Hopley et al., 2021).

Tabela 1. Acessos de *Passiflora foetida*, utilizados para análises cromossômicas *in situ* provindos de diferentes regiões do Brasil.

Acesso	Vouchers	Varietade	Long.	Lat.	Município	Obtenção
APH0100	UFP90688	var. <i>foetida</i>	-47.71	-15.60	Planaltina-DF	Embrapa-DF
APH218	UFP100030	var. <i>foetida</i>	-34.83	-7.10	João Pessoa - PB	Campo
APH222	UFP100031	var. <i>foetida</i>	-38.24	-10.38	Ribeira do Pombal - BA	Campo
APH219	-	var. <i>foetida</i>	-39.08	-12.68	Cruz das Almas - BA	Embrapa - BA



Figura 1. Mapa da distribuição geográfica dos principais acessos utilizados para análises *in situ* de *Passiflora foetida* L.

2.2 Processamento dos Dados, Análise de agrupamento e Caracterização dos DNAs Satélites

As sequências de parte dos acessos de *P. foetida* (Hopley et al., 2021) foram selecionadas para representar a variação encontrada na espécie, com base em sua identificação taxonômica e distribuição geográfica, e utilizados para caracterização da fração repetitiva da espécie (Tabela 2). As identificações taxonômicas foram realizadas a partir dos vouchers associados a cada acesso, os quais foram depositados no Jardim Botânico do Missouri (EUA), ou do local de ocorrência das variedades. No total foram selecionados 15 acessos, sendo três para cada variedade identificada (Tabela 2; Figura 2). O indivíduo Pf001, utilizado para a

montagem do genoma (PRJCA020083; Zou et al., 2023) tiveram reads obtido a partir do GSA (*Genome Sequence Archive*).

Tabela 2. Acessos de diferentes acessos de *P. foetida* e suas respectivas variedades. Status (nativa ou não nativa), coordenadas geográficas, localização de coleta e códigos de acesso nas plataformas ENA ou GSA (PF001) também estão apresentados. *. Acesso utilizado para caracterização individual e demais comparativas.

	Status	Long.	Lat.	Localização	Código
<i>Passiflora foetida</i>					
<i>var. acapulcensis</i>					
PF071	nativa	-97.2	18.1	México	ERR5419830
PF078	nativa	-86.30	13.16	Nicarágua	ERR5419836
PF102	nativa	-95.95	16.54	México	ERR5419852
<i>var. baraquiniana</i>					
PF008	nativa	-65.36	-26.46	Argentina	ERR5419787
PF018*	nativa	-37.16	-8.61	Brasil	ERX5203483
PF023	nativa	-40.13	-10.67	Brasil	ERR5419797
<i>var. ellisonii</i>					
PF001	-	114.30	22.36	China	CRR889390
PF064	não nativa	50.05	-14.10	Madagascar	ERR5419825
PF153	não nativa	141.76	-17.17	Austrália	ERR5419888
<i>var. foetida</i>					
PF031	nativa	-71.56	18.39	República Dominicana	ERR5419803
PF057	nativa	-78.66	-4.35	Equador	ERR5419819
PF107	nativa	-34.83	-7.09	Brasil	ERR5419909
<i>var. nigelliflora</i>					
PF007	nativa	-55.56	-27.43	Argentina	ERR5419786
PF020	nativa	-60.46	2.94	Brasil	ERR5419795
PF085	nativa	-59.84	-20.55	Paraguai	ERR5419841

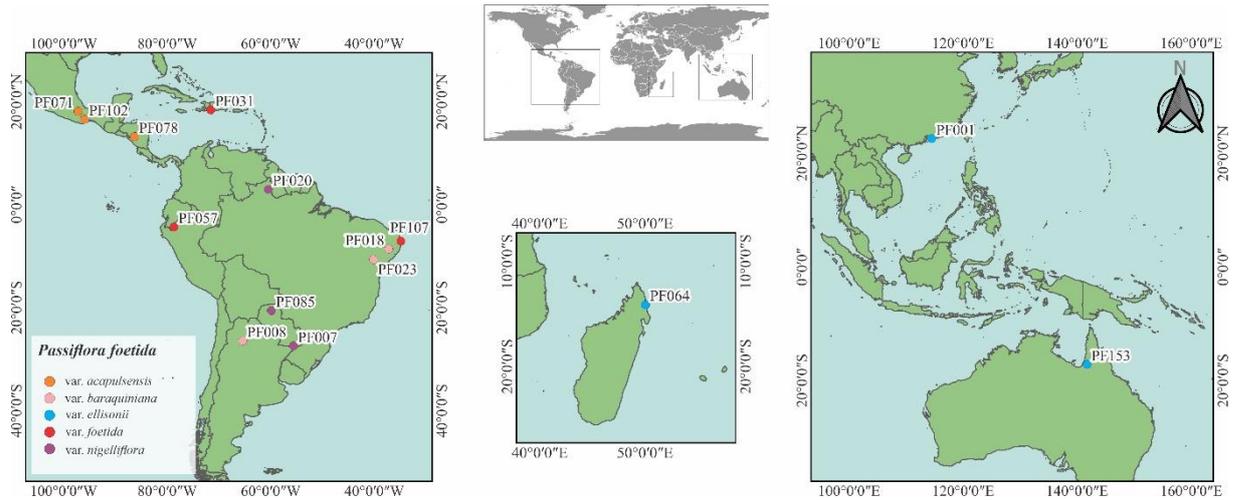


Figura 2. Mapa da distribuição geográfica dos acessos selecionados das variedades de *P. foetida*.

Para a análise comparativa entre espécies, foram utilizadas sequências disponíveis em banco de dados para *Passiflora caerulea*, *P. coccinea*, *P. edulis*, *P. incarnata*, *P. ligularis*, *P. quadrangularis*, *P. suberosa* (PRJEB43378, Hopley et al., 2021), *P. cincinnata* e *P. organensis* (Sader et al., 2021). A comparação entre espécies da seção *Dysosmia* foi realizada a partir dos dados disponíveis para *P. ciliata* e *P. vesicaria* (PRJEB43378, Hopley et al., 2021), uma vez que alguns dos acessos descritos como *P. foetida*, na verdade correspondiam a essas espécies. Como não possuímos o tamanho de genoma de *P. ciliata*, para essa espécie foi usada uma média entre os tamanhos genômicos de *P. foetida* e *P. vesicaria*, uma vez que não há grande diferença entre os seus tamanhos (Zirpoli et al., 2024). Duas espécies do subgênero *Decaloba* foram usadas como grupo externo (Tabela 3).

Tabela 3. Acessos utilizados para análises comparativas entre espécies do subgênero *Passiflora*, assim como para comparação entre espécies da seção *Dysosmia*. Tamanho de genoma de acordo com Melo; Guerra, 2021; Yokoto, 2011; Zirpoli et al., 2024). Apenas *P. ciliata* teve seu tamanho de genoma aproximado estimado a partir da média entre *P. foetida* e *P. vesicaria*.

	Tamanho do genoma (1C)	Referência	Código ENA
Subg. Passiflora			
<i>P. caerulea</i>	1355,5 Mpb	Hopley et al., 2021	ERR5419862
<i>P. ciliata</i>	518,3 Mpb	Hopley et al., 2021	ERX5203540
<i>P. cincinnata</i>	1338,7 Mpb	Sader et al., 2021	SRX9515500
<i>P. coccinea</i>	1307,8 Mpb	Hopley et al., 2021	ERR5419865
<i>P. edulis</i>	1230,3 Mpb	Hopley et al., 2021	ERR5419919
<i>P. foetida</i>	440,1 Mpb	Hopley et al., 2021	ERX5203483
<i>P. incarnata</i>	644,5 Mpb	Hopley et al., 2021	ERR5419921
<i>P. ligularis</i>	1382,8 Mpb	Hopley et al., 2021	ERR5419923

<i>P. quadrangularis</i>	2621,0 Mpb	Hopley et al., 2021	ERR5419924
<i>P. versicaria</i>	567,2 Mpb	Hopley et al., 2021	ERX5203495
Subg. Decaloba			
<i>P. organensis</i>	207,3 Mpb	Sader et al., 2021	-
<i>P. suberosa</i>	668,9 Mpb	Hopley et al., 2021	ERX5203559

Todas as sequências foram filtradas por qualidade usando um valor de corte de Q maior ou igual a 20 com 90% de bases iguais ou acima desse valor usando as ferramentas de pré-processamento de leituras curtas FASTQ/A (Gordon 2010; http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/) implementadas no *RepeatExplorer2*. A análise de agrupamento baseada em similaridade foi realizada usando o *pipeline RepeatExplorer2* no servidor Elixir-Cerit (<https://www.repeatexplorer-elixir.cerit-sc.cz>), usando os parâmetros padrões e selecionando para cada amostra 0,1× de cobertura (Novák et al. 2020). Para as análises comparativas, *reads* terminais pareados de cada espécie ou acesso foram identificadas com um prefixo diferente, amostradas para 0,1× de cobertura cada, concatenadas e agrupadas no mesmo pipeline. A cobertura final analisada após amostragem automática pelo *RepeatExplorer2*, e eliminação de sequências mitocondriais e plastidiais, foi calculada da seguinte forma: $\text{cobertura} = (r \times l) / g$, onde r corresponde ao número de leituras analisadas após o agrupamento, l ao comprimento da leitura e g ao tamanho do genoma haploide em pb.

Para a caracterização da fração repetitiva, *clusters* com abundância de pelo menos 0,01% foram anotados automaticamente e inspecionados manualmente, seguindo a nomenclatura de Neumann et al. (2019). Um banco de dados personalizado de sequências de DNA satélite de *Passiflora* (Sader et al., 2021) foi incluído nas análises individuais e comparativas. Os *clusters* não classificados foram analisados através de pesquisas de similaridade usando BLASTN contra sequências de proteínas não redundantes em bancos de dados públicos (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). A proporção de cada sequência repetitiva foi calculada com base no número de sequências em cada cluster em relação ao número total de sequências incluídas na análise final, excluindo dados de DNA plastidial e mitocondrial.

O conjunto de dados usado para a caracterização do repitoma de todas as espécies e diferentes acesso de *P. foetida* foi também analisado com a ferramenta TAREAN, implementada no *RepeatExplorer2*, a qual identifica DNAs repetitivos organizados em *tandem* e reconstrói as sequências de consenso de DNAs satélites (DNAsat) putativos com base na

análise de *k-mer* (Novák et al. 2017). A organização em *tandem* foi inspecionada posteriormente usando *dotplot* com parâmetros padrão usando o *software* Geneious Prime v.7.0.6. A homologia entre os *clusters* de satélites identificados entre as espécies foi analisada utilizando os critérios propostos por Ruiz Ruano et al. (2016) para classificação de DNAsat em famílias e superfamílias, com pequenas modificações. Monômeros com 50 a 80% de identidade ao longo de todo o seu comprimento foram considerados famílias diferentes da mesma superfamília; as que variaram entre 80 e 95% foram consideradas diferentes subfamílias de uma mesma família; e sequências com pelo menos 95% de identidade foram consideradas variantes monoméricas. Para isso, usamos a função de alinhamento global Needleman-Wunsch do Geneious v.7.0.6.

Para análise de identificação dos satélites nos pseudocromossomos montados (Zou et al., 2023), anotações manuais feitas nas sequências dos satélites foram mapeadas contra o genoma no software Geneious (v. 9.1.8) posteriormente os resultados obtidos foram implementados no software bedtools v.2.31.0 (Linux) para obter a densidade da sequência dentro da janela sucessiva de 1 kbp ao longo dos pseudocromossomos. A distribuição dos cromossomos montados foi plotada usando ShinyCircos (Yu et al. 2018).

2.3 Preparação de Lâminas

pontas de raízes obtidas de plantas cultivadas em vasos e de sementes germinadas em placas de Petri foram coletadas e tratadas com 8-hidroxiquinoleína (8-HQ) por 4,5 horas, a 10° C, fixadas em solução Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético glacial) por no mínimo uma hora à temperatura ambiente e estocadas em freezer a - 20°C.

Para a preparação das lâminas, as raízes foram lavadas duas vezes em água destilada e digeridas a 37 °C em uma solução contendo 2% de celulase (Onozuka) e 20% de pectinase (Sigma) (v/v) por 1h. As preparações foram realizadas segundo o protocolo modificado de secagem ao ar (Ribeiro et al., 2017). As raízes foram colocadas em uma lâmina inclinada e maceradas com Carnoy, depois secas e submersas em ácido acético 60% por 1h e incubadas a 37 °C até secar. As lâminas foram coradas com 1 µg/mL DAPI/Meio de Montagem em meio de montagem (glicerol: tampão McIlvaine pH 7,0; 1:1; v/v), e visualizadas em microscópio de fluorescência para a seleção das melhores lâminas. As lâminas selecionadas foram descoradas em fixador Carnoy por 30 min e em etanol absoluto por 1 h, em seguida armazenadas a -20 °C até o momento de uso.

2.4 Hibridização *in situ* Fluorescente (FISH)

As hibridizações *in situ* fluorescentes (FISH) foram realizadas segundo descrito em Fonsêca *et al.* (2010) usando sondas de DNAr 5S (quatro oligos baseados em sequências conservadas de angiospermas e pré-marcados com Cy3 – PLOPs (Sondas Oligos pré-marcadas), sintetizadas pela Macrogen; Waminal *et al.*, 2018) e 35S (clone *pTa71*; Gerlach; Bedbrook, 1979), e os DNAsat Pqu01-100 e PquSat06-1083 (Sader *et al.*, 2021). Exceto pela PLOP, as demais sondas foram marcadas através de *nick translation* com Cy3-dUTP e Alexa488-dUTP para a *pTa71*. Além disso, a sequência de DNA satélite mais abundante (PfoSat01-27) foi obtida como sonda de oligonucleotídeo (Macrogen) pré-marcada com uma molécula de Cy3 na posição 3' e hibridizada utilizando o protocolo de FISH não desnaturante (ND-FISH), adaptado de Cuadrado *et al.* (2009). Foram adicionados 30 μ L de solução de hibridização contendo 1 pmol (25 ng) da sonda em 2 \times SSC, as quais foram cobertas com lamínulas de plásticos, e mantidas em câmara úmida a temperatura ambiente por 2h, após isso a lamínula foi removida e a lâmina montada em DAPI/Meio de Montagem e posteriormente foi analisada.

As imagens da FISH foram capturadas em microscópio de epifluorescência Leica DM5500B com sistema de captura. As melhores células fotografadas foram selecionadas para sobreposição e ajuste uniforme de brilho e contraste no Adobe Photoshop® (v.23.1.1.)

2.5 Análises filogenéticas

Os plastomas das espécies incluídas no presente trabalho foram montados usando como referência um plastoma completo previamente montado e disponibilizado para *P. edulis* (Cauz-Santos *et al.*, 2025). Para enraizar a árvore foram utilizadas duas espécies do subgênero *Decaloba* como grupo externo. Em relação à análise das relações filogenéticas tanto entre variedades de *Passiflora foetida*, quanto entre espécies da seção *Dysosmia*, o plastoma completo de *P. foetida* (Cauz-Santos *et al.*, 2025) foi utilizado como referência. Para isso, os *reads* de cada espécie e variedade foram mapeados em relação ao genoma de referência usando a função “*Map to reference*”, implementada no programa Geneious v.6.0.3 (Kearse *et al.* 2012). Posteriormente foi feito o alinhamento dos consensos dos plastomas gerados usando o MAFFT (Kato e Standley, 2013). As relações filogenéticas foram inferidas usando Máxima Verossimilhança (ML) no Geneious (v. 9.1.8) por meio do plugin FastTree (Price *et al.*, 2009). Por fim, as árvores foram visualizadas e editadas no software FigTree (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

3. RESULTADOS

3.1 Caracterização Individual da Fração Repetitiva De *P. foetida*

A análise de agrupamento baseada em similaridade revelou 86 *clusters* com abundância acima de 0,01% do genoma, contendo 270.621 leituras correspondentes a 47% do genoma (Tabela 4).

A superfamília de retrotransposons do tipo Ty1/copia foi a mais abundante, correspondendo a 29,01%, destes 23,24% correspondem a linhagem Angela. Já as demais linhagens da superfamília variaram entre 0,06% e 5,45%. A fração de DNAs satélites representou 4,47% do genoma, com sete *clusters* identificados, sendo maior que a fração de retrotransposons Ty3/gypsy, a qual corresponde apenas 3,34%. Dentre os retroelementos do tipo Ty3/gypsy, a linhagem não-Chromovirus Athila se destacou com maior abundância (1,92%), enquanto as demais foram pouco abundantes, com 1,37% e 0,05%, respectivamente. Outros retroelementos não classificados representaram 5,66% do genoma, e os demais elementos não classificados em torno de 1,72%. Os DNAr 5S e 35S representam 0,08% e 2,97% respectivamente (Tabela 4; Figura 3).

Tabela 4. Número cromossômico, tamanho de genoma (Yokoto, 2011), número de sequências amostradas automaticamente para a análise de agrupamento, cobertura resultante e proporção de sequências nos principais *clusters* correspondendo à fração repetitiva de *Passiflora foetida* com base na análise individual do RepeatExplorer2.

	<i>Passiflora foetida</i>
$2n$	20
Tamanho do Genoma (1C)	440,1 Mpb
Leitura do Clustering Individual	293.400
Cobertura	0,1×
Repeat	
Classe I	
LTRs Ty3/gypsy	3,34%
Chromovirus	-
CRM	0,05%
Galadriel	-
Reina	-

Tekay	1,37%
Non-chromovirus	
Athila	1,92%
Ogre	-
LTRs Ty1/copia	29,01%
Ale	-
Angela	23,24%
Bianca	0,13%
Ikeros	0,06%
Ivana	-
SIRE	5,45%
TAR	-
Tork	0,13%
LTRs não classificados	5,66%
LINEs	-
Pararetrovirus	-
Classe II	
TIR	-
CACTA	-
MuDR_Mutator	0,02%
DNAsat	4,47%
DNAr	
5S	0,08%
35S	2,97%
Não classificados	1,72%
Total	47,29%

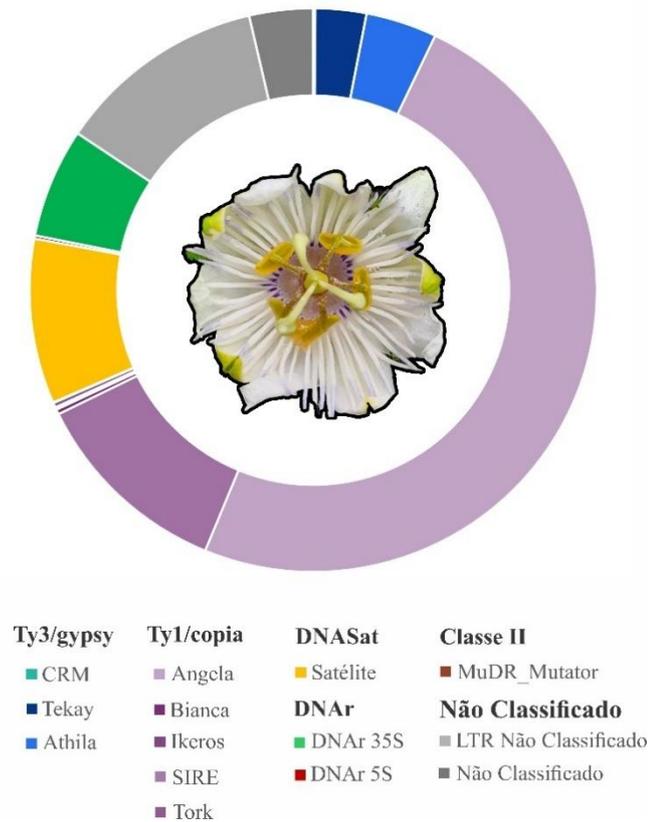


Figura 3. Abundância de DNA repetitivo em *P. foetida*. Superfamília Ty3/gypsy (tons de azul); Ty1/copia (tons de roxo); DNA satélite (amarelo); DNAs ribossomais (vermelho e verde); Classe II (marrom) e não classificados (tons de cinza).

Dos sete *clusters* identificados como DNAsat, um apresentou alta confiança pela ferramenta TAREAN do *RepeatExplorer2*, cinco apresentaram baixa confiança e um foi identificado com base na similaridade com o banco de dados de *Passiflora* (Tabela 5). Três *clusters* foram compartilhados entre espécies, dois deles (CLs 34 e 75) tendo similaridade com DNAsats de *P. quadrangularis* e um (CL 70) com PorSat04-1800 de *P. organensis*. Por outro lado, quatro *clusters* não foram identificados na base de dados, sendo dois deles (cluster 2 e 28) similares entre si (85,2% de identidade) e considerados a mesma família de DNAsat (PfoSat01-27). Sendo assim, três famílias de DNAsat possivelmente espécie-específicas foram identificadas (Figura 4). O PfoSat02-31 apresentou certa similaridade com o DNAr 35S. Já o único *cluster* de alta confiança (PfoSat03-447) apresentou 447 pb (0,01%), enquanto os demais *clusters* tiveram abundâncias variando entre 3,34 e 0,01% (Tabela 5).

Família	Cluster	Tamanho de monômeros (pb)	GC%	Abundância (%)	Confiança do TAREAN
<i>P. foetida</i>					

PfoSat01-27	2/28	27	50%	3,34%	Baixa
PfoSat02-31	55	31	77,4%	0,31%	Baixa
PfoSat03-447	107	447	38,5%	0,01%	Alta
P.					
<i>quadrangularis</i>					
PquSat01-100	34	1851	50%	0,63%	Baixa
PquSat06-1083	75	137	37,2%	0,05%	-
<i>P.organensis</i>					
PorSat04-1800	70	2478	29,7%	0,11%	Baixa

Tabela 5. Proporção de abundância (%), tamanho dos monômeros e similaridade com banco de dados dos satélites

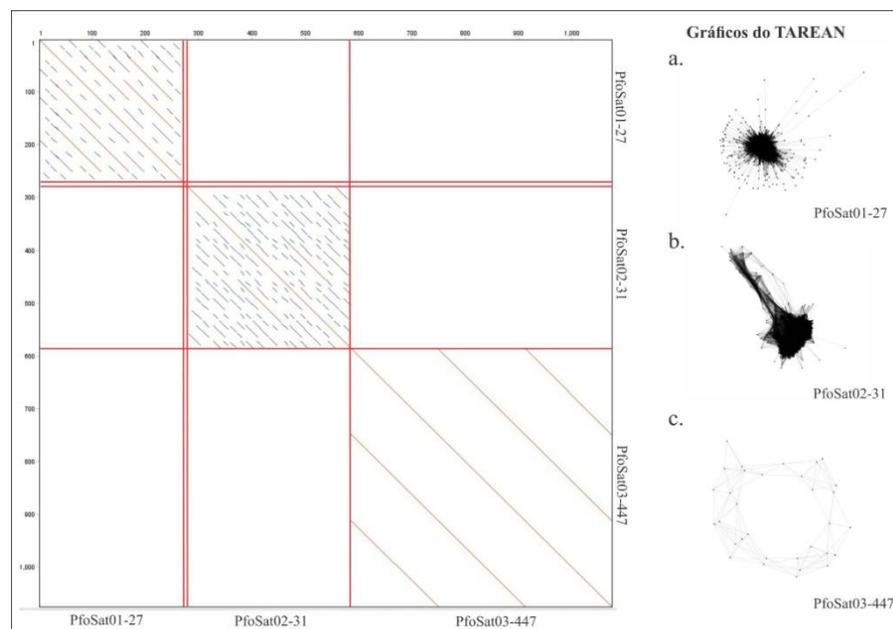


Figura 4. Dotplot de contigs de satélites específicos de *P. foetida*, contendo repetições para PfoSat01-37, PfoSat02-31 e PfoSat03-447 (à esquerda) e gráficos dos mesmos DNAsats disponibilizados pelo TAREAN (à direita). **a.** PfoSat01-27; **b.** PfoSat02-31; **c.** PfoSat03-447.

Todos os satélites identificados na caracterização individual, tiveram suas sequências localizadas ao longo dos pseudocromossomos de *P. foetida*, além das sequências de DNA ribossomal 5S e 35S, para visualização de possíveis sintenias entre os satélites e essas regiões. O satélite PfoSat01-27 foi detectado nos dez pares cromossômicos, com alto pico encontrado no pseudocromossomo 6 (Figura 5), enquanto nos demais mostrou um padrão mais disperso. PfoSat02-31 apresentou picos praticamente colocalizados e de intensidades similares ao DNAr 35S nos pseudocromossomos 2, 4, 5 e 10, com maiores picos em 4 e 5. PfoSat03-447, por sua vez, apresentou múltiplos picos nos pseudocromossomos 1, 2, 6, 7, 8 e 9, mostrando sintenia

no pseudocromossomo 2 com o DNAr 35S e os demais satélites (Figura 5).

Em relação aos satélites compartilhados com outras espécies, foi confirmada a relação entre PquSat01-100 e o DNAr 35S, como descrito na literatura (Sader et al., 2021), com maiores picos nos pseudocromossomos 4 e 5, e menores nos 2 e 10. Outro satélite descrito para *P. quadrangularis* (PquSat06-1083) foi observado principalmente nos pseudocromossomos 1 e 7. Já PfoSat04-1800, o satélite compartilhado com *P. organensis*, foi detectado nos pseudocromossomos 3 e 9. Nenhum desses satélites se localizou nos mesmos pseudocromossomos, estando bem distribuídos em todos os cromossomos (Figura 6).

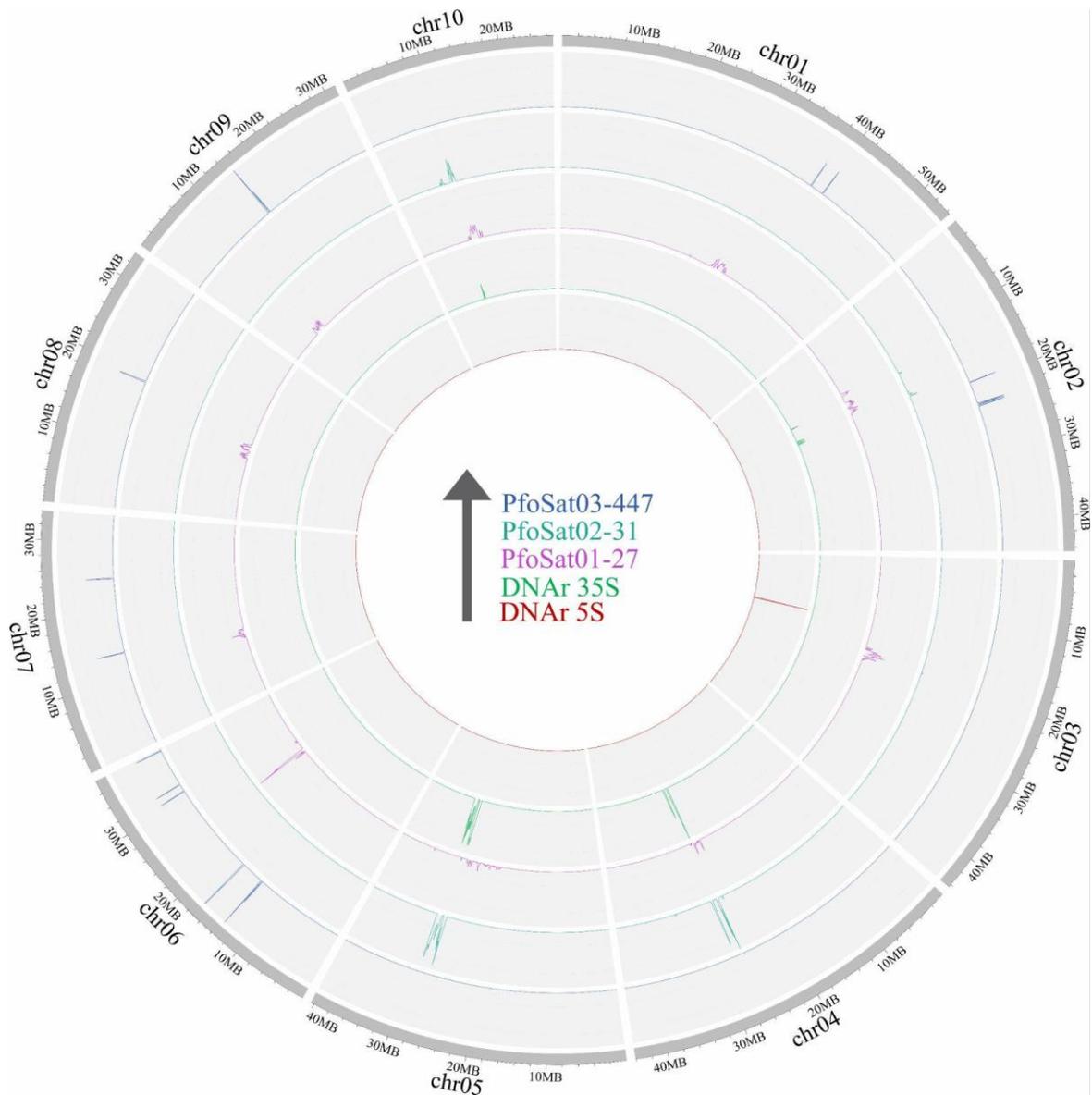


Figura 5. Distribuição das sequências de DNAr 5S e 35S e satélites específicos (PfoSat01-27; PfoSat02-31; PfoSat03-447) em pseudocromossomos de *P. foetida*. A seta no centro aponta a ordem das sequências, do centro para a periferia, com o DNAr 5S (vermelho), DNAr 35S (verde), PfoSat01-27 (lilás), PfoSat02-31 (azul claro) e PfoSat03-447 (azul escuro).

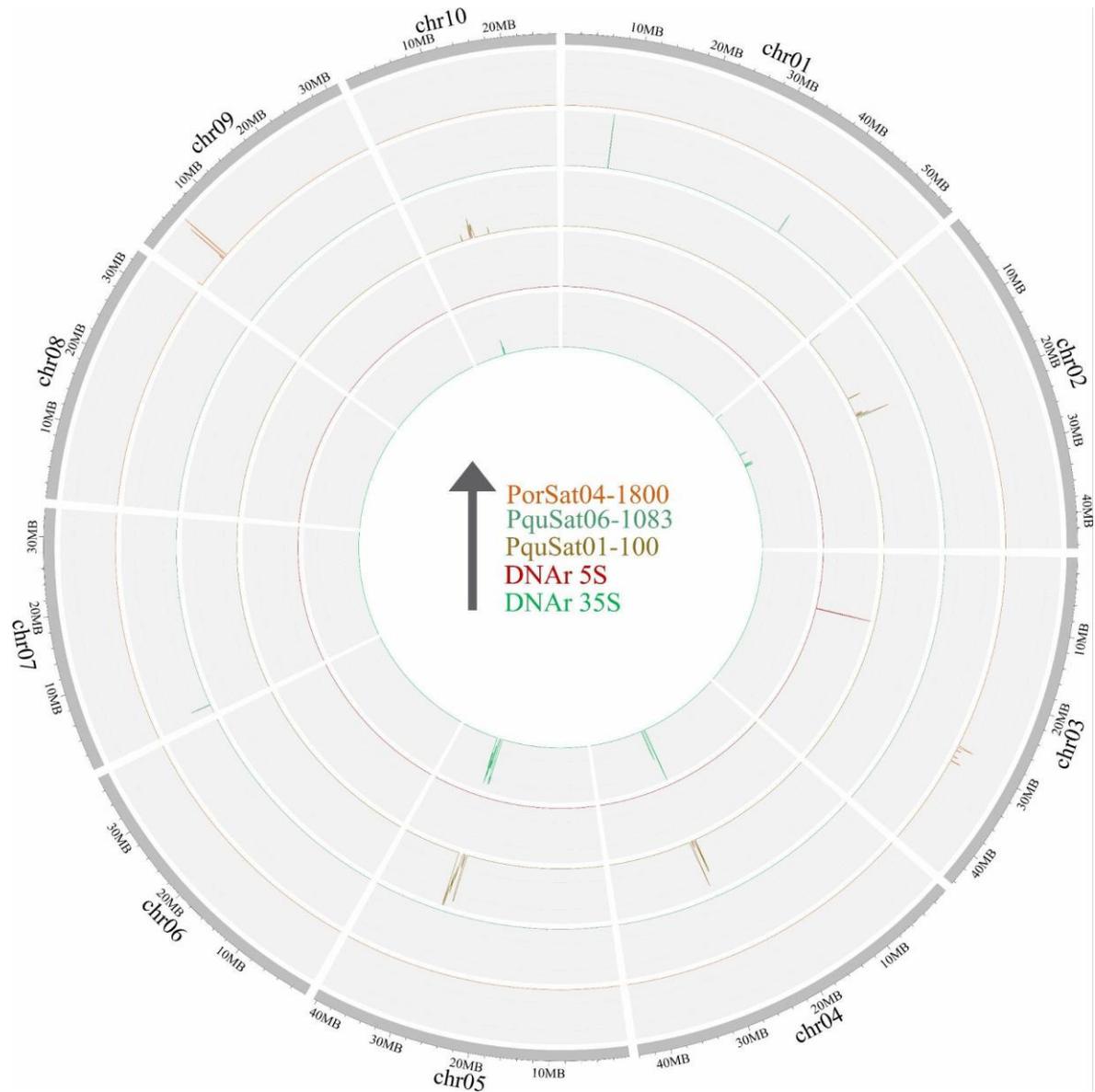


Figura 6. Distribuição das sequências de DNAr 5S e 35S e satélites compartilhados entre espécies (PquSat01-100; PquSat06-1083; PorSat04-1800) em pseudocromossomos de *P. foetida*. A seta no centro aponta a ordem das sequências, do centro para a periferia, com o DNAr 5S (vermelho), DNAr 35S (verde), PquSat01-100 (castanho claro), PquSat06-1083 (verde piscina) e PorSat04-1800 (laranja).

Os satélites mais abundantes em *P. foetida* foram analisados *in situ* (Figura 7). O satélite PfoSat01-27, identificado como o mais abundante em *P. foetida*, mostrou sinais em nove pares cromossômicos nos acessos analisados, principalmente nas regiões (peri)centroméricas. Os sinais foram próximos, mas não colocalizados aos sítios de DNAr 35S, que se apresentaram proximais em três pares cromossômicos, sendo um deles de menor intensidade (Figura 7a-f). Houve variação entre acessos quanto à distribuição do 5S, com um acesso apresentando um par adicional terminal fraco (Figura 7a) enquanto os demais apresentaram apenas um par (Figura

7c, e). Pares heteromórficos quanto à intensidade dos sinais de DNAr 5S e PfoSat01-27 foram observados (7c-f).

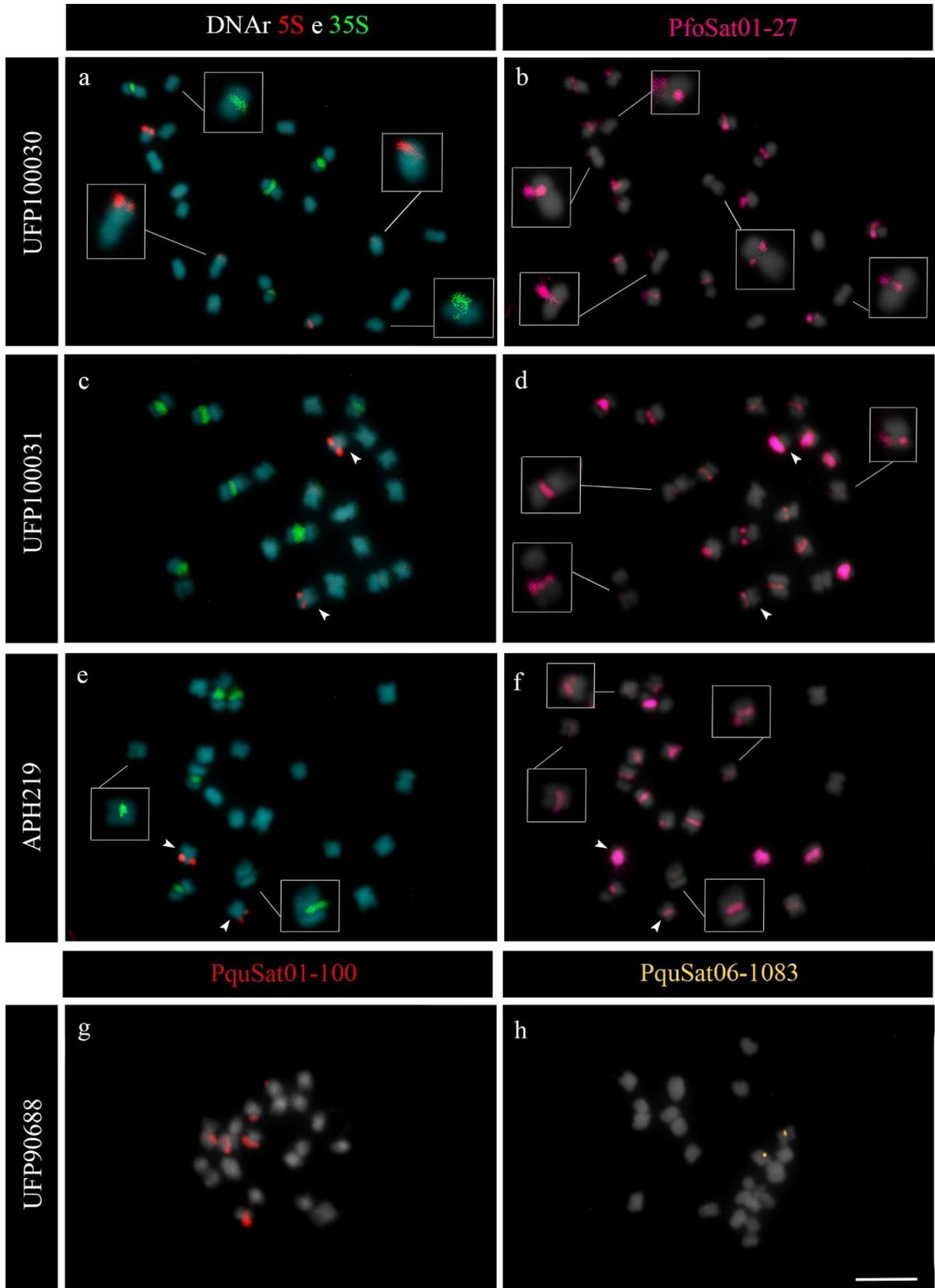


Figura 7. Localização *in situ* de satélites em *Passiflora foetida*. DNAr 5S (vermelho) e 35S (verde) em **a, c, e**. DNAsat espécie-específico, PfoSat01-27 (rosa) em diferentes acessos de *P. foetida* em **b, d, f**. PquSat01-100 (vermelho) em **g**. PquSat06-1083 (amarelo) em **h**. Insertos indicam os sinais mais fracos. Cabeças-de-setas apontam pares cromossômicos heteromórficos. Barra em **h** = 5µm.

O DNA satélite PquSat01-100 possui cerca de 0,6% de abundância dentro da fração repetitiva de *P. foetida* e apresentou blocos proximais possivelmente correspondentes ao DNAr 35S (Figura 7g). Já o satélite PquSat06-1083 apresentou sinal pericentromérico em apenas um par cromossômico (Figura 7h).

3.3 Análise Comparativa Entre Espécies do Subgênero *Passiflora*

Uma análise comparativa foi realizada incluindo espécies do subgênero *Passiflora* previamente caracterizadas, como *P. cincinnata*, *P. edulis* e *P. quadrangularis* (Sader et al., 2021), assim como espécies que tiveram seu repitoma descrito pela primeira vez (*P. caerulea*, *P. coccínea*, *P. incarnata* e *P. ligularis*). Além disso, foram escolhidas duas espécies do subgênero *Decaloba* como grupo externo, *P. organensis* e *P. suberosa* (Tabela 6). A caracterização da fração repetitiva comparativa do genoma das espécies revelou 199 *clusters* com abundância acima de 0,01% dos genomas, com a fração repetitiva variando entre 16,79% e 78,56% (Tabela 6). Houve variação na abundância das superfamílias de retroelementos entre as espécies, uma vez que a superfamília de retrotransposons LTR Ty1/copia foi a mais abundante não apenas em *P. foetida* (23,55%), mas também em *P. coccinea* e *P. cincinnata*, correspondendo entre 34,95% e 35,70% dos genomas. Angela foi a linhagem mais abundante, representando a maior parte dessa fração, representando 29,85% (*P. coccínea*) e 28,64% (*P. cincinnata*; Tabela 6, Fig. 8). Enquanto isso, a fração de retrotransposons Ty3/gypsy foi mais abundante nas demais espécies, variando de 27,28% em *P. incarnata* a 47,81% *P. ligularis*, inclusive nas espécies utilizadas como grupo externo do subgênero *Decaloba* (11,96% e 31,51%). Tekay foi a linhagem mais abundante, seguido de Athila, que apresentou uma maior presença principalmente em *P. caerulea* (12,75%) e *P. edulis* (12,76%). Elementos de Classe II apresentaram abundância reduzida em todas as espécies (Tabela 6, Figura 8).

As sequências em tandem exibiram ampla variação entre as espécies, onde o conteúdo de DNAr 35S se mostrou mais abundante principalmente em *P. foetida* (3,46%), seguido de *P. suberosa* (1,74%) e *P. organensis* (1,79%). Em contrapartida, *P. quadrangularis* apresentou a menor proporção (0,80%). O DNAr 5S, apesar da baixa abundância, foi mais abundante em *P. incarnata* (0,24%), seguido de *P. foetida* (0,11%). Por outro lado, *P. caerulea*, *P. coccinea*, *P.*

cincinnata, *P. quadrangularis* e *P. organensis* apresentam a menor proporção (0,01%). Sequências de DNAsat têm uma baixa proporção na maioria das espécies, mas exibem uma abundância de quase 4% em *P. foetida*, e de menos de 1% em *P. organensis* e demais espécies, não sendo detectados em *P. cincinnata*, *P. ligularis* e *P. suberosa* (Tabela 6, Figura 8 e 9).

Tabela 6. Número cromossômico (Melo & Guerra, 2021), tamanho de genoma (Yokoto, 2011), número de sequências amostradas automaticamente para a análise de agrupamento comparativo, cobertura resultante e proporção das sequências nos principais *clusters* correspondendo à fração repetitiva de oito espécies do subgênero *Passiflora* e duas do subgênero *Decaloba* identificadas pelo *RepeatExplorer2*.

		<i>P. cearulea</i>	<i>P. coccinea</i>	<i>P. cincinata</i>	<i>P. quadrangularis</i>	<i>P. edulis</i>	<i>P. liguralis</i>	<i>P. incarnata</i>	<i>P. foetida</i>	<i>P. organensis</i>	<i>P. suberosa</i>
	<i>2n</i>	18	18	18	18	18	18	18	20	12	24
	Tamanho do Genoma	1355,5 Mpb	1307,8 Mpb	1338,7 Mpb	2621,0 Mpb	1230,3 Mpb	1382,8 Mpb	644,5 Mpb	440,1 Mpb	207,3 Mpb	668,9 Mpb
	Leituras na análise comparativa	466,296	450,010	477,950	902,074	423,924	476,722	221,998	151,300	71,520	230,588
	Cobertura	0.05x	0.05x	0.05x	0.05x	0.05x	0.05x	0.05x	0.05x	0.05x	0.05x
TEs											
Classe I	Ty3/gypsy	42,94%	31,82%	27,95%	46,09%	46,36%	47,81%	27,28%	4,38%	11,96%	31,51%
	Chromovirus	0,18%	0,02%	0,36%	0,32%	0,11%	0,11%	0,33%	0,24%		
		CRM									
		Galadriel									
		Reina									
		Tekay	30,01%	22,18%	17,83%	38,88%	33,49%	42,08%	2,26%	11,96%	15,87%
	Non-chromovirus	Athila	12,75%	9,62%	9,76%	6,89%	12,76%	5,62%	6,04%	1,88%	15,64%
		Ogre									
		Tat									
	Ty1/copia	17,76%	35,95%	35,71%	27,42%	18,33%	18,11%	18,89%	23,55%	0,87%	6,63%
		Ale	0,04%	0,03%	0,11%	0,07%	0,04%	0,04%	0,03%		
		Angela	11,57%	29,85%	28,64%	26,73%	16,14%	17,39%	15,12%	19,97%	0,01%
		Bianca	0,21%	0,21%	0,17%	0,09%	0,15%	0,13%	0,22%	0,47%	0,90%
		Ikeros	0,11%	0,18%	0,29%	0,13%	0,14%	0,10%	0,21%	0,12%	0,04%
		Ivana	0,01%	0,02%	0,02%	0,01%	0,01%	0,01%	0,03%		
		SIRE	5,62%	4,38%	5,94%	0,27%	1,53%	0,24%	2,99%	2,77%	0,03%
		TAR									
		Tork	0,20%	0,28%	0,54%	0,12%	0,32%	0,20%	0,29%	0,22%	0,31%
	LINEs										
	Pararetrovirus		0,01%		0,05%	0,01%	0,01%	0,01%	0,01%		
Classe II											
		Tir									
		CACTA									
		hAT	0,04%	0,02%	0,05%	0,02%	0,03%	0,03%	0,05%	0,06%	0,01%
		MuDR_									
		Mutator	0,01%	0,02%	0,03%	0,01%	0,02%	0,02%	0,02%	0,02%	
	SatDNA		0,04%	0,03%		0,05%	0,06%	0,01%	3,98%	0,97%	
	DNAr	5S	0,01%	0,01%	0,01%	0,01%	0,03%	0,08%	0,29%	0,11%	0,04%
		35S	1,00%	1,29%	0,93%	0,80%	0,87%	1,34%	1,65%	3,46%	1,74%
	LTR não-classificados		4,11%	2,90%	1,91%	2,33%	3,09%	1,61%	3,54%	5,86%	2,89%
	Não classificados		6,18%	2,58%	1,89%	1,81%	2,25%	1,46%	2,44%	8,87%	0,82%
	Total		72,11%	73,64%	68,48%	78,56%	71,05%	70,49%	54,24%	50,35%	43,31%

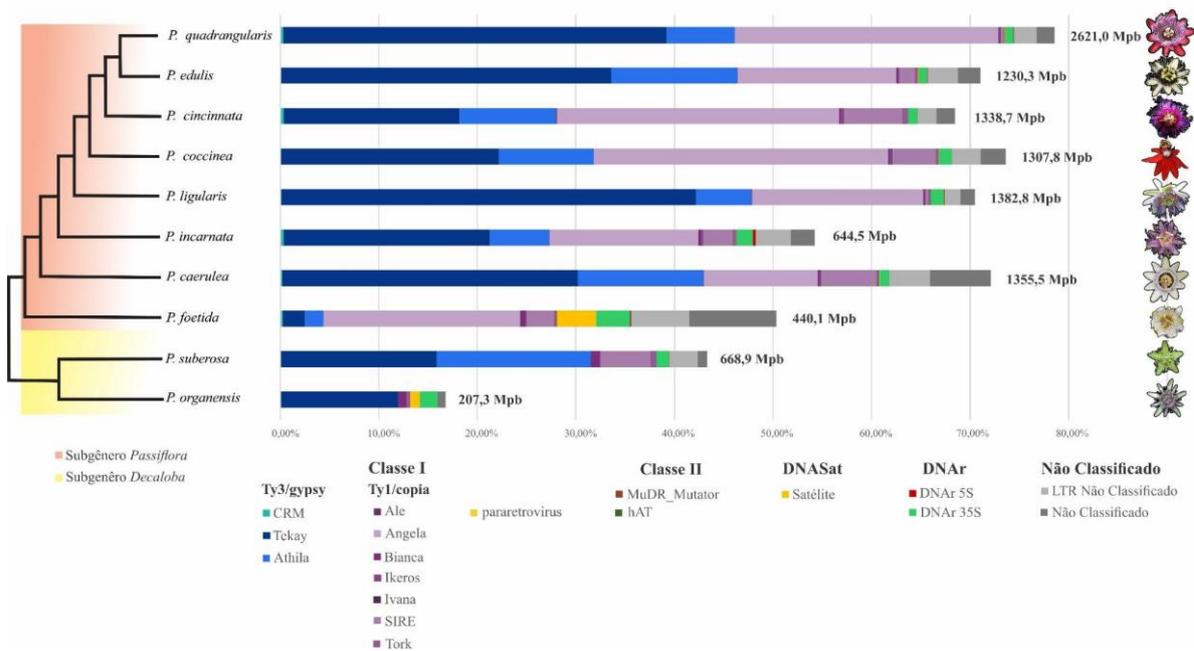


Figura 8. Análise comparativa da abundância de DNA repetitivo em diferentes espécies do subgênero *Passiflora* e *Decaloba* (grupo externo) representados de acordo com suas relações filogenéticas inferidas a partir da montagem de seus plastomas, utilizando *P. edulis* como referência. Fotos: *P. edulis*, *P. coccinea*, *P. ligularis*, *P. incarnata*, *P. caerulea*, *P. suberosa* modificadas do *Phytoimages*; *P. organensis* modificada de Costa et al. (2021); *P. cincinnata* modificada de Regis Moreira Vieira (Reflora – Bernacci et al., 2025); *P. quadrangularis* modificada da National Gardening Association.

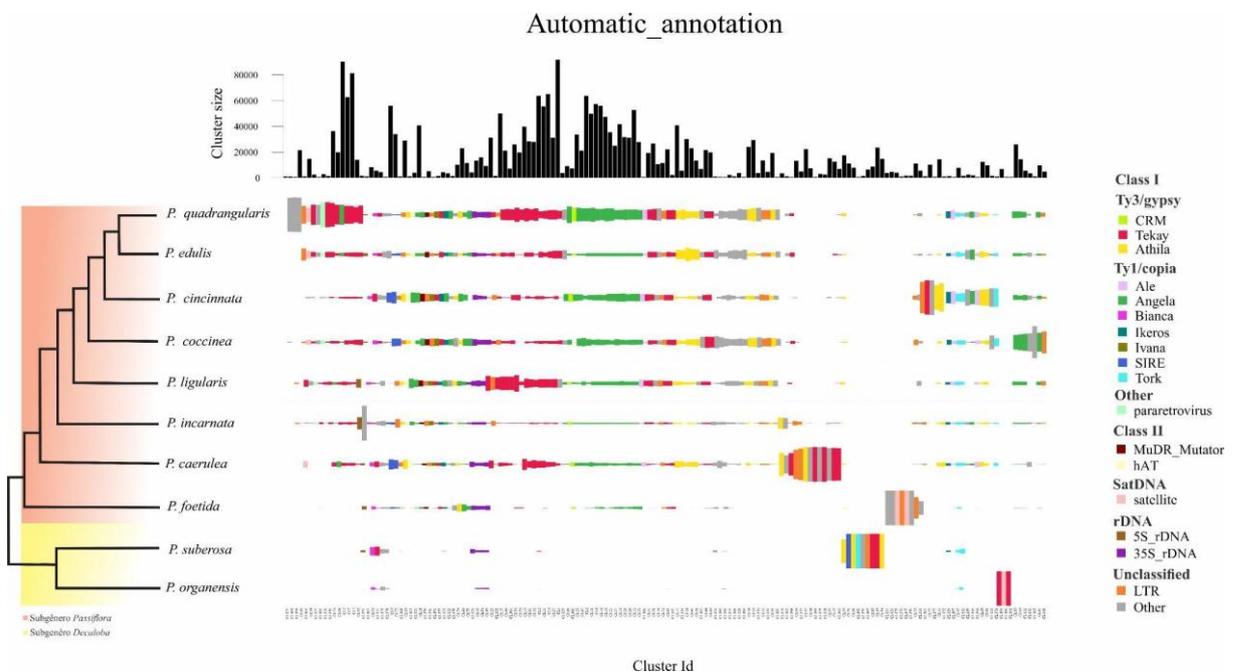


Figura 9. Abundâncias dos clusters identificados com base na análise comparativa do pipeline *RepeatExplorer2* em diferentes espécies do subgênero *Passiflora* e *Decaloba* (grupo externo) representados de acordo com suas relações filogenéticas inferidas a partir da montagem de seus plastomas, utilizando *P. edulis* como referência.

A análise comparativa revelou 4 *clusters* com similaridade com DNAsats identificados no banco de dados. PquSat02-145 e PorSat01-161 foram identificados como satélites de alta confiança, enquanto o satélite PfoSat01-27 foi encontrado em dois *clusters*, como satélite de baixa confiança. O satélite PquSat02-145, foi o único compartilhado entre as espécies, com baixa divergência entre elas, sendo mais abundante em *P. edulis* (0,06%) e menos abundante em *P. incarnata* (0,01%). Os satélites identificados na análise comparativa apresentaram no geral abundância abaixo de 1%, com exceção do DNAsat PfoSat01-27 que correspondeu a 3,98% do genoma de *P. foetida*, sendo identificado apenas nessa espécie (Tabela 7).

Tabela 7. Proporção de abundância (%) dos principais satélites identificados na análise comparativa do RepeatExplorer2 em diferentes espécies do subgênero *Passiflora* e *Decaloba*

	PquSat02-145	PorSat01-161	PfoSat01-27
Subg. <i>Passiflora</i>			
<i>P. caerulea</i>	0,04%		
<i>P. cincinnata</i>			
<i>P. coccinea</i>	0,03%		
<i>P. edulis</i>	0,06%		
<i>P. foetida</i>			3,98%
<i>P. incarnata</i>	0,01%		
<i>P. liguralis</i>			
<i>P. quadrangularis</i>	0,05%		
Subg. <i>Decaloba</i>			
<i>P. organensis</i>		0,97%	
<i>P. suberosa</i>			

3.3 Análise entre Variedades de *P. foetida*

A análise comparativa entre acessos de variedades de *P. foetida* revelou ampla variação na constituição da fração repetitiva do genoma, variando de 24,58% a 64,10% (Tabela 8). A análise dentro das variedades revelou padrões distintos na fração repetitiva, onde var. *acapulsensis* apresentou valores intermediários, entre 38,38% (Pf071) e 41,34% (Pf0102). A var. *baraquiniana* exibiu a maior variação interna, entre 24,58% (Pf008) e 49,42% (Pf018). A var. *foetida* também variou significativamente, com Pf057 apresentando 27,65% da fração repetitiva, enquanto Pf031 atingiu 55,99%. A var. *ellisonii* se destacou por apresentar as frações repetitivas mais elevadas, variando entre 52,83% (Pf001) e 64,10% (Pf064). Já a var.

nigelliflora apresentou valores altos e menos diversos, entre 43,80% (Pf085) e 55,10% (Pf007) (Figura 10).

Os elementos de Classe I foram os mais representativos. Na superfamília Ty1/copia, a linhagem Angela foi mais abundante em todas as variedades, exibindo variações significativas entre si, onde a menor abundância foi na var. *baraquiniana* (Pf023 – 4,36%), e a maior na var. *ellisonii* (Pf064–38%). A linhagem SIRE também apresentou valores elevados, particularmente na var. *ellisonii* (8,62%), var. *foetida* (9,28%) e var. *nigelliflora* (10,79%). Em comparação, na superfamília de retrotransposons Ty3/gypsy, a linhagem Tekay foi a mais abundante na var. *foetida* (Pf031 – 2,44%) e var. *nigelliflora* (Pf020 – 2,41%). Os LINEs tiveram participação reduzida, sendo detectados apenas em alguns acessos com valores muito baixos (< 0,5%). Os transposons de Classe II contribuíram com uma variação entre 0,01% a 0,20% entre os acessos e suas variedades (Tabela 8).

Os DNAsats apresentaram uma variação considerável em abundância entre os acessos, onde os menores valores observados na var. *foetida* (Pf031 – 3,17%) e var. *ellisonii* (Pf153 – 3,89%), enquanto isso, os maiores valores foram observados na var. *baraquiniana* (Pf008 – 10,65%). Em relação ao DNAr 5S e 35S, a variação foi mais presente. O DNAr 35S foi mais abundante na var. *baraquiniana* (Pf023 – 8,34%) com o menor valor na var. *nigelliflora* (Pf007 – 1,27%). Já o DNAr 5S foram geralmente presentes abaixo de 1% (Tabela 9).

Tabela 8. Número cromossômico, tamanho de genoma (de acordo com Melo; Guerra, 2021; Yokoto, 2011) para *P. foetida*, número de sequências (leituras) amostradas automaticamente para a análise de agrupamento, cobertura resultante e proporção de leituras nos principais *clusters* correspondendo à fração repetitiva para diferentes indivíduos e proporção lida do genoma (%) das sequências repetitivas identificadas na análise comparativa do *RepeatExplorer2* de 15 indivíduos de *P. foetida*, destacando três para cada uma das variedades identificadas.

<i>2n</i>	Tamanho do Genoma (1C)	var. <i>acapulsensis</i>			var. <i>baraquiniana</i>			var. <i>ellisonii</i>			var. <i>foetida</i>			var. <i>nigelliflora</i>		
20	440,1 Mpb	Pf071	Pf078	Pf102	Pf008	Pf018	Pf023	Pf001	Pf064	Pf153	Pf031	Pf057	Pf107	Pf007	Pf020	Pf085
	Leituras na análise comparativa	105,972	106,390	106,114	106,458	106,772	106,010	107,598	105,776	106,998	106,756	105,864	106,124	107,138	106,314	106,140
	Cobertura	0.03x	0.03x	0.03x	0.03x	0.03x	0.03x	0.03x	0.03x	0.03x	0.03x	0.03x	0.03x	0.03x	0.03x	0.03x
TEs																
Classe I	Ty3/gypsy	4,59%	4,64%	4,60%	1,11%	4,51%	0,76%	4,06%	5,08%	4,20%	5,15%	1,82%	4,40%	4,41%	4,28%	3,82%
	Chromovirus	CRM	0,41%	0,24%	0,45%	0,02%	0,17%	0,02%	0,14%	0,10%	0,16%	0,07%	0,15%	0,09%	0,14%	0,03%
		Galadriel	0,04%	0,13%	0,08%	0,02%	0,05%	0,00%	0,17%	0,14%	0,16%	0,13%	0,03%	0,07%	0,03%	0,05%
		Reina														
		Tekay	1,01%	1,27%	1,08%	0,54%	2,34%	0,33%	2,00%	2,20%	2,02%	2,44%	0,79%	2,30%	2,10%	1,98%
	Non-chromovirus	Athila	3,13%	3,00%	2,99%	0,53%	1,95%	0,41%	1,75%	2,64%	1,88%	2,42%	0,93%	1,88%	2,19%	1,76%
		Ogre														
	Ty1/copia	21,58%	19,66%	21,75%	8,22%	29,94%	4,98%	36,24%	45,83%	36,57%	40,40%	19,14%	29,55%	36,93%	27,44%	26,10%
		Ale														
		Angela	20,34%	18,73%	20,50%	5,63%	23,60%	4,36%	27,29%	38,00%	27,25%	30,28%	14,17%	23,12%	25,47%	19,69%
		Bianca	0,42%	0,19%	0,41%	0,07%	0,46%	0,03%	0,33%	0,20%	0,37%	0,48%	0,14%	0,46%	0,37%	0,41%
		Ikeros	0,08%	0,05%	0,06%	0,01%	0,12%		0,09%	0,06%	0,08%	0,11%	0,03%	0,10%	0,09%	0,07%
		Ivana														
		SIRE	0,56%	0,53%	0,59%	2,47%	5,51%	0,57%	8,29%	7,35%	8,62%	9,28%	4,70%	5,66%	10,79%	7,11%
		TAR	0,02%	0,02%	0,03%		0,01%		0,01%	0,01%	0,01%		0,01%	0,02%	0,01%	
		Tork	0,16%	0,14%	0,16%	0,04%	0,24%	0,02%	0,23%	0,21%	0,24%	0,24%	0,10%	0,20%	0,19%	0,13%
	LINEs						0,23%					0,44%	0,01%		0,01%	
	Pararetrovirus															
Classe II	Tir															
	CACTA															
		hAT	0,07%	0,07%	0,07%	0,01%	0,10%	0,00%	0,08%	0,07%	0,08%	0,13%	0,03%	0,08%	0,07%	0,05%
		MuDR_Mutato	0,05%	0,04%	0,07%	0,02%	0,10%	0,01%	0,12%	0,10%	0,12%	0,15%	0,06%	0,08%	0,09%	0,07%
SatDNA		4,96%	6,64%	5,45%	10,65%	4,60%	8,17%	3,86%	4,68%	3,89%	3,17%	2,39%	5,68%	6,47%	5,91%	5,13%

DNAr	5S	0,63%	0,66%	0,67%	0,03%	0,07%	0,03%	0,07%	0,07%	0,05%	0,04%	0,03%	0,07%	0,05%	0,14%	0,04%
	35S	3,18%	4,85%	4,88%	3,47%	3,29%	8,48%	4,98%	5,63%	5,69%	2,37%	1,47%	3,56%	1,27%	2,31%	1,84%
	LTR não-classificados	3,82%	3,38%	3,76%	1,77%	6,49%	2,78%	3,60%	3,23%	3,41%	4,43%	1,66%	7,41%	5,92%	6,58%	5,35%
	Não classificados	0,51%	0,58%	0,47%	0,18%	0,56%	0,44%	0,48%	0,32%	0,45%	0,43%	1,25%	0,46%	0,32%	0,52%	0,34%
	Total	38,38%	39,02%	41,34%	24,58%	49,42%	24,88%	52,83%	64,10%	54,06%	55,99%	27,65%	50,90%	55,10%	46,75%	43,80%

Exceto pelas amostras da *var. acapulcensis*, que formam um grupo monofilético, apresentando similaridade na abundância dos diferentes *repeats*, as demais variedades não são monofiléticas e a relação entre os acessos apresenta um padrão principalmente correlacionado à distribuição geográfica com base no DNA plastidial (Figs. 10 e 11). A variação observada dentro de cada variedade também ocorre entre os quatro clados formados pelas demais variedades analisadas. Isso sugere que, além das relações filogenéticas, outros fatores influenciam a abundância dos *repeats*. As maiores divergências foram identificadas no clado Argentina-Paraguai.

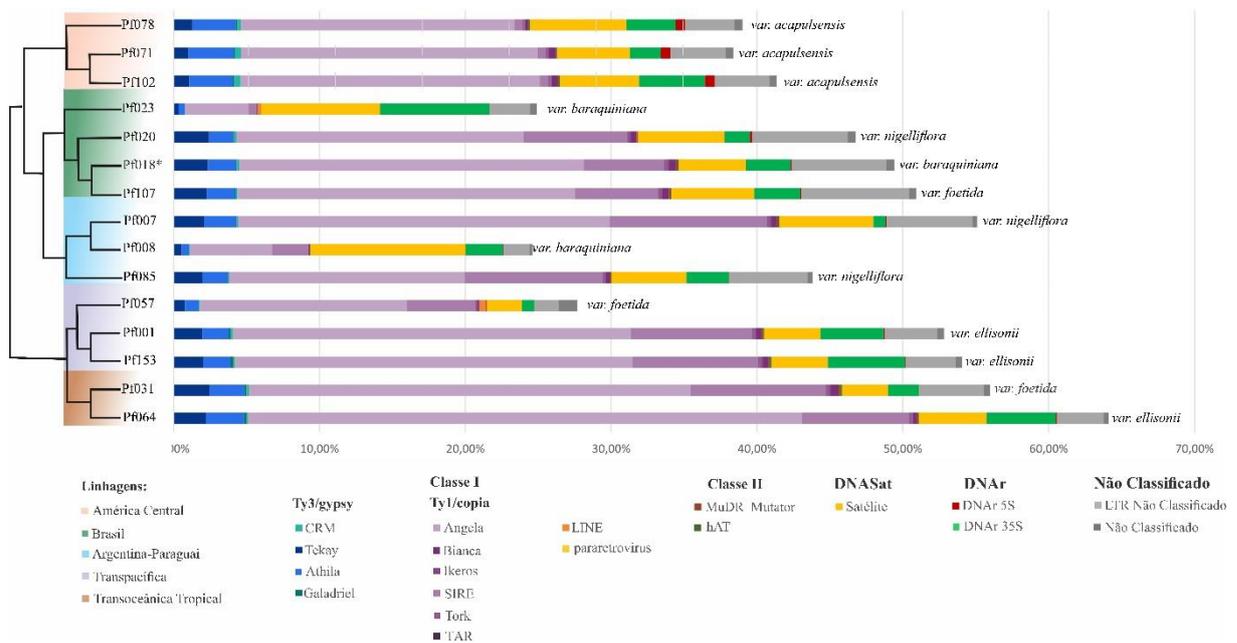


Figura 10. Análise comparativa da abundância de DNA repetitivo em diferentes acessos de *Passiflora foetida* indicando suas distintas variedades. Os acessos são representados de acordo com suas relações filogenéticas inferidas a partir da montagem de seus plastomas, utilizando *P. foetida* como referência.

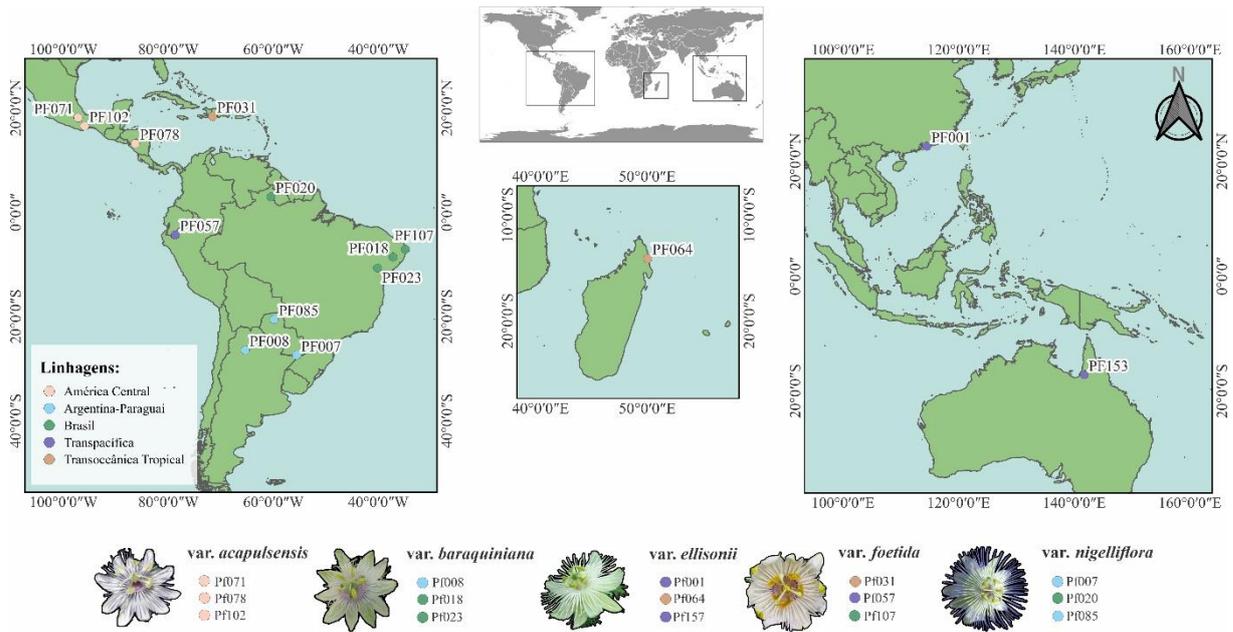


Figura 11. Distribuição geográfica dos acessos analisados de *P. foetida* em relação ao seu agrupamento filogenético e identificação taxonômica. Fotos das flores da var. *acapulensis*, var. *baraquiniana*, var. *ellisonii* e var. *nigelliflora* foram modificadas de Vanderplank (2013).

Embora a maioria dos *clusters* tenham sido compartilhados entre todos os acessos, as maiores divergências em termos de abundância de *clusters* específicos foram observados em *clusters* de DNAsat e DNAr, sendo os acessos mais divergentes o Pf008, Pf023 e Pf057, de três cladogramas e duas variedades distintas (Figura 12). A análise de abundância das diferentes famílias de DNAsat indica que a maior variação está em PfoSat01-28 (2.06% a 9,75%) e PfoSat02-31 (0.11% a 3.97%), com diferenças entre 4,7× e 36×, respectivamente (Tabela 9).

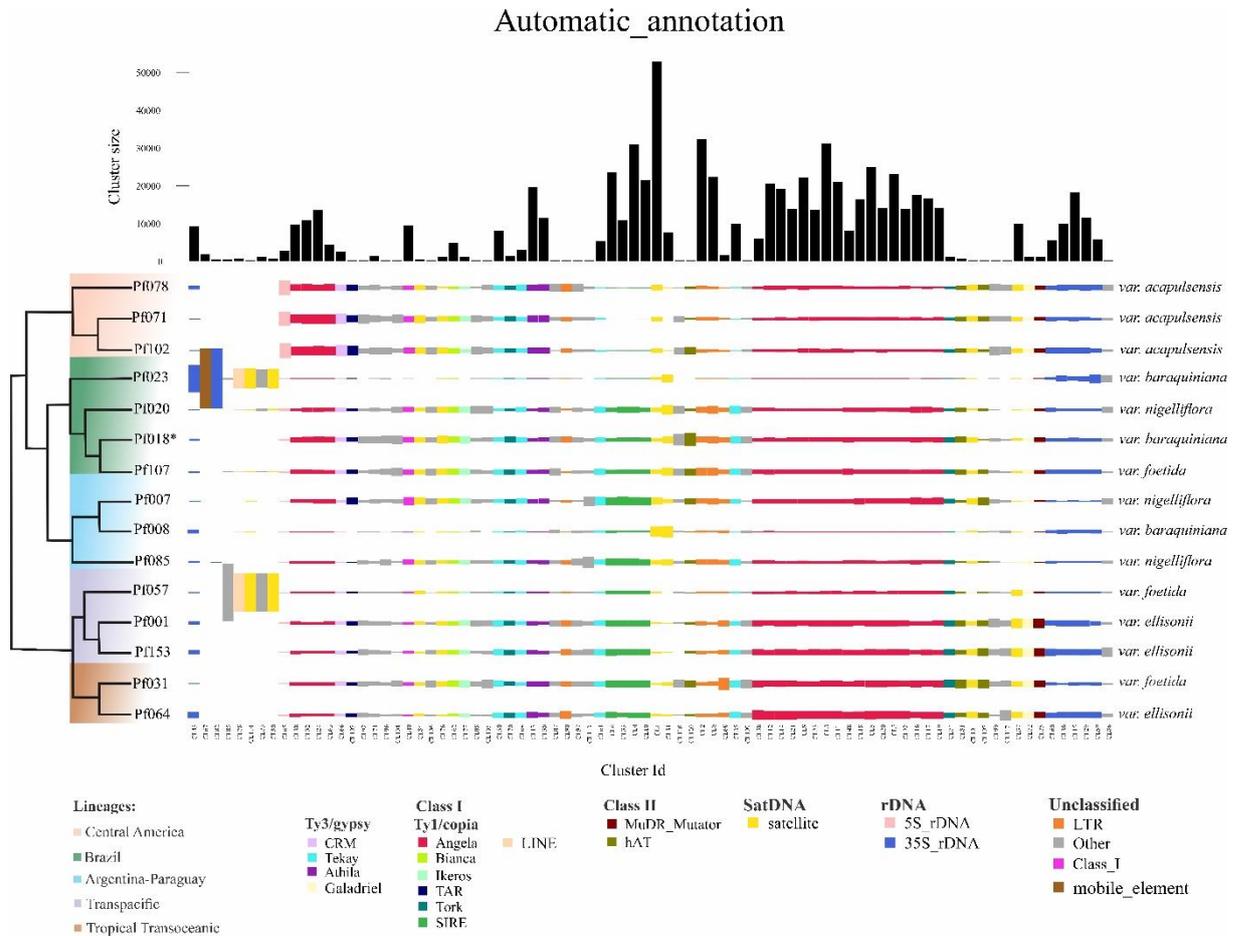


Figura 12. Análise filogenética baseada na abundância de repetições com base na análise comparativa populacional do *pipeline RepeatExplorer2* (à esquerda), feita a partir do plastoma de referência de *Passiflora foetida*.

Tabela 9. Proporção de abundância (%), dos principais DNA satélites identificados na análise comparativa entre indivíduos de variedades de *Passiflora foetida*.

Satélites	PfoSat01-28	PfoSat02-31	PquSat01-100	PquSat06-1083	PorSat04-1800
<i>var. acapulensis</i>					
PF071	4.44%	0.15%	0.24%	0.05%	0.09%
PF078	5.56%	0.52%	0.49%	0.03%	0.03%
PF102	4.73%	0.13%	0.43%	0.04%	0.11%
<i>var. baraquiniana</i>					
PF008	9,75%	0.54%	0.33%	0.01%	0.01%
PF018	3.80%	0.31%	0.32%	0.04%	0.14%
PF023	3,42%	3.97%	0.77%		0.01%
<i>var. ellisonii</i>					
PF001	2.84%	0.50%	0.42%	0.02%	0.08%
PF064	3.15%	0.92%	0.57%	0.02%	0.03%
PF153	2.75%	0.55%	0.50%	0.01%	0.08%

var. <i>foetida</i>					
PF031	2.66%	0.11%	0.28%	0.02%	0.09%
PF057	2.06%	0.15%	0.12%	0.02%	0.03%
PF107	4.89%	0.26%	0.39%	0.03%	0.11%
var. <i>nigelliflora</i>					
PF007	6.10%	0.10%	0.13%	0.05%	0.09%
PF020	5.33%	0.21%	0.23%	0.02%	0.11%
PF085	4.64%	0.23%	0.17%	0.03%	0.06%

3.4 Análise Comparativa entre Espécies da Seção *Dysosmia*

A composição da fração repetitiva do genoma de três espécies de *Passiflora*, seção *Dysosmia* (*P. ciliata*, *P. foetida* e *P. vesicaria*) revelou alguns padrões distintos na distribuição dos elementos transponíveis e demais sequências repetitivas. A maior variação absoluta foi na abundância de Angela, que embora predomine nas três espécies, apresentou 17,41% em *P. ciliata*, 22,41% em *P. foetida* e 28,66% em *P. vesicaria*. Já a linhagem SIRE apresentou a maior variação relativa, com *P. ciliata* apresentando 2,85%, *P. foetida* 5,42% e *P. vesicaria* 10,17%, em relação ao genoma total. Além disso, a presença de outros elementos como TAR foi restrita a *P. foetida* e *P. vesicaria*, ambas com 0,04% (Tabela 10, Figuras 13 e 14).

Na superfamília Ty3/gypsy, *P. ciliata* apresentou os menores valores para a linhagem Tekay (0,74%) e Athila (0,94%), enquanto outras linhagens como LINEs foram identificados em abundância apenas em *P. ciliata* (0,65%), sendo não detectáveis em outras espécies (Tabela 10. Figura 13 e 14). A maior abundância de DNAsat também foi encontrada em *P. ciliata* (4,22%). Já o DNAr 35S foi mais abundante em *P. foetida* (5,95%), superando *P. ciliata* (2,45%) e *P. vesicaria* (2,03%) (Tabela 11). A maior divergência de *P. ciliata* também foi observada na análise de *clusters* individuais, não sendo congruente com a inferência filogenética obtida pelo plastoma (Figura 13).

Tabela 10. Proporção do genoma (%) de sequências repetitivas identificadas na análise comparativa do RepeatExplorer2 de três espécies da seção *Dysosmia*

	<i>P. ciliata</i>	<i>P. foetida</i>	<i>P. vesicaria</i>
<i>2n</i>	-	20	20
Tamanho do Genoma (1C)	518,3 Mpb	440,1 Mbp	567,2 Mpb
Leituras na Análise Comparativa	439,052	437,036	438,968

Cobertura	0.1x	0.1x	0.1x
<i>Repeat</i>			
Classe I			
LTR Ty3/gypsy	0,77%	2,67%	2,36%
Chromovirus			
CRM	0,03%	0,20%	0,17%
Galadriel		0,01%	0,02%
Tekay	0,74%	2,46%	2,17%
Non-chromovirus			
Athila	0,94%	2,09%	2,61%
LTR Ty1/copia	21,30%	30,78%	42,15%
Angela	17,41%	22,41%	28,66%
Bianca	0,05%	0,52%	0,42%
Ikeros	0,02%	0,13%	0,11%
SIRE	2,85%	5,42%	10,17%
TAR		0,04%	0,04%
Tork	0,03%	0,17%	0,14%
LTRs não classificados	1,10%	6,33%	3,94%
LINEs	0,65%		
Classe II			
MuDR_Mutator	0,01%	0,06%	0,05%
hAT	0,01%	0,06%	0,05%
DNAsat	4,22%	1,79%	1,43%
DNAr			
5S	0,05%	0,09%	0,04%
35S	2,45%	5,95%	2,03%
Não classificados	17,69%	3,58%	2,31%
Total	51,30%	48,14%	54,06%

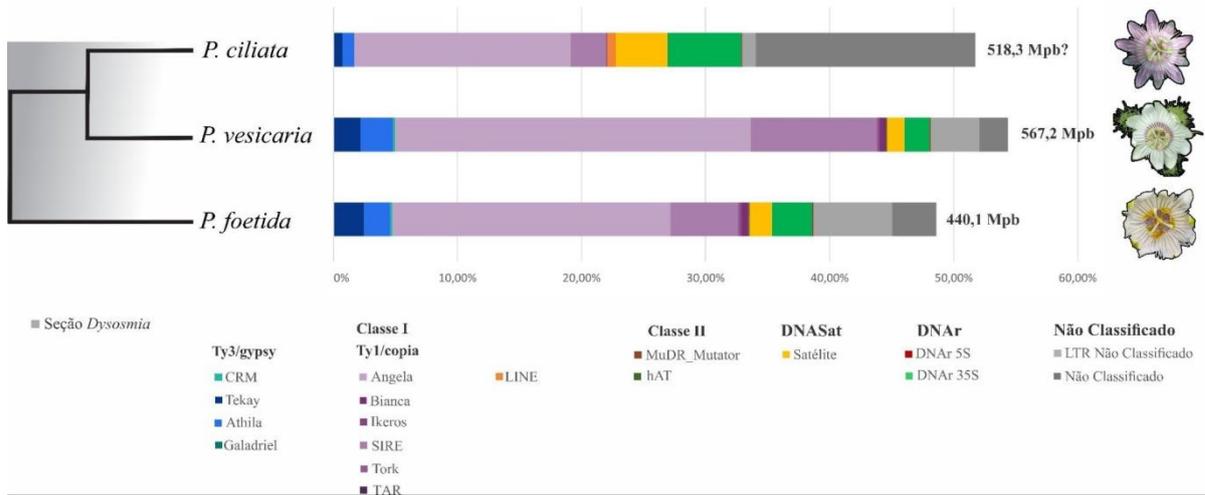


Figura 13. Abundância comparativa de DNA repetitivo em diferentes espécies da seção *Dysosmia*. A abundância de agrupamento individual revelou variação de 48% a 54% em relação às diferentes espécies. Gráfico montado a partir da tabela 15, e árvore plotada a partir de dados do plastoma, utilizando *P. foetida* como referência.

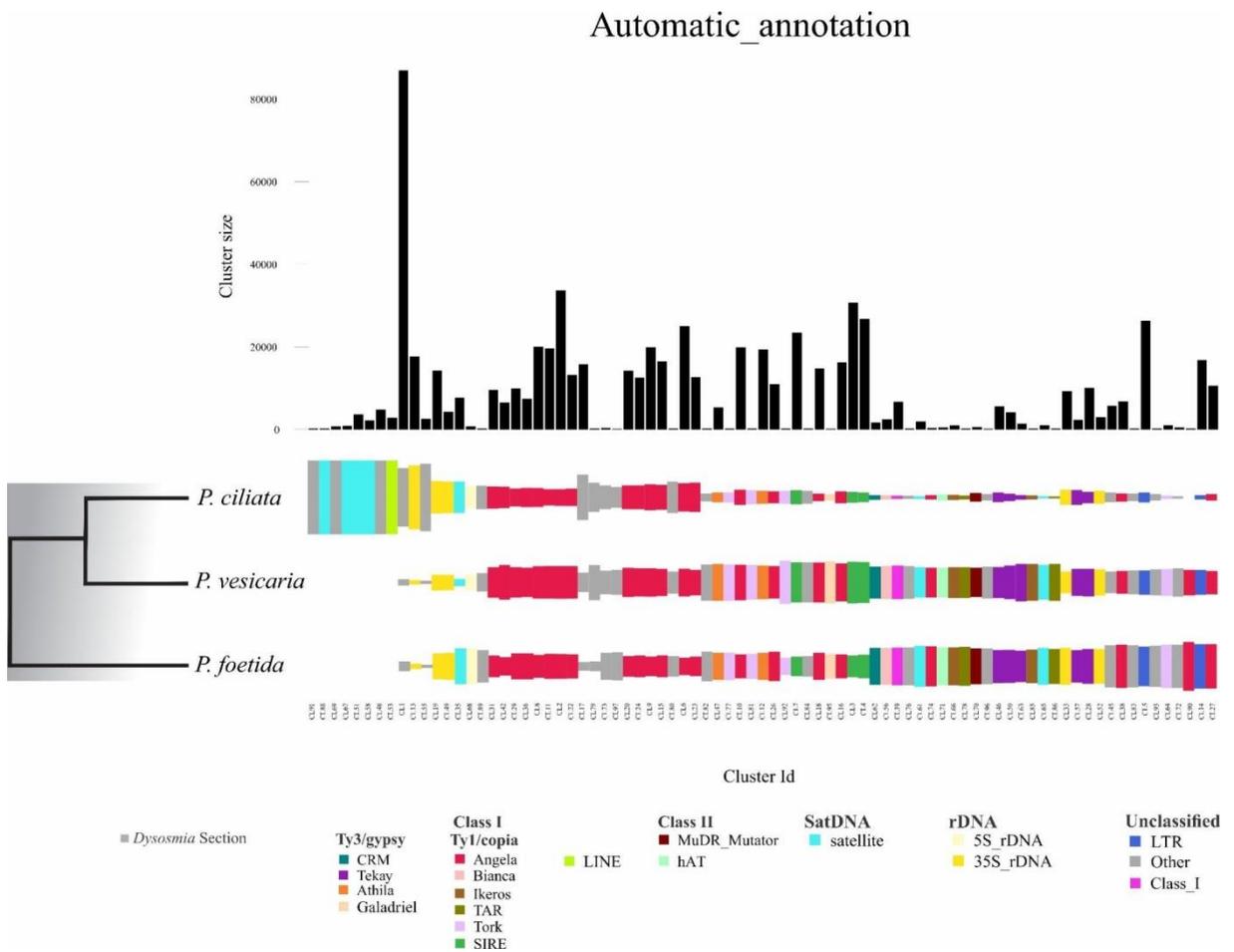


Figura 14. Análise filogenética baseada na abundância de repetições com base na análise comparativa entre espécies da seção *Dysosmia* do pipeline *RepeatExplorer2* (à esquerda), feita a partir do plastoma de referência de *Passiflora foetida*.

A análise de distribuição das principais sequências DNAsat entre as três espécies da seção *Dyosmia* também evidenciou diferenças na abundância e amplificação desses elementos nos diferentes genomas, principalmente em *P. ciliata*. Cinco famílias de DNAsat foram identificadas, sendo uma específica para a espécie *P. ciliata* e as outras compartilhadas entre espécies, inclusive o satélite possivelmente centromérico PfoSat01-27. A maior diversidade de DNAsat foi observada em *P. ciliata*, apresentando uma fração expressiva de PclSat01-697 (0,84%) e PfoSat01-27 (2,95%), enquanto nas outras espécies apresentaram menores proporções desses elementos (Tabela 11). *Passiflora foetida* apresentou uma menor abundância desses DNAsat, com destaque para PfoSat01-27 (1,28%), e uma distribuição menor dos demais DNAsat. *P. vesicaria* apresentou os menores valores da fração de satélite, com o máximo de 1,11% para PfoSat01-27 (Tabela 11). Outros satélites do nosso banco de dados, como PquSat01-100, apresentaram percentuais baixos, com um máximo de 0,42% em *P. ciliata*, e foi menos abundante em *P. foetida* (0,36%) e *P. vesicaria* (0,21%). PquSat06-1083 foi detectado em *P. foetida* (0,04%) e *P. vesicaria* (0,02%), e indetectável em *P. ciliata*. PorSat04-1800 apresentou baixa abundância em todas as espécies, com maior presença em *P. foetida* (0,11%) e *P. vesicaria* (0,10%), e uma baixíssima abundância em *P. ciliata* (0,01%; Tabela 11).

Tabela 11. Proporção de abundância (%), dos principais satélites identificados na análise comparativa entre as espécies da seção *Dyosmia*.

Seção <i>Dyosmia</i>	PclSat01-697	PfoSat01-27	PquSat01-100	PquSat06-1083	PorSat04-1800
<i>P. ciliata</i>	0,84%	2,95%	0,42%		0,01%
<i>P. foetida</i>		1,28%	0,36%	0,04%	0,11%
<i>P. vesicaria</i>		1,11%	0,21%	0,02%	0,10%

4. DISCUSSÃO

4.1 *Passiflora foetida* e Subgênero *Passiflora*

A inferência filogenética aqui apresentada corroborou parcialmente as análises filogenéticas previamente descritas (Cauz-Santos et al., 2020; Pacheco et al., 2020; Sader et al. 2021), reforçando as posições de *P. ligularis* e *P. incarnata*. No entanto, a posição de *P. coccinea* se mostrou divergente, o que pode ser devido ao maior conjunto de dados da presente análise, apesar da menor amostragem de espécies.

Em *P. foetida*, a superfamília Ty1/copia apresentou uma elevada abundância (29%),

assim como observado para a maioria das espécies do subgênero *Passiflora* (Pamponét et al., 2019). Essa superfamília é representada principalmente pelas linhagens Angela e SIRE, corroborando a caracterização a partir do genoma montado (Zou et al., 2023). A prevalência de Ty1/copia foi também encontrada para *P. coccinea* e *P. cincinnata*, embora as demais espécies tenham maior proporção de Ty3/gypsy. As linhagens Ty1/copia Angela e Ty3/gypsy Tekay foram confirmadas como as principais responsáveis pelo aumento do tamanho do genoma no gênero, principalmente no subgênero *Passiflora* (Pamponét et al., 2019; Sader et al., 2021).

De modo geral, TEs (do inglês *Transposable Elements*) representam a maior diversidade entre os genomas de organismos filogeneticamente semelhantes (Hua-Van et al., 2011) e são considerados fonte de novas informações genéticas e regulatórias do genoma, atuando diretamente na evolução dos mesmos (Carareto et al., 2015). Os dados do presente estudo revelaram uma baixíssima frequência de Ty3/gypsy em *P. foetida*, particularmente de Tekay (1,37%), o que está provavelmente associado ao pequeno tamanho do genoma da espécie (Yokoto, 2011). Considerando a maior proporção de Tekay nos demais genomas, inclusive em *P. organensis* (Sader et al., 2021), e a posição filogenética de *P. foetida*, irmã das demais espécies do subgênero *Passiflora* (Cauz-Santos et al., 2020), nossos dados sugerem que pode ter havido uma eliminação preferencial de Tekay em *P. foetida* (Ibarra-Laclette et al., 2013), ou amplificação independente desse elemento nos subgêneros *Passiflora* e *Decaloba*.

4.2 Variação em *P. foetida*

As relações entre os acessos e variedades de *P. foetida* amostrados aqui foram compatíveis com as apresentadas por Hopley et al. (2021), que em seu estudo realiza a separação das populações principalmente em relação à sua distribuição geográfica. A avaliação do repitoma em *P. foetida* a nível intraespecífico revelou uma elevada variação na sua abundância (24,58%-64,10%), comparável à observada entre espécies do gênero (16,79%-78,56%), que abrange uma variação no conteúdo de DNA de mais de 10 vezes (Sader et al., 2021). A variação na abundância da fração repetitiva está geralmente associada ao tamanho genômico das espécies (Albach; Greilhuber 2004; Novák et al., 2020). No entanto, dados da literatura ainda não evidenciaram nenhuma diferença em relação ao tamanho do genoma entre acessos de *P. foetida* (Yokoto et al., 2011; Leite et al., 2019; Mikovski et al., 2021; Zou et al., 2023; Zirpoli et al., 2024).

Além disso, o repitoma de *P. foetida* é particularmente diverso quando comparado às demais espécies do subgênero, sugerindo um dinâmico *turnover* nessa espécie. Embora os

dados corroborem a caracterização individual, onde os indivíduos apresentaram uma alta abundância de Ty1/copia, e uma escassez de Ty3/gypsy, em dois acessos, por exemplo, a proporção de sequências em tandem ultrapassa a de Ty1/copia. Os dados da literatura mostram que diferentes espécies e até mesmo populações diferentes de uma mesma espécie podem desenvolver perfis distintos de elementos repetitivos ou padrões variados de sequências devido a mutações e rearranjos genômicos ao longo do tempo (Oliver et al., 2013; Ricc et al., 2018; Castro et al., 2024). A divergência quanto às proporções da fração repetitiva entre acessos de *P. foetida*, causada por flutuações na amplificação/deleção desses elementos, pode estar associada a pressões ambientais ou outros fatores a serem investigados (Pons; Gillespie 2014; Garrido-Ramos et al., 2015; Feiner et al., 2016; Castro et al., 2024).

As análises filogenéticas, taxonômicas e do repitoma foram incongruentes e não respaldam no momento a subdivisão de *P. foetida* em diferentes espécies. Essas incongruências podem estar associadas ao tempo de divergência entre essas variedades, e à herança uniparental (raramente biparental) do plastoma de *Passiflora*, que pode estar associada a hibridização entre espécies com variação no tamanho do genoma (Shestha et al., 2021; Hopley et al., 2021). De toda forma, a extensa variação intraespecífica observada pode estar associada a isolamento reprodutivo entre acessos, impactando o pareamento cromossômico na meiose ou resultando em incompatibilidades híbridas (Levy et al., 2013; Garrido-Ramos et al., 2015; Castro et al., 2024). Recentes estudos indicam que a transposição do DNA repetitivo pode ser influenciada pelo ambiente, levando frequentemente a ativação ou silenciamento de genes (Kanazawa et al., 2009; Canapa et al., 2020; Castro et al., 2024). As diferentes linhagens de *P. foetida* precisam ser melhores caracterizadas utilizando uma abordagem integrativa, visto que os caracteres morfológicos utilizados por Vanderplanck (2013) para definir variedades se mostraram homoplásicos. De toda forma, filogenias nucleares serão necessárias para melhor interpretar a variação intraespecífica aqui observada.

4.3 A Seção *Dysosmia*

A árvore para a seção *Dysosmia* colocou *P. foetida* como irmã das outras duas espécies (*P. ciliata* e *P. vesicaria*), diferente da posição desses três acessos na árvore de Hopley et al. (2021), em que essas espécies aparecem dentro de clados de *P. foetida* com *P. vesicaria* irmã das outras duas (*P. ciliata* e *P. foetida*). Ambas as topologias discordam da maior divergência do repitoma de *P. ciliata*, sugerindo que a relação e o status taxonômico das espécies dessa seção merece ser revisto. Exceto pela filogenia de Hopley et al. (2021) em que essas espécies

foram incluídas como *P. foetida sensu lato*, não há registros sobre suas relações filogenéticas. As análises disponíveis utilizam abordagens metodológicas diferentes ou não empregam filogenias para analisar essas espécies (Vanderplank, 2013; Parteka et al., 2021).

Apesar da maior semelhança entre *clusters* de *P. foetida* e *P. versicaria*, em comparação com *P. ciliata*, as diferenças na abundância da fração repetitiva são menores do que entre as variedades de *P. foetida*. No entanto, *P. ciliata* possui um satélite que até o momento parece ser exclusivo para a espécie.

4.4 O Satélitoma de *P. foetida*

Apenas três DNAsats foram identificados pelo TAREAN sem similaridade com DNAsats previamente descritos para o gênero, amplificados apenas em *P. foetida* e espécies afins na seção. Desses, apenas PfoSat01-27 foi detectado na análise comparativa mais ampla, confirmando sua especificidade em *P. foetida lato sensu*. Além da similaridade com satélites previamente descritos no gênero, a utilização do banco de *repeats* de *Passiflora* revelou uma baixa similaridade entre a sequência do DNAr 35S e um novo DNAsat (PfoSat02-31). Essa correlação havia sido observada em outras espécies do subgênero com o PquSat01-100 de *P. quadrangularis*, sugerindo uma possível origem a partir de regiões IGS do DNAr 35S (Sader et al., 2021). Sua presença em *P. foetida*, no entanto, está restrita aos sítios de DNAr 35S, corroborando que essa sequência se tornou um satélite independente mais recentemente na evolução do subgênero (Sader et al., 2021). Vários DNAsats se originaram de espaçadores de genes codificadores de DNAr em diversas espécies (Garrido-Ramos, 2015; Plohl et al., 2012; Kirov et al., 2018), como, por exemplo, o DNAsat *jumper* de *Phaseolus*, que derivou do NTS do DNAr 5S (Ribeiro et al. 2017), mostrando que esse fenômeno é comum. De fato, isso parece ter acontecido pelo menos duas vezes no gênero *Passiflora*, com o surgimento também de PfoSat2-31 em *P. foetida*.

Os DNAsats geralmente formam blocos nas regiões heterocromáticas dos cromossomos (Heslop-Harrison e Schwarzacher 2011; Ribeiro et al. 2017). Repetições de satélites podem ocorrer em regiões cromossômicas subteloméricas ou intersticiais, mas preferencialmente nos centrômeros (Garrido-Ramos, 2015). O DNAsat seção-específico PfoSat01-27 marcou na região centromérica em nove pares de cromossomos de *P. foetida* e foi detectado *in silico* em uma região mediana nos 10 pares. Considerando todos os DNAsats até agora localizados em *Passiflora*, nenhum tinha sido tipicamente centromérico (Costa, et al., 2021; Sader, et al., 2021). Embora a associação com proteínas centroméricas precise ser demonstrada, sua distribuição

cromossômica sugere que PfoSat01-27 seja uma sequência centromérica. O fato de ser seção-específico e a ampla variação na abundância dessa sequência entre cromossomos da espécie, inclusive entre cromossomos homólogos gerando pares heteromórficos, sugere, no entanto, que esse *repeat* centromérico seja uma aquisição evolutiva recente (Melters et al., 2013). O acúmulo de repetições no par seis pode ser devido a eventos como *crossing-over* desigual, ou deslizamento de fita (*slippage*) (Ploh et al., 2012), contribuindo para amplificação e disseminação do DNAsat em regiões equilocais dos demais cromossomos (Schwizer & Loide, 1987). Por se tratar de um DNAsat centromérico, a variabilidade a nível interespecífico não é incomum (Macas et al., 2010, Melters et al., 2013; Zhang et al., 2013; Garrido-Ramos et al., 2015).

A variação na presença do PfoSat01-27 entre nove e dez pares entre as análises *in situ* e *in silico* pode estar associada à distribuição menos agrupada de PfoSat01-27 no pseudocromossomo 5. Alternativamente, assim como a presença de um par a mais do DNAr 35S em um acesso, essa variação pode ser devido a presença de um sítio indetectável *in situ* devido à compactação da cromatina, número de cópias abaixo do limite de detecção ou até mesmo divergência de sequências (Cuadrado; Jouvo, 2010; Ploh et al., 2012; Mehrotra; Goyal, 2014; Garrido-Ramos et al., 2017). Entretanto, não podemos descartar a hipótese de que essa diferença entre a visualização *in situ* e *in silico* possa se tratar de citótipos distintos devido a rearranjos, amplificação ou deleção dessas repetições (Pedrosa-Harand et al., 2006). A variabilidade do DNAr 5S observada neste trabalho foi previamente observada no grupo, com a maioria dos acessos exibindo apenas um par (Zirpoli et al., 2024), fenômeno recorrente em plantas (Roa; Guerra, 2015). Além disso, a presença de heteromorfismo em relação aos pares de DNAr 5S já tem sido verificado em algumas espécies de angiospermas (Souza-Chies et al., 2012) e até mesmo em cultivares de espécies mais próximas como *P. edulis* e *P. cincinnata*, em relação a outras sequências (Almeida et al., 2018; Marróquín et al., 2023), mas sendo o primeiro registro para *P. foetida*, e no grupo referente ao DNAr 5S.

5. CONCLUSÃO

Nossos resultados reforçam a importância do papel desenvolvido pela fração repetitiva na evolução do genoma de *P. foetida*, evidenciando padrões de variações intra- e interespecíficas. A presença de satélites compartilhados com espécies de outros subgêneros corrobora sua posição filogenética ancestral, mas a diversidade intraespecífica no repitoma, assim como as incongruências com os dados filogenéticos e taxonômicos, reforçam as relações

incertas entre variedades de *P. foetida* e suas espécies próximas. A confirmação de dois citótipos associados à distribuição do DNAr 5S reforça a diversidade citogenética intraespecífica, assim como a presença de heteromorfismos na espécie. Por fim, a identificação de um possível satélite centromérico exclusivo de *P. foetida* suas espécies relacionadas da seção *Dysosmia* indica eventos evolutivos recentes na seção *Dysosmia*.

6. REFERÊNCIAS

- ALBACH, D. C.; GREILHUBER, J. Genome size variation and evolution in *Veronica*. **Annals of Botany**, v. 94, n. 6, p. 897–911, 2004.
- ALMEIDA, L. E.; DA, S. **Caracterização citogenética e molecular de acessos de Maracujá da Caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast)**. 2018.
- BERNACCI, L.C.; NUNES, T.S.; MEZZONATO, A.C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A.; D.C. IMIG; CERVI, A.C. (in memoriam) *Passiflora in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2025.
- CANAPA, A. et al. Shedding light upon the complex net of genome size, genome composition and environment in chordates. **The European Zoological Journal**, v. 87, n. 1, p. 192–202, 2020.
- CARARETO, C. M. A.; MONTEIRO-VITORELLO, C. B. Elementos de Transposição - diversidade, evolução, aplicações e impacto nos genomas dos seres vivos. In: **VARANI, A. M.; CARVALHO, L. C. B.; ZERILLO, M. M.; MONTEIRO-VITORELLO, C. B.** Rio de Janeiro: Fiocruz, p. 11–42. 2015.
- CASTRO, N. et al. Repeatome evolution across space and time: Unravelling repeats dynamics in the plant genus *Erythrostemon* Klotzsch (*Leguminosae* Juss). **Molecular Ecology**, p. e17510, 2024.
- CAUZ-SANTOS, L. A. et al. A repertory of rearrangements and the loss of an inverted repeat region in *Passiflora* chloroplast genomes. **Genome Biology and Evolution**, v. 12, n. 10, p. 1841–1857, 2020.

- CAUZ-SANTOS, L. A. et al. Chloroplast genomic insights into adaptive evolution and rapid radiation in the genus *Passiflora* (Passifloraceae). **BMC Plant Biology**, v. 25, n. 1, p. 192, 2025.
- COSTA, Z. P. et al. A genome sequence resource for the genus *Passiflora*, the genome of the wild diploid species *Passiflora organensis*. **The Plant Genome**, v. 14, n. 3, p. e20117, 2021.
- CUADRADO, A.; GOLCZYK, H.; JOUVE, N. A novel, simple and rapid nondenaturing FISH (ND-FISH) technique for the detection of plant telomeres. Potential use and possible target structures detected. **Chromosome Research**, v. 17, p. 755-762, 2009.
- CUADRADO, Á.; JOUVE, N. Chromosomal detection of simple sequence repeats (SSRs) using nondenaturing FISH (ND-FISH). **Chromosoma**, v. 119, n. 5, p. 495–503, 2010.
- FEINER, N. Accumulation of transposable elements in *Hox* gene clusters during adaptive radiation of *Anolis* lizards. *Proceedings. Biological Sciences*, v. 283, n. 1840, 2016.
- GARRIDO-RAMOS, M. A. Satellite DNA: An evolving topic. **Genes**, v. 8, n. 9, p. 230, 2017.
- GARRIDO-RAMOS, M. A. Satellite DNA in plants: more than just rubbish. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 146, p. 153–170, 2015.
- GORDON, A.; HANNON, G. J. FASTX-Toolkit. Ferramentas de pré-processamento de leituras curtas FASTQ/A. Disponível em: http://www.hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit. 2010.
- HANSEN, A. K. et al. Phylogenetic relationships and chromosome number evolution in *Passiflora*. **Systematic Botany**, v. 31, n. 1, p. 138–150, 2006.
- HESLOP-HARRISON, J. S. P.; SCHWARZACHER, T. Organisation of the plant genome in chromosomes. **The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology**, v. 66, n. 1, p. 18–33, 2011.
- HOPLEY, T. et al. Revealing the introduction history and phylogenetic relationships of *Passiflora foetida* sensu lato in Australia. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 651805, 2021.
- HUA-VAN, A.; LE ROUZIC, A.; BOUTIN, T. S.; FILÉE, J.; CAPY, P. The struggle for life of the genome's selfish architects. **Biology Direct**, v. 6, p. 19, 2011.

- IBARRA-LACLETTE, E. et al. Architecture and evolution of a minute plant genome. **Nature**, v. 498, p. 94–98, 2013.
- KANAZAWA, A. et al. Adaptive evolution involving gene duplication and insertion of a novel Ty1/copia-like retrotransposon in soybean. **Journal of Molecular Evolution**, v. 69, n. 2, p. 164–175, 2009.
- KATOH K.; STANDLEY, D. M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. **Molecular biology and evolution**, p. 772–780, 2013.
- KEARSE, M. et al. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 28, n. 12, p. 1647–1649, 2012.
- KIROV I GILYOK M KNYAZEV A. Pilot satellitome analysis of the model plant, *Physcomitrella patens*, revealed a transcribed and high-copy IGS related tandem repeat. **Comp Cytogenet**, v. 12, p. 493–513, 2018.
- KROSNICK, S. E. et al. New insights into the evolution of *Passiflora* subgenus *Decaloba* (*Passifloraceae*): phylogenetic relationships and morphological synapomorphies. **Systematic Botany**, v. 38, n. 3, p. 692–713, 2013.
- LEITE, C. T. et al. In vitro responses in *Passiflora* species with different chromosome numbers, ploidy levels and nuclear 2C values: revisiting and providing new insights. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 136, n. 3, p. 549–560, 2019.
- LEVY, A. A. Plant transposons and genome dynamics in evolution. [s.l.] **John Wiley and Sons Inc**, 2013.
- MA, D. et al. Chromosome-level reference genome assembly provides insights into aroma biosynthesis in passion fruit (*Passiflora edulis*). **Molecular Ecology Resources**, v. 21, n. 3, p. 955–968, 2021.
- MACAS, J. et al. Global sequence characterization of rice centromeric satellite based on oligomer frequency analysis in large-scale sequencing data. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 26, n. 17, p. 2101–2108, 2010.

- MARROQUÍN, J. A. Citogenética comparativa em nove cultivares de maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis* Sims). **Científica**, p. 15–15, 2023.
- MEHROTRA, S.; GOYAL, V. Repetitive sequences in plant nuclear DNA: types, distribution, evolution, and function. **Genomics, Proteomics & Bioinformatics**, v. 12, n. 4, p. 164-171, 2014.
- MELTERS, D. P. et al. Comparative analysis of tandem repeats from hundreds of species reveals unique insights into centromere evolution. **Genome Biology**, v. 14, n. 1, p. R10, 2013.
- MELO, N. F.; GUERRA, M. The karyotype of *Adenia* and the origin of the base number $x=12$ in *Passifloroideae* (*Passifloraceae*). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, 2021.
- MELO, N. F.; GUERRA, M. Variability of the 5S and 45S rDNA sites in *Passiflora* L. species with distinct base chromosome numbers. **Annals of Botany**, v. 92, n. 2, p. 309-316, 2003.
- MIKOVSKI, A. I. et al. From endosperm to triploid plants: a stepwise characterization of the de novo shoot organogenesis and morpho-agronomic aspects of an ornamental passion fruit (*Passiflora foetida* L.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 147, n. 2, p. 239–253, 2021.
- NATIONAL GARDENING ASSOCIATION. **Planta** – Foto 231474. Disponível em: <https://garden.org/plants/photo/231474/>. Acesso em: 17 fev. 2025.
- NEUMANN, P. et al. Systematic survey of plant LTR-retrotransposons elucidates phylogenetic relationships of their polyprotein domains and provides a reference for element classification. **Mobile DNA**, v. 10, n. 1, p. 1, 2019.
- NOVÁK, P.; NEUMANN, P.; MACAS, J. Global analysis of repetitive DNA from unassembled sequence reads using *RepeatExplorer2*. **Nature Protocols**, v. 15, n. 11, p. 3745–3776, 2020.
- OLIVER, K. R.; MCCOMB, J. A.; GREENE, W. K. Transposable elements: powerful contributors to angiosperm evolution and diversity. **Genome Biology and Evolution**, v. 5, n. 10, p. 1886–1901, 2013.

- PACHECO, T. G. et al. Plastome sequences of the subgenus *Passiflora* reveal highly divergent genes and specific evolutionary features. **Plant Molecular Biology**, v. 104, n. 1–2, p. 21–37, 2020.
- PAMPONÉT, V. C. C. et al. Low coverage sequencing for repetitive DNA analysis in *Passiflora edulis Sims*: cytogenomic characterization of transposable elements and satellite DNA. **BMC Genomics**, v. 20, n. 1, p. 262, 2019.
- PARTEKA, L. M. et al. *Passiflora coelestis*, a new species of *Passiflora* section *Dysosmia* (*Passifloraceae sensu stricto*) from Southern Brazil. **Phytotaxa**, v. 516, n. 2, 2021.
- PEDROSA-HARAND, A. Extensive ribosomal DNA amplification during Andean common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) evolution. **Theoretical and Applied Genetics**, v. v. 112, p. 924–933, 2006.
- Phytoimages.siu.edu**. Disponível em: <<http://phytoimages.siu.edu/>>. Acesso em: 17 fev. 2025.
- PLOHL, M.; MEŠTROVIĆ, N.; MRAVINAC, B. Satellite DNA evolution. **Repetitive DNA**, v. 7, p. 126–152, 2012.
- PONS, J.; GILLESPIE, R. G. Evolution of satellite DNAs in a radiation of endemic Hawaiian spiders: does concerted evolution of highly repetitive sequences reflect evolutionary history? **Journal of Molecular Evolution**, v. 59, n. 5, p. 632–641, 2004.
- PRICE, M. N.; DEHAL, P. S.; ARKIN, A. P. FastTree: Computing large minimum-evolution trees with profiles instead of a distance matrix. **Mol Biol Evol**, v. 26, p. 1641–1650, 2009.
- RIBEIRO, T. et al. Centromeric and non-centromeric satellite DNA organisation differs in holocentric *Rhynchospora* species. **Chromosoma**, v. 126, n. 2, p. 325–335, 2017a.
- RIBEIRO, T. et al. Evolutionary dynamics of satellite DNA repeats from *Phaseolus* beans. **Protoplasma**, v. 254, n. 2, p. 791–801, 2017b.
- RICCI, M. et al. Transposable elements activity is positively related to rate of speciation in mammals. **Journal of Molecular Evolution**, v. 86, n. 5, p. 303–310, 2018.

- ROA, F.; GUERRA, M. Distribuição não aleatória de sítios de rDNA 5S e sua associação com rDNA 45S em cromossomas de plantas. **Cytogenet. Genome Res**, v. 146, p. 243–249, 2015.
- RUIZ-RUANO, F. J. et al. High-throughput analysis of the satellitome illuminates satellite DNA evolution. **Scientific Reports**, v. 6, p. 28333, 2016.
- SADER, M. A. **Evolução cariotípica em *Passiflora* L. (Passifloraceae)**. Tese de Doutorado, 2020.
- SADER, M. et al. Large vs small genomes in *Passiflora*: the influence of the mobilome and the satellitome. **Planta**, v. 253, n. 4, p. 86, 2021
- SADER, M. A. et al. Identification of passion fruit (*Passiflora edulis*) chromosomes using BAC-FISH. **Chromosome Research**, v. 27, n. 4, p. 299–311, 2019.
- SCHWEIZER, D.; LOIDL, J. A model for heterochromatin dispersion and the evolution of C-band patterns. Em: HAYMAN, D. L.; ROFE, R. H.; SHARP, P. J. (Eds.). **Chromosomes Today**. London: Allen & Unwin, v. 9p. 61–74. 1987.
- SHRESTHA, B. et al. Clade-specific Plastid inheritance patterns including frequent biparental inheritance in *Passiflora* interspecific crosses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 5, p. 2278, 2021.
- SOUZA-CHIES, T. T. et al. Studies on diversity and evolution of Iridaceae species in southern Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, n. 4 suppl 1, p. 1027–1035, 2012.
- ULMER, T.; MACDOUGAL, J. *Passiflora*: Passionflowers of the World. **Timber Press**, 2004.
- VANDERPLANK, J. A revision of *Passiflora* section *Dysosmia*: Passifloraceae. **Curtis s Botanical Magazine**, v. 30, n. 4, p. 318–387, 2013.
- WAMINAL, N. E. et al. Rapid and efficient FISH using pre-labeled oligomer probes. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 2018.
- XIA, Z. et al. Chromosome-scale genome assembly provides insights into the evolution and flavor synthesis of passion fruit (*Passiflora edulis Sims*). **Horticulture Research**, v. 8, n. 1, p. 14, 2021

YOTOKO, K. S. C. et al. Does variation in genome sizes reflect adaptive or neutral processes? New clues from *Passiflora*. **PloS One**, v. 6, n. 3, p. e18212, 2011.

YU, Y.; OUYANG, Y.; YAO, W. shinyCircos: an R/Shiny application for interactive creation of Circos plot. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 34, n. 7, p. 1229–1231, 2018.

ZIRPOLI, B. et al. Two species and two karyotypes? Cytogenetic differentiation between *Passiflora foetida* L. and *P. vesicaria* L. (Passifloraceae). **BioRxiv**, p. 2024.10. 23.619917, 2024. <doi.org/10.1101/2024.10.23.619917>

ZHANG, T. et al. The CentO satellite confers translational and rotational phasing on cenH3 nucleosomes in rice centromeres. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, n. 50, p. E4875-83, 2013.

ZOU, Y. et al. Multi-integrated genomic data for *Passiflora foetida* provides insights into genome size evolution and floral development in *Passiflora*. **Molecular Horticulture**, v. 3, n. 1, p. 27, 2023.