



# MARACUJÁ

**germoplasma e  
melhoramento genético**

Editores  
Fábio Gelape Faleiro  
Nilton Tadeu Vilela Junqueira  
Marcelo Fideles Braga



**Embrapa**



# MARACUJÁ

**germoplasma e  
melhoramento genético**

***República Federativa do Brasil***

Luiz Inácio Lula da Silva  
*Presidente*

***Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

Roberto Rodrigues  
*Ministro*

***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária***

***Conselho de Administração***

Luis Carlos Guedes Pinto  
*Presidente*

Silvio Crestana  
*Vice-Presidente*

Alexandre Kalil Pires  
Cláudia Assunção dos Santos Viegas  
Ernesto Paterniani  
Hélio Tollini  
*Membros*

***Diretoria-Executiva***

Silvio Crestana  
*Diretor-Presidente*

José Geraldo Eugênio de França  
Kepler Euclides Filho  
Tatiana Deane de Abreu Sá  
*Diretores-Executivos*

***Embrapa Cerrados***

Roberto Teixeira Alves  
*Chefe-Geral*

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Cerrados  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

# MARACUJÁ

**germoplasma e  
melhoramento genético**

Editores Técnicos

Fábio Gelape Faleiro

Nilton Tadeu Vilela Junqueira

Marcelo Fideles Braga

Planaltina-DF  
2005

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Cerrados**

BR 020, Km 18, Rodovia Brasília/Fortaleza  
Caixa Postal 08223  
CEP 73310-970 – Planaltina, DF  
Telefone (61) 3388-9815 – Fax (61) 3388-9879  
Internet: <http://www.cpac.embrapa.br>  
Email: [sac@cpac.embrapa.br](mailto:sac@cpac.embrapa.br)

**Supervisão editorial**

Maria Helena Gonçalves Teixeira

**Revisão de texto**

Maria Helena Gonçalves Teixeira  
Jamila Al-Hakim (estagiária)

**Normalização bibliográfica**

Shirley da Luz Soares

**Projeto gráfico**

Wellington Cavalcanti

**Editoração eletrônica**

Wellington Cavalcanti  
Jussara Flores de Oliveira  
Leila Sandra Gomes Alencar

**Capa**

Wellington Cavalcanti

**Fotos da capa e das entradas de capítulos**

Nilton Tadeu Vilela Junqueira  
Marcelo Fideles Braga  
Fábio Gelape Faleiro

**Impressão e acabamento**

Divino Baptista de Souza  
Jaime Arbués Carneiro

**1ª edição**

1ª impressão (2005): 200 exemplares

Impresso no Serviço Gráfico da Embrapa Cerrados

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na  
Publicação - CIP  
Embrapa Cerrados**

---

M 298 Maracujá : germoplasma e melhoramento genético /  
editado por Fábio Gelape Faleiro, Nilton Tadeu  
Vilela Junqueira, Marcelo Fideles Braga. --  
Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2005.  
670 p. : il.

ISBN 85-7075-029-3

1. Maracujá-germoplasma. I. Faleiro, Fábio Gelape.  
II. Junqueira, Nilton Tadeu Vilela. III. Braga, Marcelo  
Fideles.

634.42 - CDD 21

---

© Embrapa 2005

# Autores

---

## Adelise de Almeida Lima

Engenheira Agrônoma, M. Sc.  
Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical  
Rua Embrapa s/n°, Cx. Postal 007  
CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA  
adelise@cnpmf.embrapa.br.

## Adilson Reinaldo Kososki

Coordenador da Produção Integrada da Cadeia Agrícola/SDS/MAPA  
Membro do grupo gestor do projeto de Avaliação da Conformidade da Produção Integrada de Frutas  
Esplanada dos Ministérios, Bloco D - Ed. Anexo B, sala 128-B  
CEP 70043-00, Brasília, DF, fone (61) 225-4538  
adilsonkososki@agricultura.gov.br

## Aldir Carlos Silva

Discente de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
BR 465, Km 07, Campus Universitário  
CEP 23851970, Seropedica, RJ  
agroaldir@hotmail.com

## Alexandre Pio Viana

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Professor associado - Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal  
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro  
Av. Alberto Lamego 2000  
CEP 28015-610, Campos dos Goytacazes, RJ  
pirapora@uenf.br.

## **Amantino Martins Nicoli**

Engenheiro Agrônomo, M.Sc.  
Embrapa Transferência de Tecnologia  
Rod. MG 424, Km 06, Sete Lagoas, MG  
amantino@cnpms.embrapa.br

## **Ana Maria Costa**

Engenheira Agrônoma, M.Sc.  
Embrapa Cerrados  
BR 020, Km 18, Rod. Brasília-Fortaleza  
Cx. Postal 08223 CEP 73301-970, Planaltina, DF  
abarroscpac.embrapa.br

## **Ana Verônica Silva do Nascimento**

Engenheira Agrônoma, Doutora  
Universidade Federal de Viçosa, Centro de Ciências Agrárias  
Dep. de Fitopatologia/Bioagro - Virologia Vegetal Molecular  
Centro, CEP 36570-000, Vicoso, MG  
averonicasilva@yahoo.com.br

## **Andrea Carvalho Silva**

Discente de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
BR 465, Km 07, Campus Universitário  
CEP 23851970, Seropedica, RJ  
acs.andrea@click21.com.br

## **Antonio Sérgio Kimus Braz**

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências,  
Departamento de Genética - Instituto de Biociências s/n  
Rubião Junior  
CEP 18618000, Botucatu, SP  
askbraz@interair.com.br

## **Beatriz Appezzato-da-Glória**

Engenheira Agrônoma, Doutora  
Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz,  
Departamento de Ciências Biológicas  
Av. Pádua Dias, Nº 11  
Cx. Postal 09, CEP 13418-900, Piracicaba, SP  
bagloria@esalq.usp.br

## Carlos Ruggiero

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Professor de Fruticultura - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho,  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal  
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane Rural  
CEP 14884-900, Jaboticabal, SP  
rbf@fcav.unesp.br

## Ciro Scaranari

Engenheiro Agrônomo, M.Sc.  
Embrapa Transferência de Tecnologia  
Av. Anchieta, 173, Campinas, SP  
ciro@campinas.snt.embrapa.br

## Claudio Horst Bruckner

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Universidade Federal de Viçosa, Centro de Ciências Agrárias,  
Departamento de Fitotecnia  
Av. P.H. Rolfs, s/n - Campus Universitário  
CEP 36570-000, Viçosa, MG  
bruckner@ufv.br.

## Daiva Domenech Tupinambá

Engenheira Agrônoma, M.Sc.  
Embrapa Cerrados  
BR 020, Km 18, Rod. Brasília-Fortaleza  
Cx. Postal 08223 CEP 73301-970, Planaltina, DF  
daiva@cpac.embrapa.br

## Domingos de Azevedo Oliveira

Engenheiro Agrônomo, M.Sc.  
Instituto Biológico, Seção de Bioestatística  
Rua Fernando Ferrari, 50, Jardim Chapadão, 1370-076 - Campinas, SP  
domingos@lexxa.com.br

## Eder Jorge de Oliveira

Engenheiro Agrônomo, Doutorando  
Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas  
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/ Usp  
Pesquisador Científico I do Instituto Agronômico de Campinas,  
Cx. Postal 28, CEP 13020-902, Campinas, SP  
eder@esalq.usp.br

## Endson Santana Nunes

Engenheiro Agrônomo, M.Sc.  
Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento  
Universidade Federal de Viçosa,  
Conselho de Ensino, Pesquisa e Extensão  
Secretaria de Genética e Melhoramento de Plantas Prédio Principal UFV  
Av. Ph Rolfs, Campus da UFV  
CEP 36571-000, Vicosa, MG  
endsonbahia@yahoo.com.br.

## Enilton Nascimento de Santana

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural,  
Estação Experimental de Linhares, Fitopatologia  
BR 101, Km 151  
Cx. Postal 62, CEP 29900-970, Linhares, ES  
enilton@incaper.es.gov.br

## Euclides Braga Malheiros

Matemático, Doutor  
Professor de Estatística - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho,  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal,  
Departamento de Ciências Exatas  
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellani, s/n  
CEP 14884900, Jaboticabal, SP  
euclides@fcav.unesp.br

## Evie dos Santos de Sousa

Engenheira Agrônoma, M.Sc.  
Embrapa Cerrados  
BR 020, Km 18, Rod. Brasília-Fortaleza  
Cx. Postal 08223 CEP 73301-970, Planaltina, DF  
evie@cpac.embrapa.br

## Fábio Gelape Faleiro

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Embrapa Cerrados  
BR 020, Km 18, Rod. Brasília-Fortaleza  
Cx. Postal 08223 CEP 73301-970, Planaltina, DF  
ffaleiro@cpac.embrapa.br

## Fabrcio de Oliveira Reis

Engenheiro Agrônomo, Pós-graduando  
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias,  
Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal  
Av. Alberto Lamego, 2000, Horto  
CEP 28015-620, Campos dos Goytacazes, RJ  
fareoli@uenf.br

## Fernando Correa Campos Neto

Graduando em Biologia - UFMG  
Colecionador de Passifloraceae e Consultoria e Projetos de Borboletários  
Rua Guarda Custódio, 190-303, Bairro Ouro Preto  
CEP 31 31310-140, Belo Horizonte, MG  
fernandoccn@superig.com.br

## Francisco Ferraz Laranjeira

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical  
Rua Embrapa s/n,  
Cx. Postal 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA  
chico@cnpmf.embrapa.br

## Francisco Murilo Zerbini

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Fitopatologia/Bioagro,  
CEP 36570-000, Viçosa, MG  
zerbini@ufv.br

## Francisco Ricardo Ferreira

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
Parque Estação Biológica, PqEB S/N - Plano Piloto  
Cx. Postal 02372, Brasília-DF  
fricardo@cenargen.embrapa.br

## Frederico de Pina Matta

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
HY Biotecnológica S/A  
Av. Nilo Peçanha, 307, Parque Santo Amaro  
CEP 28030-035, Campos dos Goytacazes, RJ  
fpmatta@bol.com.br

## Geraldo Costa Nogueira Filho

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Embrapa Roraima  
BR 174, Km 08, Cx. Postal 133  
Distrito Industrial  
CEP 69301970, Boa Vista, RR  
geraldo@cpafrr.embrapa.br

## Givanildo Roncato

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT),  
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária,  
Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade.  
Av Fernando Corrêa da Costa, s/n. Coxipó,  
CEP 78060-900, Cuiabá, MT  
givanildoroncato@ig.com.br

## Graciele Bellon

Engenheira Agrônoma, Pós-graduanda  
Bolsista da Embrapa Cerrados  
BR 020, Km 18, Rod. Brasília-Fortaleza  
Cx. Postal 08223 CEP 73301-970, Planaltina, DF  
bellon@cpac.embrapa.br

## Gustavo Menezes Gonçalves

Engenheiro Agrônomo, Doutorando  
Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas  
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro  
Av. Alberto Lamego 2000  
CEP 28015-610, Campos dos Goytacazes, RJ  
gustavog@uenf.br

## Ilene Ribeiro da Silva Passos

Engenheira Agrônoma, Doutora  
CPD Recursos Genéticos e Vegetais, Instituto Agronômico  
Cx. Postal 28, CEP 13.001-970, Campinas, SP  
irpassos@iac.sp.gov.br

## João Carlos de Oliveira

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho  
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n  
CEP 14884-900, Jaboticabal, SP  
fitotecnia@fcav.unesp.br

## José Ricardo Peixoto

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária,  
Campus Darcy Ribeiro, ICC Sul, Asa Norte  
Cx. Postal 04508, CEP 70910-900, Brasília, DF  
peixoto@unb.br

## José Rozalvo Andrigueto

Coordenador Geral de Sistema de Produção Integrada e Rastreabilidade/SDS/  
MAPA, Gerente do Programa de Desenvolvimento da Fruticultura-PROFRUTA  
Esplanada dos Ministérios, Bloco D - Ed. Anexo B, sala 130-B  
CEP 70043-900, Brasília, DF  
jrozalvo@agricultura.gov.br

## Juliana Aparecida Fernando

Bióloga, Doutora  
Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz  
Avenida Pádua Dias, 11, Agronomia  
Cx. Postal 09, CEP 13418-900 - Piracicaba, SP  
juli\_fernando@carpa.ciagri.usp.br

## Juliano Gomes Pádua

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
Parque Estação Biológica - PqEB - Av. W5 Norte (final)  
CEP 70770-900, Brasília, DF  
jgpadua@gmail.com

## Keize Pereira Junqueira

Engenheira Agrônoma, Pós-graduanda  
Universidade Federal de Lavras  
Cx. Postal 3037, CEP 37200-000 Lavras, MG  
e-mail: keize@ufla.br

## Laura Maria Molina Meletti

Engenheira Agrônoma, Doutora  
Instituto Agronômico de Campinas, Centro Experimental Central - Núcleo de  
Negócios Tecnológicos: Sementes  
Av. Theodureto de Almeida Camargo, 1500, Vila Nova  
Cx. Postal 28, CEP 13001-970, Campinas, SP  
lmmm@iac.sp.gov.br

## Leonardo Bolzani Torres

Engenheiro Agrônomo, M.Sc.  
Universidade Federal de Viçosa, Centro de Ciências Agrárias,  
Departamento de Fitopatologia/Bioagro  
Laboratório de Virologia Vegetal molecular  
CEP 36570-000, Viçosa, MG  
e34634@correio.ufv.br

## Luís Carlos Bernacci

Biólogo, Doutor  
Instituto Agronômico  
Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento Jardim Botânico / CEC  
Av. Barão de Itapura, 1481 - Jd. Guanabara  
Cx. Postal 28, CEP 13001-970, Campinas, SP  
bernacci@iac.sp.gov.br

## Maílson Monteiro do Rego

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Universidade Federal de Roraima, Escola Agrotécnica,  
Direção Campus do Cauamé - BR 174, Km 12, Monte Cristo  
CEP 69310-270, Boa Vista, RR  
mailsonreg@aol.com

## Marcelo Fideles Braga

Engenheiro Agrônomo, M.Sc.  
Embrapa Cerrados  
BR 020, Km 18, Rod. Brasília-Fortaleza  
Cx. Postal 08223 CEP 73301-970, Planaltina, DF  
fideles@cpac.embrapa.br

## Márcio Elias Ferreira

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Prof. Universidade Católica de Brasília,  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
Parque Estação Biológica - PqEB s/n - Plano Piloto  
CEP 70770-900, Brasília, DF  
ferreira@cenargen.embrapa.br

## Marco Antonio da Silva Vasconcellos

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Prof. da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia  
CEP 23851-970, Seropédica, Rio de Janeiro, RJ  
masv@ufrj.br

## Maria Lúcia Carneiro Vieira

Bióloga, Doutora  
Prof<sup>a</sup> Associada da Universidade de São Paulo,  
Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz,  
Departamento de Genética  
Av. Pádua Dias, 11 - Laboratório de Biologia Celular e Molecular de Plantas  
Cx. Postal 83, CEP 13.400-970, Piracicaba, SP  
mlcvieir@esalq.usp.br

## Mariza Monteiro

Bióloga, Doutora  
Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz,  
Departamento de Genética  
Av. Pádua Dias n° 11, Agronomia  
Cx. Postal 83, CEP 13418-900, Piracicaba, SP  
Assist. de Pesquisa, Alellyx Applied Genomics, R. James Clerk Maxwell, 320  
Condomínio Techno Park, CEP 13069-380, Campinas, SP  
mariza.monteiro@alellyx.com.br

## Marta Dias Soares-Scott

Bióloga, Doutora  
Instituto Agronômico  
Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Recursos Genéticos Vegetais  
Av. Theodureto de Almeida Camargo, 1500, Laboratório de Citogenética, Vila Nova  
Cx. Postal 28, CEP 13075-630, Campinas, SP  
scott@iac.sp.gov.br

## Mauro Peixoto

Pesquisador autônomo, Estrada Miguel Martins, 50  
Cx. Postal 383, CEP 08710-971, Mogi das Cruzes, SP  
mpeixoto@uol.com.br

## Messias Gonzaga Pereira

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Professor Associado - Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal  
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro  
Av. Alberto Lamego 2000, CEP 28015-610, Campos dos Goytacazes, RJ  
messias@uenf.br

## Murilo Geraldo de Carvalho

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Departamento de Fitopatologia/Bioagro  
Universidade Federal de Viçosa  
CEP 36570-000, Viçosa, MG

## Nilton Tadeu Vilela Junqueira

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Embrapa Cerrados  
BR 020, Km 18, Rod. Brasília-Fortaleza  
Cx. Postal 08223 CEP 73301-970, Planaltina, DF  
junqueir@cpac.embrapa.br

## Paulo Hideo Nakano Rangel

Engenheiro Agrônomo, Doutor  
Embrapa Arroz e Feijão  
Rod. Goiânia a Nova Veneza, Km 12, Cx. Postal 179  
CEP 75.375-000, Santo Antônio de Goiás, GO  
phrangel@cnpaf.embrapa.br

## Poliane F. Alfenas

Bióloga, Doutoranda  
Universidade Federal de Viçosa,  
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Biologia Geral  
Laboratório de Virologia Vegetal Molecular - BIOAGRO  
CEP 36571-000, Viçosa, MG,  
polianealfenas@hotmail.com

## Reginaldo Resende Coelho

Engenheiro Agrônomo, M.Sc.  
Embrapa Transferência de Tecnologia  
Rod. MG 424, Km 06 - Sete Lagoas, MG  
coelho@cnpms.embrapa.br

## Rogério de Sá Borges

Engenheiro Agrônomo, M.Sc.  
Embrapa Transferência de Tecnologia  
Av. Anchieta, 173, Campinas, SP  
rogerio@campinas.snt.embrapa.br

## Silvia Rodrigues Machado

Bióloga, Doutora  
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho,  
Instituto de Biociências, Campus de Botucatu,  
Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu  
18618000 - Botucatu, SP - Brasil  
smachado@ibb.unesp.br

## Taís de Moraes Falleiro Suassuna

Engenheira Agrônoma, Doutora  
Embrapa Algodão  
Rua Osvaldo Cruz 1143, Centenário  
Cx. Postal 174, CEP 58107-720, Campina Grande, PB  
tais@cnpa.embrapa.br

## Telma Nair Santana Pereira

Engenheira Agrônoma, Doutora,  
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro  
Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal  
Av. Alberto Lamego, 2000, CEP 28015-610, Campos dos Goytacazes, RJ  
telmasp@uenf.br

## Wagner Campos Otoni

Engenheiro Agrônomo, Doutor,  
Universidade Federal de Viçosa,  
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Biologia Vegetal  
Av. Peter Henry Rolfs, s/n  
CEP 36570-000, Viçosa, MG  
wotoni@ufv.br

*Dedicamos este livro e agradecemos aos pesquisadores, professores, estudantes, extensionistas, empresários, comerciantes e produtores que trabalham para o desenvolvimento e sustentabilidade da cadeia produtiva do maracujá.*

# É o maracujá

Letra e Música: Fábio Gelape Faleiro e Geovane Andrade

**D** **G** **D**  
Pinta com cores fecundas a mata perdida

**G** **D**  
Frutos e flores exalam perfumes que a nós

**Em** **C**  
Levam além do Divino sabor

**Em** **C**  
É inspiração nos poemas de amor

**G** **C** **G** **C**  
É o maracujá... É o fruto da paixão

**G** **C** **G** **C**  
É o maracujá... É minha inspiração

**D** **G** **D**  
Brasileira espécie da flora que atrai atenção

**G** **D**  
De cientistas, poetas e músicos e dos agricultores

**Em** **C**  
Do mais indefeso ao mais sábio e forte

**Em** **C**  
Planta lendária do Brasil Centro-Norte

**D** **G** **D**  
Encontrado em vales, montanhas, ladeiras e serras

**G** **D**  
No Bioma Cerrado e em outras terras brasileiras

**Em** **C**  
Nobre componente da ecologia

**Em** **C**  
Sua rara beleza transcende a poesia

**D** **G** **D**  
Fruto dourado que encanta a população

**G** **D**  
Que cura, alimenta, é produto de exportação

**Em** **C**  
Que gera empregos, riqueza e renda

**Em** **C**  
É da agricultura uma nobre oferenda

# Apresentação

---

Este livro é um dos produtos científicos da *IV Reunião Técnica de Pesquisas em Maracujazeiro* (IV RTPM), realizada na Embrapa Cerrados, na ocasião da comemoração dos seus 30 anos. Nesta reunião, foram discutidos os avanços das pesquisas e os problemas técnico-científicos atuais e futuros do maracujazeiro, estimulando o intercâmbio de conhecimentos e a formação de novas redes de pesquisa para maximizar o uso dos recursos financeiros e humanos, com benefícios para toda cadeia produtiva do maracujá. Participaram da reunião mais de 25 instituições de pesquisa em maracujazeiro.

O tema *Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro*, devido a sua importância estratégica atual e futura, foi escolhido para delinear as discussões da IV RTPM e a edição desta obra. As pesquisas envolvendo a conservação e a caracterização do germoplasma de maracujazeiro são essenciais para subsidiar o uso prático dos recursos genéticos, e os programas de melhoramento genético são estratégicos para o desenvolvimento de novas variedades para os sistemas de produção do maracujá. O avanço do conhecimento nessa área contribui, sobremaneira, para a efetiva redução de perdas na lavoura e dos custos de produção, racionalização do uso de insumos agrícolas, aumento da produtividade, garantindo maior competitividade e sustentabilidade da atividade agrícola, aumento de renda dos beneficiários diretos e da geração potencial de empregos.

Neste livro, pesquisadores de renome nacional e internacional abordam temas atuais e futuros relacionados aos programas de conservação e uso de germoplasma e aos programas de melhoramento genético do maracujazeiro. Novas demandas com a finalidade de direcionar futuros trabalhos de pesquisa também são levantadas. Para atender a tais demandas, fica clara, nos diferentes capítulos do livro, a necessidade do envolvimento da iniciativa pública e privada e a formação de redes de pesquisa interinstitucionais e multidisciplinares.

*Roberto Teixeira Alves*  
Chefe-Geral da Embrapa Cerrados

# Sumário

---

---

## Capítulo 1

IV Reunião técnica de pesquisas em maracujazeiro .....	35
Introdução .....	35
Histórico das reuniões .....	35
Objetivos da IV RTPM .....	36
Estratégia e programação da IV RTPM .....	36
Principais resultados .....	37
Conclusões .....	38

## Capítulo 2

Recursos genéticos de <i>passiflora</i> .....	41
Introdução .....	41
Variabilidade e recursos genéticos .....	42
Coleções e bancos de germoplasma .....	43
Conclusões .....	50
Referências bibliográficas .....	50

## Capítulo 3

Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro .....	55
Introdução .....	55
Recursos genéticos .....	56
Objetivos do melhoramento genético .....	59
Histórico do melhoramento genético .....	60
Melhoramento visando à resistência a doenças .....	63
Virose - PWV (Vírus do endurecimento dos frutos) .....	65
Bacteriose .....	67

Hibridações interespecíficas .....	68
Cultivares .....	69
Conclusões .....	74
Referências bibliográficas .....	75

## Capítulo 4

Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças .....	81
---	----

Introdução .....	81
Potencial uso de espécies silvestres de passifloras .....	82
Resistência de espécies de passifloras silvestres a patógenos do solo .....	84
Resistência de espécies de passifloras silvestres às doenças da parte aérea .....	87
Reação de híbridos interespecíficos às doenças da parte aérea .....	92
Reação de híbridos intraespecíficos a doenças da parte aérea .....	104
Considerações finais .....	104
Referências bibliográficas .....	106

## Capítulo 5

Emprego de espécies silvestres no melhoramento genético vegetal: experiência em outras espécies com análise de retrocruzamento avançado de QTLs (AB-QTL) .....	111
--	-----

Introdução .....	111
Base genética de programas de melhoramento genético .....	112
Causas da limitação do uso de acessos do banco de germoplasma no melhoramento genético .....	116
Caracterização de germoplasma em escala: o papel da análise molecular .....	118
Introgessão assistida: retrocruzamento avançado de QTLs .....	121
Emprego de análise de retrocruzamento avançado de QTLs no Brasil .....	130
Conclusão .....	134
Referências bibliográficas .....	136

## Capítulo 6

Espécies de maracujá com potencial agrônomo .....	143
---	-----

Introdução .....	143
<i>Passiflora nitida</i> HBK .....	144
Origem, ecologia e adaptação de <i>P. nitida</i> .....	145
Biologia floral e formação dos frutos .....	145
Aspectos gerais e histórico .....	147
Reprodução via sementes .....	147
Reprodução por estaquia .....	148
<i>Passiflora cincinnata</i> MAST .....	150

Biologia floral e aspectos agronômicos .....	151
<i>Passiflora setacea</i> D.C. ....	154
Aspectos agronômicos .....	155
Conclusões .....	156
Referências bibliográficas .....	156

## Capítulo 7

### Problemas e perspectivas da avaliação de doenças como suporte ao melhoramento do maracujazeiro ..... 161

Introdução .....	161
Requisitos de uma boa avaliação .....	162
Acurácia e precisão .....	162
Reprodutibilidade .....	163
Eficiência .....	164
Erros comuns em avaliação de doenças .....	164
O que avaliar? .....	165
Como avaliar? .....	167
Frequência de amostras doentes .....	167
Escalas diagramáticas .....	167
<i>Chaves descritivas</i> .....	170
<i>Índices de doença</i> .....	172
Auto-incompatibilidade, propagação por sementes e doenças .....	173
Amostragem .....	173
Número e tamanho de repetições .....	174
Variação ambiental .....	175
Importância da fenologia .....	176
Escolhas .....	178
Doenças foliares .....	178
Doenças que afetam o fruto .....	179
Doenças radiculares .....	180
Viroses .....	182
Conclusões .....	182
Referências bibliográficas .....	183

## Capítulo 8

### Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro - Desafios da pesquisa ..... 187

Introdução .....	187
Variabilidade genética, morfológica, agronômica e molecular do maracujá .....	188
Germoplasma de <i>Passiflora</i> no Brasil .....	193
Utilização do germoplasma de <i>Passiflora</i> em programas de melhoramento genético e como porta-enxerto visando à resistência a doenças .....	195
O melhoramento genético do maracujazeiro .....	199

Considerações finais .....	201
Referências bibliográficas .....	202

## Capítulo 9

Citogenética clássica e molecular em passifloras .....	213
Introdução .....	213
Citogenética clássica .....	213
Coloração diferencial, bandeamentos .....	216
Citogenética molecular .....	219
Citogenética de <i>Passiflora</i> .....	222
Citogenética molecular em <i>Passiflora</i> .....	231
Conclusão .....	234
Referências bibliográficas .....	234

## Capítulo 10

Genética quantitativa aplicada ao melhoramento genético do maracujazeiro .....	243
Introdução .....	243
Melhoramento do maracujazeiro .....	244
Parâmetros genéticos .....	245
Delineamentos genéticos aplicáveis ao maracujazeiro-amarelo .....	247
Aplicação dos delineamentos em maracujazeiro-amarelo .....	249
Análises de variância .....	250
Análises de variância individuais .....	250
Análises de variância conjunta .....	252
Parâmetros genéticos da população .....	254
Componentes de variância genética .....	254
Coeficientes de herdabilidade .....	255
Co-variâncias e coeficientes de correlação genética aditiva .....	257
Outros parâmetros importantes que podem ser obtidos .....	258
Alternativas de seleção no delineamento .....	259
Seleção direta .....	259
Índice de seleção .....	262
Parâmetros genéticos da população .....	262
Estimativas de componentes genéticos .....	262
Estimativas dos coeficientes de herdabilidade .....	265
Co-variâncias e coeficientes de correlação genética aditiva .....	267
Estimativas de ganhos para as alternativas de seleção .....	269
Conclusão .....	272
Referências bibliográficas .....	272

## Capítulo 11

Marcadores moleculares aplicados ao melhoramento genético do maracujazeiro .....	277
Introdução .....	277
Aspectos relevantes de um programa de melhoramento de maracujazeiro-amarelo ...	278
Características e categorias dos marcadores moleculares .....	279
Etapas do programa de melhoramento de maracujazeiro-amarelo potencialmente beneficiado pelo uso dos marcadores .....	282
Emprego atual dos marcadores no melhoramento do maracujazeiro-amarelo .....	288
Conclusões .....	291
Referências bibliográficas .....	292

## Capítulo 12

Ecofisiologia do maracujazeiro e implicações na exploração diversificada .....	295
Introdução .....	295
Conclusão .....	311
Referências bibliográficas .....	312

## Capítulo 13

Auto-incompatibilidade do maracujá - implicações no melhoramento genético .....	317
Introdução .....	317
Auto-incompatibilidade em plantas .....	319
Sistemas de auto-incompatibilidade .....	319
Mecanismos de reação de auto-incompatibilidade .....	321
Auto-incompatibilidade em maracujazeiro .....	323
Auto-incompatibilidade e melhoramento genético .....	327
Conclusões .....	333
Referências bibliográficas .....	333

## Capítulo 14

Propagação vegetativa do maracujazeiro - conquista de novas adesões .....	341
Introdução .....	341
Experimentos com enxertia hipocotiledonar .....	342
Características avaliadas .....	345
Resultados obtidos .....	346

Conclusões .....	355
Referências Bibliográficas .....	356

## Capítulo 15

Cultura de tecidos aplicada à manutenção de germoplasma in vitro e ao melhoramento genético do maracujá ( <i>Passiflora</i> spp.) .....	361
---	-----

Introdução .....	361
Estabelecimento <i>in vitro</i> de plantas de maracujá .....	362
Estabelecimento <i>in vitro</i> de plantas de maracujá por meio de sementes .....	363
Estabelecimento <i>in vitro</i> de plantas de maracujá por meio de explantes vegetativos .....	367
Organogênese adventícia, a principal via de regeneração em espécies de <i>Passiflora</i> ...	368
Isolamento e cultura de protoplastos de espécies de <i>Passiflora</i> .....	372
Hibridação somática entre espécies de <i>Passiflora</i> .....	376
Conclusões .....	377
Agradecimentos .....	378
Referências bibliográficas .....	378

## Capítulo 16

Estudos morfológicos, anatômicos, histoquímicos e ultra-estruturais da organogênese <i>in vitro</i> do maracujazeiro .....	387
---	-----

Introdução .....	387
Como avaliar o processo de regeneração <i>in vitro</i> em explantes de maracujá? .....	388
Organogênese <i>in vitro</i> em <i>Passiflora edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg. população FB-100 .	392
Conclusões .....	403
Agradecimentos .....	404
Referências bibliográficas .....	405

## Capítulo 17

Métodos biotecnológicos aplicados ao melhoramento genético do maracujá .....	411
---	-----

Introdução .....	411
Micropropagação .....	412
Geração de variabilidade genética .....	415
Via hibridação sexual .....	415
Via hibridação somática .....	416
Via transformação de plantas .....	418
Melhoramento molecular: a construção de mapas genéticos e suas aplicações .....	422
Genômica .....	428
Diversidade genética .....	433
Conclusões .....	441

Agradecimentos .....	441
Referências bibliográficas .....	442

## Capítulo 18

Problemas e perspectivas do maracujá ornamental .....	457
Introdução .....	457
Breve histórico do uso do maracujá como planta ornamental .....	457
Situação atual no Brasil e no mundo .....	458
Perspectivas .....	459
Problemas .....	463
Conclusões .....	463
Referências bibliográficas .....	463

## Capítulo 19

Utilização das Passifloraceae na criação de borboletas .....	467
Introdução .....	467
O borboletário .....	468
A escolha de borboletas e de plantas .....	469
O cultivo .....	470
Conservação .....	471
Conclusão .....	471
Referência bibliográfica .....	471

## Capítulo 20

O maracujá e suas propriedades medicinais - estado da arte .....	475
Introdução .....	475
Etnofarmacologia .....	476
Fitoconstituintes .....	478
Fitoconstituintes de <i>Passiflora incarnata</i> .....	479
Alcalóides .....	480
Fitoconstituintes diversos .....	481
Fitoconstituintes da <i>Passiflora edulis</i> .....	481
Glicosídeos .....	481
Fenóis .....	482
Alcalóides .....	482
Outros fitoconstituintes .....	483
Fitoconstituintes da <i>Passiflora alata</i> .....	484
Fitoconstituintes presentes em outras espécies de <i>Passiflora</i> .....	484
Propriedades farmacológicas .....	488
<i>Passiflora alata</i> , <i>Passiflora caerulea</i> , <i>Passiflora edulis</i> e <i>Passiflora actinia</i> .....	489
<i>Passiflora incarnata</i> .....	491
Toxicologia .....	493

Propriedades do maracujá como alimento funcional .....	495
Conclusões .....	496
Referências bibliográficas .....	496

## Capítulo 21

Maracujá no contexto do desenvolvimento e conquistas da produção integrada de frutas no Brasil .....	509
---	-----

Introdução .....	509
Sistema de produção integrada de frutas - PIF .....	510
Produção integrada de maracujá: normas técnicas específicas .....	524
Conclusões .....	529
Referências bibliográficas .....	530
Anexo .....	532

## Capítulo 22

Espécies de maracujá: caracterização e conservação da biodiversidade .....	559
---	-----

Introdução .....	559
Distribuição e biodiversidade .....	561
Histórico da classificação .....	562
Identificação e caracterização .....	563
Definições de espécies e entidades infra-específicas .....	569
Bancos de germoplasma .....	576
Conclusões .....	580
Agradecimentos .....	580
Referências bibliográficas .....	580

## Capítulo 23

Transformação genética do maracujazeiro para resistência a doenças .....	589
---	-----

Introdução .....	589
Transformação genética .....	590
Resistência das plantas F1 .....	591
Resistência das plantas F2 .....	593
Conclusões .....	596
Referências bibliográficas .....	596

## Capítulo 24

Maracujá-doce: melhoramento genético e germoplasma .....	601
A espécie .....	602
Biologia floral .....	604
Propagação .....	605
Variabilidade genética e estratégia de melhoramento .....	607
Bancos de germoplasma .....	612
Conclusões .....	613
Referências Bibliográficas .....	613

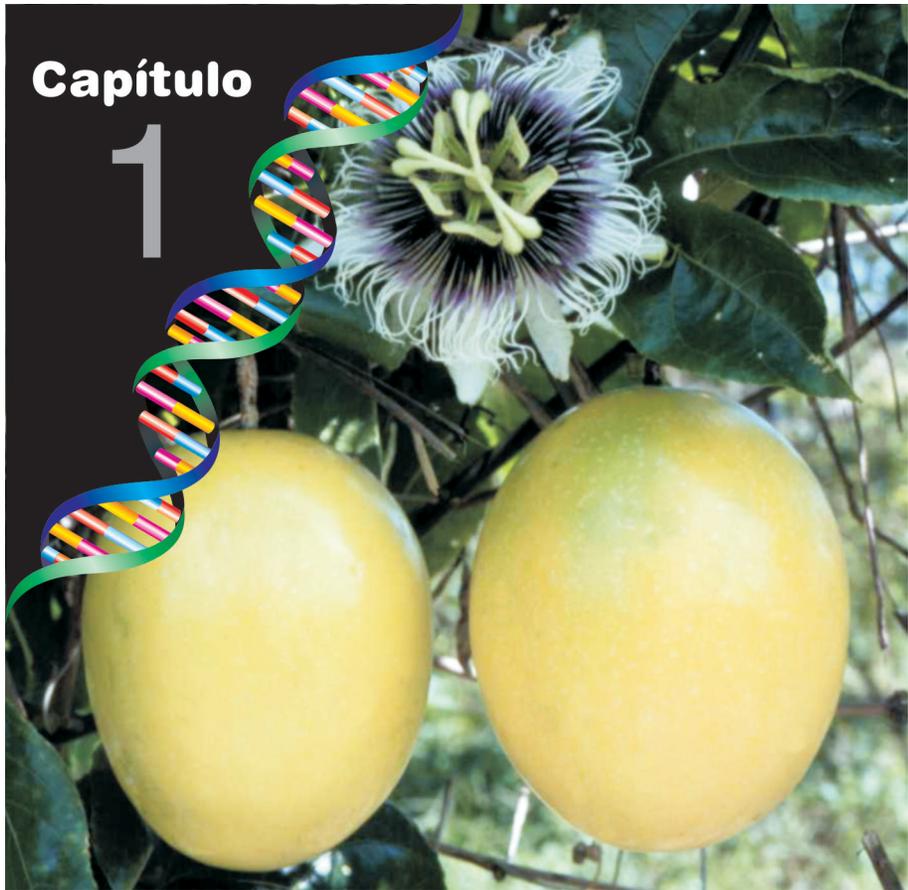
## Capítulo 25

Novas variedades: validação e transferência de tecnologia .....	619
Introdução .....	619
A Embrapa Transferência de Tecnologia .....	622
O programa IAC/Embrapa .....	624
O Projeto de Transferência de Tecnologia para Novas Cultivares .....	629
Novas cultivares da Embrapa Cerrados .....	633
Conclusões .....	638
Referências Bibliográficas .....	638

## Capítulo 26

Aspectos fitotécnicos: desafios da pesquisa .....	643
Introdução .....	643
Aspectos fitotécnicos .....	644
Propagação .....	644
<i>Propagação por sementes</i> .....	644
<i>Propagação vegetativa</i> .....	645
<i>Estaquia</i> .....	645
<i>Enxertia</i> .....	646
Nutrição e adubação .....	649
<i>Calagem</i> .....	649
<i>Adubação</i> .....	649
<i>Viveiro</i> .....	650
<i>Campo</i> .....	650
<i>Localização do adubo</i> .....	652
<i>Análise foliar</i> .....	652
<i>Amostragem</i> .....	652
<i>Preparo da amostra</i> .....	653
Irrigação .....	654
<i>Requerimento de água</i> .....	655
<i>Manejo da irrigação</i> .....	656
Manejo da cultura .....	656

Condução .....	656
<i>Latada ou caramanchão</i> .....	657
<i>Espaldeira vertical</i> .....	657
Poda .....	658
<i>Poda de renovação</i> .....	660
Polinização e manejo da floração .....	660
<i>Como fazer a polinização manual</i> .....	662
<i>Manejo de plantas infestantes</i> .....	662
<i>Métodos de controle de plantas infestantes</i> .....	663
Insetos-praga .....	665
<i>Insetos-praga de maior importância</i> .....	665
Doenças .....	666
<i>Doenças causadas por fungos</i> .....	666
<i>Doenças que ocorrem na parte aérea</i> .....	666
<i>Doenças que ocorrem no sistema radicular</i> .....	666
<i>Doenças causadas por bactérias</i> .....	666
<i>Doenças causadas por vírus</i> .....	667
Colheita .....	667
<i>Manejo pós-colheita</i> .....	668
<i>Controle da maturação</i> .....	668
Desafios da pesquisa .....	672
Conclusões .....	673
Referências bibliográficas .....	674



## Capítulo

# 1

Pinta com cores fecundas a mata perdida.  
Frutos e flores exalam perfumes que a nós,  
Bichos famintos que esperam guarida  
Inquietos, sedentos por cheiro ou comida.  
Movem perplexos, por que tal sabor,  
Faz do maracujá, que é fruto e é flor  
Que brota nas ramas de seus entrenós  
Para aplacar a fome e garantir a vida.

*Geovane Alves de Andrade*

# IV reunião técnica de pesquisas em maracujazeiro

---

Fábio Gelape Faleiro

Evie dos Santos de Sousa

## Introdução

**A**s Reuniões Técnicas de Pesquisas em Maracujazeiro (RTPM) são eventos tradicionais, em nível nacional, onde são discutidos os avanços das pesquisas, os problemas atuais e as perspectivas para novas pesquisas, objetivando a disseminação rápida dos resultados e a viabilização de soluções tecnológicas para problemas que exijam investigação científica, garantindo a sustentabilidade da atividade agrícola, a abertura de novos mercados e a descoberta de novas potencialidades da cultura do maracujazeiro. Nessas reuniões, temas atuais e de grande importância são discutidos, ocorrem a integração e o intercâmbio de conhecimentos entre profissionais envolvidos nas pesquisas em maracujazeiro e novas demandas e perspectivas para as pesquisas são identificadas.

## Histórico das reuniões

Até o momento, foram realizadas três Reuniões Técnicas: a primeira, em Cruz das Almas, BA, organizada pela Embrapa Mandioca e Fruticultura; a segunda, em Londrina, PR, organizada pelo Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR); e a terceira, em Viçosa, organizada pela Universidade Federal de Viçosa.

## Objetivos da IV RTPM

Na IV RTPM, foram mantidas a tradição e a importância das Reuniões Técnicas já realizadas. Nesta edição, foram discutidos os avanços das pesquisas e os problemas técnico-científicos atuais e futuros do maracujazeiro, estimulando o intercâmbio de conhecimentos e a formação de novas redes de pesquisa para maximizar o uso dos recursos financeiros e humanos, com benefícios para toda cadeia produtiva do maracujá.

A IV RTPM teve como objetivo geral discutir os avanços das pesquisas e os problemas técnico-científicos atuais e futuros do maracujazeiro no Brasil e no mundo, estimulando o intercâmbio de conhecimentos, a formação de novas redes de pesquisa e a identificação de novas demandas para as pesquisas visando à contribuição científica para toda a cadeia produtiva do maracujá.

## Estratégia e programação da IV RTPM

Para discutir os avanços da pesquisa, foram programadas 22 palestras abordando o germoplasma do maracujazeiro no Brasil, o passado e o futuro do melhoramento genético, a utilização do germoplasma nos programas de melhoramento, na produção de mudas e na exploração diversificada do maracujazeiro como planta ornamental e medicinal. Tecnologias modernas da genética quantitativa e molecular, como os marcadores moleculares, a citogenética molecular e a transgenia também foram abordadas como ferramentas para aumento da eficiência dos programas de conservação, caracterização e uso de germoplasma e dos programas de melhoramento genético. A fisiologia do maracujá e os aspectos relacionados à auto-incompatibilidade e à propagação vegetativa foram discutidos, principalmente, com respeito às implicações nos programas de melhoramento genético. Aspectos taxonômicos de novas espécies, da proteção e registros de novas variedades e da transferência de tecnologia foram também discutidos.

Para a identificação de novas demandas da pesquisa e formação de redes de pesquisa, foi programado um *workshop* com a formação de cinco

grupos de trabalho envolvendo os temas germoplasma, melhoramento genético, descritores, exploração diversificada, aspectos fitotécnicos dos sistemas de produção do maracujazeiro. Os planos de ação e as atividades do projeto em rede “*Caracterização de germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro assistidos por marcadores moleculares*” foram discutidos e identificadas as contribuições de cada instituição e de cada pesquisador no cumprimento das metas e no aumento da eficiência das ações de pesquisa relacionadas aos programas de conservação e uso do germoplasma e de melhoramento genético do maracujazeiro. Visitas técnicas às unidades experimentais e ao banco de germoplasma de maracujazeiro da Embrapa Cerrados também foram realizadas.

## Principais resultados

As discussões, o intercâmbio de conhecimentos, a formação de novas redes de pesquisa e o levantamento de novas demandas para a pesquisa em maracujazeiro contaram com a participação de aproximadamente 200 pessoas entre pesquisadores, professores, estudantes, extensionistas, produtores, empresários. Participaram do evento aproximadamente 25 instituições com tradição em pesquisas em maracujazeiro como a Embrapa Mandioca e Fruticultura, a Embrapa Cerrados, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, a Embrapa Transferência de Tecnologia, o Instituto Agrônomo em Campinas, a Empresa Mineira de Pesquisa Agropecuária, a Universidade Estadual do Norte Fluminense, a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, a Universidade Federal de Viçosa, a Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, a Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, a Universidade Federal do Paraná, a Universidade Federal de Mato Grosso, a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, a Universidade Federal de Lavras, a Universidade de Brasília, entre outras. Além das 22 palestras, foram inscritos e apresentados na reunião 20 trabalhos abordando as pesquisas atuais nos diferentes temas.

Como resultado das palestras e mesas-redondas, foi editado este livro com os temas abordados durante a reunião. São, ao todo, 26 capítulos com

contribuições de pesquisadores de diferentes instituições. Foi produzido, também, um CD contendo o projeto da IV RTPM e os conteúdos das palestras e dos trabalhos apresentados na reunião. Como resultado do *workshop*, foram identificadas novas demandas da pesquisa visando ao aumento da eficiência dos programas de conservação e uso do germoplasma e dos programas de melhoramento genético; à abertura de novas potencialidades, com base na exploração diversificada do maracujá; e ao aumento da eficiência dos sistemas de produção, garantindo a competitividade e a sustentabilidade econômica e ambiental da cultura do maracujazeiro.

## Conclusões

As contribuições de cada participante, as abordagens multidisciplinares e o envolvimento de mais de 25 instituições de pesquisa em maracujazeiro garantiram uma programação científica muito rica para que os objetivos da IV RTPM fossem alcançados. Fica a boa perspectiva para a V RTPM a ser realizada.



Cresce, enverdece, enobrece a latada esquecida.  
Brotta, rebrotta e entorta o madeiro fiel.  
Vai muito além do perfume e sabor,  
É inspiração nos poemas de amor.  
Deixa as abelhas roubarem seu mel.  
Seu raro aroma transcende a poesia  
É nobre componente da ecologia,  
Uma vez cultivada, amada e protegida.

*Geovane Alves de Andrade*

# Recursos genéticos de Passiflora

---

Francisco Ricardo Ferreira

## Introdução

A produção de maracujá vem ganhando grande importância no Brasil, notadamente, a partir das últimas três décadas, o que coloca o País numa situação de destaque no *ranking* mundial. De acordo com estimativas da ITI Tropicals (2005), a produção mundial de maracujá é de 640.000 toneladas, e o Brasil, como primeiro produtor, apresenta aproximadamente 70% desse total. O Equador aparece em segundo lugar e a Colômbia em terceiro, com respectivamente 85.000 e 30.000 toneladas.

Atualmente, o maracujá é plantado em quase todos os estados brasileiros, proporcionando economia e renda em inúmeros municípios, com forte apelo social, já que se destaca como uma cultura que requer uso intensivo de mão-de-obra. Não obstante essa pujança da cultura, a pesquisa não tem acompanhado esse crescimento de forma adequada, principalmente, em relação ao melhoramento e à obtenção de variedades. Apenas nos últimos anos, tem sido lançado algum material melhorado.

As pragas, notadamente aquelas que afetam o sistema radicular, como a morte prematura de plantas, entre outras, assim como os insetos, constituem os principais entraves para a cultura do maracujá, constituindo, muitas vezes, fator limitante. Além disso, as dificuldades na obtenção de sementes selecionadas de variedades e de híbridos com boas características agrônomicas requerem esforço concentrado em melhoramento genético.

Por sua vez, a matéria-prima para alimentar os programas de melhoramento é a variabilidade genética, disponível nos bancos de germoplasma que, neste caso, é bastante modesta, tanto em âmbito internacional quanto no nacional, apesar de as fontes de recursos genéticos disponíveis na natureza serem muito amplas. Neste trabalho, procurou-se mostrar esse paradoxo, qual seja, ampla variabilidade natural, com pequena representatividade de recursos genéticos disponíveis nos bancos de germoplasma, propondo ações emergenciais para reverter essa situação, resgatando essa variabilidade e colocando-a à disposição da pesquisa.

## Variabilidade e recursos genéticos

Vários autores, entre eles Ferreira & Oliveira (1991) descrevem a ampla variabilidade genética existente no gênero *Passiflora*. Ferreira (1998), Castellen et al. (2005) destacam que, grande parte dessa variabilidade está dispersa no território brasileiro, o que coloca nosso país entre um dos principais centros de diversidade genética desse gênero. Vieira & Carneiro (2004), compilando dados do IPGRI, relacionam mais de 50 espécies de *Passiflora* que são cultivadas ou apresentam potencial comercial, destacando a origem e as formas de utilização, além do status de cultivo de cada uma delas.

Tendo em vista o grande número de espécies de *Passiflora* existente, aliada às diferentes formas de utilização (muitas são comestíveis), é notória a expressiva variabilidade genética interespecífica, além da enorme variabilidade intra-específica que ocorre naturalmente.

Lamentavelmente, a erosão genética que vem ocorrendo nas espécies de *Passiflora* é significativa, sobretudo, devido à ação antrópica quer seja para a expansão da fronteira agrícola, quer seja pelo crescimento industrial, como construção de hidrelétricas, rodovias, indústrias. Castellen et al. (2005) relatam que as florestas tropicais que antes ocupavam grandes extensões contínuas, com a devastação decorrente do crescente processo de urbanização e expansão das atividades agrícolas, ficaram restritas a pequenos e esparsos fragmentos. Ultimamente, vários estudos têm demonstrado os riscos inerentes desse processo de fragmentação florestal, tais como: redução na diversidade

e no tamanho populacional das espécies animais e vegetais, aumento dos níveis de endogamia nas populações e modificações nas interações bióticas como polinização, dispersão de sementes, predação e herbivoria. Diante disso, o resgate e a conservação de germoplasma autóctone em coleções e bancos de germoplasma são imperativos, assim como é recomendável a introdução de material proveniente de outros países.

Em consequência da escassez de pesquisa nessa área, muitas das espécies de *Passiflora* são ainda desconhecidas e outras estão em processo de domesticação. Aliás, Ford-Lloyd & Jackson (1986) relatam que, a domesticação das plantas é o resultado da inteligência humana em conduzir o processo evolutivo dirigido ao *habitat* que o homem criou, já Wet & Harlan (1975) destacam que a variabilidade genética inicialmente era explorada pela intuição, mas, com base nos conhecimentos acumulados ao longo das gerações, esse patrimônio genético passou a ser cada vez mais utilizado, o que provocou amplas mudanças fenotípicas, a fim de que as plantas atendessem às necessidades do homem. Seguindo essa lógica, algumas espécies, como por exemplo, *Passiflora alata* têm sido recentemente incorporadas ao processo produtivo, ocupando importantes nichos de mercado.

## Coleções e bancos de germoplasma

Na Tabela 1, mostram-se os dados compilados a partir dos inventários realizados pelo Gulick & Van Sloten (1984), Bettencourt (1992) e IPGRI (2002, 2005) das coleções mundiais de germoplasma de *Passiflora*. De maneira geral, tanto para o número de coleções por país quanto para o número de acessos nas coleções houve incremento contínuo no período estudado. Há de se destacar que, no levantamento de 1999, foram consideradas apenas coleções de *Passiflora edulis*.

Os países que tiveram maiores incrementos nos acervos de germoplasma são: Brasil, Colômbia, Equador e Peru. Os Estados Unidos da América apresentaram, no último inventário de 2004, apenas uma coleção com número reduzido de acessos em contraposição a números elevados apresentados nos levantamentos anteriores.

**Tabela 1.** Coleções e acessos de *Passiflora* spp. mantidos em diversos países, mostrando os levantamentos realizados pelo IPGRI.

País	19984		1992		1999*		2004	
	Col.	Acessos	Col.	Acessos	Col.	Acessos	Col.	Acessos
África do Sul	1	5	1	7	1	4	1	7
Argentina	-	-	-	-	-	-	1	2
Bolívia	-	-	-	-	-	-	1	1
Austrália	1	14	1	14	1	14	-	-
Brasil	1	20	4	165	5	153	9	391
Camarões	1	2	1	2	1	2	1	2
Chile	-	-	1	2	-	-	1	2
Colômbia	1	7	1	7	1	41	2	104
Costa Rica	1	12	1	13	2	7	3	27
Cuba	1	4	1	4	1	2	1	4
Cyprus	-	-	1	1	1	1	1	1
Equador	1	8	2	16	1	1	3	370
Filipinas	1	6	1	6	1	3	1	6
França	-	-	2	34	1	5	2	34
Gana	-	-	1	1	1	1	1	1
Honduras	-	-	-	-	2	2	2	3
Israel	-	-	-	-	-	-	1	3
Jamaica	1	16	1	16	-	-	1	16
Malawi	1	3	1	3	-	-	1	3
México	-	-	-	-	1	2	1	2
Nicarágua	-	-	1	5	-	-	-	-
Panamá	-	-	-	-	1	1	1	2
Papua Nova Guiné	1	2	1	2	-	-	1	2
Peru	1	16	1	16	1	16	5	174
Portugal	-	-	-	-	1	2	2	3
Quênia	-	-	1	2	-	-	2	21
Santa Lúcia	-	-	-	-	1	8	1	8
Seycheles	-	-	-	-	1	3	1	3
Suriname	-	-	-	-	-	-	2	4
Taiwan	-	-	2	8	2	4	2	8
Uruguai	-	-	-	-	-	-	1	1
USA	2	215	3	211	3	103	1	30
Total	15	330	29	540	30	375	53	1235

Fonte: Gulick & Van Sloten (1984); Bettencourt (1992); IPGRI, 1999 e 2004.

\*Somente *Passiflora edulis*.

Não é por acaso que o Brasil e o Equador, maiores produtores mundiais de maracujá, ostentam os maiores acervos de germoplasma, com mais de 60% dos acessos das coleções internacionais catalogadas.

Analisando os totais de coleções e acessos, nota-se que houve incrementos significativos nestas duas décadas estudadas. Atualmente,

existem mais de 50 coleções de germoplasma de *Passiflora* espalhadas pelo mundo as quais mantêm mais de 1200 acessos, incluindo, obviamente, as duplicatas. Embora haja crescimento do número de coleções assim como do número de acessos, pode-se constatar que o acervo de recursos genéticos de *Passiflora* ainda é muito pequeno e que ações de coleta e intercâmbio, aliadas aos processos de conservação de germoplasma devem merecer prioridade nas pesquisas com essa cultura.

Dados compilados por Ferreira (2002) mostram, na Tabela 2, oito coleções de germoplasma de maracujá no Brasil. As maiores e melhores coleções estão no Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR, no Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo - IAC, na Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Jaboticabal e na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Essas coleções são mantidas no campo e em forma de sementes. Elas têm sido parcialmente caracterizadas e avaliadas e, via de regra, são utilizadas nos programas de melhoramento genético. Cunha (1999) detalha como as plantas são mantidas no BAG da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical.

**Tabela 2.** Coleções de Germoplasma de *Passiflora* existentes no Brasil em 2002.

Espécies	Acessos	Instituição	Cidade/UF
<i>Passiflora edulis</i>	20 60	UNESP/FCAVJ	Jaboticabal,SP
<i>Passiflora</i> sp (19)	40	UNESP/FCAVJ	Jaboticabal,SP
<i>Passiflora edulis</i>	1 2	UNESP/FCA	Botucatu,SP
<i>Passiflora</i> sp.	1	UNESP/FCA	Botucatu,SP
<i>Passiflora edulis</i>	70 101	IAPAR	Londrina-PR
<i>Passiflora</i> sp.	31	IAPAR	Londrina-PR
<i>Passiflora edulis</i> *	20 45	Embrapa Mandioca e Fruticultura	Cruz das Almas-BA
<i>Passiflora</i> sp.*	25	Embrapa Mandioca e Fruticultura	Cruz das Almas-BA
<i>Passiflora edulis</i>	37 75	IAC/EEJ	Jundiaí-SP
<i>Passiflora</i> sp (21)	38	IAC/EEJ	Jundiaí-SP
<i>Passiflora</i> sp.	22	EBDA	Conc. Almeida-BA
<i>Passiflora edulis</i>	1 14	UESB	V. da Coquista-BA
<i>Passiflora</i> sp.	13	UESB	V. da Coquista-BA
<i>Passiflora</i> sp.	6	EMCAPA	C. Itapemirim-ES

Fonte: Ferreira, (1999); \*Atualizado pelo autor.

Em um amplo levantamento realizado recentemente, apresentado na Tabela 3, mostrando o número de acessos por espécie, verifica-se que o acervo de germoplasma de *Passiflora* mantido no Brasil consta de 67 espécies e 599 acessos distribuídos em oito coleções. À semelhança do que acontece em âmbito internacional, tem ocorrido aumento dos acervos nacionais, todavia, aquém daquele esperado e desejado.

**Tabela 3.** Número de acessos por espécies nas coleções de germoplasma de *Passiflora* no Brasil.

Espécie	CNPMF	UNESP	IAPAR	IAC	CPAC	ESALQ	UENF	UFRRJ	Total
<i>P. actinia</i> Hook.	-	-	1	4	2	-	-	-	7
<i>P. alata</i> Curtis	3	3	13	8	18	19	-	1	65
<i>P. ambigua</i> Hemsl.	-	-	-	1	-	-	-	-	1
<i>P. amethystina</i> J.C. Mikan	1	-	1	2	2	14	-	-	20
<i>P. auriculata</i> Kunth	-	-	-	1	-	-	-	-	1
<i>P. bahiensis</i> Klotzsch	-	-	-	1	-	-	-	-	1
<i>P. biflora</i> Lam.	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>P. caerulea</i> L.	-	1	2	3	2	13	1	1	23
<i>P. capsularis</i> L. (= <i>P. hassleriana</i> Chodat.)	-	2	1	-	1	-	-	-	4
<i>P. cerasina</i> H. Annonay & Feuillet	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>P. cerradense</i> Sacco	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>P. cincinnata</i> Mast.	3	5	1	2	1	7	1	1	21
<i>P. coccinea</i> Aubl.	1	2	1	2	4	-	1	-	11
<i>P. coriacea</i> Juss.	-	-	-	1	-	4	-	-	5
<i>P. edulis</i> Sims (maracujá-roxo)	4	2	2	20	2	-	1	-	31
<i>P. edulis</i> Sims (maracujá-amarelo)	15	4	30	20	12	-	2	1	84
<i>P. eichleriana</i> Mast.	-	1	-	-	-	-	-	-	1
<i>P. foetida</i> L.	1	1	1	4	2	5	1	1	16
<i>P. galbana</i> Mast.	1	-	-	-	1	-	2	-	4
<i>P. gardneri</i> Mast.	1	-	-	1	-	-	-	-	2
<i>P. gibertii</i> N. E. Br.	2	1	2	2	1	8	2	1	19
<i>P. glandulosa</i> Cav.	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>P. haematostigma</i> Mart. ex Mast.	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>P. hypoglauca</i> Harms	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>P. incarnata</i> L.	-	1	-	-	1	-	-	-	2
<i>P. laurifolia</i> L.	1	2	1	3	2	2	1	-	12
<i>P. leptoclada</i> Harms	-	1	-	-	-	-	-	-	1
<i>P. ligularis</i> Juss.	1	-	1	1	-	-	-	-	3
<i>P. loefgrenii</i> Vitta	-	-	-	2	-	-	-	-	2
<i>P. malacophylla</i> Mast.	-	-	-	1	-	-	1	-	2
<i>P. maliformis</i> L.	-	-	1	-	-	7	-	-	8
<i>P. mansoi</i> (Mart.) Mast.	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>P. micropetala</i> Mart. ex Mast.	1	2	-	1	-	-	-	-	4
<i>P. miersii</i> Mast.	-	-	-	-	1	2	-	-	3

Continua...

Tabela 3. Continuação.

Espécie	CNPMF	UNESP	IAPAR	IAC	CPAC	ESALQ	UENF	UFRRJ	Total
<i>P. misera</i> Kunth	-	-	-	1	-	-	2	-	3
<i>P. morifolia</i> Mast.	1	1	-	1	1	4	1	-	9
<i>P. mucronata</i> Lam.	1	-	-	3	4	-	2	-	10
<i>P. nitida</i> Bonpl. ex Kunth	-	1	1	3	18	-	1	-	24
<i>P. odontophylla</i> Glaziou ex Harms	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>P. palmeri</i> Rose	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>P. pentagona</i> Mast.	1	-	-	-	-	-	1	-	2
<i>P. picturata</i> Ker Gawl.	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>P. pilosa</i> DC.	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>P. pilosicorona</i> Sacco	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>P. platyloba</i> Killip	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>P. pohlii</i> Mast.	1	-	-	2	-	7	-	-	10
<i>P. quadrangularis</i> L. (= <i>P. macrocarpa</i> Linden ex Mast.)	-	-	1	-	2	-	-	-	3
<i>P. rubra</i> L.	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>P. serrato-digitata</i> L.	-	-	1	-	1	-	-	-	2
<i>P. setacea</i> DC.	1	2	2	2	3	-	-	-	10
<i>P. setulosa</i> Killip	-	-	-	-	1	-	-	-	1
<i>P. sidifolia</i> M. Roem.	-	-	-	2	1	-	-	-	3
<i>P. speciosa</i> Gardner	-	-	-	-	2	-	-	-	2
<i>P. suberosa</i> L.	1	2	2	2	1	31	-	-	39
<i>P. subrotunda</i> Mast.	1	1	-	1	2	-	-	-	5
<i>P. tenuifila</i> Killip	1	-	-	2	1	-	-	-	4
<i>P. tricuspis</i> Mast.	1	1	-	2	1	-	-	-	5
<i>P. triloba</i> Ruiz & Pav. ex DC.	-	-	-	1	-	-	-	-	1
<i>P. tripartita</i> (Juss.) Poir. (= <i>P. mollissima</i> (Kunth) L. H. Bailey)	1	-	1	-	-	1	-	-	3
<i>P. vespertilio</i> L.	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>P. villosa</i> Vell.	-	-	-	-	2	-	-	-	2
<i>P. vitifolia</i> Bonpl. ex Kunth	1	-	-	1	-	-	-	-	2
<i>P. watsoniana</i> Mast.	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Passiflora</i> spp.	24	1	10	5	46	-	-	2	88
<b>Total: 63 espécies</b>	<b>80</b>	<b>37</b>	<b>76</b>	<b>108</b>	<b>145</b>	<b>124</b>	<b>20</b>	<b>9</b>	<b>599</b>

Fonte: Informação pessoal dos Curadores/Mantenedores das coleções: Milene da Silva Castellen, João Carlos de Oliveira, Neusa Maria Colauto Stenzel, Luis Carlos Bernacci, Nilton Tadeu Vilela Junqueira, Fabio Gelape Faleiro, Maria Lucia Carneiro Vieira, Telma Nair Santana Pereira, Marco Antonio da Silva Vasconcellos.

Comparando os dados da Tabela 2 com os da Tabela 3, nota-se que, embora o número de coleções (oito) tenha-se mantido constante, as instituições mantenedoras das coleções não são as mesmas, ou seja, algumas instituições que tinham coleções não as têm mais, e outras que não aparecem no inventário de 2002, estão presentes neste último levantamento. Além disso, algumas coleções importantes como a do IAPAR e a da UNESP Campus de

Jaboticabal tiveram seus acervos reduzidos esta última, principalmente, por problemas fitossanitários.

Deve-se ressaltar que a coleção da Embrapa Cerrados, a que apresenta maior número de acessos, inclui híbridos do programa de melhoramento. Esta coleção, a da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical e a do Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo (IAC) são as que apresentam maior número de espécies, respectivamente, 36, 34 e 33. A coleção da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da USP (ESALQ), com 14 espécies, é a que apresenta maior variabilidade intra-específica nas espécies silvestres. As coleções do IAC e do Instituto Agrônomo do Estado do Paraná (IAPAR) apresentam grande número de acessos de *P. edulis*, sendo que no IAPAR está a maior coleção de maracujá-amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa*) e, no IAC, a maior coleção de maracujá-roxo (*P. edulis* f. *edulis*).

Como era esperado, o maior número de acessos das coleções é de *P. edulis*, sendo a grande maioria de maracujá-amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa*), espécie mais cultivada no País. Existem outras espécies que estão entrando no sistema produtivo ou em processo de domesticação que apresentam números expressivos de acessos, tais como: *P. alata*, *P. suberosa*, *P. nitida*, *P. caerulea*, *P. amethystina* e *P. giberti*.

De maneira geral, as coleções são conservadas no campo, em casa de vegetação/telado ou sob a forma de sementes em câmaras frias e geladeiras. A ESALQ dispõe de protocolo para conservação de germoplasma de *Passiflora in vitro* (Vieira & Carneiro, 2004).

Na Tabela 4, pode-se observar a movimentação de germoplasma de maracujá, realizada pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Nos últimos 25 anos, foram importados 74 acessos de diversas espécies de *Passiflora*, exportados 140 acessos, e o trânsito interno movimentou 401 acessos. Ao todo foram movimentados 615 acessos nestas duas décadas e meia. Há de se destacar que foi exportado o dobro do que se importou, o que pode ser explicado pelo fato de grande parte das espécies de *Passiflora* de interesse econômico/social ser nativa do Brasil e, neste caso, o País tem mais a oferecer do que a receber. Não obstante ser essa a realidade, ou seja, no Brasil existe enorme variabilidade genética de *Passiflora* na natureza, é

importante buscar enriquecer nosso acervo de recursos genéticos de *Passiflora* com material importado, além de, obviamente, desenvolver um programa sistemático de resgate do material autóctone.

Ainda na Tabela 4, pode-se observar que, nos últimos três a quatro anos, houve diminuição drástica na movimentação de germoplasma de *Passiflora*, sobretudo, no intercâmbio internacional. Isso é reflexo da legislação em vigor que tem restringido o acesso e o intercâmbio dos recursos genéticos de maneira geral, e, em especial, do maracujá que apresenta várias espécies nativas do Brasil.

**Tabela 4.** Germoplasma de *Passiflora* movimentado na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, no período de 1981 a 2005.

Ano	Importação	Exportação	Trânsito interno	Total
1981	2	13	24	39
1982	6	13	2	21
1983	6	12	23	41
1984	0	7	11	18
1985	2	0	1	3
1986	1	0	5	6
1987	0	3	0	3
1988	0	15	1	16
1989	0	0	1	1
1990	0	0	12	12
1991	12	0	48	60
1992	0	13	61	74
1993	0	10	33	43
1994	0	3	17	20
1995	0	2	21	23
1996	1	17	16	34
1997	15	0	43	58
1998	0	2	3	5
1999	8	4	12	24
2000	0	19	25	44
2001	12	0	21	33
2002	1	7	10	18
2003	8	0	0	8
2004	0	0	11	11
2005*	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>74</b>	<b>140</b>	<b>401</b>	<b>615</b>

Fonte: Banco de dados (SIBRARGEN) da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

\*Dados obtidos até 24/10/2005.

## Conclusões

Não é por acaso que o Brasil é o maior produtor mundial de maracujá, pois, aliado a outros importantes fatores, existem, no País, as maiores e melhores coleções de germoplasma de *Passiflora* do mundo, o que dá sustentabilidade a essa pujante agroindústria brasileira. Embora o Brasil tenha essa posição privilegiada, quando comparado aos demais países em termos de recursos genéticos, verifica-se que há, ainda, um longo e urgente caminho a percorrer, notadamente, em relação ao resgate e à conservação de germoplasma.

## Agradecimentos

O autor deseja expressar os mais sinceros agradecimentos aos curadores-mantenedores de coleções e bancos de germoplasma, nominados no rodapé da Tabela 3, pelas informações fornecidas. Deseja, ainda, consignar um agradecimento especial ao Dr. Luís Carlos Bernacci, pela revisão taxonômica.

## Referências

- BETTENCOURT, E. J. (Ed.). **Directory of germplasm collections: 6.1 - tropical and subtropical fruits and tree nuts.** Rome: IBPGR, 1992. 337 p.
- CASTELLEN, M. S.; CERVI, A. C.; AMARAL, W. A. N. **O gênero *Passiflora* L. nos Tabuleiros Costeiros.** In: SILVA Jr., J. F. (Org.). Recursos genéticos dos tabuleiros e seus ecossistemas associados- fruteiras. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2005. 32 p. No prelo.
- CUNHA, M. A. P. Banco ativo de germoplasma de maracujá. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO, 1999, Londrina. **Anais...** Londrina: IAPAR/SBF, 1999. p. 72-73.
- FERREIRA, F. R. Germoplasma de maracujá. In: **Reunião técnica de pesquisa em maracujazeiro no Brasil.** Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMPF, 1998. p. 48-53. (EMBRAPA/CNPMPF. Documentos 77).

FERREIRA, F. R. **Recursos genéticos de fruteiras tropicais e subtropicais no Brasil**. In: FERREIRA, F. R. (Org.). Recursos genéticos de espécies frutíferas no Brasil. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. p. 9-27.

FERREIRA, F. R. Recursos genéticos e germoplasma de maracujá (*Passiflora* spp). In: **Reunião técnica de pesquisa em maracujazeiro**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. p. 63-66.

FERREIRA, F. R.; OLIVEIRA, J. C. Germoplasma de *Passiflora* no Brasil. In: SÃO JOSÉ, A. R. A cultura do maracujá no Brasil. Jaboticabal: FUNEP, 1991. p. 187-200.

FORD-LLOYD, B.; JACKSON, M. **Plant genetic resources: an introduction on their conservation and use**. Baltimore: Edward Arnold, 1986. 146 p.

GULICK, P.; VAN SLOTEN, D. H. (Ed). **Directory of germplasm collections: 6.1 - tropical and subtropical fruits and tree nuts**. Rome: IBPGR, 1984. 191 p.

IPGRI. Disponível em: <<http://www.ipgri.cgiar.org/germplasm/dbases.htm>>. Acesso em: 06 Maio de 2002.

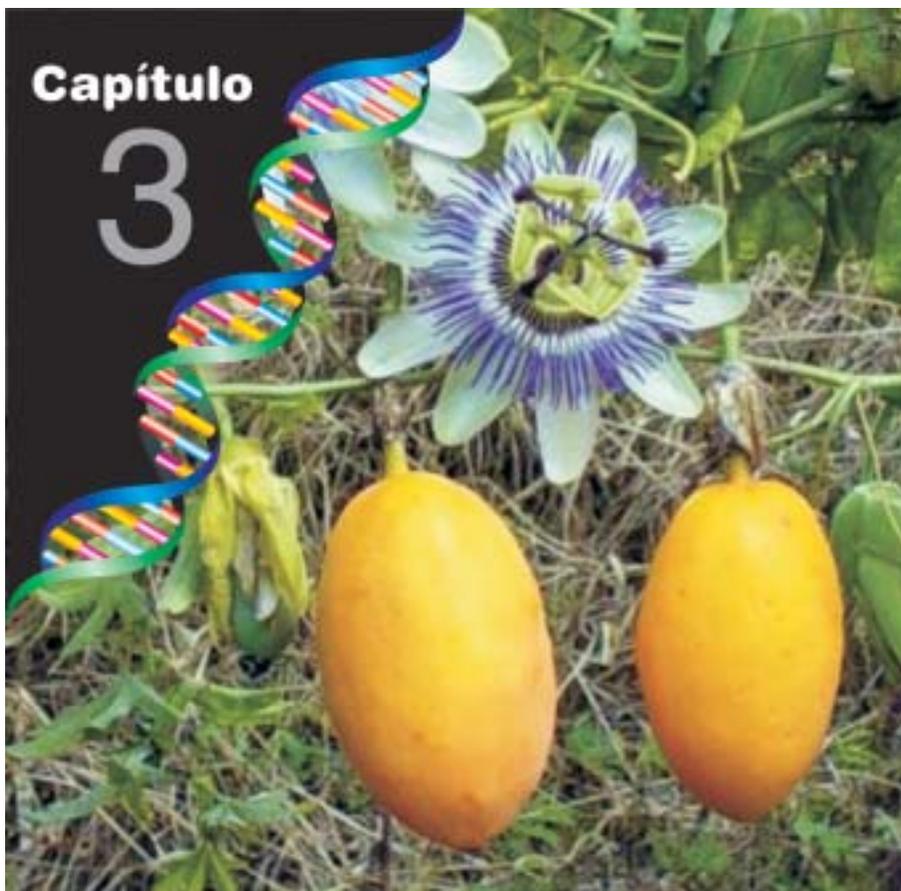
IPGRI. Disponível em: <<http://www.ipgri.cgiar.org/germplasm/dbases.htm>>. Acesso em: 20 out. de 2005.

ITI Tropicals. Disponível em: <[www.passionfritjuice.com](http://www.passionfritjuice.com)>. Acesso em: 31 out. de 2005.

POEHLMAN, J. M. **Breeding field crops**. New York: Holt, 1966. 427 p.

VIEIRA, M. L. C.; CARNEIRO, M. C. *Passiflora* spp. Passionfruit. In: LITZ, R. (Ed). **Biotechnology of fruit and nut crops**. Oxford: CABI, p. 436-453, 2004.

WET, J. M. J.; HARLAN, J. R. Weeds and domesticates: evolution in the man made habitat. **Economy Botanic**, v. 29, p. 99-107, 1975.



Oh fruto sagrado que caiu do céu!  
Vegetal tesouro por onde encontrado!  
Planta genuína do nobre Cerrado.  
Generosa espécie espalhada ao léu  
Por vales, montanhas, ladeiras e serras.  
Que tanto valoriza as brasileiras terras.  
É o vinho dourado do irmão que labora  
Este tão amado gênero passiflora.

*Geovane Alves de Andrade*

# Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro

---

Laura Maria Molina Meletti

Marta Dias Soares-Scott

Luís Carlos Bernacci

Ilene Ribeiro da Silva Passos

## Introdução

O maracujá-amarelo é cultivado em quase todo o território nacional, destacando-se como principais produtores os Estados da Bahia, Sergipe, São Paulo, Pará e Minas Gerais. O Brasil é, atualmente, o maior produtor mundial desse maracujá, tendo cultivado 34.778 ha em 2002 (Agrianual, 2004). Isso representa mais um ciclo de retração da área cultivada no País, uma vez que, em 1996, por exemplo, estimava-se que 44.000 hectares fossem ocupados com maracujá. Entre outros fatores, as várias moléstias que afetam a cultura e a inexistência de cultivares resistentes despontam como as causas mais significativas.

Algumas espécies não cultivadas têm acenado com contribuições importantes ao melhoramento genético por apresentar resistência a doenças ou a pragas, longevidade, maior adaptação a condições climáticas adversas, período de florescimento ampliado, maior concentração de componentes químicos interessantes para a indústria farmacêutica e outras potencialidades, quase todas, ainda, inexploradas. Entre essas, destacam-se *P. setacea*, *P. cincinnata*, *P. caerulea*, *P. incarnata*, *P. maliformis*, *P. foetida*, *P. nitida* e *P. quadrangularis*.

No entanto, a utilização da ampla diversidade genética dentro do gênero *Passiflora*, em função do elevado número de espécies nele presente, ainda tem sido pouco explorada, inclusive, no Brasil onde se localiza o maior

centro de dispersão geográfica do maracujá. Apesar dessa condição privilegiada quanto aos recursos genéticos de *Passiflora*, a maioria dos híbridos interespecíficos obtidos apresenta problemas de desenvolvimento, esterilidade masculina, baixa viabilidade polínica ou dificuldade em florescer (Meletti & Brückner, 2001). Por isso, a hibridação interespecífica não tem sido explorada adequadamente em nenhum programa de melhoramento, em nível mundial (Nakasone & Paull, 1999). Outras técnicas de melhoramento têm sido bem-sucedidas em desenvolver novas cultivares mais produtivas, homogêneas e que atendam os interesses dos dois segmentos de mercado atualmente dominantes: frutas frescas e agroindústria.

Os resultados são apresentados a seguir. No entanto, nenhuma dessas cultivares possui resistência genética a moléstias. Com o advento da biotecnologia e o desenvolvimento de técnicas mais precisas de manipulação de genes, a possibilidade de incorporação dos genes de resistência à virose ou à bacteriose, por exemplo, seria ampliada significativamente. A transformação genética vem sendo bastante pesquisada ultimamente, com relatos de sucesso, o que tem transformado também o panorama do melhoramento genético do maracujazeiro.

## Recursos genéticos

Para estabelecimento de um programa de melhoramento de *Passiflora*, é desejável a criação e a manutenção de Bancos de Germoplasma (BAGs) ou no mínimo coleções de trabalho, compostos do maior número de espécies possível.

No Brasil, a preservação de germoplasma tem sido feita em BAGs (Bancos Ativos de germoplasma), a maioria deles instalada e mantida por instituições públicas de pesquisa. Os principais BAGs nacionais estão localizados na UNESP, em Jaboticabal (SP); no Instituto Agrônomo, em Campinas (SP); no IAPAR, em Londrina (PR); na Embrapa Cerrados/UnB, em Planaltina (DF); na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, em Cruz das Almas (BA), na UESB, em Vitória da Conquista (BA) e no Instituto Plantarum, em Nova Odessa (SP). Todos trabalham com escassez de recursos para

manutenção das espécies. A necessidade de áreas amplas nem sempre disponíveis, compatíveis com o espaçamento recomendado, que exigem bastante mão-de-obra qualificada, tem levado alguns pesquisadores a fazer manutenção de germoplasma com a colaboração de produtores-elite, em troca de assistência técnica especializada.

Muitas espécies dessas coleções têm sido caracterizadas (Meletti et al., 1992, 1997) e/ou perdidas, devido a condições climáticas adversas em algumas regiões e à incidência de patógenos limitantes em outras. Por isso, parte dessas coleções vem sendo mantida na forma de sementes, em câmaras frias e secas. Os campos são reinstalados periodicamente, quando há necessidade de rejuvenescimento dos estoques, conforme a espécie em questão. Procura-se reduzir o custo e a mão-de-obra envolvida na manutenção permanente dos campos que passam a conter apenas as coleções de trabalho. Isso não tem sido visto como solução adequada, mas um paliativo. No caso de *P. edulis*, em que a vida útil da semente tem sido considerada de apenas um ano, esse método não traz vantagens (Meletti & Brückner, 2001).

Algumas espécies têm sido mantidas *in vitro*, mediante técnicas de cultura de tecidos. Há equipes integradas por profissionais especializados em desenvolver as técnicas necessárias ao estabelecimento de cada espécie, com aplicação imediata, redução de custo e necessidade mínima de espaço, o que tem feito com que essa técnica venha ganhando força e adeptos entre os mantenedores dos BAGs nacionais (Otoni et al., 1995; Passos, 1999; Passos et al., 2002a, 2002b; Passos et al., 2004).

Mais recentemente, trabalhos de criopreservação de sementes de Passifloráceas estão sendo desenvolvidos, visando à manutenção da diversidade das espécies por um tempo mais longo, na forma de sementes, a fim de reduzir os custos e as perdas comuns aos BAGs (Meletti et al., 2004). Nesse caso, o mais importante é verificar as condições das sementes após submissão a temperaturas tão baixas, de forma a garantir sua viabilidade e a manutenção das características genéticas das espécies.

O comportamento das espécies não cultivadas em relação aos principais patógenos vem sendo estudado há mais de duas décadas, tendo sido um dos primeiros aspectos observados e relatados pelos primeiros pesquisadores da cultura. Em função do grande número de patógenos que afetam a cultura do maracujá (vírus e bactérias, além das doenças radiculares), que atualmente não dispõe de controle químico satisfatório, busca-se a incorporação de resistência genética advinda de espécies relacionadas. A resistência à bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* foi encontrada em *Passiflora setacea*, *P. giberti*, *P. foetida*, *P. laurifolia* e *P. maliformis* (Kuroda, 1981; Barbosa, 1995). *P. suberosa*, *P. incarnata*, *P. macrocarpa* e o chamado maracujá-mirim mostraram resistência ao vírus do mosaico do maracujá-roxo (Oliveira et al., 1994). Resistência a *Fusarium oxysporum* f. *passiflorae* foi encontrada em *P. giberti* (Oliveira, 1987), *P. alata* (Yamashiro e Landgraf, 1979) e *P. caerulea* (Grech e Rijkenberg, 1991). *P. caerulea* mostrou também resistência a *Phytophthora* (Grech & Rijkenberg, 1991). Resistência ao nematóide *Meloidogyne incognita* foi encontrada em *P. caerulea*, *P. edulis*, *P. cincinnatti* e *P. macrocarpa* (Klein et al., 1984; Silva Jr. et al., 1988).

Outro problema da manutenção de espécies selvagens é a desuniformidade na germinação de suas sementes. Não se conhece o período de viabilidade da maioria delas e para aquelas em que ele é conhecido, observa-se longo período de dormência, natural ou induzida que impede a obtenção de material de propagação em quantidade suficiente para a maioria dos estudos necessários. Diferentes métodos de quebra de dormência devem ser empregados, visando à maior e à melhor utilização das sementes das espécies não comerciais (Meletti et al., 2002).

Conforme as condições ambientais, os resultados são distintos. Em Jaboticabal, por exemplo, Oliveira & Ruggiero (1998) citam que sementes recém-colhidas de *Passiflora nitida* germinaram menos de 1%, alcançando 25% aos três meses e 44,5% aos seis meses. Em Campinas, essa espécie germina somente na primavera-verão, com índices nunca superiores a 40%. Em Manaus, esses autores fazem referência à germinação rápida, sendo que aos 10 dias de armazenamento, observou-se 83% de germinação. Como essa espécie é da região amazônica, certamente, a temperatura é fator decisivo para a germinação das sementes.

## Objetivos do melhoramento genético

O melhoramento do maracujazeiro tem diversas finalidades, em função do produto a ser considerado (fruto, folhas ou sementes) e da região de cultivo. Em linhas gerais, a produtividade, a qualidade dos frutos, a resistência a doenças, aos nematóides e a viroses, mais a alta taxa de vingamento dos frutos têm sido os principais objetivos, porque o melhoramento está dirigido ao fruto, o produto mais significativo do mercado nacional. A seleção de plantas produtoras de folhas maiores ou com maior concentração de passiflorina para a indústria farmacêutica ainda é incipiente, assim como a possibilidade de utilização das sementes de algumas espécies como matéria-prima para extração de compostos químicos de uso medicinal.

Por isso, o melhoramento genético do maracujazeiro, no Brasil, está diretamente relacionado ao fruto seja no aspecto produtividade, seja no de qualidade. Em termos de qualidade, considera-se que uma variedade in natura desenvolvida para o mercado deve apresentar frutos grandes e ovais, a fim de conseguir boa classificação comercial. Deve ter boa aparência, ser resistente ao transporte e à perda de qualidade durante o armazenamento e à comercialização. Se desenvolvido para a agroindústria, o maracujá precisa ter casca fina e cavidade interna completamente preenchida, o que lhe confere maior rendimento em suco. Deve apresentar, também, maior acidez, coloração constante e alto teor de sólidos solúveis, acima de 13° Brix (Oliveira et al., 1994). Atualmente, além dessas características, a tolerância aos principais patógenos tem sido uma urgência a ser acrescentada, sob pena de redução drástica nas áreas cultivadas.

Assim sendo, o principal objetivo dos programas de melhoramento, no Brasil, é a incorporação de resistência a moléstias nas atuais cultivares ou desenvolvimento de outras com alguma tolerância a elas, sendo que a virose do endurecimento dos frutos e a bacteriose (causada por *Xanthomonas campestris* pv. *Passiflorae*) têm sido as mais importantes. Já foi constatada variabilidade entre as espécies de maracujazeiro e mesmo dentro da espécie maracujá-amarelo no tocante à resistência a essa bacteriose (Kuroda, 1981; Barbosa, 1995; Leite Jr. et al., 1999). Para essas duas graves moléstias, a

transformação genética, mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, e a fusão de protoplastos têm sido os caminhos mais pesquisados atualmente, visando à incorporação de genes de resistência.

A transformação genética do maracujá (*P. edulis*), mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, foi relatada inicialmente por Manders et al. (1994). Essa técnica permite a incorporação de genes responsáveis por características agronômicas desejáveis, como os relacionados à resistência a insetos, fungos, bactérias e vírus, provenientes de outras espécies de *Passiflora* ou mesmo de espécies botanicamente distantes. Um exemplo do potencial benéfico dessa tecnologia é a incorporação de resistência ao vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro (*Passionfruit woodiness virus*, PWV), por meio da clonagem de genes virais e transferência desses genes para o maracujazeiro (Braz et al., 1998; Alfenas et al., 2005).

## Histórico do melhoramento genético

O melhoramento do maracujazeiro constitui-se, desde seu início, em campo de pesquisa aberto e promissor. Segundo Nascimento et al. (2003), a grande variabilidade genética existente, o ciclo relativamente curto e o interesse crescente pela cultura são apenas alguns dos fatores que justificaram o início das pesquisas. O primeiro caminho escolhido foi o da seleção massal. Esse método de seleção é eficiente para caracteres de fácil mensuração e que possuam considerável herdabilidade. Para o maracujá, enquadram-se nessa categoria: o formato do fruto, o teor de suco, o teor de sólidos solúveis totais, a produtividade e o vigor vegetativo (Oliveira, 1980).

As primeiras publicações referiram-se ao melhoramento visando ao aumento de produtividade, como o desenvolvido por Oliveira (1980). Uma vez que a média nacional de produtividade ainda é bastante baixa, em torno de 15 t/ha, os primeiros trabalhos de melhoramento foram desenvolvidos com a finalidade de ampliar esse índice e de reduzir o custo de produção do maracujá. Embora o nível tecnológico dos pomares possa ser melhorado pela adoção de algumas práticas culturais importantes já disponíveis ao produtor, a exemplo da polinização manual complementar, o melhoramento genético vem

dando sua parcela de contribuição, desenvolvendo cultivares geneticamente superiores para essa característica.

Os trabalhos pioneiros para obter incrementos de produtividade na cultura foram publicados por Oliveira (1980) e Maluf et al. (1989), com dados de pesquisa nacionais. Eles se basearam na observação de que é possível obter significativos ganhos genéticos para essa e outras características quantitativas, devido à diversidade disponível e à pequena disponibilidade de seleções compatíveis e estáveis.

Outros trabalhos concomitantes, ligados ao melhoramento genético, concentraram-se na caracterização de germoplasma, como precursores de um programa de melhoramento propriamente dito. O comportamento das espécies não cultivadas em relação aos principais patógenos foi igualmente abordado nas primeiras publicações referentes à cultura do maracujá, assim como a constatação das doenças incidentes para as quais havia de se buscar fontes de resistência (Yamashiro & Landgraf, 1979; Oliveira et al., 1986).

A partir de então, as publicações da área de melhoramento ampliaram-se em número e em diversidade, especialmente, nos últimos dez anos, quando a equipe de pesquisadores ligados à cultura foi significativamente incrementada. Comparando-se aos primeiros simpósios de maracujá realizados no Brasil há menos de 15 anos, quando os pesquisadores dessa cultura no País inteiro não chegavam a uma dezena, observou-se nitidamente aumento na qualidade e na quantidade de trabalhos realizados com a cultura do maracujazeiro, incluindo a área de melhoramento genético.

No tocante à produtividade, várias seleções regionais foram utilizadas, na década de 1990, como precursoras das atuais cultivares. Não eram conhecidas nacionalmente nem foram cultivadas de forma generalizada, um dos motivos da baixa produtividade da cultura. Entretanto, realizaram importante trabalho de conscientização dos produtores sobre os benefícios de uma semente geneticamente selecionada.

Enquadram-se nessa categoria a seleção Maguary, mais cultivada em Minas Gerais; a seleção Sul-Brasil e o 'COMPOSTO IAC-270' (Meletti, 1998;

Meletti et al., 2000), mais utilizados em São Paulo; a seleção Golden Star, disseminada principalmente no Rio de Janeiro e no Espírito Santo. Mais recentemente, também uma seleção da Amafrutas, disponível no Pará, alimentou um programa de melhoramento na Embrapa Amazônia Oriental, em Belém (Nascimento et al., 2003). A maioria delas resultou de um trabalho de seleção massal bem conduzido por profissionais que dominam a cultura e obtiveram incrementos significativos em pouco espaço de tempo. Essas seleções dominaram os pomares durante a década de 1990.

No caso do maracujá, os compostos também podem ser considerados boas opções de melhoramento, porque a maior produtividade pode ser combinada com maior eficiência de polinização, e as sementes ainda podem ser multiplicadas pelo produtor, sem perda de características. Os compostos resultam de cruzamentos entre variedades ou diferentes populações de polinização livre, todas com boa capacidade de combinação, cruzadas em todas as direções (Meletti & Brückner, 2001). O 'Composto IAC-27' era exatamente isto e foi comercializado para todos os estados da federação, entre 1998 e 2000, quando então foi definitivamente substituído pelos híbridos IAC, mais produtivos e homogêneos, que haviam sido lançados em 1999 (Meletti & Maia, 1999; Meletti, 2000).

Daí em diante, o mercado profissionalizou-se, e os programas de pesquisa tiveram de acompanhar as novas tendências de mercado. A alta qualidade dos frutos exigida para comercialização nos grandes centros consumidores tornou-se uma necessidade. Foram criados padrões de classificação, o que obrigou os pesquisadores a desenvolver genótipos mais homogêneos quanto às características de fruto, direcionados ao segmento de mercado que desejavam atingir, e não apenas mais produtivos. Surgiram, então, as primeiras cultivares de maracujá-amarelo disponibilizadas aos produtores a partir de 1999.

Essas primeiras cultivares foram desenvolvidas com características distintas em função dos dois segmentos de mercado vigentes na ocasião, o mercado de frutas frescas e a agroindústria, conforme detalhado nos objetivos do melhoramento. Cada segmento procura um tipo de fruta mais interessante

ao consumidor final, daí as exigências mercadológicas. Essas cultivares possuem características definidas e distintas, sendo IAC-273 e IAC-277 para mercado de frutas frescas e IAC-275 para agroindústria, conforme descrição de Meletti (2000) e a Casca Fina – CCF, com descrição de Nascimento et al. (2003), que serão consideradas mais adiante, por estarem devidamente registradas como cultivares no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Foi na década de 1990, portanto, que se observou o incremento do melhoramento genético do maracujazeiro, não só pelo lançamento das primeiras cultivares, mas também pela consolidação de equipes multidisciplinares de pesquisa em diferentes centros nacionais.

A partir de 2000, essas equipes vem desenvolvendo pesquisas bastante sedimentadas em novas tecnologias, com objetivos definidos, multiplicidade de métodos e, mais recentemente, com a adoção de ferramentas importantes para o melhoramento genético, como a biotecnologia.

## Melhoramento visando à resistência a doenças

As linhas de pesquisa atualmente desenvolvidas concentram-se principalmente na obtenção de cultivares com resistência a moléstias seja incorporando genes de resistência nas atuais cultivares-elite, seja no desenvolvimento de novas cultivares. Os patógenos mais visados são aqueles que causam moléstias de ocorrência generalizada, algumas de âmbito nacional. Em algumas regiões com histórico de incidência, há moléstias limitantes para a cultura, nos casos em que não se conhece controle químico eficiente e/ou econômico para elas, até o momento. Destacam-se: virose do endurecimento dos frutos (*woodness*), bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*) e fusariose (*Fusarium oxysporum*).

Existem também esforços consideráveis para esclarecer a morte prematura de plantas, murcha ou morte repentina, com tentativas de controle pelo uso de porta-enxertos resistentes. A maioria desses porta-enxertos é de espécies selvagens do gênero *Passiflora*, integrantes dos BAGs nacionais. O

germoplasma tem sido avaliado quanto a sua tolerância aos patógenos e, posteriormente, quanto a sua compatibilidade como porta-enxerto para o maracujá-amarelo (Meletti & Brückner, 2001).

Alternativamente ao melhoramento genético, desenvolvem-se estudos com a técnica de enxertia do maracujá-amarelo em outras espécies, visando ao controle da morte prematura de plantas ou da fusariose, vários deles concentrados na equipe da UNESP-Jaboticabal. Atualmente, sabe-se que a enxertia é tecnicamente viável, sendo a enxertia hipocotiledonar estudada com mais sucesso. Todavia, a aplicação do processo em escala comercial ainda tem se mostrado antieconômica, devido à pequena disponibilidade de sementes das espécies de porta-enxerto, além da dificuldade e da irregularidade de germinação da maioria dessas sementes. Assim, independente do método de enxertia bem-sucedido, os porta-enxertos mais recomendados não dispõem de produção regular de sementes, por se tratar de espécies presentes apenas em alguns BAGs, com pequeno número de plantas, utilizadas somente para fins de pesquisa. Uma vez que a adoção da enxertia carece de disponibilidade de sementes de porta-enxertos e de métodos eficientes de quebra de dormência das sementes da maioria deles, resta ainda a questão do custo. A enxertia para uma planta que vai ficar no máximo três anos em campo é bastante questionável. Portanto, considera-se, atualmente, que a solução mais próxima para os patógenos de solo deva vir do melhoramento genético.

A biotecnologia tem apresentado diversas técnicas passíveis de utilização como ferramenta ao melhoramento. Como exemplos podem ser citadas: a cultura de tecidos, as hibridações interespecíficas naturais (sexuais) e artificiais (hibridação somática), a fusão de protoplastos e as transformações genéticas, que serão abordadas em capítulos específicos, por especialistas da área e/ou equipes que se dedicam a essas laboriosas linhas de pesquisa.

No tocante à aplicação de métodos biotecnológicos, a cultura de tecidos pode ser considerada a técnica com maior volume de resultados de pesquisa para o gênero, até o presente momento. Espécies de Passifloraceae, quando cultivadas *in vitro*, apresentam respostas morfogenéticas satisfatórias. Nesse aspecto, já foram realizados importantes trabalhos para

estabelecimento ou na otimização de protocolos de regeneração de plantas a partir de explantes diversos (Passos, 1999; Monteiro, 2000; Passos et al., 2002a, 2002b). No entanto, as baixas taxas de multiplicação observadas *in vitro* e a necessidade de protocolos individualizados por espécie ainda limitam a utilização dessa técnica, em larga escala, na propagação do maracujazeiro.

## **Virose - PWV (Vírus do endurecimento dos frutos)**

O maracujazeiro-amarelo pode ser infectado por diferentes vírus, sendo que, no Brasil, até o momento, o vírus do endurecimento dos frutos - PWV (*passionfruit woodness virus*) é considerado o mais importante. Ele reduz significativamente a área foliar e o peso da planta. Como a produção do maracujazeiro está diretamente relacionada ao enfolhamento da planta, os efeitos são nítidos. Quanto mais cedo a planta é infectada, maior o efeito negativo. O PWV causa danos quantitativos e qualitativos à produção, reduzindo número, peso e valor comercial dos frutos. O vírus é facilmente transmissível por meios mecânicos e também por afídeos, de maneira não persistente (Kitajima et al., 1986; Gioria, 1999).

O controle ainda não é conhecido e, por isso, as recomendações técnicas têm sido relativas a medidas de exclusão, evitando-se a disseminação do vírus por áreas indenadas ou convivência com o PWV nas áreas medianamente afetadas. Áreas bastante afetadas são condenadas, muitas vezes, com as plantas eliminadas sumariamente antes mesmo do início da primeira safra, o que representa prejuízo total ao produtor.

A técnica da pré-imunização não se mostrou viável para o maracujazeiro. Plantas pré-imunizadas são facilmente infectadas em condições de campo por estirpes mais virulentas<sup>1</sup>.

Na Austrália, o controle do PWV tem sido feito mediante uso de híbridos de maracujá-amarelo e roxo que parecem ser mais tolerantes. O uso de estirpes fracas na pré-imunização produziu bons resultados por algum tempo,

---

<sup>1</sup> Comunicação pessoal de Rezende, em 2004 à autora.

pois essa política de convivência com o vírus aparentemente permitiu o surgimento de estirpes mais severas, capazes de prejudicar até mesmo esses híbridos (Meletti & Brückner, 2001).

No Brasil, há disponibilidade de uma cultivar de frutos rosados, denominada 'Maracujá-Maçã' (Figura 1), lançada em 2000 pelo Instituto Agronômico em Campinas (Meletti, 2000). Trata-se de um híbrido entre o maracujá-amarelo IAC-277 e um maracujá-roxo nativo, de frutos arredondados e de casca rosada, muito parecido com uma maçã tradicional, daí sua denominação. No entanto, essa hibridação produz frutos pouco apreciados no mercado atualmente, devido a sua coloração rosada, formato arredondado, peso inferior ao do maracujá-amarelo e menores dimensões.



**Figura 1.** Cultivar de frutos rosados, denominada 'Maracujá-Maçã' lançada pelo Instituto Agronômico em Campinas (Meletti, 2000).

A incorporação de genes para resistência a viroses e a outras moléstias, mediante transformação gênica de *P. edulis*, tornou-se realidade, utilizando a bactéria *Agrobacterium tumefaciens* como mediadora. Para a incorporação de genes de resistência ao PWV, têm sido utilizadas cultivares de maracujá-amarelo de ampla aceitação no mercado. Tratando-se de uma metodologia cara e bastante trabalhosa, deveria ser aplicada apenas a cultivares devidamente registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e

Abastecimento que tivessem autorização para comércio de sementes e mudas, o que representaria uma segurança para o produtor.

Recentemente, já foram obtidas plantas transgênicas com o gene de resistência ao vírus incorporado no genótipo do maracujazeiro-amarelo, por diferentes equipes de pesquisadores, tanto na UFV (equipe do Dr. Murilo Zerbini) quanto na ESALQ-CENA (equipe do Dr. Jorge Rezende).

## Bacteriose

A resistência à bacteriose, causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *Passiflorae*, tem sido estudada por algumas equipes, munidas de técnicas diferenciadas. Esse agente causal tem resultado numa bacteriose que afeta intensamente as plantas no campo, especialmente, nas áreas em que o maracujá é cultivado sem quebra-vento ou próximo a pomares velhos, com a sanidade comprometida. Essa bactéria propaga-se pelo vento ou pelo caminhamento de pessoas pelo pomar quando há alta umidade, sendo bastante danosa às plantas. O controle atualmente preconizado inclui medidas preventivas (Meletti & Maia, 1999), nem sempre observadas, que se iniciam pelo uso de sementes sadias de origem conhecida. Mais uma vez, enfatiza-se a importância do uso de sementes de cultivares desenvolvidas por instituições idôneas para evitar a contaminação até mesmo na fase de viveiro. No campo, o uso de antibióticos é restrito a situações críticas, sendo bastante limitado. Várias aplicações seqüenciais resultam na nulidade do efeito bactericida. Portanto, a alternativa de incorporação de resistência genética seria duplamente bem-vinda, porque poderia inclusive reduzir o volume de produtos químicos atualmente aplicados na cultura.

Dado ao grande elenco de técnicas aplicativas da área biotecnológica, capaz de adiantar etapas e antecipar ganhos genéticos em relação ao melhoramento genético convencional, estima-se que a resistência à bacteriose seja rapidamente incorporada às cultivares comerciais mais produtivas ou com qualidades comerciais diferenciadas. O trabalho tem sido extensivo ao maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis), uma espécie altamente suscetível à bacteriose, nas condições de campo do Estado de São Paulo onde produtores de vários municípios deixaram de cultivar esse tipo de maracujá por causa da limitação

imposta pela bacteriose. O germoplasma silvestre, nesse caso, também já está sendo explorado pela biotecnologia, transferindo-se caracteres desejáveis para as espécies cultivadas e promovendo a introgressão de genes de resistência.

Dada a crescente importância da cultura do maracujá no contexto da agricultura nacional e mundial, espera-se que outros trabalhos sejam conduzidos com o auxílio da biotecnologia, associados a programas de melhoramento genético convencional, visando ao cumprimento das diversas etapas no menor tempo possível.

## Hibridações interespecíficas

Nas hibridações interespecíficas, tem-se dado ênfase à transferência de caracteres favoráveis de outras espécies para *Passiflora edulis*. Essa espécie tem sido considerada como um bom progenitor por apresentar florescimento abundante e ininterrupto de fins de outubro a começo de maio, nas condições paulistas, e de até onze meses por ano, em regiões tropicais (Meletti & Brückner, 2001). Além disso, diferentemente da maioria das *Passifloras*, apresenta índices de germinação previsíveis e manutenção da viabilidade das sementes por quase um ano em condições normais de armazenamento.

No entanto, a maioria dos híbridos interespecíficos apresenta problemas de desenvolvimento, macho-esterilidade, baixa viabilidade polínica ou dificuldade em florescer (Otoni, 1995; Soares-Scott et al., 2003).

A hibridação interespecífica para transferência dos genes de resistência ao maracujá comercial tem apresentado pouca aplicação prática. Já foram obtidos muitos híbridos interespecíficos com *Passifloraceae* porque as barreiras de incompatibilidade, nesses casos, são frágeis. Foram igualmente relatados problemas de macho-esterilidade parcial e alta variação morfológica nos frutos os quais, normalmente, são intermediários entre as duas espécies e sem características comerciais desejáveis. Para recuperá-las, muitas gerações de retrocruzamento com o progenitor comercial são necessárias.

De acordo com Meletti & Brückner (2001), o caminho da hibridação natural interespecífica exige muitos ciclos de retrocruzamento para recompor o

vigor natural das plantas e as características interessantes para comercialização, o que torna o programa de melhoramento demasiadamente longo.

Por isso mesmo, os cultivos comerciais baseiam-se numa única espécie, *P. edulis*, uma vez que ela ocupa 95% dos pomares. Mesmo tendo se tornado comercial há poucos anos, o maracujá-amarelo apresenta grande variabilidade genética natural para as diversas características da planta e do fruto. Isto define um significativo potencial de exploração por seleção massal, podendo-se encontrar algumas populações selecionadas e cultivares.

## Cultivares

Depois da especialização do mercado e das exigências de cada segmento, começaram a surgir cultivares direcionadas ao mercado de frutas frescas e ao da agroindústria, com características distintas, como as IAC-273 (Figura 2) e IAC-277 (Figura 3) para mercado de frutas frescas e IAC-275 (Figura 4) para agroindústria (Meletti, 2000), Casca Fina - CCF (Nascimento et al., 2003), Yellow Master (FB-200) e IAC-Paulista (Meletti et al., 2005), Figura 5.



**Figura 2.** Frutos da Cultivar IAC-273 para segmento de frutas frescas.



**Figura 3.** Frutos da Cultivar IAC-277, com casca fina e maior proporção de polpa em relação ao IAC-273.



**Figuras 4.** Frutos da Cultivar IAC-275, especialmente, desenvolvida para a agroindústria. Frutos com casca muito fina, cavidade interna completamente preenchida, teor de SST (Brix) mais elevado e maior rendimento em polpa.



**Figura 5.** Frutos de Maracujá-roxo cv. IAC-Paulista.  
Fonte: Meletti et al. (2005).

Há também algumas seleções brasileiras relativamente disseminadas que ainda não estão inseridas na Listagem Nacional de Cultivares Registradas, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portanto, as informações técnicas a respeito do desempenho agrônomo desse material e das características de seus frutos encontram-se nas mãos de seus obtentores. Nesses casos, inclusive a comercialização na forma de sementes ou mudas, está limitada pela falta de registro. Por lei, isso impede que os viveiros credenciados possam adquirir as sementes e comercializar as mudas resultantes. De acordo com a nova Lei de Sementes (em vigor desde 1998), o registro no MAPA e a inserção na Listagem Nacional de Cultivares do Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC) é condição para a comercialização de sementes e mudas de uma cultivar, qualquer que seja a espécie.

Atualmente, nem todas as instituições responsáveis pela colocação de novas cultivares no mercado têm levado em conta essa questão legal, uma vez que pelo menos duas entre as mais utilizadas não estão inseridas nessa listagem. Além do aspecto legal, a inserção na listagem do SNPC representa uma garantia para o produtor, porque as características da cultivar e a

instituição responsável por ela ficam igualmente registradas no MAPA, servindo de referência. É, também, uma garantia de que a cultivar está sendo mantida em suas características originais, geneticamente falando, sem que o produtor corra o risco de que sua disponibilidade seja precocemente interrompida.

Na Tabela 1, estão relacionadas as cultivares de maracujá devidamente inseridas na Listagem Nacional de Cultivares do SNPC instituída por lei pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Pela Tabela 1, observa-se que são poucas as cultivares disponíveis ao produtor e que nessa tabela não se incluem todas as cultivares ora plantadas, contrariando a legislação em vigor.

O maracujá-cerula (Tabela 1) é atualmente utilizado somente para fins ornamentais. Corresponde à espécie botânica *Passiflora caerulea*. Foi inserida na listagem por uma empresa do ramo paisagístico, visando à produção de mudas para formação de cercas-vivas.

As cultivares inseridas como *Passiflora edulis* seja maracujá-amarelo, seja maracujá-roxo, deveriam estar sob a mesma denominação e numeração, uma vez que a espécie botânica é atualmente referida como *P. edulis*, tanto para o amarelo, quanto para o roxo (Bernacci, 2003). O registro 02404 não possui mantenedor, o que significa que ninguém lhe atribuiu paternidade. Pode ser comercializado, mas há dúvidas quanto a que material realmente se refere, por estar denominado da forma mais genérica possível. O registro 03605 é igualmente pouco definido e, embora o responsável por sua manutenção seja uma empresa do Rio de Janeiro, o nome certamente não confere com o que tem sido comercializado, em larga escala, naquele estado. Restam, portanto, como alternativas claras ao produtor, as cultivares CPATU-casca fina, IAC-273, IAC-277, IAC-275. As características dos híbridos IAC foram divulgadas em diversas oportunidades, em eventos nacionais, além das publicações específicas (Meletti, 1999; Meletti & Maia, 1999; Meletti, 2000; Meletti & Brückner, 2001). As características das progênies que compõem o material CPATU-casca fina podem ser encontradas em Nascimento et al. (2003).

**Tabela 1.** Cultivares de maracujá-azedo inseridas na Listagem Nacional de Cultivares do Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), com comercialização de sementes e mudas legalizada pelo MAPA. Dados atualizados até 24/10/2005.

Espécie: 635 - Maracujá-azedo ( <i>Passiflora edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Deg.).			
N.Ref.	Cultivar	Resp. p/ Manutenção	Data
11308	CPATU-casca fina	0412	16/01/2002
11314	IAC-273 - Monte Alegre	0026	17/01/2002
11315	IAC-275 – Maravilha	0026	17/01/2002
11316	IAC-277 – Jóia	0026	17/01/2002
Espécie: 103 - Maracujá ( <i>Passiflora edulis</i> Sims.).			
N.Ref.	Cultivar	Resp. p/ Manutenção	Data
02404	Amarelo	-	13/05/1999
03605	Redondo Amarelo	0204	06/06/2000
Espécie: 2607 – Maracujá-cerula ( <i>Passiflora caerulea</i> L. SP)			
N.Ref.	Cultivar	Resp. p/ Manutenção	Data
19447	Maracujá-cerula	0365	29/12/2004

A manutenção dessas cultivares exige muitos e intensivos cuidados por parte da instituição mantenedora. São bastante comuns os relatos de pesquisadores que obtêm material superior e depois têm grande dificuldade em mantê-lo e até em multiplicá-lo para atender a demanda dos produtores, nas condições atuais da pesquisa pública brasileira, carente de recursos humanos e financeiros. Há grandes dificuldades na manutenção do material genético envolvido na produção das cultivares seja pela grande necessidade de mão-de-obra envolvida nos cruzamentos controlados, seja pela degeneração das características das plantas que sempre ocorre e exige manutenção dos seus antecessores.

Por que a manutenção de matrizeiros de maracujá e, conseqüentemente, a produção de sementes exigem numerosos cuidados

com a identidade genética e envolve mão-de-obra especializada e grande número de cruzamentos controlados, nem todos os materiais listados estão disponíveis para comercialização. Informações recentes, obtidas de pesquisadores da Embrapa Amazônia Oriental (CPATU), ligados ao desenvolvimento dessa cultivar, mostram que a disponibilidade dessas sementes está temporariamente suspensa pelos motivos supracitados.

A produção de sementes dos híbridos IAC está sendo feita regularmente desde o seu lançamento e envolve todos os aspectos citados pelos colegas da Embrapa Amazônia Oriental (CPATU). Há, no entanto, atualmente, uma equipe constituída para essa finalidade que tem garantido os estoques. Além disso, durante uma cooperação técnico-científica estabelecida com a Embrapa, houve um campo de multiplicação das cultivares IAC em Sete Lagoas, MG que gerou sementes adicionais para comercialização no período de 2001-2003. Isso ajudou na ampliação da disponibilidade das sementes em âmbito nacional.

A ampliação do uso das cultivares IAC, desde o lançamento em 1999 até os dias atuais, representa um avanço considerável em produtividade e qualidade de frutos (Meletti & Brückner, 2001). O mesmo se pode dizer em relação à cultivar 'Yellow Master' que também tem auxiliado na melhoria dos pomares nacionais pelas suas características. A 'Golden Star', utilizada anteriormente à disponibilidade das demais, continua ainda a ser comercializada para alguns produtores das principais regiões de cultivo. Ambas devem ser registradas no MAPA pelos seus obtentores, para as finalidades a que se destinam, de forma a cumprir a legislação vigente.

## **Conclusões**

Atualmente, em pomares que usam sementes melhoradas geneticamente, associadas à tecnologia de produção recomendada para a cultura, a produtividade tem alcançado níveis de até 50 t/ha/ano. Isso prova que o melhoramento genético está indo por caminhos certos, fazendo o seu trabalho de ampliar a produtividade e a qualidade da matéria-prima resultante.

Como o preço do maracujá, tanto no mercado interno quanto no externo continua em elevação, dada à escassez do produto, acredita-se que a demanda pelo trabalho dos melhoristas só vai aumentar nos próximos anos.

Espera-se que o melhoramento genético, uma vez fortalecidas as equipes atuantes, possa contribuir rápida e significativamente para a obtenção de resistência a doenças, de modo a permitir que as cultivares já lançadas e as seleções regionais se estabeleçam definitivamente nos pomares.

O objetivo maior é que os produtores sintam-se estimulados a permanecer na atividade, apesar das dificuldades de produção ora enfrentadas. A elevada incidência de doenças na cultura envolve bastantes recursos financeiros e mão-de-obra para tratamentos preventivos que poderiam ser significativamente reduzidos pela incorporação de resistência genética às cultivares já disponíveis.

## Referências bibliográficas

AGRIANUAL: Anuário Estatístico de Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2004. p. 393-399.

ALFENAS, P. F.; BRAZ, A. S. K. J.; TORRES, L. B.; SANTANA, E. N.; NASCIMENTO, A. V. S. do; CARVALHO, M. G. de; OTONI, W. C.; ZERBINI, F. M. Plantas transgênicas de maracujá-amarelo expressando um RNA derivado do genoma do *Cowpea aphid-borne mosaic virus* são resistentes ao endurecimento dos frutos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 33-38, 2005.

BARBOSA, L. S. **Resistência de *Passiflora* spp a *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* e detecção do patógeno em sementes**. 1995. 66 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

BERNACCI, L. C. (Coord.). Passifloraceae. In: WANDERLEY, M.G. L.; SHEPHERD, G. J.; GIULIETTI, A. M.; MELHEM, T. S. (Ed.). **Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: RiMa; FAPESP, 2003. v. 3, p. 247-248.

BRAZ, A. S. K.; OTONI, W. C.; SANTANA, E. N.; ZAMBOLIM, E. M.; ZERBINI, F. M. Transformation of passionfruit (*Passiflora edulis* fv. *flavicarpa*) with sequences derived from *Nib* and *CP* genes of South African *Passiflora virus* (SAPV). **Fitopatologia Brasileira**, v. 23, p. 314, 1998. Supl.

GIORIA, R. **Viroses do maracujazeiro**: incidência na Alta Paulista, SP, danos causados pelo "passion fruit woodness virus" (PWV) e sintomatologia do "cucumber mosaic virus" (CMV). 1999. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

GRECH, N. M.; RIJKENBERG, F. H. J. Laboratory and field evaluation of the performance of *Passiflora caerulea* as a rootstock tolerant to certain fungal root pathogens. **Journal of Horticultural Science**, v. 66, n. 6, p. 725-729, 1991.

KITAJIMA, E. W.; CHAGAS, C. M.; CRESTANI, O. A. Enfermidades de etiologia viral e associadas a organismos do tipo micoplasma em maracujazeiro no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 11, p. 409-432, 1986.

KLEIN, A. L.; FERRAZ, L. C. C. B.; OLIVEIRA, J. C. Comportamento de diferentes maracujazeiros em relação ao nematóide formador de galhas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 19, n. 2, p. 207-209, 1984.

KURODA, N. **Avaliação do comportamento quanto a resistência de espécies e progênes de maracujazeiro a *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae***. Jaboticabal: FCAV-UNESP, 1981. 45 p.

LEITE JR., R. P.; WENDLAND, A.; SHIMAMOTO, R. T.; STENZEL, N. M. C. Avaliação do comportamento de espécies e progênes de *Passiflora* a bacteriose causada por *Xanthomonas* sp. pv. *Passiflora*. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO. Londrina: IAPAR, 1999. p. 56-57.

MALUF, W. R.; SILVA, J. R.; GRATTAPAGLIA, D.; TOMA-BRAGHINI, M.; CORTE, R. D.; MACHADO, M. B. A.; CALDAS, L. S. Genetic gains via clonal selection in passion fruit *Passiflora edulis* Sims. **Revista Brasileira de Genética**, v. 12, n. 4, p. 833-841, 1989.

MANDERS, G.; OTONI, W. C.; D'UTRA VAZ, F. B.; DAVEY, M. R.; POWER, J. B. Transformation of passionfruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener) using *Agrobacterium tumefaciens*. **Plant Cell Reports**, v. 13, p. 234-238, 1994.

MELETTI, L. M. M. **Caracterização agronômica de progênes de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.)**. 1998. 92 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

MELETTI, L. M. M. Maracujá-amarelo: novos cultivares IAC podem duplicar a produtividade da cultura. **O Agrônomo**, v. 51, n. 1, p. 40-41, 1999.

MELETTI, L. M. M. Maracujá 'Jóia' (IAC-277), 'Maracujá-Maçã', 'Maracujá Maravilha' (IAC-275), 'Maracujá Monte Alegre' (IAC-273). In: DONADIO, L. C. (Ed.). **Novas**

**variedades brasileiras de Frutas.** Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2000. p. 152-159.

MELETTI, L. M. M.; BARBOSA, W.; VEIGA, R. F. A. Criopreservação de sementes de três espécies de maracujazeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 18., 2004, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: SBF; Epagri, 2004. 5 p. CD-ROM.

MELETTI, L. M. M.; BRÜCKNER, C. H. Melhoramento genético. In: BRÜCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado.** Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001. p. 345-385.

MELETTI, L. M. M.; FURLANI, P. R.; ÁLVARES, V.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; AZEVEDO FILHO, J. A. Novas tecnologias melhoram a produção de mudas de maracujá. **O Agrônomo**, v. 54, n. 1, p. 30-33, 2002.

MELETTI, L. M. M.; MAIA, M. L. **Maracujá: produção e comercialização.** Campinas: Instituto Agrônomo, 1999. 62 p. (Boletim Técnico, 181).

MELETTI, L. M. M.; SANTOS, R. R. dos; MINAMI, K. Melhoramento do maracujazeiro-amarelo: obtenção do 'Composto IAC-27'. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 3, p. 491-498, 2000.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C. Caracterização de três seleções de maracujazeiro-roxo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 2, p. 268-272, 2005.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; MARTINS, F. P. Caracterização de germoplasma de *Passiflora. P. amethystina e P. cincinnata*. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS, 1997, Campinas. **Anais...** Campinas: IAC; Embrapa-Cenargen, 1997. p. 73-74.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; PINTO-MAGLIO, C. A. F.; MARTINS, F. P. Caracterização de germoplasma de maracujazeiro (*Passiflora* sp). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 14, n. 2, p. 157-162, 1992.

MONTEIRO, A. C. B. **Cultivo in vitro de três espécies do gênero Passiflora.** 2000. 82 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

NAKASONE, H. Y.; PAULL, R. E. **Tropical fruits.** New York: CAB International, 1999. 445 p. (Crop production science in horticulture series).

NASCIMENTO, W. M. O.; TOMÉ, A. T.; OLIVEIRA, M. do S. P. de; MULLER, C. H.; CARVALHO, J. E. U. Seleção de progênies de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* f. flavicarpa) quanto à qualidade de frutos. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 25, n. 1, p. 186-188, 2003.

OLIVEIRA, J. C. de. Melhoramento genético. In: RUGGIERO, C. (Ed.) **Cultura do maracujazeiro**. Ribeirão Preto: L. Summa, 1987. p. 218-246.

OLIVEIRA, J. C. de. **Melhoramento genético de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg visando aumento de produtividade**. 1980. 133 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

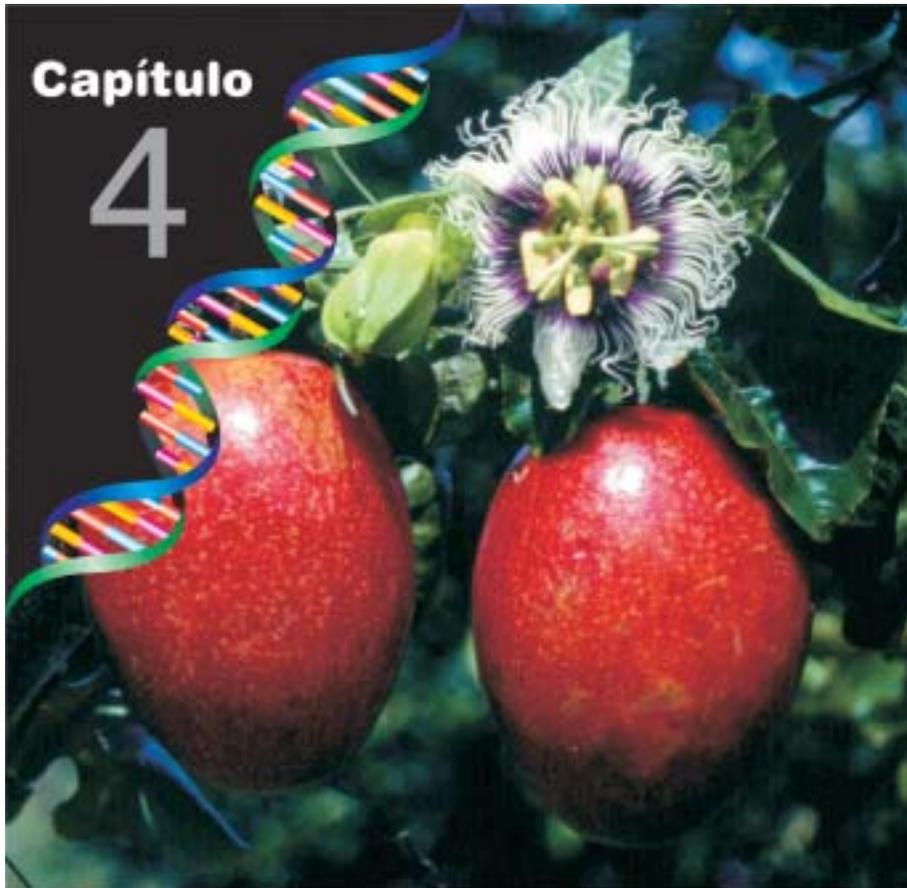
OLIVEIRA, J. C. de; NAKAMURA, K.; MAURO, A. O.; CENTURION, M. A. P. da C. Aspectos gerais do melhoramento do maracujazeiro. In: São José, A. R. **Maracujá, produção e mercado**. Vitória da Conquista: DFZ-UESB, 1994. p. 27-37.

OLIVEIRA, J. C. de; NAKAMURA, K.; RUGGIERO, C.; FERREIRA, F. R. Determinação defonte de resistência em Passifloráceas quanto à morte prematura de plantas. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA**, 8., 1986, Brasília. **Anais...** Brasília: Embrapa-DDT; CNPq, 1986. p. 403-408.

OLIVEIRA, J. C. de; RUGGIERO, C. Aspectos sobre o melhoramento do maracujazeiro amarelo. In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJÁ**, 5., 1998, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 1998. p. 291-314.

OTONI, W. C. **Hibridação e embriogênese somáticas e transformação genética em espécies de *Passiflora***. 1995. 198 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

OTONI, W. C.; CASALI, V. W. D.; CECON, P. R.; POWER, J. B.; DAVEY, M. R. Isolamento de protoplastos e regeneração de plantas de maracujazeiro (*Passiflora coccinea* Aubl.) a partir de protoplastos derivados de mesofilo. **Revista Ceres**, v. 42, n. 243, p. 461-468, 1995.



## Capítulo

# 4

Brasileira espécie que atrai a atenção  
De cientistas, curiosos, músicos e poetas.  
De abelhas, mamangavas, toda a classe insecta.  
E do mais indefeso ao mais sábio e forte,  
Contempla com fascínio e tal devoção  
A planta-flor lendária do Brasil Centro-Norte  
Que cura, alimenta, perfuma e dá sorte.  
Por todo tropical rincão onde vegeta.

*Geovane Alves de Andrade*

# Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças

---

Nilton Tadeu Vilela Junqueira

Marcelo Fideles Braga

Fabio Gelape Faleiro

José Ricardo Peixoto

Luís Carlos Bernacci

## Introdução

As espécies de maracujá pertencem à família Passifloraceae que é composta por dezenove gêneros, sendo o gênero *Passiflora*, o de maior expressividade, com cerca de 400 espécies, embora haja divergências entre autores (Bernacci et al. 2004; Bernacci, 2003; Braga & Junqueira, 2000; Oliveira et al., 1994; Souza & Meletti, 1997). O número de espécies no Brasil é de 111 a 150, sendo que o maior centro de distribuição geográfica deste gênero localiza-se no Centro-Norte do Brasil (Oliveira et al., 1994; Souza & Meletti, 1997). O maracujazeiro-azedo ou maracujazeiro-amarelo é o mais cultivado no Brasil e pertence a espécie *Passiflora edulis* Sims. Por ter frutos de casca amarela, recebe também a denominação de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener. A segunda espécie mais cultivada no Brasil é *Passiflora alata* Curtis ou maracujá-doce. O maracujá-roxo, também pertencente a espécie *Passiflora edulis* Sims, é muito cultivado na Austrália, África e Sudeste Asiático. Estima-se que, juntos, o maracujá-azedo e o maracujá-roxo ocupem mais de 90 % da área cultivada no mundo.

No Brasil, as doenças e pragas (abelhas africanizadas, broca-da-haste, mosca-do-botão floral) constituem-se nos principais fatores que ameaçam a expansão e a produtividade dos cultivos de maracujá-azedo e maracujá-doce, provocando prejuízos expressivos e preceituando os produtores a usarem defensivos agrícolas de forma indiscriminada. Em algumas regiões do país, doenças como a bacteriose [*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (Pereira) Gonçalves & Rossato], murcha de fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* W.L.

Gordon apud G.S. Purss), virose do endurecimento do fruto (*Passionfruit Woodiness Virus - PWV* ou Cowpea aphid-born mosaic virus - *CABMV*), a antracnose [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.] têm sido limitantes. Essas doenças, facilitadas por condições edafoclimáticas favoráveis, não podem ser controladas de forma eficaz pelos métodos tradicionais de controle.

O uso de cultivares resistentes associado a outras técnicas de manejo integrado é a medida mais eficaz, econômica e ecológica de controle de doenças. O desenvolvimento de cultivares resistentes a doenças é estratégico para todas culturas agrícolas visando à redução de custos de produção, segurança de trabalhadores agrícolas e consumidores, qualidade mercadológica, preservação do ambiente e sustentabilidade do agronegócio (Quirino, 1998).

## Características potenciais de espécies de passifloras nativas

Entre as várias espécies de passifloras nativas do Brasil, algumas têm características interessantes que poderiam ser introduzidas no maracujazeiro comercial. Além da resistência a doenças e a algumas pragas, há espécies autocompatíveis como a *P. tenuifila* Killip, *P. cf. elegans* Mast., *P. capsularis* L., *P. villosa* Vell., *P. suberosa* L., *P. morifolia* Mast. e *P. foetida* L. Essa característica é importante para aumentar a produtividade e reduzir custos com mão-de-obra para a polinização manual, bem como para reduzir o impacto negativo provocado pelas abelhas-africanizadas. Há espécies como a *P. setacea* DC. e *P. coccinea* Aubl. que, nas condições do Distrito Federal, comportam-se como planta de "dias curtos", pois florescem e frutificam durante o período de dias mais curtos do ano, e a colheita ocorre de agosto a outubro, época da entressafra do maracujá-azedo comercial. Essa característica, se incorporada ao maracujazeiro comercial, poderá eliminar os problemas referentes a sua sazonalidade, permitindo a produção de frutos durante o ano todo na região Centro-Sul do País.

Outra característica importante, observada em algumas espécies silvestres, é a presença de androginóforo mais curto que reduz a distância dos estigmas em relação à coroa, facilitando a polinização por insetos menores. O androginóforo é a estrutura formada pelo prolongamento do receptáculo floral que sustenta o gineceu e o androceu. Em alguns acessos de maracujá roxo,

silvestre e *P. odontophylla* Harms ex Glaz. (Figura 1), no momento de máxima curvatura do estilete, os estigmas chegam a tocar na coroa e, dessa forma, podem ser polinizados facilmente por pequenos insetos, sobretudo, pelas abelhas que, atualmente, são consideradas pragas importantes por transportar todo o pólen e não fazer a polinização de forma eficaz. Variações no comprimento do androginóforo ocorrem, também, dentro de *P. edulis* f. *flavicarpa* comercial conforme pode ser visto na Figura 2.



**Figura 1.** Flor de *Passiflora odontophylla* mostrando androginóforo muito curto e estigmas quase tocando na coroa.



**Figura 2.** Diferenças no comprimento de androginóforos entre cultivares comerciais de *P. edulis* f. *flavicarpa*.

Em relação à resistência a doenças, vários autores (Menezes et al., 1994; Oliveira et al., 1994a; Fischer, 2003; Meletti & Bruckner, 2001) relataram as espécies de passifloras silvestres: *Passiflora caerulea* L., *P. nitida* Kunth., *P. laurifolia* L., alguns acessos de *P. suberosa*, *P. alata*, *P. coccinea*, *P. gibertii* N.E. Br. e *P. setacea*, como resistentes à morte precoce e a outras doenças causadas por patógenos do solo. Segundo Menezes et al. (1994), Fischer (2003) e Roncatto et al. (2004), a *P. nitida* Kunth., além de rústica, possui boa resistência a doenças e tem grande potencial para uso em programas de melhoramento que incluam hibridação interespecífica.

Em pesquisas em andamento na Embrapa Cerrados, com o objetivo de avaliar os índices de compatibilidade genética entre espécies de passifloras (Tabela 3), verificou-se que, por meio de cruzamentos artificiais, podem-se obter híbridos férteis e promissores para o melhoramento. A *P. setacea*, *P. coccinea* e *P. glandulosa* Cav., *P. mucronata* Lam., *P. galbana* Mast., quando utilizadas como genitor feminino ou masculino, cruzam muito bem com *P. edulis* f. *flavicarpa*, produzindo frutos com muitas sementes férteis. Já a *P. caerulea* como genitor feminino nos cruzamentos com *P. edulis* f. *flavicarpa* dificilmente gera frutos com alguma semente, e o problema se repete na geração RC1. No entanto, quando utilizada como genitor masculino, os frutos obtidos possuem muitas sementes F1 férteis, mas há dificuldades para se obter sementes em RC1. Na geração RC2 em que se utilizou o maracujá-azedo comercial como recorrente e genitor masculino, podem ser encontradas plantas mais produtivas e frutos com muitas sementes.

## Resistência de espécies de passifloras silvestres a patógenos do solo

Na Tabela 1, são apresentadas referências sobre o comportamento de várias espécies de passifloras em relação à resistência aos principais patógenos do solo, conforme relatado por Menezes et al. (1994), Oliveira et al. (1994a), Pio-Ribeiro & Mariano (1997), Santos Filho (1998), Roncatto et al. (2004) e Fisher et al. (2003). Além das espécies constantes na Tabela 1, outras como *P. speciosa* Gardner, *P. glandulosa*, *P. odontophylla*, *P. actinia* Hook, *P. elegans* e *P. haematostigma* Mart. ex Mast., podem ter potencial para produção de híbridos e/ou para porta-enxertos.

**Tabela 1.** Reação de espécies e cultivares de maracujá às principais doenças causadas por patógenos do solo.

Espécie/Acesso	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>Phytophthora</i> sp.
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	S	S	S
Acesso de Morretes (PR)	-	T	T
Acesso de Amparo (SP)	-	S	T
Acesso de Sapucaí (SP)	-	T	T
'Composto IAC-270'	-	S	T
'IAC-273 - Monte Alegre'	-	S	T
'IAC-275 - Maravilha'	-	T	T
'IAC-277 - Jóia'	-	S	S
Maguary	-	T	S
Sul-Brasil	-	S	S
<i>Passiflora alata</i> Curtis	R	T	T
<i>Passiflora caerulea</i> L.	R	S	T
<i>Passiflora capsularis</i> L.	S	-	-
<i>Passiflora cincinnata</i> Mast.	S	S	T
<i>Passiflora coccinea</i> Aubl.	-	T	T
<i>P. edulis</i> (nativo)	R/S	-	-
<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i>	S	S	S
<i>Passiflora foetida</i> L.	S/S	T	T
<i>Passiflora gibertii</i> N.E.Br.	R	T	T
<i>Passiflora laurifolia</i> L.	S	T	T
<i>P. ligulares</i> Juss	S	-	-
<i>Passiflora macrocarpa</i> Linden ex Mast.	R	-	-
<i>P. maliformis</i> L.	-	S	T
<i>P. tripartita</i> (Juss.) Poir	S	-	-
<i>Passiflora morifolia</i> Mast.	S	T	T
<i>Passiflora nitida</i> Kunth.	R	T	T
<i>Passiflora pohlii</i> Mast.	-	S	T
<i>Passiflora quadrangularis</i> L.	R	T	T
<i>Passiflora serratodigitata</i> L.	-	T	T
<i>Passiflora setacea</i> DC.	R	S	S
<i>Passiflora sidiifolia</i> M. Roem.	-	S	S
<i>Passiflora suberosa</i> L.	-	S	T

Fonte: Menezes et al., 1994; Oliveira et al., 1994b; Pio-Ribeiro e Mariano, 1997; Santos Filho, 1998; Roncatto et al., 2004 e Fisher et al., 2005.

O uso de espécies de passifloras nativas como porta-enxerto para o maracujazeiro-azedo tem sido preconizado por Chaves et al. (2004) que utilizaram estacas herbáceas enraizadas; por Nogueira Filho (2003) que usou a enxertia hipocotiledonar; por Pace (1984), Maldonado (1991), Junqueira et al. (2006) e Braga et al. (2004). Trabalhando com um clone de maracujazeiro comercial enxertado em estacas enraizadas de *P. nitida* (acesso EC-PN 01), Junqueira et al. (2006) verificaram que, durante 14 meses de colheitas, as plantas enxertadas tiveram produtividade similar à das plantas propagadas por sementes e foram menos afetadas pela podridão-de-raízes ou do colo (*Fusarium solani* (Mart.) Appel e Wollenweb) que as plantas propagadas por estaquia, mas a produtividade das plantas por estaquia foi o dobro das propagadas por enxertia e por sementes. Resultados similares foram obtidos por Braga et al. (2004) que, utilizando plantas de um clone de maracujazeiro, propagadas por enxertia em estacas enraizadas de um híbrido F1 entre *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. setacea*, verificaram que as plantas propagadas por enxertia não foram atacadas por patógenos do solo, mas tiveram produtividade similar à das propagadas por sementes e 30% inferior às de estaquia. Dessa forma, como a murcha ou fusariose não constitui um problema para o maracujazeiro no Planalto Central, experimentos dessa natureza devem ser estabelecidos no nordeste e norte de Minas Gerais onde essa doença tem causado prejuízos expressivos. No Distrito Federal e Entorno, o principal patógeno de solo tem sido o *Fusarium solani*, causador da podridão-de-raízes ou podridão-do-colo.

Quanto à morte precoce, acredita-se que a causa primária da doença seja o esgotamento repentino da planta em decorrência da alta produtividade e de um sistema radicular pouco eficaz na absorção de nutrientes. Nos experimentos conduzidos por Junqueira et al. (2006) e Braga et al. (2004), citados acima, a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) foi o agente responsável pela morte precoce das plantas, antes mesmo de o plantio completar dois anos de idade. Caso essa hipótese seja confirmada, o uso de porta-enxertos de espécies nativas com sistemas radiculares amplos e mais eficazes pode ter elevado valor prático.

## Resistência de espécies de passifloras silvestre às doenças da parte aérea

Alguns autores (Junqueira et al., 2003; Nascimento, 2003; Sousa, 2005), trabalhando com várias cultivares comerciais de maracujá-azedo, não constataram, entre as cultivares, graus de resistência que pudessem oferecer resultados satisfatórios no controle da virose, bacteriose, antracnose e septoriose. Esses autores verificaram que a variabilidade para resistência a essas doenças, entre as cultivares comerciais estudadas, é muito baixa.

Quanto às espécies silvestres, Oliveira et al. (1994b) trabalhando com inoculações artificiais de *Colletotrichum gloeosporioides*, verificaram que *P. nitida* mostrou-se imune ao fungo, *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg., *P. giberti*, *P. cincinnata*, *P. mollissima*, *P. caerulea*, *P. setacea*, *P. serrato digitata*, *P. coccinea*, *P. edulis* vs. *P. setacea*, *P. edulis* vs. *P. alata* foram susceptíveis, enquanto *P. edulis* Sims acesso 'Serra do Mar, Santos – SP' apresentou maior tolerância inicial.

Moraes et al. (2002) constataram a presença do *Passion fruit woodiness virus* (PWV), gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae*, infectando plantas de *P. nitida* acesso "Manaus". Segundo a autora, o vírus provoca sintomas semelhantes àqueles caracterizados por mosaico foliar, amarelecimento entre as nervuras, rugosidade, encarquilhamento das folhas e redução no crescimento das plantas. Pereira (1998) relata a alta rusticidade da espécie *P. nitida* e sua resistência a certas pragas e doenças do maracujá-amarelo, apresentando-se como fonte potencial de genes a ser explorada. Segundo a mesma autora, a única doença constatada nas plantas de *P. nitida* acesso "Manaus" foi a verrugose, causada por *Cladosporium*. A incidência dessa doença foi observada somente em frutos desenvolvidos no inverno. Oliveira & Ruggiero (1998) também relataram que, em condições de campo, frutos de *P. nitida* e *P. cincinnata* apresentaram danos severos causados por *Cladosporium herbarum* Link. Junqueira et al. (2004a) verificaram que alguns acessos de *P. nitida* nativos no Cerrado vêm apresentando boa tolerância à bacteriose e a patógenos do solo, mas alguns acessos de *P. alata*, *P. cincinnata*, *P. nitida*, *P. quadrangularis*, *P. amethystina*, *P. setacea*, *P. edulis* f. *edulis* e *P. edulis* f. *flavicarpa* têm-se comportado como suscetíveis.

Na Tabela 2, estão apresentados os dados referentes ao comportamento de espécies e híbridos artificiais em relação às principais doenças da parte aérea (virose, bacteriose, antracnose no fruto e antracnose nas ramas), em condições de campo, no Distrito Federal.

As avaliações dos danos causados pela virose do endurecimento do fruto nas folhas foram feitas com base nos sintomas apresentados após as análises de 10 ramos do ano. As plantas que não apresentaram sintomas foram consideradas altamente resistentes (AR); plantas cujas folhas apresentavam mosaico leve, visível em menos de 50% das folhas, foram consideradas resistentes (R); plantas com mosaico leve em todos os ramos foram consideradas suscetíveis (S); plantas cujas folhas apresentavam mosaico intenso, redução no tamanho ou deformações foliares e bolhas foram consideradas altamente suscetíveis (AS).

Para avaliar os danos causados pela bacteriose, determinou-se, em um metro linear de espaldeira, em ambos os lados, o número de folhas com lesões durante o mês de março, período de maior incidência dessa doença. Plantas com folhas sem sintomas foram consideradas altamente resistentes (AR); plantas com até cinco folhas lesadas com pontos de infecção iniciando pelos hidatódios foram consideradas resistentes (R); plantas com 5 a 10 folhas lesadas com pontos de infecção iniciando pelos hidatódios foram consideradas suscetíveis (S) e plantas com mais de cinco folhas com infecção iniciando pelos estômatos e pelos hidatódios e com mais de três lesões por folhas foram consideradas altamente suscetíveis (AS).

No processo de avaliação da reação à antracnose, as plantas que produziram frutos sem sintomas foram consideradas resistentes (R) e aquelas que apresentaram pelo menos uma lesão por fruto foram consideradas suscetíveis (S). Quanto à antracnose no ramo, as plantas que apresentaram lesões ou seca de ramos ou ponteiros foram consideradas suscetíveis (S) e aquelas que não apresentaram sintomas foram consideradas resistentes (R).

**Tabela 2.** Comportamento de espécies e híbridos de maracujazeiro em relação às principais doenças da parte aérea, Brasília, 2005.

Espécies e híbridos	Acesso	Virose nas folhas <sup>1</sup>	Bacteriose nas folhas	Antracnose nos frutos <sup>2</sup>	Antracnose nos ramos
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> , Cv. CSB-Marília	-	AS	AS	S	S
<i>P. alata</i> comercial (CEAGESP)	-	AS	AS	S	R
<i>P. actinia</i> (Santa Terezinha – MT)	-	AR	AR	*	R
<i>P. actinia</i> (IAC)	CPAC MJ-04-01	AR	AR	*	R
<i>P. gibertii</i>	CPAC MJ-22-01	AS	AR	R	R
<i>P. serrato-digitata</i>	CPAC MJ-11-01	S	AR	R	R
<i>P. odontophylla</i>	CPAC MJ-09-01	S	R	R	R
<i>P. tenuifila</i>	CPAC MJ-30-01	S	AR	S	R
<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i> (Itumirim, MG)	CPAC MJ-21-02	S	R	R	R
<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i> cinza (Taguatinga-TO)	-	R	R	S	R
<i>P. edulis</i> (Cachoeira Paulista, SP)	-	AS	*	S	S
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> silvestre (TO)	CPAC MJ-36-01	AS	R	S	S
<i>P. setacea</i>	CPAC MJ-12-03	R	S	R	R
F1 <sub>E-S</sub> = <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> (CSB) x <i>P. setacea</i>	-	R	AS	R	R
F1 <sub>E-S</sub> x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> (EC-2-O) = RC1 <sub>E-S</sub>	-	S	AS	R	R
RC1 <sub>E-S</sub> x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> (redondão) = RC2 <sub>E-S</sub>	-	AS	AS	R	R
RC2 <sub>E-S</sub> x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> (GA-2) = RC3 <sub>E-S</sub>	-	AS	AS	R	R
RC3 <sub>E-S</sub> x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> (GA-2) = RC4 <sub>E-S</sub>	-	AS	AS	*	*
<i>P. nitida</i> (Corumbá – GO)	CPAC MJ-01-10	AS	R	R	R
<i>P. nitida</i> (Itiquira – MT)	CPAC MJ-01-07	S	AR	R	R
<i>P. amethystina</i> (DF)	CPAC MJ-13-02	AS	AS	R	R
<i>P. amethystina</i> (SP)	CPAC MJ-13-01	S	R	R	R
<i>P. coccinea</i> (MT)	CPAC MJ-08-01	R	AS	R	R
F1 <sub>E-CO</sub> = <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> (CSB) x <i>P. coccinea</i>	-	R	AS	R	R
F1 <sub>E-CO</sub> x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> (CSB) = RC1 <sub>E-CO</sub>	CPAC MJ-H-34	S	AS	R	R
<i>P. caerulea</i>	CPAC MJ-14-02	S	AR	R	R
F1 <sub>E-CE</sub> = <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> (EC-2-O) x <i>P. caerulea</i>	CPAC MJ-H-35	AS	R	R	R
F1 <sub>E-CE</sub> x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> (EC-2-O) = RC1 <sub>E-CE</sub>	CPAC MJ-H-19	*	*	*	*
RC1 <sub>E-CE</sub> x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> (EC-2-O)	-	AS**	AS**	*	*
F1 <sub>CO-S</sub> = <i>P. coccinea</i> x <i>P. setacea</i>	CPAC MJ-H-01	R	AS	R	R
F1 <sub>CO-S</sub> x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> (GA-2) = F1 <sub>CO-S-E</sub>	CPAC MJ-H-05	S	AS	R	R
F1 <sub>CO-S-E</sub> x <i>P. edulis</i> = F1 <sub>CO-S-E-E</sub>	-	AS	AS	R	R
<i>P. mucronata</i>		AS	R	R	R

\*Sem informação \*\* Informações obtidas de apenas três plantas

A *P. actinia* é a única espécie que vem apresentando alto grau de resistência a essas doenças, inclusive, a virose. No entanto, até ao momento, todas as tentativas para se obter híbridos por meio de cruzamentos diretos dessas espécies com o maracujazeiro-azedo comercial não foram bem-sucedidas. Há possibilidades de se obter híbridos de forma indireta, pelo fato de *P. actinia* ser compatível com outras espécies que cruzam com o maracujá-azedo (Tabela 3) produzindo híbridos férteis. Como exemplo, cita-se a *P. coccinea* que é compatível com *P. actinia* e também com *P. edulis* f. *flavicarpa*. Dessa forma, um híbrido F1 de *P. coccinea* x *P. actinia* pode ser compatível com o maracujazeiro-azedo, gerando RCs férteis.

**Tabela 3.** Índice de compatibilidade genética (CG) entre diferentes espécies e híbridos artificiais de maracujazeiro, incluindo a *P. edulis* f. *flavicarpa* comercial. Brasília, 2004/2005.

Cruzamentos	Nº. de flores cruzadas	Frutos vingados	CG (%)
<i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> x <i>P. coccinea</i>	53	42	79,2
F1 <sub>E-CO</sub> ( <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> x <i>P. coccinea</i> ) x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	36	28	77,8
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> x <i>P. setacea</i>	63	54	85,7
F1 <sub>E-S</sub> ( <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> x <i>P. setacea</i> ) x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	58	51	87,9
RC1 <sub>E-S</sub> x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	42	38	90,5
RC2 <sub>E-S</sub> x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	60	52	86,7
RC3 <sub>E-S</sub> x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	22	16	72,7
<i>P. coccinea</i> x <i>P. setacea</i>	36	36	100,0
F1 <sub>CO-S</sub> ( <i>P. coccinea</i> x <i>P. setacea</i> ) x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	42	25	59,5
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> . x <i>P. caerulea</i>	35	3	8,6
F1 <sub>CE-ES</sub> ( <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> x <i>P. caerulea</i> ) x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> = RC1 <sub>CE-E</sub>	8	4*	50,0*
RC1 <sub>CE-E</sub> ( <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> ) x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> = RC2 <sub>CE-E</sub>	12	8*	66,0*
<i>P. caerulea</i> x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	65	0*	0*

Continua...

Tabela 3. Continuação.

Cruzamentos	Nº. de flores cruzadas	Frutos vingados	CG (%)
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> x <i>P. tenuifila</i>	41	0	0,00
<i>P. glandulosa</i> x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	3	3	100,0
<i>P. glandulosa</i> x <i>P. sidiifolia</i>	2	2	100,0
<i>P. sidiifolia</i> x <i>P. actinia</i>	10	8	80,0
<i>P. mucronata</i> x <i>P. alata</i>	5	5	100,00
<i>P. mucronata</i> x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	4	2	50,00
<i>P. galbana</i> x <i>P. alata</i>	2	2	100,00
<i>P. coccinea</i> x <i>P. actinia</i>	10	6	60,0
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> x <i>P. actinia</i>	12	0	0
<i>P. eichleriana</i> x <i>P. gibertii</i>	15	8	52,0
<i>P. galbana</i> x <i>P. actinia</i>	2	2	100,0
<i>P. mucronata</i> x <i>P. coccinea</i>	10	3	30,0
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> (cv. MSC) x	38	29	76,3
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> (cv. Rubi)			
F1 <sub>E,CE</sub> ( <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> . x <i>P. caerulea</i> ) x	17	13	76,4
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> = RC1 <sub>E,CE</sub>			
RC1 <sub>E,CE</sub> [F1 ( <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> x <i>P. caerulea</i> ) x	8	8	100,00
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> ] x <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> = RC2 <sub>E,CE</sub>			

\* Estes cruzamentos geram frutos sem sementes ou raramente com uma ou duas sementes férteis

Quanto à resistência à bacteriose, além da *P. actinia*, outras espécies como *P. odontophylla*, *P. serrato-digitata*, *P. gibertii*, *P. caerulea*, *P. morifolia*, *P. mucronata*, *P. tenuifila* e alguns acessos de *P. edulis* e *P. nitida* vêm-se comportando como resistentes aos isolados do Distrito Federal. Em relação à antracnose, a *P. setacea*, *P. coccinea*, *P. caerulea*, *P. gibertii*, *P. amethystina*, *P. odontophylla*, alguns acessos de *P. edulis*, *P. serrato-digitata*, *P. morifolia*, *P. mucronata* e *P. nitida* vêm-se comportando como resistentes. *P. caerulea*, *P. mucronata*, *P. incarnata*, *P. nitida* e *P. gibertii*, assim como os híbridos de *P. caerulea* com maracujá-azedo comercial têm sido preferidos pela broca-do-maracujá (*Philonis passiflorae*) que ataca hastes e a região do

colo das plantas provocando a morte delas . A *P. gibertii*, *P. caerulea* e seus híbridos vêm-se comportando como suscetíveis à podridão-do-colo causada por *Fusarium solani*.

## Reação de híbridos interespecíficos às doenças da parte aérea

Com objetivo de se obter resistência a doenças causadas por patógenos do solo, à virose do endurecimento do fruto e à antracnose, avaliaram-se plantas de gerações F1, RC1, RC2 e RC3 e RC4 oriundas do cruzamento entre a *P. edulis* f. *flavicarpa* comercial (Figura 4) x *P. setacea* (Figura 3), tendo a espécie comercial como genitor feminino e masculino para a obtenção das progênes F1,s e como genitor masculino para a obtenção das progênes RC,s (Tabela 2). Nas plantas obtidas na geração F1, tendo o maracujá-azedo como genitor feminino ou masculino, prevaleceram o vigor híbrido e as características marcantes da *P. setacea*, como folhas verdes mais claras, alta capacidade de floração, flores com androginóforo muito longo, pétalas e coroa com ligeira tonalidade lilás (Figura 5) herdada do *P. edulis* f. *flavicarpa* (Figura 4), horário da antese e frutos com características intermediárias (Figura 5) em todas as 98 plantas das duas progênes analisadas. No entanto, essas plantas, embora apresentem boa resistência à podridão-do-colo ou de raízes (*Fusarium solani*), à antracnose e à virose (*PWM*) e ótima floração, só produzem frutos por polinização manual, pelo fato de possuírem androginóforo muito longo, o que faz com que a altura ou a distância do estigma em relação à coroa seja elevada, não permitindo, dessa forma, a polinização por insetos. O horário de antese das plantas F1s pode, também, estar contribuindo para a ausência de frutos obtidos via polinização natural. No Distrito Federal, a antese de *P. setacea* inicia-se às 19 h, e a flor permanece aberta e fértil até as 7 h da manhã seguinte. Os possíveis polinizadores dessa espécie podem ser morcegos e mariposas. A antese de *P. edulis* f. *flavicarpa* inicia-se às 12 h, e a flor permanece aberta até as 18 h. Já a antese das plantas F1 inicia-se em torno das 17 h e as flores permanecem abertas até as 22 horas. Portanto, parece não serem visitadas por animais durante o período de antese.

Todas as plantas F1,s são altamente suscetíveis à bacteriose, mas com alto grau de tolerância, o que faz com que as plantas se recuperem rapidamente após o período favorável à doença.

Foto: Nilton Junqueira



Figura 3. Flor de *P. setacea* mostrando androgínóforo longo.



Figura 4. Flor de *P. edulis* f. *flavicarpa* comercial com androgínóforos mais curto.



**Figura 5.** Flor e frutos de um híbrido F1 entre *P. edulis* f. *flavicarpa* comercial x *P. setacea*: Observa-se que a flor branca da *P. setacea* ganha tonalidades lilases, mas mantém o androginóforo longo.

Quanto às gerações RC1, RC2, RC3 e RC4, pode-se verificar, respectivamente, nas Figuras 6, 7, 8 e 9, que a tonalidade das flores foi modificando em decorrência dos retrocruzamentos, até adquirir formato e cor similares aos da flor do recorrente (Figura 4) nas gerações RC3 e RC4. Fato semelhante aconteceu com os frutos e as folhas. A confirmação do sucesso da fecundação cruzada para a obtenção dessas populações foi realizada por Faleiro et al. (2005) por meio de marcadores moleculares RAPD. Em relação à resistência a doenças, verificou-se, também, que a resistência à virose (*PVV*) foi diluída durante os retrocruzamentos, chegando, nas gerações RC3 e RC4, com graus de suscetibilidade similares aos observado no recorrente (Tabela 2). Quanto à resistência à bacteriose, todas as gerações RCs foram altamente suscetíveis e perderam a capacidade de tolerância observada em *P. setacea* e na geração F1 (Tabela 2).

**Figura 6.** Flor e fruto de um híbrido RC1 de *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. setacea* (F1) x *P. edulis* f. *flavicarpa*. Observa-se que a flor ganha tonalidade um pouco mais arroxeadada.



**Figura 7.** Flor e fruto de um híbrido RC2 de *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. setacea* (F1) x *P. edulis* f. *flavicarpa* (RC1) x *P. edulis* f. *flavicarpa*: A flor adquire tonalidades arroxeadas mais intensas e sua aparência aproxima-se a da flor do *P. edulis* f. *flavicarpa*.



**Figura 8.** Flor e fruto de um híbrido RC3 de *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. setacea*, ou seja, RC2 x *P. edulis* f. *flavicarpa*. Observa-se que o formato e as tonalidades da flor são semelhantes à de *P. edulis* f. *flavicarpa* (Figura 4), mas o androginóforo ainda continua longo, e os primeiros sintomas de alta suscetibilidade ao vírus do endurecimento já aparecem.



**Figura 9.** Flor de um híbrido RC4. O formato e as tonalidades da flor são muito semelhantes à de *P. edulis* f. *flavicarpa* comercial.

Em relação à produtividade, em experimentos conduzidos por Sousa (2005) em vargem Bonita, DF onde foi comparado o desempenho agrônomico de plantas de duas progênes RC3 (Progênes PS-09 e RC-03) de *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. setacea* juntamente com outras cultivares de *P. edulis* f. *flavicarpa* comerciais, com polinização natural, verificou-se que ambas as progênes foram resistentes à antracnose e suscetíveis à verrugose, bacteriose e à virose e tiveram baixa produtividade em relação à cultivar mais produtiva. Durante seis meses de colheita, a PS-09, RC-03 e EC-RAM (híbrido entre *P. edulis* australiano, produziram respectivamente 2.602,00 kg/ha, 7.586,67 kg/ha e 23.457,15 kg/ha, ou seja, a melhor cultivar produziu durante seis meses de colheita, respectivamente 10 vezes e três vezes mais que as RC3,s. Por sua vez, o tamanho dos frutos das plantas dessas progênes foi similar ao das cultivares comerciais. A causa da baixa produtividade pode estar relacionada com a elevada altura do estigma em relação à coroa, proporcionada pelo androginóforo longo, o que dificulta a polinização por insetos. Ademais, o comportamento destas em relação a doenças causadas por patógenos do solo ainda está sendo analisado.

Quanto aos híbridos obtidos de cruzamentos de *P. edulis* f. *flavicarpa* comercial (Figura 4) e *P. coccinea* (Figura 10), verifica-se que as plantas da geração F1 apresentam características marcantes de *P. coccinea*, como folhas simples, lóbulos com bordas serrilhadas, verde-escuras, flores de cor vinho e rosa-pink, androginóforo longo (Figuras 11 e 12), mas, também com alguma característica de *P. edulis* f. *flavicarpa* como flores com coroa e filetes brancos e excelente vigor. Embora apresentem boa resistência a doenças, as plantas F1,s produzem poucos frutos por polinização natural pelas mesmas causas encontrados nos híbridos com *P. setacea*, ou seja, androginóforo longo e elevada altura dos estigmas em relação à coroa. No Distrito Federal, as flores de *P. coccinea* abrem das 6 às 7 h e as dos F1,s a partir das 11 h, mas, estas não são visitadas por mamangavas e sim por abelhas arapuás e africanizadas. As plantas da geração RC1 tendo *P. edulis* f. *flavicarpa* como genitor masculino e recorrente apresentam, também, excelente vigor e características marcantes de *P. coccinea*, porém, suas flores são de coloração róseo-aroxeada (Figura 13) e geram poucos frutos por polinização natural e demoram muito para iniciar a frutificação.



Figura 10. Flores e frutos de *P. coccinea*.



Figura 11. Flor de um híbrido F1 entre *P. edulis* f. *flavicarpa* comercial x *P. coccinea* com tonalidades vinho e branca.



**Figura 12.** Flor de um híbrido entre *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. coccinea* com tonalidades rosa-pink e branco.



**Figura 13.** Flor de um híbrido RC1 de *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. coccinea* (F1) x *P. edulis* f. *flavicarpa* com tonalidade rosa-lilás.

Quanto aos híbridos obtidos entre a *P. edulis* f. *flavicarpa* comercial (Figura 4) x *P. caerulea* (Figura 14), as plantas da geração F1 e RC1 têm boa resistência à bacteriose e à antracnose (Tabela 2), mas produzem frutos sem sementes, são preferidas pela broca-do-maracujá e são suscetíveis à virose. As plantas da geração RC2 tendo o maracujá-azedo como genitor masculino e recorrente, frutificam bem, produzem frutos grandes semelhantes aos do maracujazeiro-azedo comercial, têm flores com cores semelhantes às do maracujazeiro-azedo e formato similar ao de *P. caerulea*, como pétalas e sépalas com ápices arredondados (Figura 15).

As plantas da geração F1 entre *P. coccinea* x *P. setacea* são muito vigorosas, resistente à podridão-de-raízes ou do colo (*Fusarium solani*) à virose, à antracnose e à verrugose, no entanto, são altamente suscetíveis à bacteriose (Tabela 2), porém, tolerantes, ou seja, as plantas atacadas recuperam-se rapidamente após o período favorável à bacteriose. As plantas F1 apresentam características marcantes de *P. coccinea* (flores com pétalas e sépalas vermelhas e androginóforo muito longo) e algumas de *P. setacea* como a coroa e filetes brancos e androginóforo também longo (Figura 16). Parte das plantas tem folhas compostas trilobadas (herança de *P. setacea*) e parte tem folhas simples (herança de *P. coccinea*). As plantas da geração "F1<sup>2</sup>" (híbrido triplo) obtida do cruzamento deste F1 x *P. edulis* f. *flavicarpa* comercial, tendo este último como genitor masculino, são altamente suscetíveis à bacteriose e à virose do endurecimento do fruto. Produzem flores variando do rosa-claro ao lilás (Figura 17) com androginóforo bastante longo em relação aos produzidos pelo maracujá-azedo; folhas trilobadas com características do *P. edulis* f. *flavicarpa* e frutos grandes com mais de 150 gramas e baixa produtividade. A geração "RC1" obtida do cruzamento de "F1<sup>2</sup>" x *P. edulis* f. *flavicarpa* comercial produz flores vinho-escuro (Figura 18), baixa produtividade, androginóforo um pouco mais longo que do maracujá-azedo e pouco atrativa para polinizadores. Quanto à reação dessas gerações às doenças causadas por patógenos do solo, não foi possível, ainda, avaliá-las. Esses híbridos foram também confirmados por marcadores moleculares, conforme relatado por Faleiro et al. (2005).



Figura 14. Flor de *P. caerulea*.



Figura 15. Flor de um híbrido RC2 de *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. caerulea* (RC1) x *P. edulis* f. *flavicarpa*. Observa-se que a flor adquiriu as mesmas tonalidades da *P. edulis* f. *flavicarpa*, mas mantém o formato da flor da *P. caerulea* como sépalas e pétalas com ápices arredondados e firmes.



**Figura 16.** Flor e fruto de um híbrido F1 de *P. coccinea* x *P. setacea*. Observam-se detalhes de *P. coccinea* e *P. setacea* na mesma flor e androginóforo muito longo detalhado na Figura 19.



**Figura 17.** Flor de um híbrido triplo entre *P. coccinea* x *P. setacea* (F1) x *P. edulis* f. *flavicarpa* comercial. Observam-se características das três espécies, como cores, detalhes do geniceu, androceu e coroa.



**Figura 18.** Flor de um híbrido RC1 entre o híbrido triplo de *P. coccinea* x *P. setacea* x *P. edulis* f. *flavicarpa* ( $F1^2$ ) x *P. edulis* f. *flavicarpa*. Observa-se flor com tonalidades arroxeadas e formato similar ao da *P. edulis* f. *flavicarpa*.



**Figura 19.** Flor de um híbrido F1 de *P. coccinea* x *P. setacea* mostrando androginóforo muito longo.

## Reação de híbridos intra-específicos a doenças da parte aérea

Entre acessos de maracujá-roxo (*P. edulis* Sims) nativos ou domesticados como nas seleções australianas, há plantas que apresentam graus variados de resistência a doenças da parte aérea. Entre as plantas de um acesso australiano introduzido na Região Norte, no final da década de 1980, algumas apresentavam boa resistência à bacteriose e à antracnose. Na década de 1990, foram efetuados alguns cruzamentos entre o acesso Sul Brasil com uma dessas plantas de roxo australiano. Dos híbridos F<sub>1</sub>,s obtidos, foi selecionada uma planta que produzia frutos grandes, de casca avermelhada e com boa resistência/tolerância a doenças da parte aérea. Essa planta foi retrocruzada com outra selecionada do acesso Sul Brasil denominada de MSC. Entre as plantas RC<sub>1</sub>,s, foi selecionada e clonada algumas bastante vigorosa, com boa tolerância a doenças da parte aérea e frutos oblongos grandes, de casca vermelho-maçã ou amarela, que foi denominada de EC-RAM. Essas plantas são, atualmente, uma das matrizes utilizada para produção dos híbridos EC-2-0 e EC-3-0 (Gerações RC<sub>1</sub>, RC<sub>2</sub> e RC<sub>3</sub>, tendo o maracujá-azedo-amarelo como recorrente) e outros que deverão ser lançados nos próximos anos para serem cultivados na região do Planalto Central. O EC-RAM, embora tenha a maioria das plantas com boa tolerância à virose e à bacteriose, boa produtividade, frutos com bom rendimento de suco, tem produzido em torno de 30% de frutos com casca vermelha, característica esta, ainda indesejável no mercado de frutas frescas. Desses cruzamentos, foram também selecionadas e clonadas as matrizes codificadas como GA-2, AR<sub>1</sub>, AR<sub>2</sub>, AP<sub>1</sub>, FP<sub>1</sub>, FP<sub>2</sub>, FP<sub>3</sub>, todas com uma ou mais características desejáveis, como alta produtividade, maior grau de resistência e/ou tolerância a doenças da parte aérea ou tendência de florescimento em dias curtos.

## Considerações finais

Sabe-se que a base genética do maracujazeiro-azedo comercial para resistência a doenças é muito estreita. Dessa forma, as espécies nativas, por

apresentar grande diversidade genética, podem contribuir para aumentar o grau de resistência das cultivares comerciais a doenças por meio de hibridações interespecíficas. No entanto, para se obter sucesso é necessário conhecer melhor o germoplasma de maracujazeiro quanto a sua diversidade e compatibilidade genética, bem como os hábitos fenológicos das espécies, tipos e graus de resistência a pragas e doenças, assim como a variabilidade dos patógenos que as acometem.

Os resultados referentes aos híbridos interespecíficos F1,s e RC,s discutidos neste capítulo ainda são preliminares. Todavia, há fortes indícios de que o nível de resistência dos híbridos a algumas doenças da parte aérea vai diminuindo com os retrocruzamentos com a cultivar comercial, o que pode ser devido à natureza quantitativa ou poligênica dessa resistência. No entanto, ainda não se conhece a reação desses híbridos aos patógenos do solo. Dessa forma, gerações RC5 de *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. setacea* e RC3 de *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. caerulea* já estão disponíveis e serão avaliadas em várias regiões do País onde doenças causadas por patógenos do solo como a murcha ou fusariose (*Fusarium oxysporum* f.sp. *passiflorae*) e/ou podridão-do-colo (*Fusarium solani*) têm sido limitantes. Acredita-se que desses retrocruzamentos será possível obter alguma cultivar mais tolerante ou resistente a doenças de raízes.

Quanto à obtenção de resistência às doenças da parte aérea, é necessário continuar as avaliações do germoplasma existente, bem como introduzir novas espécies por meio de intercâmbio e conseguir outras gerações de híbridos por cruzamentos diretos ou indiretos das cultivares comerciais com outras espécies com resistência à bacteriose, antracnose e à virose do endurecimento do fruto.

Quanto aos cruzamentos intra-específicos, os potenciais de espécies nativas e cultivadas de *P. edulis* (maracujá-roxo) e *P. edulis* f. *flavicarpa* silvestre (perobinha ou noel) devem ser investigados, pois, como mostrado na Tabela 2, alguns desses acessos vêm apresentando boa tolerância a doenças.

## Referências bibliográficas

BRAGA, M. F.; JUNQUEIRA, N. T. V. Potencial de outras espécies do gênero *Passiflora*. **Informe Agropecuário**, v. 21, p. 72-75, 2000.

BRAGA, M. F.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FALEIRO, F. G.; ALMEIDA, D. A.; CABRAL, G. A.; SOUSA, A. A. T. C. de; RESENDE, A. M. de. Desempenho agrônomico de um clone de maracujazeiro azedo propagado por estaquia e enxertia em estacas enraizadas de um híbrido F1 de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* comercial x *P. setacea*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 18., 2004, Florianópolis. **Anais...** Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2004. 1 CD-ROM.

CHAVES, R. C.; JUNQUEIRA, N. T. V.; MANICA, I.; PEIXOTO, J. R.; PEREIRA, A. V.; FIALHO, J. F. Enxertia de maracujazeiro-azedo em estacas herbáceas enraizadas de espécies de passifloras nativas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 1, p. 120-123, 2004.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; BELLON, G.; PEIXOTO, J. R.; BARROS, A. M.; BORGES, T. A.; ALMEIDA, D. A.; COSTA, B. Obtenção de populações de retrocruzamentos e confirmação da fecundação cruzada no maracujazeiro com base em marcadores moleculares. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 3., 2005, Gramado. **Anais...** Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2005. 1 CD-ROM.

FISCHER, I. H. **Seleção de plantas resistentes e de fungicidas para o controle da "morte prematura" do maracujazeiro, causada por *Nectria hematococca* e *Phytophthora parasitica***. 2003. 48 f. Dissertação (Mestrado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2003.

JUNQUEIRA, N. T. V.; ANJOS, J. R. N.; JUNQUEIRA, L. P.; SHARMA, R. D. Doenças do maracujá-doce. In: MANICA, I.; BRANCHER, A.; SANZONOWICZ, C.; ICUMA, I. M.; AGUIAR, J. L. P.; AZEVEDO, J. A.; VASCONCELOS, M. A. S.; JUNQUEIRA, N. T. V. **Maracujá-doce: tecnologia de produção e pós-colheita**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2004a. p. 113-144.

JUNQUEIRA, N. T. V.; ANJOS, J. R. N.; SILVA, A. P. O.; CHAVES, R. C.; GOMES, A. C. Reação às doenças e produtividade de onze cultivares de maracujá-azedo cultivadas sem agrotóxico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 8, p. 1005-1010, 2003.

JUNQUEIRA, N. T. V.; LAGE, D. A. da C.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R.; BORGES, T. A.; ANDRADE, S. R. M. de. Reação da doenças e produtividade de um clone de maracujazeiro-azedo propagado por estaquia e enxertia em estacas herbáceas de *passiflora* silvestre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 97-100, 2006.

MALDONADO, J. F. M. Utilização de porta-enxertos do gênero *Passiflora* para maracujazeiro amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 13, n. 2, p. 51-54, 1991.

MELETTI, L. M. M. Tendências e perspectivas da pesquisa em melhoramento genético do maracujazeiro. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO, 3., 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 2002. p. 81- 87.

MELETTI, L. M. M.; BRUCKNER, C. H. Melhoramento genético. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. (Ed.). **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001. p. 345-385.

MENEZES, J. M. T. **Seleção de porta-enxertos tolerantes a morte prematura de plantas para *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. e comportamento de *Passiflora nitida* HBK na região de Jaboticabal**. 1990. 73 f. Dissertação (Mestrado)- UNESP, Jaboticabal, 1990.

MENEZES, J. M. T.; OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C.; BANZATO, D. A. Avaliação da taxa de pegamento de enxertos de maracujá-amarelo sobre espécies tolerantes à "morte prematura de plantas". **Científica**, v. 22, n. 1, p. 95-104, 1994.

MORAES, M. C.; VIEIRA, M. L. C.; NOVAES, Q. S. Susceptibilidade de *Passiflora nitida* ao Passion fruit woodiness virus. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 108-108, jan./ feb. 2002.

NASCIMENTO, A. C. **Produtividade, incidência e severidade de doenças em nove genótipos de maracujazeiro-azedo sob três níveis de adubação potássica no Distrito Federal**. 2003. 148 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2003.

NOGUEIRA FILHO, G. C. **Enxertia hipocotiledonar de maracujazeiro amarelo em espécies de passifloras silvestres**. 2003. 119 f. Tese (Doutorado)- UNESP, Jaboticabal, 2003.

OLIVEIRA, J. C. de; NAKAMURA, K.; CENTURION, M. A. P. C.; RUGGIERO, C.; FERREIRA, F. R.; MAURO, A. O.; SACRAMENTO, C. K. Avaliação de Passifloráceas quanto à morte prematura de plantas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13., 1994, Salvador. **Anais...** Salvador: SBF, 1994a. v. 3, p. 827. (Resumo 347).

OLIVEIRA, J. C. de; NAKAMURA, K.; MAURO, A. O.; CENTURION, M. A. P. C. Aspectos gerais do melhoramento do maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A. R. **Maracujá: produção e mercado**. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 1994b. p. 27-37.

OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. Aspectos sobre o melhoramento do maracujazeiro amarelo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 5., 1998, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 1998. p. 291-310.

PACE, C. A. M. Comparação de quatro métodos de enxertia para o maracujazeiro-amarelo *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 7., 1983, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: SBF, 1984. p. 983-988.

PEREIRA, M. C. N. **Fenologia, produção e conservação de frutos de *Passiflora nitida* H.B.K. nas condições de Jaboticabal – SP.** 1998. 74 f. Dissertação (Mestrado)-UNESP, Jaboticabal, 1998.

PIO-RIBEIRO, G. E.; MARIANO, R. de L. R. Doenças do maracujazeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L. BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.). **Manual de fitopatologia:** volume 2. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p. 528-533.

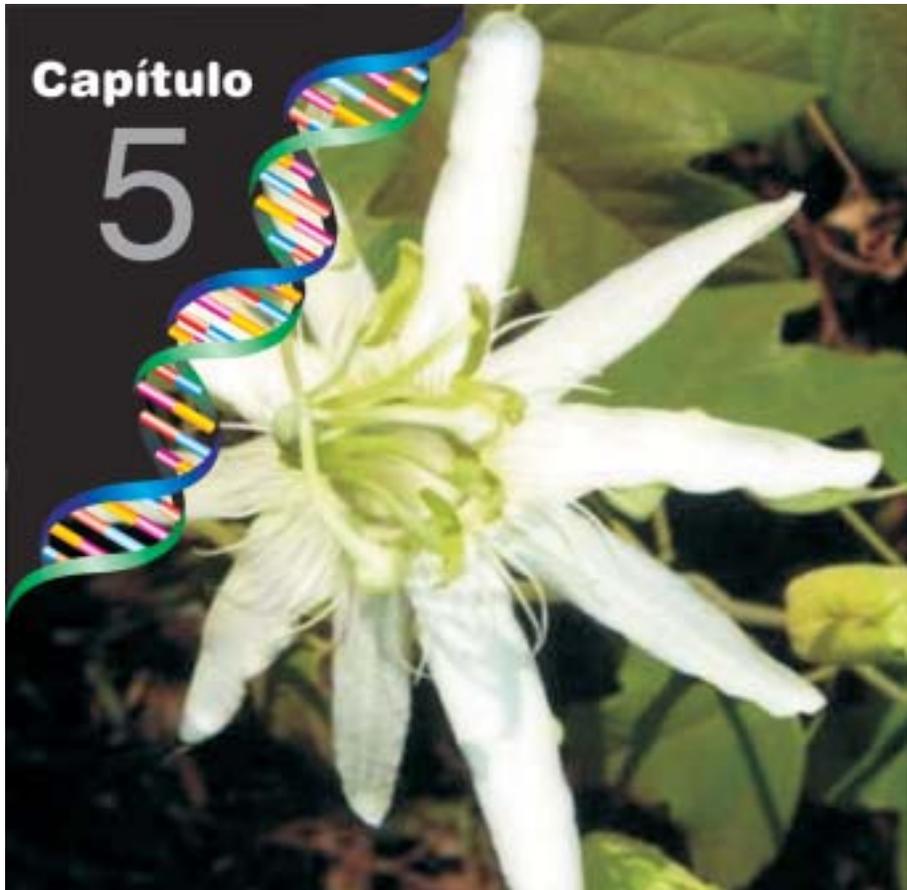
QUIRINO, T. R.; Agricultura e meio ambiente: tendência. In: SILVEIRA, M. A. da; VILELA, S. L. O. **Globalização e sustentabilidade da agricultura.** Jaguariúna: CNPMA, 1998. Cap. 6, p. 109-138. (CNPMA. Documento, 15).

RONCATTO, G.; OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C.; NOGUEIRA FILHO, G. C.; CENTURION, M. A. P. C.; FERREIRA, F. R. Comportamento de maracujazeiros (*Passiflora* spp.) quanto à morte prematura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 3, p. 552-554, 2004.

SANTOS FILHO, H. P. Doenças do sistema radicular do maracujazeiro. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 5., 1998, Jaboticabal. **Anais...** FUNEP: Jaboticabal, 1998. p. 244-254.

SOUSA, J. S. I.; MELETTI, L. M. M. **Maracujá:** espécies, variedades, cultivo. Piracicaba: FEALQ, 1997. 179 p.

SOUSA, M. A. F. **Produtividade e reação a doenças em genótipos de maracujazeiro-azedo, cultivados no Distrito Federal.** 2005. 138 f. Dissertação (Mestrado)-Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2005.



Flores que enfeitam vistosas parreiras  
Folhas que esculpia o caramanchão,  
Frutos que adoçam nossas geladeiras,  
Que encanta e conquista a população.  
E se a tantos empregos e riquezas gera,  
Torna esta bebida que é tão brasileira  
Cobiçado produto para exportação,  
e faz do ano inteiro uma só primavera.

*Geovane Alves de Andrade*

# Emprego de espécies silvestres no melhoramento genético vegetal: experiência em outras espécies com análise de retrocruzamento avançado de QTLs (AB-QTL)

---

Márcio Elias Ferreira  
Paulo Hideo Nakano Rangel

## Introdução

A vulnerabilidade genética, observada em longas extensões de plantios comerciais com uma mesma variedade, clone ou linhagens aparentadas, típicos da produção em escala da agricultura moderna, levou a lamentáveis episódios de perdas, na agricultura, de grande impacto social e econômico. Ainda no século XIX, os danos decorrentes de uma epidemia de *Phytophthora* em plantios clonais de batata, na Irlanda, causaram fome e induziram uma onda migratória de cidadãos irlandeses para os Estados Unidos e outros países europeus que marcou a sociedade da época. O uso intensivo de linhagens T de macho-esterilidade citoplasmática em híbridos de milho levou a perdas significativas na produção dessa cultura nos EUA, causadas por uma devastadora epidemia fúngica há pouco mais de três décadas (Levings, 1993), com graves reflexos econômicos.

Como consequência de episódios dessa natureza, há muito se discute a diversificação do uso de variedades melhoradas na agricultura. A vulnerabilidade genética pode ser contornada, por exemplo, com o enriquecimento da variabilidade genética das coleções de trabalho dos programas de melhoramento que servem de base para as atividades de recombinação e seleção desses programas (Frankel & Brown, 1984). O enriquecimento corrigiria, concomitantemente, as limitações de ganho genético impostas pela estreita base genética que restringe a obtenção de

recombinações gênicas interessantes devido ao limitado acervo de alelos que compõe a coleção de trabalho. No entanto, ainda hoje se constata a grande necessidade de avanços significativos nessa área, visto que os programas de melhoramento modernos ainda se concentram, por várias razões, em germoplasma caracterizado por reduzida diversidade genética.

Neste capítulo, discute-se a necessidade de expansão da base genética dos programas de melhoramento por meio da introgressão de genes de interesse econômico. Ênfase foi dada à discussão do método de melhoramento baseado na análise de retrocruzamento avançado de QTLs (*AB-QTL analysis*) que permite a introgressão de genes de interesse econômico de germoplasma silvestre para linhagens-elite, geralmente, pouco utilizado em programas de melhoramento.

## Base genética de programas de melhoramento genético

No início do século XX, Nikolai Vavilov chamou a atenção de pesquisadores do mundo inteiro para a necessidade de conhecer, coletar e conservar recursos genéticos vegetais para uso no presente e, também, no futuro pela humanidade. Os conceitos fundamentais de centros de origem e de diversidade de espécies vegetais por ele desenvolvidos influenciaram um processo de organização de esforços nacionais em diversos países para estabelecer coleções de germoplasma das principais espécies de importância econômica. A partir do episódio da epidemia em citoplasma T de milho nos EUA, devido à grande pressão política e econômica então suscitada, observou-se maior intensidade nos esforços de coleta de germoplasma em todo o mundo e a criação de institutos nacionais e internacionais pró-ativos no suporte a iniciativas de coleta, conservação, caracterização e uso de recursos genéticos. Uma das instituições resultante dessas percepções e com missão internacional de estimular as atividades de conservação de recursos genéticos vegetais em todo o mundo foi o *International Plant Genetics Resources Institute* (IPGRI). No Brasil, a Embrapa, pela atuação de suas unidades de pesquisa, vem desde 1973 desempenhando, também, importante papel nesse segmento.

Equipes de coleta, compostas de pesquisadores de diferentes especialidades, têm sido organizadas para amostrar a diversidade genética das populações naturais das espécies cultivadas e dos seus parentes silvestres, bem como de variedades tradicionais, clones e linhagens comerciais, de acordo com o modo de propagação da espécie de interesse. O resultado desse esforço culminou na obtenção de grandes quantidades de acessos depositados em bancos de germoplasma mantidos em diversas partes do mundo. Para algumas espécies, como trigo e arroz, a quantidade de acessos conservada em bancos de germoplasma é significativa (Tabela 1).

**Tabela 1.** Estimativa do número de acessos depositado em bancos de germoplasma de espécies cultivadas em diversas partes do mundo.

Espécie	Acessos	% de espécies silvestres
trigo	410.000	60
arroz	215.000	10
milho	100.000	15
soja	100.000	30
batata	42.000	40
tomate	32.000	70
algodão	30.000	20

Adaptado de Tanksley & McCouch (1997).

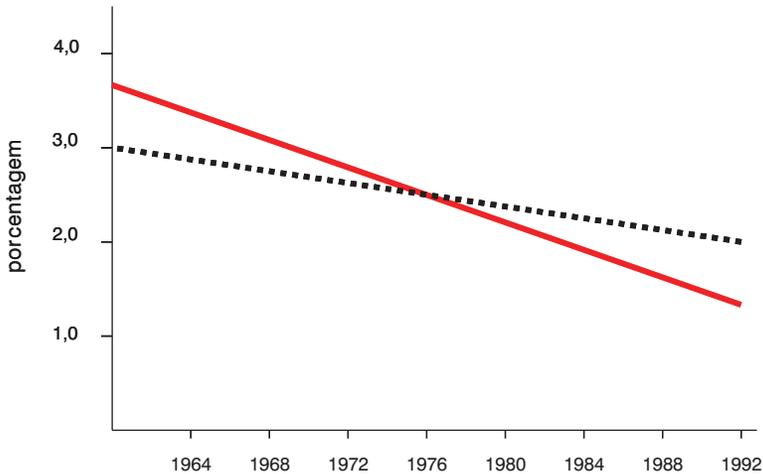
Outras espécies, no entanto, ainda estão na fase inicial de esforços de coleta e conservação de germoplasma. Espécies autóctones de importância econômica, no Brasil, vêm recebendo atenção especial pelo potencial agrônomo e comercial que despertam. Pesquisadores e entusiastas visionários não medem esforços para conservar e estudar espécies que devem ser utilizadas em maior escala pelas gerações futuras. Essas iniciativas devem ser apoiadas para fomentar o avanço do conhecimento e o desenvolvimento de variedades superiores para uso mais intensivo pela sociedade.

A domesticação das espécies vem sendo desenvolvida, nos últimos séculos, com a finalidade de selecionar indivíduos nas populações naturais

com características mais homogêneas no que tange, por exemplo, à arquitetura da planta (menor altura e maior rigidez do colmo para dificultar acamamento) ou proteção dos grãos (eliminação de mecanismos de dispersão de sementes, importante para a propagação da espécie em condições naturais, no entanto, inadequado para condições agrícolas). O melhoramento genético de plantas utiliza a seleção para fixar características importantes para a produção agrícola, mas isso, por sua vez, reduz a diversidade. No limite, a ausência de diversidade genética simplesmente não permite que a seleção artificial possa ser desenvolvida. A existência de variantes alélicas na coleção de trabalho é fundamental para ganho genético contínuo. O processo de seleção opera com a finalidade de limitar a diversidade genética, capitalizando os esforços no desenvolvimento de material superior, homogêneo, de acordo os objetivos do programa, todavia, necessita dessa diversidade para que haja continuidade de ganho de seleção.

Os programas de melhoramento genético de plantas, de modo organizado e fundamentado nos princípios mendelianos, foram inaugurados em sua grande maioria somente a partir de meados do século passado. Vários desses programas foram estabelecidos com base em um grupo pequeno de amostras varietais, resultando numa estreita base genética e, por conseguinte, limitada diversidade alélica. A estreita base genética dos programas de melhoramento genético tem levado à diminuição nos percentuais de ganho genético para produtividade em gramíneas e outras espécies (Figura 1).

Taxas de ganho anual de produtividade da ordem 2% a 3% vinham sendo observadas ao longo das décadas de 1960 e 1970 e passaram a apresentar valores preocupantes nestas últimas duas décadas (Figura 1). A perdurar essa tendência, novas estratégias deverão ser desenvolvidas para atingir as metas de produtividade esperadas para atender à demanda prevista de grãos para consumo pela população humana nos próximos anos. Com o rápido crescimento populacional, é urgente o incremento dos atuais níveis de produtividade do arroz para satisfazer as necessidades de cerca de 8,9 bilhões de pessoas no planeta estimados para 2010 (Tanksley & McCouch, 1997). Os incrementos observados não são suficientes no momento.



**Figura 1.** Taxa de decréscimo de ganho de produção em gramíneas (linha contínua) e na agricultura em geral (linha pontilhada).

A limitação da variabilidade genética nas populações submetidas à seleção compromete a extensão do ganho genético. Dados dos programas de melhoramento de arroz irrigado, conduzidos no Brasil, indicam, por exemplo, que os ganhos genéticos para produtividade de grãos recentemente documentados têm sido inferiores a 1% ao ano (Soares et al., 1994; Breseghello et al., 1999; Santos et al., 1999; Rangel et al., 2000). Análise recente indica que apenas dez ancestrais contribuem com 68% do conjunto gênico das variedades brasileiras de arroz irrigado (Rangel et al., 1996). Na América Latina, o número de variedades de arroz, utilizado como base para programas de melhoramento, limita-se a doze acessos (Cuevas-Perez et al., 1992). Considerando as cultivares mais plantadas nos principais estados produtores de arroz irrigado no Brasil, observa-se que apenas sete ancestrais são mais frequentes nos *pedigrees* e são responsáveis por 70% dos genes (Rangel et al., 1996; Breseghello et al., 1999). Tal situação de alta uniformidade genética pode trazer sérias conseqüências à produção brasileira de arroz. Uma delas é a já mencionada vulnerabilidade, especialmente, para patógenos de grande importância para a cultura, como *Magnaporthe grisea* que causa a brusone do arroz. Outra é a possibilidade de que o desenvolvimento de novas variedades não acompanhe as expectativas de produtividade necessárias para

atender ao consumo brasileiro. Dados similares têm sido descritos para outras espécies vegetais, como soja e trigo. Nos Estados Unidos, por exemplo, os programas de melhoramento genético de soja têm por base populações derivadas do cruzamento de apenas 12 variedades (Tanksley & McCouch, 1997). Mais drástica, ainda, é a situação de programas de melhoramento genético do trigo-vermelho, derivado do cruzamento de duas variedades oriundas da Polônia e da Rússia.

São várias as razões para estagnação e declínio dos percentuais de ganho de produtividade, mas não há dúvida de que o componente genético devido à limitação de variabilidade nos programas de melhoramento deve ser levado em consideração. Esse incremento de produtividade só será possível se houver melhor aproveitamento da diversidade genética, especialmente, da conservada em bancos de germoplasma. Para isso, o conhecimento genético do germoplasma depositado nos bancos é fundamental, assim como a ampliação da diversidade genética das coleções de trabalho.

## **Causas da limitação do uso de acessos do banco de germoplasma no melhoramento genético**

Independentemente da espécie, constata-se que é incipiente o uso do recurso genético, em especial, de acessos conservados em bancos de germoplasma nas rotinas dos programas. Alguns dos fatores responsáveis são discutidos a seguir:

(a) *Limitações na caracterização de germoplasma* – a constatação de que o processo de caracterização do germoplasma, conservado em bancos genéticos, é limitado não é recente (Frankel & Brown, 1984), e a carência de informações sobre os acessos depositados constitui-se em um dos grandes entraves para emprego desse acervo genético nos programas de melhoramento. O acervo de material de algumas espécies de importância econômica coletado e conservado é bastante extenso (Tabela 1). No entanto, o conhecimento dos acessos conservados no que tange a sua correta classificação botânica, nível de diversidade, características

agronômicas, fenótipos de interesse econômico ou polimorfismo molecular ainda é inicial. Essa carência de dados, naturalmente, desestimula seu emprego nas rotinas dos programas de melhoramento. Na falta de informação, o melhorista continuará a explorar da melhor maneira possível sua coleção de trabalho. Esta é, por conseguinte, a primeira razão para o uso limitado e o conseqüente estreitamento da base genética dos programas.

(b) *resistência do emprego de novo material no programa de melhoramento* – a inclusão de novo germoplasma nas coleções de trabalho dos programas de melhoramento encontra grande entrave inicial no próprio sucesso de desenvolvimento de novas variedades melhoradas advindas da recombinação de germoplasma-elite enormemente trabalhado ao longo de várias gerações de seleção. Há, portanto, confiança do melhorista no progresso que pode advir do material com o qual o programa de melhoramento trabalha. Por sua vez, a incorporação de variedades tradicionais ou espécies silvestres traz invariavelmente consigo genes deletérios ou indesejáveis de difícil eliminação no programa. Tais genes, em geral, ligados aos genes de interesse, são incorporados por “arraste” ou *linkage drag* por estarem presentes no bloco haplotípico incorporado do genoma doador e que só poderá ser eliminado do genoma recorrente por recombinação. A extensão do *linkage drag* é variável ao longo do genoma e é heterogênea em volta do loco de interesse. O número de genes, potencialmente deletério, em torno do loco gênico de interesse introgridido, é também bastante variável. Segmentos em torno de 1cM do genoma de tomate em programas de retrocruzamento podem incluir 100 ou mais genes (Young & Tanksley, 1989).

(c) *incorporação de características quantitativas de germoplasma silvestre em linhagem-elite* – as características mais importantes dos programas de melhoramento possuem tipicamente controle genético quantitativo, como produtividade ou tolerância à estresse abiótico. A introgressão simultânea de alelos em vários locos é complexa e trabalhosa.

## Caracterização de germoplasma em escala: o papel da análise molecular

A caracterização de germoplasma vegetal refere-se à observação, mensuração e documentação de características da planta que são herdáveis, consistentes e expressas homogeneamente em vários ambientes (Ferreira et al., 2005). A caracterização permite identificar e separar geneticamente os acessos que compõem a coleção de germoplasma, fomentar o catálogo de descritores dos acessos com informações biológicas essenciais para o manejo e gestão da coleção e estimular a utilização desses acessos no melhoramento genético de plantas ou diretamente na agricultura. A caracterização de germoplasma vegetal, portanto, procura descrever e compreender, em última análise, a diversidade genética dos organismos estudados.

No nível mais básico, a diversidade genética refere-se diretamente a diferenças na seqüência linear de nucleotídeos da molécula de DNA entre os indivíduos considerados, incluindo seqüências funcionais (genes) e não-funcionais do genoma, bem como variações ocasionadas por efeitos de posição de genes ou seqüências reguladoras. A caracterização tradicionalmente se baseia em descritores morfológicos que possibilitam a separação dos acessos da coleção. A caracterização agromorfológica vem permitindo grandes avanços no processo de conhecimento e de organização das coleções de germoplasma vegetal. É certo que a organização atual das coleções tem sua base na caracterização agromorfológica. No entanto, essa caracterização tem sido complementada por outros critérios, visto que os descritores agromorfológicos apresentam algumas limitações, como: (a) pouco polimorfismo, isto é, geralmente apresentam limitada variação de morfotipos. (b) algumas características morfológicas podem estar sujeitas a variações ambientais, o que torna complexo o processo de avaliação e comparação entre acessos; (c) algumas características morfológicas podem ter impacto na viabilidade do acesso, dificultando sua manutenção; (d) a caracterização agromorfológica é intensiva em tempo e recursos para sua execução. O grande número de acessos depositado em coleções de germoplasma vegetal tem tornado essa tarefa muito difícil e intimidado sua execução.

Nos últimos anos, métodos moleculares de caracterização de germoplasma tiveram grande desenvolvimento. Entre esses métodos, os que revelam polimorfismo de seqüência de ácido desoxiribonucléico, conhecidos como marcadores moleculares, têm sido de grande importância para a análise de diversidade genética e caracterização de germoplasma. A utilização desses métodos tem sido cada vez mais comum nas rotinas de caracterização de germoplasma vegetal.

Marcadores de regiões hipervariáveis do genoma, conhecidos como microssatélites ou repetições curtas em *tandem* (STR – *short tandem repeats*), foram recentemente desenvolvidos e caracterizados no genoma de várias espécies vegetais (Ferreira & Grattapaglia, 1996). Marcadores microssatélites são analisados por meio da diferenciação da variação de seqüências repetitivas de dois a seis nucleotídeos, lado a lado, em um sítio do DNA. O número de repetições, em geral, varia de algumas unidades a várias dezenas, fazendo com que a variação alélica intraloco possa ser detectada pela separação com base no peso molecular de produtos de PCR (reação de polimerase em cadeia), realizada por meio de eletroforese em géis de poliacrilamida (PAGE) corados com nitrato de prata (Tautz, 1989; Litt & Luty, 1989; Weber & May, 1989). Mais recentemente, a detecção precisa da variação alélica tem sido feita em seqüenciadores automáticos de DNA. Nesse caso, a marcação com fluorocromo de um dos *primers* que flaqueiam a seqüência microssatélite no loco possibilita que o produto de PCR emita fluorescência quando excitado com o *laser* do equipamento, permitindo sua acurada detecção em pares de base. Os alelos de locos microssatélites são analisados via PCR e, por isso, podem ser detectados a partir de amostras de nanogramas de DNA. Quando a variação de alelos de dois ou mais marcadores microssatélites não se sobrepõem, eles podem ser combinados para execução simultânea de PCR e separação por eletroforese. Com a utilização de diferentes fluorocromos que emitem luz de comprimentos de onda específicos para marcar os alelos de vários locos, mesmo os locos com variação sobreposta de tamanho de alelos podem ser resolvidos simultaneamente. Isso permite que uma amostra possa ter o genótipo determinado simultaneamente em vários locos (multiplex), o que é uma grande vantagem no processo genotipagem em escala.

Microssatélites apresentam as seguintes vantagens para análise genética: (a) são marcadores co-dominantes, possibilitando a determinação dos alelos de um loco e, por conseguinte, a diferenciação de homozigotos e heterozigotos; (b) são altamente polimórficos, isto é, apresentam bom número de alelos por loco, com frequência variável nas populações do organismo estudado, o que permite a diferenciação genética de indivíduos testados; (c) estão distribuídos por todo o genoma, geralmente, de maneira uniforme, possibilitando boa representatividade da porção genômica analisada e, quando selecionados, independência de recombinação entre os locos considerados; (d) uma vez desenvolvidos, permitem uma análise de baixa relação custo-benefício e extremamente acurada (Ferreira, 2001). Essa classe de marcadores moleculares tem sido utilizada extensivamente em análise genética de plantas, animais e microrganismos (Ferreira & Grattapaglia, 1996).

O polimorfismo de DNA em plantas, observado por meio de marcadores moleculares microssatélites amplamente distribuídos por todo genoma e altamente polimórficos, vem sendo estudado e empregado na estimativa de parâmetros genéticos e em procedimentos de diagnose. Os dados obtidos são utilizados como suporte para a tomada de decisão na conservação de germoplasma, no mapeamento de locos que controlam características de interesse e em seleção assistida. Marcadores microssatélites têm sido empregados na construção de mapas de ligação, na identificação de plantas e seus produtos, em testes de paternidade e de maternidade, em testes de identidade genética, na análise de variabilidade genética de populações, em estudos filogenéticos, entre outras aplicações (Ferreira & Grattapaglia, 1996).

A recente utilização do seqüenciador automático de DNA na genotipagem de locos hipervariáveis vem revolucionando os estudos de identificação e análise genética em várias espécies. A tecnologia disponível permite a genotipagem em escala de vários indivíduos ao mesmo tempo, seguindo estratégia baseada em marcação de *primer* utilizado na amplificação de alelos em loco STR com fluorocromos que emitem fluorescência em diferentes comprimentos de onda. Seqüenciadores de DNA permitem a

detecção precisa dos alelos, com possível identificação de diferenças alélicas em nível de par de bases. Assim, diferenças de um par de bases entre alelos ou microvariantes, representando frações da seqüência repetitiva, podem ser detectadas com acurácia e, conforme comentado anteriormente, permitem a análise multiloco em sistemas multiplex, quando os alelos de cada loco são amplificados em uma única reação PCR ou, alternativamente, em diferentes reações PCR com análise simultânea. A tecnologia propicia a obtenção de grande quantidade de dados em curto espaço de tempo, permitindo o escalonamento de processos de genotipagem.

A caracterização de germoplasma pode ser revolucionada com o emprego, em escala, de análise de polimorfismo de DNA no processo de genotipagem. Por atuarem como marcadores genéticos, os marcadores moleculares podem ser utilizados em reações multiplex analisadas em seqüenciadores de DNA para, com apenas algumas reações de PCR, cobrir dezenas de locos do genoma, distribuídos ao longo dos cromossomos. Dessa forma, coleções inteiras, incluindo milhares de acessos, poderiam ser genotipadas. Os dados obtidos, genuinamente genéticos, poderiam ser utilizados para estimar as relações de vínculo genético entre acessos da coleção, identificar duplicações, sugerir cruzamentos mais interessantes para maximizar novas combinações gênicas, aprimorar o sistema de gestão dos bancos de germoplasma, contribuir para dirimir dúvidas de classificação de espécies ou definir amostras de acessos para utilização em testes de associação visando ao isolamento gênico. Isso seria, sem dúvida, um grande passo para fomentar a caracterização de acessos de banco de germoplasma e incrementar seu uso em programas de melhoramento.

## **Introgressão assistida: retrocruzamento avançado de QTLs**

A grande maioria das características de interesse econômico é quantitativa, ou seja, é controlada por grande número de genes, cada qual com uma contribuição específica no fenótipo e com significativa interação com o ambiente. Um loco de característica quantitativa (QTL) segue os

mesmos princípios de genética mendeliana. Um QTL pode ser individualizado em um único gene ou representar um conjunto de genes fortemente ligado que pode ser diferenciado por recombinação (Ferreira, 2003). A análise de QTLs representa a mendelização de uma característica quantitativa ao isolar os locos gênicos que a controlam, permitindo sua avaliação individual ou em conjunto (Paterson et al., 1991).

A análise de fragmentos polimórficos de DNA, em plantas, completa pouco mais de 15 anos de experimentação intensiva. A preocupação inicial dos estudiosos da área foi o estabelecimento da tecnologia em diferentes espécies seguida de um grande esforço de desenvolvimento de mapas genéticos baseados em marcadores moleculares. Em seguida, os experimentos foram concentrados no mapeamento de regiões genômicas que controlam características qualitativas. Concomitantemente, observou-se progresso na dissecação do controle genético de várias características complexas, estimando o número de locos envolvidos no seu controle, localizando esses locos nos cromossomos, avaliando a magnitude do efeito de cada loco no controle genético da característica, estudando os efeitos de substituição alélica nos locos envolvidos, medindo as possíveis interações epistáticas entre locos ou, ainda, analisando a expressão dos genes envolvidos em locos distintos em diferentes ambientes (Ferreira & Grattapaglia, 1996). Não há dúvida, portanto, de que houve grande avanço no conhecimento do controle genético de várias características de interesse econômico em diferentes espécies agrícolas nos últimos anos. É importante reiterar que, em vários casos, a estratégia de mapeamento e dissecação do controle genético levou até mesmo à clonagem do gene de interesse em plantas (Martin et al., 1993; Sasaki et al., 2002).

Por sua vez, o emprego de seleção assistida por marcadores nos programas de melhoramento, especialmente para características quantitativas, tem sido, regra geral, incipiente. Não há dúvida de que, nesse período, houve grande desenvolvimento da teoria de seleção assistida, por meio da análise de diferentes variáveis em simulações estatísticas, mas a

utilização direta de informação de genótipos moleculares visando à seleção de indivíduos superiores para características complexas carece ainda de informação empírica, com os experimentos limitando-se a alguns poucos exemplos.

Uma exceção é a análise de retrocruzamento avançado de QTLs (Tanksley & Nelson, 1996) que integra um método clássico de melhoramento (retrocruzamento) com a análise de polimorfismo de DNA para fins de seleção. Um grande desafio para os programas de melhoramento genético é a tarefa de introgridir genes de interesse econômico de germoplasma silvestre para material-elite. O germoplasma silvestre, conforme comentado, retém grande porção da diversidade genética de uma espécie e esse acervo gênico é muito pouco explorado. Nessa tarefa, o melhorista deve ser capaz de reter os genes positivos para o ideótipo que tem em mente e eliminar aqueles que não são adequados, além de tentar suplantar problemas comuns em cruzamentos interespecíficos, como limitação da fertilidade e conservação de blocos haplotípicos com reduzida recombinação. Como a maior parte das características de interesse econômico tem controle quantitativo, a manipulação adequada dos locos gênicos que controlam essas características é vital para o futuro dos programas de melhoramento genético.

Em geral, os programas de mapeamento de QTLs são desenvolvidos a partir de populações segregantes oriundas do cruzamento entre genitores contrastantes para as características de interesse. Para isso, são utilizadas populações F<sub>2</sub>, retrocruzamentos ou linhagens recombinantes puras. Essa estratégia é muito eficiente para análise de características quantitativas em cruzamentos intra-específicos. Cruzamentos amplos entre a espécie domesticada e um parente silvestre, por sua vez, apresentam outros desafios.

Deve ser notado, contudo, que apesar de eficiente no avanço do conhecimento do controle genético da característica de interesse, o mapeamento de QTLs apresenta-se quase sempre dissociado do processo de desenvolvimento varietal. Uma vez obtida a informação sobre QTLs, o pesquisador, em geral, reinicia o processo de cruzamento para potencial

utilização de seleção assistida para a característica. O ideal, naturalmente, seria o emprego da informação na mesma população desenvolvida para mapeamento.

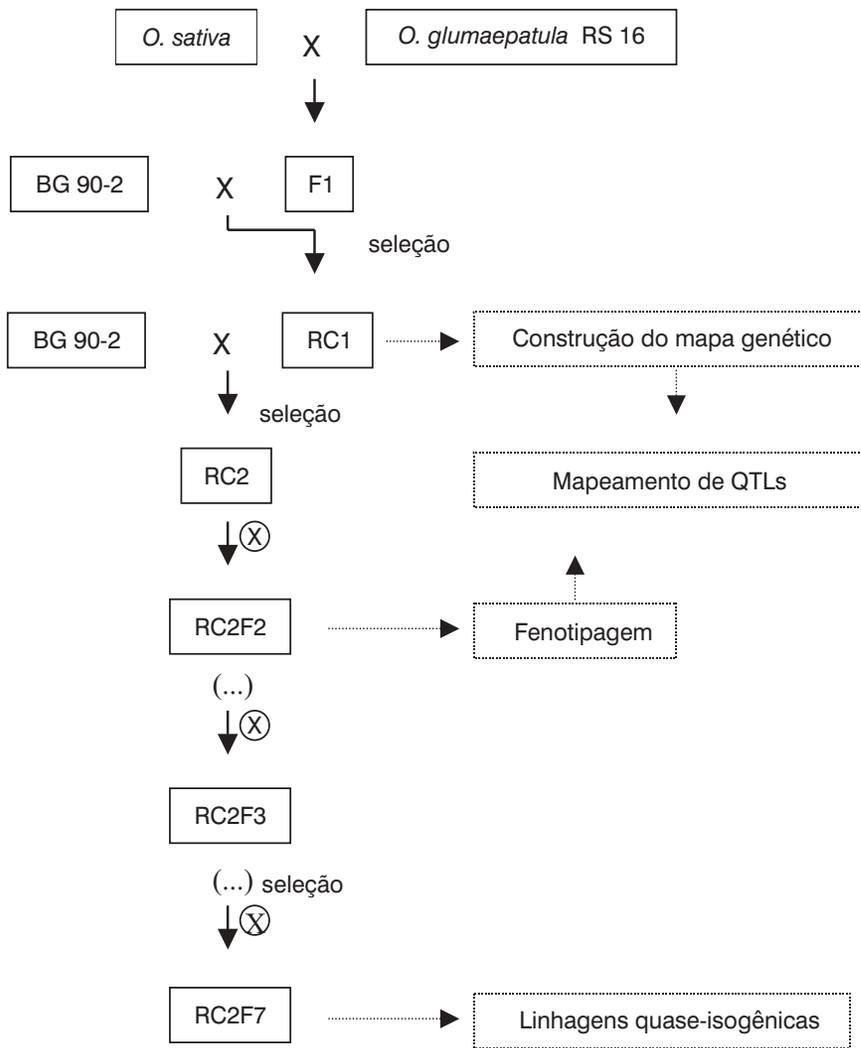
Uma espécie silvestre ao ser diretamente analisada para uma característica de interesse econômico terá desempenho muito inferior às linhagens melhoradas. Por causa disto, é comum a suposição de que o acesso silvestre analisado não possui alelos positivos que incrementem a característica quantitativa estudada. Entretanto, ao contrário, há muito que fenótipos transgressivos, isto é, que suplantam os desempenhos de um ou de ambos os genitores, em populações derivadas de cruzamentos entre linhagens-elite e acessos silvestres, vêm sendo detectados (Wehrhahn & Allard, 1965). Deve ser notado que a avaliação do efeito de alelos para uma característica quantitativa é de difícil realização prática no germoplasma silvestre que o contém. Ao avaliar uma característica quantitativa em uma espécie silvestre, os dados ficam prejudicados pelo fato de características relacionadas ao processo de domesticação (ex., arquitetura da planta, deiscência dos frutos, etc.) estarem ainda operando. Mesmo quando o estudo é realizado diretamente em uma população segregante (ex., população F2 ou famílias F3) as mesmas características relacionadas com o processo de domesticação prejudicam a análise. É necessário que as características de interesse sejam analisadas em etapas avançadas em programa de introgressão já estabilizadas no *background* genético recorrente.

No método de melhoramento denominado retrocruzamento avançado de QTLs (AB-QTL) (Tanksley & Nelson, 1996), utiliza-se a mesma população empregada para desenvolver o mapa genético de uma espécie para selecionar alelos positivos, monitorados pela informação de polimorfismo de DNA, os quais foram introgrididos de uma espécie silvestre ou variedade tradicional para uma linhagem-elite do programa de melhoramento. AB-QTL baseia-se em modificações de outro método chamado IBL (*inbred backcross line*) desenvolvido há mais de 40 anos (Wehrhahn & Allard, 1965), mas com a

grande vantagem de incorporar informação de mapa no processo de seleção (Tanksley & Nelson, 1996). No método IBL, uma linhagem-elite é cruzada com uma linhagem doadora de uma característica quantitativa e retrocruzada algumas vezes para a linhagem-elite recorrente, obtendo progênie de retrocruzamento avançado. Em seguida, centenas de linhagens puras, derivadas do retrocruzamento avançado, são obtidas por SSD (*single seed descent*). Na prática, observa-se que o método tem potencial para separar as linhagens puras em classes discretas, principalmente, se a característica for controlada por poucos QTLs, permitindo inferências sobre o número e o efeito de QTLs (Wehrahahn & Allard, 1965). IBL, portanto, é baseado em seleção fenotípica de linhagens puras obtidas ao acaso ou, ainda, do cruzamento entre linhagens selecionadas que apresentam fenótipo superior ao da linhagem recorrente (Wehrahahn & Allard, 1965).

Já a análise AB-QTL baseia-se na informação de mapa e na magnitude do efeito de alelos provenientes da linhagem doadora para selecionar linhagens superiores à linhagem recorrente (Tanksley & Nelson, 1996). A seleção, portanto, é baseada na localização e no efeito de QTLs identificados na geração de mapeamento cujos alelos são provenientes do doador (Figura 2). Os produtos obtidos de um programa AB-QTL são linhagens quase-isogênicas à linhagem recorrente, com a vantagem de se ter identificado e mapeado a região do genoma introgridida do acesso doador.

Retrocruzamento avançado de QTLs (AB-QTL) baseia-se em duas ou três gerações de retrocruzamento a partir do cruzamento de uma linhagem-elite com acesso silvestre. No processo, um mapa genético para características quantitativas de interesse é gerado, e as linhagens são avançadas com base em seleção de marcadores associados ao controle genético da característica quantitativa sob estudo (Figura 2). O método tem sido aplicado com sucesso em diferentes espécies (Tabela 2), permitindo não só a compreensão da base genética de características quantitativas de interesse econômico, como também o desenvolvimento de linhagens para programas de melhoramento genético.



**Figura 2.** Esquema geral do método de retrocruzamento avançado de QTLs (AB-QTL), utilizado no desenvolvimento de linhagens de *O. sativa* com introgressão de genes da espécie silvestre *O. glumaepatula*.

A abordagem AB-QTL possibilita:

- (a) A utilização em maior escala de recursos genéticos (especialmente espécies silvestres) do banco de germoplasma também na introgressão de genes associados ao controle genético de características quantitativas.
- (b) A avaliação do efeito desses genes no *background* genético da linhagem-elite recorrente.
- (c) A identificação dos segmentos genômicos introgrididos do genitor doador ao longo dos cromossomos.
- (d) A utilização de genótipos gráficos para selecionar linhagens com diferentes composições de segmentos introgrididos.
- (e) A seleção de linhagens quase-isogênicas com introgressões que afetam características quantitativas e a sua utilização em rotina no programa de melhoramento.
- (f) A seleção negativa de plantas ainda em RC1 ou RC2 para características deletérias advindas do doador silvestre (ex., deiscência, arquitetura da planta) sem prejuízo de outros QTLs de interesse (independentes). QTLs deletérios por certo complicariam a análise fenotípica nas gerações avançadas de retrocruzamento.
- (g) A obtenção de linhagens quase-isogênicas à linhagem recorrente em apenas uma geração após a detecção de QTL com alelos desejáveis advindos do doador, o que pode acelerar significativamente o programa de melhoramento.

Uma importante consequência de um programa de AB-QTL é a possibilidade de combinar linhagens com diferentes segmentos genômicos introgrididos de vários doadores de uma característica quantitativa para a mesma linhagem recorrente. Para tanto, a informação de mapa do segmento introgridido em cada linhagem serviria de base para seleção de recombinantes de QTLs não alélicos.

**Tabela 2.** O método AB-QTL vem sendo aplicado em diferentes espécies para o mapeamento de locos associados ao controle de características quantitativas e desenvolvimento de linhagens quase-isogênicas à linhagem-elite recorrente.

Cruzamento	Geração AB-QTL avaliada	Número de característica avaliada	Referência
Tomate ( <i>L. esculentum</i> x <i>L. pimpinellifolium</i> )	BC2F1 and BC3	21	Tanksley et al., 1996
Tomate ( <i>L. esculentum</i> x <i>L. peruvianum</i> )	BC2, BC3 e BC4	35	Fulton et al., 1997 a,b
Tomate ( <i>L. esculentum</i> x <i>L. hirsutum</i> )	BC3	19	Bernacchi et al., 1998a
Tomate (avaliação de linhagens quase-isogênicas de <i>L. esculentum</i> x <i>L. hirsutum</i> e <i>pimpinellifolium</i> )	várias	7	Bernacchi et al., 1998b
Arroz ( <i>O. sativa</i> x <i>O. rufipogon</i> )	BC2 testcross	12	Xiao et al., 1998
Tomate ( <i>L. esculentum</i> x <i>L. parviflorum</i> )	BC3	30	Fulton et al., 2000
Arroz ( <i>O. sativa</i> x <i>O. rufipogon</i> )	BC2F2	8	Moncada et al., 2001
Arroz ( <i>O. sativa</i> x <i>O. glumaepatula</i> )	BC2F2	11	Brondani et al., 2002
Tomate (avaliação de linhagens quase-isogênicas de <i>L. esculentum</i> x <i>hirsutum</i> , <i>peruvianum</i> , <i>pimpinellifolium</i> e <i>parviflorum</i> )	várias	16	Fulton et al., 2002
Milho (intra-específico)	BC2 testcross	6	Ho et al., 2002
Arroz ( <i>O. sativa</i> x <i>O. rufipogon</i> )	BC2F1	13	Thomason et al., 2003
Cevada ( <i>Hordeum vulgare</i> x <i>H. vulgare</i> spp. <i>Spontaneum</i> )	BC2F2	13	Pillen et al., 2003
Arroz ( <i>O. sativa</i> x <i>O. rufipogon</i> )	BC2F2	14	Septiningsih et al., 2003
Trigo (intra-específico)	BC2F3	5	Huang et al., 2003
Pêssego ( <i>Prunus persica</i> x <i>P. davidiana</i> )	BC2	24	Quilot et al., 2004
Tomate ( <i>L. esculentum</i> x <i>L. pennellii</i> )	BC2F1	84	Frery et al., 2004
Algodão ( <i>Gossypium hirsutum</i> x <i>G. barbadense</i> )	BC3F2	1	Chee et al., 2005
Cevada ( <i>Hordeum vulgare</i> x <i>H. vulgare</i> spp. <i>Spontaneum</i> )	BC2 dihaplóide	3 (resistência a doenças)	Von Korff et al., 2005

O método, por sua vez, não é indicado para a detecção de QTLs recessivos, provenientes do genoma doador, visto que é baseado em retrocruzamento avançado. Assim, o genótipo homocigoto para o alelo doador não poderia ocorrer na população de mapa (Tanksley & Nelson, 1996). Tampouco é adequado para a detecção de QTLs com efeito epistático se a população de retrocruzamento utilizada para mapeamento for avançada. AB-QTL também não é indicado para espécies para as quais se tem dificuldade de obtenção de linhagens puras seja por depressão por endogamia, seja por que o ciclo da espécie é muito longo (ex. espécies frutíferas e arbóreas). A obtenção de linhagens puras é importante para que sejam possíveis comparações adequadas entre as linhagens quase-isogênicas derivadas do método com a linhagem recorrente. E por ser baseado em ciclos de retrocruzamento avançado, demandando a obtenção de algumas gerações de recombinação e autofecundação, o método torna-se muito extenso para aproveitamento em espécies de ciclo longo.

Simulações do método AB-QTL indicam que, para detectar eficientemente uma QTL associada à característica quantitativa de interesse proveniente de um doador, o pesquisador deverá utilizar maior número de indivíduos em gerações de retrocruzamento recentes (como RC2) ou um número bem menor de indivíduos em gerações de retrocruzamento mais avançadas (ex. RC3). À medida que a geração de retrocruzamento se torna mais avançada, no entanto, a capacidade de detecção de QTLs é reduzida (Tanksley & Nelson, 1996).

A transferência desses alelos para linhagem-elite e o seu monitoramento no genoma por meio de marcadores moleculares tem permitido ao melhorista obter informações e desenhar novas estratégias de melhoramento (Tabela 2). Dessa forma, utilizando o conceito de genótipo gráfico, é possível certificar que a contribuição positiva para uma característica quantitativa é advinda do alelo recebido do acesso silvestre e não de novas combinações epistáticas de genes da linhagem-elite (Young & Tanksley, 1989, Brondani et al., 2002).

## Emprego de análise de retrocruzamento avançado de QTLs no Brasil

As espécies silvestres de arroz vêm sendo utilizadas nos programas de melhoramento genético tanto para a ampliação da base genética das populações quanto para a transferência de características específicas para as variedades cultivadas. O uso desse germoplasma muitas vezes é dificultado devido ao fato de os cruzamentos com o arroz cultivado produzirem híbridos com vários níveis de esterilidade, além de as progênies apresentarem uma série de características indesejáveis. Do ponto de vista taxonômico, o gênero *Oryza* é dividido em quatro complexos: *O. sativa*, *O. officinalis*, *O. ridleyi* e *O. meyeriana* (Buso et al., 2002). O complexo *O. sativa* consiste nas espécies com o genoma diplóide AA, incluindo as espécies cultivadas (*Oryza sativa* e *O. glaberrima*) e seus parentes silvestres, como *O. glumaepatula*, encontrado no Brasil (Buso et al., 2002). As espécies do complexo *O. officinalis* são diplóides com genomas BB, CC, EE ou FF e tetraplóides com genomas BBCC ou CCDD, incluindo três espécies tetraplóides de genoma CCDD que ocorrem no Brasil: *O. latifolia*, *O. alta* e *O. grandiglumis*, embora haja evidência de que se trata da mesma espécie (Buso et al., 2002). Os complexos *O. ridleyi* e *O. meyeriana* são ainda pouco estudados e, aparentemente, incluem as espécies mais divergentes dos outros complexos. Das espécies silvestres de arroz que ocorrem no Brasil, a *Oryza glumaepatula* por ser autógama, diplóide e possuir genoma AA semelhante ao da espécie cultivada *Oryza sativa* é a que apresenta maior potencial de uso no melhoramento genético (Buso et al., 1998, 2002; Brondani et al., 2002). Um exemplo de aplicação do método AB-QTL é descrito a seguir (Brondani, 2000; Brondani et al., 2002), focalizado na introgressão de genes associados ao controle genético de produtividade de *O. glumaepatula* para uma linhagem-elite de *O. sativa*. Para tanto, os seguintes passos foram seguidos (Figura 2):

1. Seleção de uma planta do acesso de *Oryza glumaepatula* RS-16 (Buso et al., 1998) oriunda de uma população coletada no Rio Solimões, Amazônia a qual foi cruzada com a linhagem-elite BG 90-2 de *O. sativa*. Essa é uma das mais produtivas linhagens de arroz irrigado do programa

de melhoramento de arroz da Embrapa e foi por essa razão selecionada. Assim, a obtenção de linhagens quase-isogênicas mais produtivas que BG 90-2 por AB-QTL, por meio da seleção de alelos advindos de *O. glumaepatula*, poderia demonstrar a eficácia do método.

2. Obtenção de plantas híbridas  $F_1$  de cruzamento interespecífico. A natureza híbrida das plantas foi confirmada por marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA e SSR (Simple Sequence Repeats) (Cavalheiro et al., 1996).
3. Retrocruzamento de uma das plantas  $F_1$  com BG 90-2.
4. Obtenção de uma progênie de cerca de 300 plantas  $RC_1F_1$ . Desse total, aproximadamente 100 indivíduos foram selecionados para a construção de um mapa genético (Brondani et al., 2001). Um total de 256 plantas  $RC_1F_1$  remanescentes, com características fenotípicas favoráveis (arquitetura, indeiscência, ciclo) foi retrocruzado novamente com BG 90-2, obtendo-se a geração  $RC_2F_1$ .
5. As plantas  $RC_2F_1$  sofreram novamente seleção negativa para características deletérias e 93 plantas foram autofecundadas para produzir sementes  $RC_2F_2$ .
6. Noventa e seis famílias  $RC_2F_2$ , os dois parentais (BG 90-2 e RS-16) e a cultivar comercial BR-IRGA 409 (controle) foram avaliadas no campo em ensaios multilocais replicados. As características avaliadas foram: dias até o florescimento; altura da planta; número de perfilhos; número de panículas; comprimento da panícula; espiguetas por panícula; porcentagem de grãos cheios por panícula; peso de 100 grãos; produtividade por planta; número de grãos cheios por panícula; produtividade de grãos por panícula.
7. A detecção de QTLs de produtividade foi desenvolvida utilizando os dados fenotípicos coletados de  $RC_2F_2$  e as informações do mapa genético (Brondani et al., 2002).
8. Com base no mapa genético, nas análises de QTLs e nos dados fenotípicos, foram selecionadas famílias  $RC_2F_2$  que foram colhidas em bulk

(RC<sub>2</sub>F<sub>3</sub>) e avançadas para RC<sub>2</sub>F<sub>4</sub> (Figura 2). As famílias RC<sub>2</sub>F<sub>4</sub> mais as testemunhas (incluindo BG 90-2) foram avaliadas no campo.

9. Linhagens selecionadas em RC2F2 foram avaliadas ainda em RC2F4 e RC2F7.

Os resultados da análise AB-QTL possibilitaram dissecar o controle genético de produtividade de grãos no cruzamento *O. sativa* x *O. glumaepatula* (Brondani, 2000; Brondani et al., 2002). O percentual de genoma de *O. glumaepatula* (no estado heterozigoto) na geração RC2F1, por exemplo, variou de 0,0% a 26,0%, com média de 6,3%, em contraste com um esperado de 12,5%. Os dados permitiram identificar 22 linhagens RC2F2 que apresentavam 0,0% do genoma de *O. glumaepatula*. Essas linhagens são, portanto, quase-isogênicas a BG 90-2. Não foi possível identificar segmentos do genoma de *O. glumaepatula* nelas com a estringência permitida na análise (um marcador a cada 10 cM em média nos 12 cromossomos de arroz).

Entre as 22 linhagens, oito quase-isogênicas a BG 90-2, denominadas CNAi 9930, CNAi 9931, CNAi 9932, CNAi 9933, CNAi 9934, CNAi 9935, CNAi 9936 e CNAi 9937 foram avaliadas nas gerações RC2F2, RC2F4, RC2F7 (Tabela 3). Em RC2F7, foram também coletados dados de cultivo principal (primeira colheita) e soca (colheita da rebrotação após a primeira colheita) de cada uma das linhagens quase-isogênicas, sem que houvesse necessidade de novo preparo de solo e semeadura (Figura 3a). A possibilidade de fazer duas colheitas do mesmo plantio, uma do cultivo principal e outra da soca, representa uma mudança no modo de produção de arroz, já adotada em outros países como os Estados Unidos. As oito linhagens quase-isogênicas não apresentaram segmentos cromossômicos da espécie silvestre detectáveis com o nível de saturação do mapa de ligação utilizado no estudo (1 marcador a cada 10 cM), mas se mostraram transgressivas para produtividade de grãos em relação à testemunha BG 90-2.

Os componentes de produtividade “número de panículas” (PNR) e “perfilhamento” (TNR) tiveram famílias transgressivas significativamente superiores a BG 90-2. Na segregação transgressiva, os recombinantes apresentam fenótipo superior ao dos genitores. Invariavelmente, os alelos que

contribuíram para um aumento de TNR e PNR eram provenientes de *O. glumaepatula*. Perfilhamento e número de panículas são características que alteram a arquitetura da planta. Se uma panícula é produzida para cada novo perfilho, então a produtividade pode ser positivamente incrementada pela ação combinada dos genes que controlam TNR e PNR.

Uma das famílias RC2F2 (CNAi 9920) apresentou aumento de 145,8% no número de panículas por planta em relação à linhagem elite BG 90-2. CNAi 9920 possui 12,6% do genoma de *O. glumaepatula* e supera BG 90-2 em TNR também. Por sua vez, o comprimento de panícula de CNAi 9920 foi o menor entre todas as 96 famílias testadas. É interessante observar que a característica PNR é negativamente correlacionada com comprimento de panícula (Brondani et al., 2002). O loco marcador RM223 (cromossomo 8) está significativamente correlacionado com o controle de PNR.



**Figura 3.** Alteração de arquitetura de linhagem quase-isogênica derivada do cruzamento entre *O. sativa* BG 90-2 e *O. glumaepatula* RS 16 através de AB-QTL. (a) Linhagem com alto perfilhamento, conferindo à planta maior competitividade no *estande* inicial, e a possibilidade de efetuar duas colheitas a partir de um mesmo plantio (plantio principal + soca). (b) Linhagem quase-isogênica CNAi 9930, uma das mais promissoras do programa AB-QTL, reunindo um bom número de características interessantes para o programa de melhoramento genético.

A observação dos dados de produtividade nas gerações RC2F2, RC2F4 e RC2F7 e dos dados do cultivo principal e da soca, além dos dados de qualidade de grãos (Tabela 3), permitiu concluir que as linhagens-elite de *O. sativa* com introgressão de genes da espécie silvestre *O. glumaepatula*, CNAi

9937, CNAi 9935, CNAi 9931, CNAi 9936, CNAi 9934, CNAi 9930, CNAi 9933, CNAi 9932 podem ser utilizadas imediatamente como genitores no programa de melhoramento de arroz irrigado. Essas linhagens apresentam produtividade tão boa quanto uma das linhagens mais produtivas da Embrapa e superam a Metica 1, uma variedade comercial de grande impacto na rizicultura nacional. A linhagem CNAi 9930, especialmente, destacou-se das demais por reunir maior número de características agronômicas favoráveis, apresentando características adequadas para seu lançamento como cultivar comercial (Figura 3b).

## **Conclusão**

O emprego de análise de retrocruzamento avançado de QTLs (AB-QTL) é ainda incipiente, mesmo em espécies mais estudadas como o tomate e o arroz. Os resultados obtidos até agora indicam, no entanto, que a estratégia é uma promissora combinação da força de um método de melhoramento clássico como o retrocruzamento com o monitoramento de polimorfismo molecular por meio da análise de DNA. Esse método de melhoramento singular permite que a mesma população de mapa seja utilizada para fins de seleção, tendo como base o monitoramento de QTLs de interesse econômico advindos do doador (espécie silvestre) e introgridos na linhagem elite recorrente. Linhagens avançadas quase-isogênicas, apresentando alelos favoráveis do doador silvestre em QTLs de produtividade, por exemplo, foram desenvolvidas para diferentes espécies. Algumas dessas linhagens, como as desenvolvidas para arroz no Brasil, participam de ensaios de competição varietal com material avançado dos programas de melhoramento. Dada a rapidez e a eficiência dos programas baseados em análise de retrocruzamento avançado de QTLs (cerca de dois anos para espécies anuais) e com a capacidade de genotipagem em escala hoje existente nos laboratórios, a experimentação desse método de melhoramento genético deve ser mais difundida, visando ao maior ganho genético para caracteres quantitativos e, ao mesmo tempo, à ampliação da base genética dos programas de melhoramento.

**Tabela 3.** Produtividade média de linhagens quase-isogênicas à linhagem recorrente BG 90-2, derivadas de programa AB-QTL baseado no cruzamento *O. sativa* BG 90-2 x *O. glumaepatula* IR-16. Dados de produtividade coletados nas gerações RC2F2, RC2F4 e RC2F7. Foram coletados ainda dados produtividade média de grãos em kg/ha da soma do cultivo principal (CP) mais a soca e isoladamente (CP e SOCA), número de perfilhos (PER), paniculas (PAN), e dados em porcentagem de rendimento de grãos inteiros (INT) e total (TOT) do cultivo principal (CP) e da soca, teor de amilose (TA), temperatura de gelatinização (TG), centro branco (CB), classe dos grãos (CLA), coesividade (C) textura (TX), rendimento de panela (R) e tempo de cozimento (TC) em minutos das linhagens avaliadas.

Nome da linhagem	RC2F2	RC2F4	RC2F7	SOMA (CP+SOCA)	CP	SOCA	TNR	PNR	CP		SOCA		CP		SOCA		CP		R	TC
									INT	TOT	INT	TOT	TA	TG	CB	CLA	C	TX		
BG 90-2	8118 a	9828 a	8781 a	11854 a	8781 a	3073 a	408	406	58	73	54	72	A	A	4	LE	LP	D	250	26
CNAi 9930	10413 a	9839 a	9083 a	12010 a	9083 a	2927 a	421	419	65	73	50	69	A	A	4	LE	S	M	250	25
METICA 1	-	-	8802 a	9822 b	8802 a	1021 c	425	419	68	73	55	69	A	A	3	LF	LP	D	250	25
CNAi 9931	9967 a	9531 a	9292 a	12197 a	9292 a	2906 a	488	485	55	73	49	70	A	A	4	LE	LP	M	250	21
CNAi 9932	9940 a	9244 a	7667 b	10968 a	7667 b	3302 a	400	395	52	73	49	71	A	A	4	LE	LP	D	250	23
CNAi 9933	9823 a	8440 b	8271 a	11593 a	8271 a	3323 a	472	464	65	73	52	71	A	A	4	LE	LP	D	275	25
CNAi 9934	9757 a	9672 a	9135 a	12052 a	9135 a	2917 a	430	420	42	73	51	70	A	A	4	LE	LP	M	233	24
CNAi 9935	9754 a	9643 a	9031 a	12875 a	9031 a	3844 a	515	511	68	74	46	71	A	A	4	LE	LP	D	250	16
CNAi 9936	9660 a	10177 a	8365 a	12281 a	8365 a	3917 a	463	456	57	73	49	70	A	A	4	LE	P	D	225	15
CNAi 9937	9084 a	10256 a	9063 a	12197 a	9063 a	3135 a	404	399	53	73	46	69	A	A	4	LE	LP	D	250	23

## Referências bibliográficas

BERNACCHI, D.; BECK BUNN, T.; ESHED, Y.; LOPEZ, J.; PETIARD, V.; UHLIG, J.; ZAMIR, D.; TANKSLEY, S. Advanced backcross QTL analysis in tomato. I. Identification of QTLs for traits of agronomic importance from *Lycopersicon hirsutum*. **Theor. Appl. Genet.**, v. 97, p. 381-397, 1998a

BERNACCHI, D.; BECK BUNN, T.; EMMATTY, D.; ESHED, Y.; INAI, S.; LOPEZ, J.; PETIARD, V.; SAYAMA, H.; UHLIG, J.; ZAMIR, D.; TANKSLEY, S. Advanced backcross QTL analysis of tomato. II. Evaluation of near-isogenic lines carrying single-donor introgressions for desirable wild QTL-alleles derived from *Lycopersicon hirsutum* and *L. pimpinellifolium*. **Theor. Appl. Genet.**, v. 97, p. 170-180, 1998b.

BRONDANI, C. **Desenvolvimento de marcadores microssatélites, construção de mapa genético interespecífico de *Oryza glumaepatula* x *O. sativa* e análise de QTLs para caracteres de importância agrônômica.** 2000. Tese (Doutorado)-Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2000.

BRONDANI, C.; RANGEL, P. H. N.; BRONDANI, R. P. V.; FERREIRA, M. E. QTL mapping and introgression of yield-related traits from *Oryza glumaepatula* to cultivated rice (*Oryza sativa*) using microsatellite markers. **Theor. Appl. Genet.**, v. 104, p. 1192-1203, 2002.

BRONDANI, C.; BRONDANI, R. P. V.; RANGEL, P. H. N.; FERREIRA, M. E. Development and mapping of *Oryza glumaepatula*-derived microsatellite markers in the interspecific cross *O. glumaepatula* x *O. sativa*. **Hereditas**, v. 134, p. 59-71, 2001.

BRESEGHELLO, F.; RANGEL, P. H. N.; MORAIS, O. P. Ganho de produtividade pelo melhoramento genético do arroz irrigado no Nordeste do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 399-407, 1999.

BROWN, L. R. **State of the World.** New York: Norton, 1994.

BUSO, G. S. C.; RANGEL, P. H. N.; FERREIRA, M. E. Analysis of random and specific sequences of nuclear and cytoplasmic DNA in diploid and tetraploid American wild rice species (*Oryza* spp.). **Genome**, v. 44, p. 476-494, 2002.

BUSO, G. S. C.; RANGEL, P. H. N.; FERREIRA, M. E. Analysis of genetic variability of South-American wild rice populations (*Oryza glumaepatula*) with isozymes and RAPD markers. **Molecular Ecology**, v. 7, p. 107-117, 1998.

CASTRO, E. M.; BRESEGUELLO, F.; RANGEL, P. H. N.; MORAIS, O. P. Melhoramento do arroz. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas.** Viçosa: UFV, 1999. p. 95-130.

CAVALHEIRO, S. T.; BRONDANI, C.; RANGEL, P. H. N.; FERREIRA, M. E. Paternity analysis of F1 interspecific progenies of crosses between *O. sativa* varieties and its wild relative *O. glumaepatula* using SSR and RAPD markers. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 19, p. 225, 1996.

CHEE, P.; DRAYE, X.; JIANG, C.; DECANINI, L.; DELMONTE, T.; BREDHAUER, R.; SMITH, W.; PATERSON, A. Molecular dissection of interspecific variation between *Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense* (cotton) by a backcross-self approach: I. Fiber elongation. **Theor. Appl. Genet.**, v. 111, p. 757-763, 2005.

CUEVAS-PÉREZ, F. E.; GUIMARÃES, E. P.; BERRIO, L. E.; GONZÁLES, D. I. Genetic base of irrigated rice in Latin America and the Caribbean, 1971 a 1989. **Crop Science**, v. 32, p. 1054-1059, 1992.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1996. 220 p.

FERREIRA, M. E.; MORETZSOHN, M. C.; BUSO, G. S. C. Fundamentos de caracterização molecular de germoplasma vegetal. In: NASS, L. (Ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. Prelo.

FERREIRA, M. E. Melhoramento genético de arroz: impactos da genômica. In: BORÉM, A.; GIUDICE, M.; SEDIYAMA, T. (Ed.). **Melhoramento genômico**. Viçosa: UFV, 2003. p. 73-129.

FERREIRA, M. E. Técnicas e estratégias para a caracterização molecular e uso de recursos genéticos. In: BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. **Conservação da biodiversidade em ecossistemas tropicais: avanços conceituais e revisão de novas metodologias de avaliação e monitoramento**. Brasília, DF, 2001. p. 223-267.

FRANKEL, O. H.; BROWN, A. H. D. Plant genetic resources today: a critical appraisal. In: HOLDEN, J. H. W.; WILLIAMS, J. T. (Ed.). **Crop genetic resources: conservation and evaluation**. London: Allen and Unwin, 1984. p. 249-257.

FRARY, A.; NESBITT, T. C.; FRARY, A.; GRANDILLO, S.; VAN DER KNAAP, E.; CONG, B.; LIU, J.; MELLER, J.; ELBER, R.; ALPERT, K. B.; TANKSLEY, S. D. Fw2.2: a quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size. **Science**, v. 289, p. 85-88, 2000.

FULTON, T. M.; BECK BUNN, T.; EMMATTY, D.; ESHED, Y.; LOPEZ, J.; PETIARD, V.; UHLIG, J.; ZAMIR, D.; TANKSLEY, S. D. QTL analysis of an advanced backcross of *Lycopersicon peruvianum* to the cultivated tomato and comparisons with QTLs found in other wild species. **Theor. Appl. Genet.** v. 95, p. 881-894, 1997.

FULTON, T. M.; GRANDILLO, S.; BECK BUNN, T.; FRIDMAN, E.; FRAMPTON, A.; LOPEZ, J.; PETIARD, V.; UHLIG, J.; ZAMIR, D.; TANKSLEY, S. D. Advanced backcross QTL analysis of a *Lycopersicon esculentum* *Lycopersicon parviflorum* cross. **Theor. Appl. Genet.**, v. 100, p. 1025-1042, 2000.

FULTON, T. M.; BUCHELI, P.; VOIROL, E.; LOPEZ, J.; PETIARD, V.; TANKSLEY, S. D. Quantitative trait loci (QTL) affecting sugars, organic acids and other biochemical properties possibly contributing to flavor, identified in four advanced backcross populations of tomato. **Euphytica**, v. 127, p. 163-177, 2002.

HUANG, X. Q.; COSTER, H.; GANAL, M. W.; RODER, M. S. Advanced backcross QTL analysis for the identification of quantitative trait loci alleles from wild relatives of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Theor. Appl. Genet.** v. 106, p. 1379-1389, 2003.

HO, J. C.; McCOUCH, S. R.; SMITH, M. E. Improvement of hybrid yield by advanced backcross QTL analysis in elite maize. **Theor. Appl. Genet.** v. 105, p. 440-448, 2002.

HOU, A.; PEFFLEY, E. B. Recombinant chromosomes of advanced backcross plants between *Allium cepa* L. and *A. fistulosum* L. revealed by in situ hybridization. **Theor. Appl. Genet.**, v. 100, p. 1190-1196, 2000.

LEVINGS, C. S. III. Thought on cytoplasmic male-sterility in cms-T maize. **Plant Cell**, v. 5, p. 1285-1290, 1993.

LITT, M.; LUTY, J. A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **American Journal of Human Genetics**, v. 44, p. 397-401, 1989.

MARTIN, G. B.; BROMMONSCHENKEL, S. H.; JUPAPARK, C.; FRARY, A.; GANAL, M. W.; SPIVEY, R.; WU, T.; EARLE, E. D.; TANKSLEY, S. D. Map-based cloning of a protein kinase gene conferring disease resistance in tomato. **Science**, v. 262, p. 1432-1436, 1993.

MONCADA, P. P.; MARTINEZ, C. P.; BORRERO, J.; CHATEL, M.; GAUCH, H. JR.; GUIMARAES, E.; TOHME, J.; MCCOUCH, S. R. Quantitative trait loci for yield and yield components in an *Oryza sativa* *Oryza rufipogon* BC2F2 population evaluated in an upland environment. **Theor. Appl. Genet.** v. 102, p. 41-52, 2001.

PATERSON, A. H.; DAMON, S.; HEWITT, J. D.; ZAMIR, D.; RABIONOWITCH, H. D.; LINCOLN, S. E.; LANDER, E. S.; TANKSLEY, S. D. Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato: comparison across species, generations and environments. **Genetics**, v. 127, p. 181-197, 1991.

PILLEN, K.; ZACHARIAS, A.; LEON, J. Advanced backcross QTL analysis in barley (*Hordeum vulgare* L.). **Theor. Appl. Genet.**, v. 107, p. 340-352, 2003.

QUILOT, B. H.; WU, J.; KERVELLA, M.; GÉNARD, M.; FOULONGNE, K.; MOREAU. QTL analysis of quality traits in an advanced backcross between *Prunus persicacultivars* and the wild relative species *P. davidiana*. **Theor. Appl. Genet.**, v. 109, p. 884-897, 2004.

RANGEL, P. H. N.; PEREIRA, J. Á.; MORAIS, O. P.; GUIMARÃES, E.; YOKOKURA, T. Ganhos para produtividade de grãos pelo melhoramento genético do arroz (*Oryza sativa* L.) irrigado no meio norte do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 1595-1604, 2000.

RANGEL, P. H. N.; GUIMARÃES, E. P.; NEVES, P. C. F. Base genética das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) irrigado do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 31, p. 349-357, 1996.

SANTOS, A. B. Aproveitamento da soca. In: VIEIRA, N. R.; SANTOS, A. B.; SANT'ANA, E. P. (Ed.). **A cultura do arroz**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. p. 463-492.

SANTOS, P. G.; SOARES, P. C.; SOARES, A. A. S.; MORAIS, O. P.; CORNÉLIO V. M. O. Avaliação do progresso genético obtido em 22 anos no melhoramento do arroz irrigado em Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 1889-1896, 1999.

SASAKI, A.; ASHIKARI, M.; UEGUCHI-TANAKA, M.; ITOH, H.; NICHIMURA, A.; SWAPAN, D.; ISHIYAMA, K.; SAITO, T.; KOBAYASHI, M.; KHUSH, G. S.; KITANO, H.; MATSUOKA, M. A mutant gibberellin synthesis gene in rice. **Nature**, v. 416, p. 701-702, 2002.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 30, p. 507-512, 1974.

SEPTININGSIH, E. M.; TRIJATMIKO, K. R.; MOELJOPAWIRO, S.; MCCOUCH, S. R. Identification of quantitative trait loci for grain quality in an advanced backcross population derived from the *Oryza sativa* variety IR64 and the wild relative *O. rufipogon*. **Theor. Appl. Genet.**, v. 107, p. 1433-1441, 2003.

SOARES, A. A.; RAMALHO, M. A. P.; SOUSA, A. F. Estimativas do progresso genético obtido pelo programa de melhoramento de arroz irrigado da EPAMIG na década de oitenta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, p. 97-104, 1994.

TAUTZ, D. Hypervariability of simple sequences of a general source for polymorphic DNA markers. **Nucleic Acids Research**, v. 17, p. 6463-6471, 1989.

TANKSLEY, S. D.; YOUNG, N. D.; PATERSON, A. H.; BONIERBALE, M. W. RFLP mapping in plant breeding: New tools for an old science. **Biotechnology**, v. 7, p. 257-264, 1989.

TANKSLEY, S. D.; NELSON, J. C. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. **Theor. Appl. Genet.**, v. 92, p. 191-203, 1996.

TANKSLEY, S. D.; GRANDILLO, S.; FULTON, T. M.; ZAMIR, D.; ESHED, Y.; PETIARD, V.; LOPEZ, J.; BECK-BUNN, T. Advanced backcross QTL analysis in a cross between an elite processing line of tomato and its wild relative *L. pimpinellifolium*. **Theor. Appl. Genet.**, v. 92, p. 213-224, 1996.

TANKSLEY, S. D.; MCCOUCH, S. R. Seed banks and molecular maps: Unlocking genetic potential from the wild. **Science**, v. 277, p. 1063-1066, 1997.

THOMAS, W. T. B.; POWELL, W.; WAUGH, R.; CHALMERS, K. J.; BARUA, U. M.; JACK; THOMSON, M. J.; TAI, T. H.; MCCLUNG, A.M.; LAI, X. -H.; HINGA, E. M.; LOBOS, K. B.; XU, Y.; MARTINEZ, C. P.; MCCOUCH, S. R. (2003) Mapping quantitative trait loci for yield, yield components and morphological traits in an advanced backcross population between *Oryza rufipogon* and the *Oryza sativa* cultivar Jefferson. **Theor. Appl. Genet.**, v. 107, p. 479-493, 2003.

WEBER, R. D.; MAY, P. E. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. **American Journal of Human Genetics**, v. 44, p. 388-396, 1989.

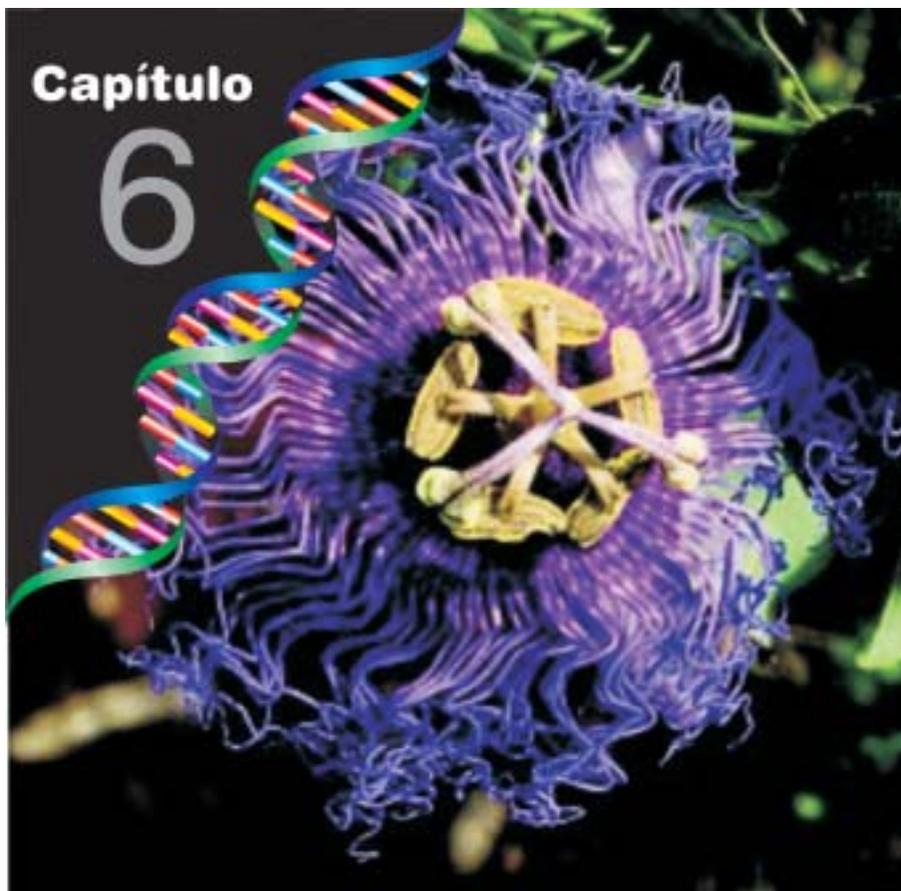
WEHRHAHN, C.; ALLARD, R. W. The detection and measurement of the effects of individual genes involved in the inheritance of a quantitative character in wheat. **Genetics**, v. 51, p. 109-119, 1965

XIAO, J.; GRANDILLO, S.; AHN, S.; YUAN, L.; TANKSLEY, S. D.; MCCOUCH S, R. Genes from wild rice improve yield. **Nature**, v. 384, p. 223-224, 1996.

XIAO, J.; LI, J.; GRANDILLO, S.; AHN, S.; YUAN, L.; TANKSLEY, S. D.; MCCOUCH, S. R. Identification of trait-improving quantitative trait loci alleles from a wild rice relative, *Oryza rufipogon*. **Genetics**, v. 150, p. 899-909, 1998.

YOUNG, N. D.; TANKSLEY, S. D. RFLP analysis of the size of chromosomal segments retained around the Tm-2 locus of tomato during backcross breeding. **Theor. Appl. Genet.**, v. 77, p. 353-359, 1989.

VON KORFF, M.; WANG, H.; LE, J.; PILLEN, K. AB-QTL analysis in spring barley. I. Detection of resistance genes against powdery mildew, leaf rust and scald introgressed from wild barley. **Theor. Appl. Genet.**, v. 111, p. 583-590, 2005.



Desde o verde Brasil tropical  
Prosperou bela flor secular.  
Cuja espécie ousou propagar  
Acudindo ao reino animal.

Vive aonde piou o inhambu  
Na floresta serrana de Minas.  
E ao norte, em selvagens colinas,  
Nas paragens do Uirapuru.

*Geovane Alves de Andrade*

# Espécies de maracujá com potencial agrônômico

---

João Carlos de Oliveira

Carlos Ruggiero

## Introdução

**H**á mais de quinhentas e oitenta espécies de maracujazeiros, sendo a maioria com centro de origem na América Tropical e Subtropical e, principalmente, nativa do Brasil. Apesar do excelente trabalho descritivo de Killip, 1938, Hoene, 1946, Sacco, 1980, Cervi, 1986, agronomicamente, são conhecidas apenas algumas espécies.

Neste Capítulo, propõe-se tecer comentários sobre algumas espécies existentes no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da UNESP - Campus de Jaboticabal - que tem recebido apoio constante da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – Instituto de Genética da ESALQ-USP, Instituto Agrônômico em Campinas, Instituto Agrônômico do Paraná, da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, EPAMIG, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Há, ainda, muitos colaboradores que enriqueceram o germoplasma dessa *Passiflora* e ajudaram a conhecê-lo via projetos de pesquisa ou mesmo utilizando-o como porta-enxerto ou planta ornamental. Outros, determinando a fonte de genes ou, ainda, divulgando as qualidades desse gênero como fonte de frutos, para consumo ao natural, na forma de refresco, suco, compota, geléia, sorvete, doce.

*Passiflora edulis* Sims e *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg, maracujá-roxo e maracujá-amarelo respectivamente. Na opinião dos autores, trata-se da mesma espécie de maracujazeiro, pois descendentes híbridos

entre as duas formas são férteis e normais. O maracujá de casca roxa e o de casca amarela ocorrem em boa parte do Brasil, ainda, são encontradas formas silvestres, em margens de leito de rio, em grotões e em locais não desmatados. Algumas formas são tão definidas que podem ser caracterizadas pelo aroma e pelo gosto do suco. Recentemente, incorporou-se ao BAG uma amostra proveniente de Torres, litoral sul de Santa Catarina; praticamente *Passiflora edulis*, casca roxa ou casca amarela, ocorre em todo o litoral brasileiro. No litoral norte de São Paulo, o fruto é bastante apreciado e consumido pelos caiçaras.

A abertura da flor do maracujá-roxo brasileiro ocorre no período da tarde, semelhante ao maracujá-amarelo, entretanto, algumas formas silvestres apresentam a abertura da flor ligeiramente antes, após as 10h30. A antese das flores de híbridos de maracujá-roxo com o maracujá-amarelo sempre ocorreu depois das 11 horas.

O maracujá roxinho do Kenia é comercializado na Europa como fruta fresca. Esse material apresenta gosto, aroma e acidez diferenciados dos roxinhos ou dos maracujás-amarelos brasileiros. A abertura da flor do roxinho do Kenia ocorre de manhã, permanecendo aberta o dia todo, o que difere de relatos encontrados na literatura de que a flor se abre e fica aberta pelo período da manhã. Os frutos desse genótipo apresentam boas características organolépticas, entretanto, o maracujazeiro é muito suscetível às doenças do maracujá-amarelo, sendo bastante difícil sua manutenção no BAG.

## ***Passiflora nitida* HBK**

Baseada nas descrições de Killip (1938), Sacco (1980) e Vanderplank (1991), *P. nitida* HBK, conhecida no Brasil como maracujá-do-mato ou maracujá-suspiro, é uma espécie do subgênero *Passiflora*, série *Laurifolia*. Caracteriza-se por ser uma trepadeira, como todas as espécies do gênero, munida de gavinha, com caule cilíndrico. As folhas são ovado-oblongas e brilhantes em ambas as faces, medem de 9 a 17 cm de comprimento por 6 a 10 cm de largura, exibem estípulas linear-subuladas e apresentam duas glândulas peciolas junto à base da lâmina. As flores são grandes e vistosas,

de cor branca e azul-púrpura, com 9 a 11 cm de largura; possuem 3 brácteas foliáceas de 3 a 4 cm, sépalas oblongas, verde-pálidas, pétalas estreitas e brancas; coroa com vários vértices de filetes, os dois extremos tendo os filetes roxos, com faixas brancas na metade inferior. O fruto, uma baga globosa ou ovóide, mede cerca de 8 cm de altura e 3 a 7 cm de diâmetro; casca externamente amarelo-alaranjada, internamente branca, cerca de 1,5 cm de espessura e essencialmente esponjoso. As sementes são achatadas, codiformes, com 0,6 cm de comprimento por 0,4 cm de largura, são tridentadas no ápice e reticuladas no centro; arilo sucoso, transparente e adocicado.

### **Origem, ecologia e adaptação de *P. nitida***

Nativo das terras baixas do trópico úmido da América do Sul, *P. nitida* HBK parece estar adaptado ao clima tropical e a solos ácidos da Amazônia, mas em zonas onde há períodos secos bem definidos (Villachica, 1996).

Cavalcante (1976, 1991) relata que o maracujá-suspiro é uma espécie silvestre, comestível, dos mais comuns, distribuído por toda região Norte da América do Sul, tendo por *habitat* ideal as capoeiras ou vegetação baixa de estradas ou qualquer outro local mais ou menos sombreado, com suficiente luz solar.

A espécie não é encontrada dentro da mata, nem vegetando naturalmente a pleno sol. Observações feitas em Manaus, AM mostram que a espécie pode ser conduzida a pleno sol, da mesma maneira que o maracujá-amarelo (Hidalgo & Taveira, 1996).

### **Biologia floral e formação dos frutos**

Pouco se conhece da botânica, fisiologia, aspectos agrônômicos, comercialização e industrialização de *P. nitida*, entretanto, existe tecnologia de espécies afins como o maracujá-amarelo que pode ser utilizada como referência para sua utilização (Villachica, 1996).

Dentro do gênero *Passiflora*, as espécies apresentam diferenças quanto à biologia floral, até mesmo entre plantas da mesma espécie. Essas características sofrem inclusive grande influência das condições climáticas do local de cultivo (Gonzales, 1996).

Alguns resultados sobre *P. nitida* mostraram o comportamento dessa espécie em diferentes locais. Menezes et al. (1994) verificaram abundante florescimento nas condições de Jaboticabal, SP nos meses de outubro a abril. Oliveira (1996) observou em São José do Rio Preto, SP que as plantas do maracujá-suspiro floresceram mais intensamente no primeiro ano em janeiro e fevereiro e no ano seguinte em março. Vários picos de floração foram observados durante os dois anos consecutivos cuja produção de flores ocorreu em períodos curtos (dois ou três dias) e numerosas vezes durante o ano.

Villachica (1996) avaliou, no Peru, plantas que floresceram de sete a oito meses do plantio, enquanto Oliveira (1996) constatou o início da floração de plantas em São José do Rio Preto, SP cerca de vinte meses depois do plantio definitivo.

Menezes (1990) observou que as flores do maracujá-suspiro abrem-se no período da manhã e não apresentam diferenças nas curvaturas dos estigmas, fenômeno encontrado em outras espécies como em *P. edulis* que apresenta, segundo Ruggiero (1973), flores com três tipos de curvatura (TC - totalmente curvas, PC - parcialmente curvas e SC - sem curvaturas).

Pereira et al. (1997), Pereira (1998) verificaram, nas condições de Jaboticabal, SP que o florescimento de maracujá-suspiro ocorre de outubro a fevereiro, com pico em dezembro e janeiro. No mês de maio, também ocorre pequena florada de outono. A frutificação natural foi de 93,7% no inverno e 71,7% no verão. Na polinização cruzada artificial, a frutificação foi 100%. Na mesma área, Ballaris (1996), trabalhando com maracujá-amarelo, obteve 68% de frutificação com polinização natural, concluindo que, em virtude da eficiência da polinização natural feita pelas mamangavas foi possível dispensar a polinização artificial.

A frutificação no estudo de autocompatibilidade por meio da polinização natural foi zero, enquanto na autopolinização artificial foi de 24,4%, mostrando que a espécie apresenta boa taxa de autocompatibilidade quando comparada a outras passifloráceas. No estudo da incompatibilidade cruzada, ocorreram diferentes graus de incompatibilidade entre as plantas.

Pereira (1998) verificou, ainda, que as flores iniciaram a abertura nas primeiras horas da manhã permanecendo assim até cerca das 20 horas do mesmo dia, não mais abrindo no dia seguinte. Os frutos, oriundos da florada primavera-verão, demoraram cerca de 60 a 70 dias da antese da flor até o amadurecimento, e os frutos da florada de outono, cerca de 80 a 90 dias.

## **Aspectos gerais e histórico**

Frutos dessa espécie são comumente encontrados para comercialização em mercados, feiras livres, quitandas, vendedores ambulantes ocasionais, em Belém do Pará, Manaus e outras localidades do Norte. Os frutos são colhidos de maracujazeiros silvestres, atividade extrativista.

Em 1983, o Banco Ativo de Germoplasma de maracujazeiros, sediado em Jaboticabal, SP recebeu sementes dessa espécie com a participação decisiva do Engenheiro Agrônomo Charles Clement (Técnico do INPA). Posteriormente, recebeu outras amostras, mas com apenas duas conseguiu-se viabilizar a manutenção as quais prosperaram e tem sido objeto de pesquisa.

## **Reprodução via sementes**

As sementes de *Passiflora nitida* são preparadas à semelhança das demais espécies de maracujazeiro, ou seja, retirada do arilo por fermentação natural ou artificial, retirada mecânica com o uso do liquidificador doméstico, uso de cal virgem ou cal hidratada. Melo (1997, 1999) verificou que a germinação de sementes obtidas pela retirada do arilo com auxílio de liquidificador foi ligeiramente superior à da fermentação natural. As sementes

com arilo recém-retirado dos frutos são colocadas no liquidificador e dá-se apenas de 2 a 3 ligadas/desligadas do aparelho. Devem-se preferir aparelhos de baixa rotação e colocar proteção nas lâminas, como capa de fio elétrico, esparadrapo ou fita adesiva para não danificar as sementes. Posteriormente, colocam-se as sementes sobre peneira número 18 (peneira de arroz) e completa-se a retirada do arilo e do suco, com lavagem drástica. As sementes lavadas são colocadas sobre papel absorvente (jornal) e postas para secar à sombra. Na retirada do arilo pela fermentação natural, a polpa da fruta (suco + sementes) é colocada em vasilha de vidro ou porcelana, podendo ficar em fermentação até sete dias. Constatada a decomposição da goma ou mucilagem, as sementes são lavadas com água corrente e postas a secar.

Melo (1999), avaliando o tempo, o local de armazenamento e o tipo de embalagem verificou que sementes recém-colhidas, independente do método da retirada do arilo, apresentavam baixa germinação, menos de 1%, com sementes armazenadas há quatro meses, a germinação subiu para 25%, armazenadas há nove meses, a germinação subiu para 60%; e há treze meses praticamente não mais germinou. O tipo de recipiente (papel, vidro) e o local de armazenamento (meio ambiente, câmara seca e câmara fria) não influenciaram na taxa de germinação. Numa amostra de sementes posta para germinar, esse autor observou as primeiras emergências depois de 50 dias, prolongando-se por mais de 100 dias, à temperatura alternada de 30/23 °C.

## Reprodução por estaquia

Pereira et al. (1998), Melo (1999) conseguiram bons resultados na obtenção de mudas por estaquia de ramos primaveris e com duas meias folhas, em câmara de nebulização. Comparadas a mudas oriundas de sementes, a muda obtida por estaquia foi mais precoce no florescimento e na frutificação. Comparado ao maracujá-amarelo, o desenvolvimento vegetativo do maracujá-suspiro é bastante lento, fato também observado por Menezes et al. (1994).

Pereira (1998), acompanhando um lote experimental de *P. nitida*, plantio no espaçamento de 3 m entre ruas, com moirões de sustentação de 6 em 6 m,

sendo: vão com uma muda e vão com duas mudas, observou que as plantas mostraram-se bastante vigorosas, mesmo no inverno com completa ausência de irrigação suplementar. A verrugose constituiu-se na principal doença observada na espécie. A produção média da população de plantas avaliadas foi de 17 kg de frutos/planta, variando de 2 kg a 45 kg/planta. No verão, os frutos apresentaram médias de peso, altura, diâmetro e período de frutificação menores do que no inverno.

Os frutos podem ser colhidos no estágio maduro ou “de vez”, mas, quanto ao sabor, aqueles colhidos maduros são superiores aos amadurecidos pós-colheita. Mesmo maduro, o fruto fica preso à planta-mãe até 120 dias. Essa característica facilita a colheita e a distribuição, pois permite sincronizar a colheita com o consumo. Frutos armazenados em condições ambientais perdem peso rapidamente. Frutos armazenados em câmara fria e sem embalagem, conservaram-se bem até o oitavo dia depois da colheita. Quando se utilizou embalagem, o recipiente plástico, associado à refrigeração, proporcionou menor perda de peso aos frutos maduros e “de vez”, além de mantê-los hidratados e com brilho, polpa normal, conteúdo de sólidos solúveis totais entre 15 e 16 Brix e acidez entre 1,02 g e 1,76 g de ácido cítrico/100 g de suco e cor da casca sem evolução, até 22 dias de armazenamento.

Frutos maduros e selecionados quanto à aparência foram fornecidos à creche (crianças de 2 a 6 anos de idade), a estudantes do Ensino Fundamental de escola municipal, a asilo de idosos, jantares e almoços festivos, restaurante universitário freqüentado por alunos de Ensino Médio e Superior e a funcionários. Fez-se também ensacamento de frutos em sacola plástica rendada com 20 e 25 frutos por recipiente e colocados à venda em banca de mercado de produtor. Considerando as opiniões e as sugestões quanto ao tamanho do fruto e ao sabor, conclui-se que ele foi bem-aceito, despertando no consumidor o interesse de cultivar algumas plantas dessa espécie, utilizando cercas divisórias, caramanchões ou mesmo outras plantas arbóreas como tutor.

Essa espécie de maracujazeiro apresenta grande potencial para ser usada tanto em cultura para produção de frutos quanto como trepadeira

ornamental ou, ainda, como material genético para trabalhos de transferência de genes e como porta-enxerto.

## ***Passiflora cincinnata* MAST**

*Passiflora cincinnata* MAST é uma espécie polimorfa muito variável. Das introduções efetuadas só foi em menor número que *P. edulis*, têm-se frutos grandes (80 g), frutos pequenos (40 a 50 g), variação no colorido da flor, cor e gosto do suco. Na região norte do Estado de São Paulo, ocorre espontaneamente, seu uso para consumo não é difundido, provavelmente, porque o gosto do suco dessa variação regional não seja atraente. Na região de Vitória da Conquista, BA, é também nativo e é visto margeando a rodovia Rio-Bahia (BR 116) onde se destaca pelo colorido de suas flores. É muito confundido com *P. caerulea*. Dentro dos acessos de *P. cincinnata*, têm-se plantas vigorosas, flores grandes que se impõem pela beleza e colorido vivo, em outros acessos, a folhagem e as flores não apresentam tanto brilho.

*P. cincinnata* MAST é uma trepadeira, em geral, inteiramente glabra, raramente aveludada-pilosa, caule cilíndrico ou subangular. As folhas são simples, 3 a 5 palmatipartidas, verde-escuras na fase adaxial, pálidas na fase abaxial; com 8 cm de comprimento e 8 a 10 cm de largura, pecíolos com 1,5 a 5,0 cm de comprimento, 2 a 3 glândulas, glândulas sésseis com cerca de 0,2 cm de diâmetro. Flores cor-de-rosa pálido à violeta e violeta azul, de 7,0 a 12 cm de diâmetro, pedúnculos de 2,0 a 8,5 cm de comprimento, com sépalas oblongo-lanceoladas, com 5,0 cm de comprimento. Os filamentos da coroa possuem de 2,0 a 4,0 cm de comprimento; na parte mais baixa, apresentam coloração púrpura carregada, banda média azul-rosado e azul-pálido. Os frutos são ovóides ou oblongos, 5,0 cm de comprimento e 3,0 cm de largura. As sementes são ovais, com 0,5 a 0,6 cm de comprimento e 0,4 cm de largura.

Essa espécie recebe nomes populares regionais como: “maracujá” (Santa Catarina, Mato Grosso, Minas Gerais, Pernambuco) maracujá-mochila (Alagoas, Paraíba), maracujá-do-mato (São Paulo, Paraíba) e outros como: maracujá-tubarão, maracujá-brabo, maracujá-de-casca-verde.

## Biologia floral e aspectos agrônômicos

González (1996) acompanhou o desenvolvimento de dois acessos de *P. cincinnata*. O primeiro foi introduzido na Flórida, EUA em 1983, com a participação da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Esse material é conhecido como maracujá-cincinnata. As plantas são rústicas e vigorosas, apresentando tolerância a nematóides (*Meloidogyne* sp.) e à bacteriose (*Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*). Os frutos são arredondados, com suco de gosto característico e de bom sabor.

O outro acesso foi introduzido em dezembro de 1993, proveniente da cidade de Correntes, PI. Conforme o engenheiro agrônomo J. Pessoa Neto (COPAGRO-EMATER, PIAUI), esse maracujá recebe o nome popular de maracujá-nativo e ou maracujá-de-porco cujas plantas têm um comportamento rústico, com longevidade em torno de cinco anos. A safra é anual, ocorrendo no período de julho a outubro, produzindo frutos de porte pequeno, oval e suco bastante ácido, porém, de boa aceitação no mercado local.

Exemplares desses dois acessos foram plantados em local definitivo em setembro de 1994, iniciando, em dezembro, o florescimento; o pico da florada ocorreu nos meses de fevereiro e março, idêntico ao observado por Oliveira (1996) para o florescimento dessa espécie em São José do Rio Preto, SP.

O tempo entre o aparecimento do botão floral até a antese da flor foi de 20 a 24 dias, sendo que, no verão, (14/02 a 06/03/95) 93% dos botões chegaram a florescer e, no outono, variou de 35% a 60%. Nenhuma se formou depois de 20 de maio de 1995 até o outro ano agrícola. A não-formação normal de flores está relacionada à luminosidade (11h30) e à época mais fria do ano. A abertura da flor iniciou-se por volta das sete horas, demorando em média 10,57 minutos para total abertura e de 36,52 minutos para ocorrer a total curvatura dos estiletos.

O mecanismo de abertura das flores de *P. cincinnata* é semelhante ao descrito por Vasconcellos (1991) para a *P. alata*, sendo que na pré-antese o botão floral apresenta visível parte do ápice das pétalas; no início da abertura,

ocorre a separação das pétalas forçadas pela expansão dos filamentos da coroa. Antes de a flor ter as sépalas, as pétalas e a coroa totalmente estendidas, as anteras dão um giro de 180° e expõem os microgametófitos, enquanto, na maioria das vezes, os estigmas só iniciam seu movimento quando a flor está quase totalmente estendida (aberta). Quando as flores fecham, a coroa, as pétalas e as sépalas voltam a posição inicial, ficando a flor, logo no início do fechamento, com aspecto de sino.

Quanto ao tipo de flor, essa espécie é semelhante ao maracujá-amarelo, ou seja, também apresenta tipos de flores e, em média, observou-se 43,4% de flores TC, 39,3% tipo PC e 17,3% tipo SC para acesso Cincinnata e 54,2% de tipo TC, 42,5% PC e 3,2% SC, para o acesso Correntes, PI.

Quanto ao desenvolvimento do fruto depois da antese, foi verificado que o tempo necessário da antese à colheita foi de 230 a 371 dias, dos frutos marcados, a maioria caiu da planta nos meses de outubro e novembro. Há um aspecto importante a mencionar no que diz respeito à maturação dos frutos dessa espécie, os ramos que os sustentaram começaram o processo de secagem (morte do ramo) no final de julho de 1995, aproximadamente 160 dias depois da antese. Oliveira (1996) observou que os frutos produzidos num período de florescimento permaneceram nas plantas até a próxima floração. Quanto ao crescimento do fruto, observou-se que 24 dias depois da antese, praticamente o fruto atinge 90% do seu tamanho e aos 87 dias completa seu tamanho definitivo.

O desenvolvimento e a maturação de frutas de *P. cincinnata* são bem mais demorados que de *P. edulis*, sendo que a maturação do fruto ocorre a aproximadamente 71 dias em Jaboticabal, SP (Vallini et al., 1976), 57 na Ilha Solteira, SP (Bianco et al., 1982) e 77 dias em Botucatu, SP (Urashima & Cereda, 1989). A coloração da casca do fruto é verde-palha, sem brilho; algumas vezes a casca fica amarelada, com consistência deformável, mas o fruto exala aroma agradável, típico da espécie.

Na avaliação da compatibilidade, verificou-se que a taxa de frutificação foi nula quando se fez autofecundação controlada. Com polinização manual, a

frutificação foi ligeiramente superior à efetuada por insetos. A taxa de frutificação natural foi em média de 50%. Oliveira & Coleman, 1994 observaram taxa de frutificação natural para a espécie de 13,7%.

As características dos frutos e do suco encontram-se na Tabela 1.

**Tabela 1.** Características de frutos de *P. cincinnata* e *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg, *P. nitida* e *P. setacea*.

Características	<i>P. cincinnata</i>		<i>P. edulis</i>		<i>P.</i>	<i>P.</i>
	Cincinnata	Nativo	População 1	População 2	nitida	setacea
Peso do fruto (g)	85,26	83,95	91,3	> 170,00	35,80	50,60
Altura do fruto (cm)	5,5	5,96	6,53	8,15	5,60	5,30
Diâmetro do fruto (cm)	5,78	5,47	6,36	7,1	4,40	3,80
Espessura da casca (mm)	2,0 a 4,0	—	6 - 8,4	—	—	3,00
Número sementes/fruto	273	287	—	370	106	240
% rendimento em suco p/p	49,7	42,3	23 - 37	51	—	38,70
Sólidos solúveis totais °Brix	10,3	10,70	13 - 18	15	15 - 16	16
Acidez total titulável em %	3,40	4,01	4,0 - 5,9	—	1,02 - 1,76	3,90

Em testes preliminares de degustação, alguns provadores indicaram que o sabor do suco diluído e adoçado lembra, em parte, o suco de carambola, outros mencionaram que o sabor era mais parecido ao da graviola, concordando todos que o sabor difere do gosto do suco do maracujá-amarelo. Na preparação do suco, a diluição da polpa sem as sementes foi de 1:4, enquanto para o maracujá-amarelo, recomenda-se em média 1:8 - volume do suco integral/volume de água.

O suco dos frutos dessa espécie de passiflora é comumente servido em hotéis de Vitória da Conquista, BA. Em visita ao mercado municipal de Cruz das Almas, teve-se oportunidade de ver o comércio desse material. Os frutos estavam acondicionados em sacos de anagem ou semelhante, vendido a granel. Na análise visual do fruto, observou-se muita heterogeneidade quanto ao tamanho, formato, maturação. A durabilidade da fruta é bastante longa quando comparada à do maracujá-amarelo e é também muito resistente ao transporte e ao manuseio.

## ***Passiflora setacea* D.C.**

Conforme Inglez de Souza & Meletti 1997, é conhecida como maracujá-sururuca, passiflorácea brasileira ou, mais precisamente, fluminense, já classificada por Vellozo, citado pelos primeiros autores em 1827 como *Passiflora sururuca* Vell; atualmente *Passiflora setacea* D.C. e, anteriormente *Cieca sururuca* Roem. É uma fruta de antiga popularidade, Caminhoa (1877), citado por Inglez de Souza & Meletti, 1997, já a incluía no rol das passifloráceas de frutos saborosos, conhecida como maracujá-sururuca, muito apreciado para a fabricação de doces.

Planta de caule roliço, sutilmente revestido de tomento pardacento. Folhas trilobadas com 5 a 8 cm longitudinalmente por 6 a 8 cm transversalmente; pecíolo com 3 cm de comprimento, portanto, na base um par de glândulas sésseis. As flores são brancas e solitárias, a antese ocorre depois das 18 horas, apresentando baixa taxa de frutificação em Jaboticabal, SP e Araguari, MG, provavelmente, devido à falta de agentes polinizadores. A polinização artificial dá bons resultados, dando origem a frutos grandes. No sul da Bahia e no semi-árido mineiro é conhecido como maracujá-de-cobra.

Essa espécie foi introduzida no BAG de Passiflora da FCAV - UNESP de Jaboticabal em 1980, via Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Posteriormente, depois de 1986, outras introduções foram efetuadas com a colaboração do Professor Engenheiro Agrônomo Abel Rebouças São José. Em Janaúba, MG, o Engenheiro Agrônomo Elpídio Francisco Neto observou extensa área coberta com essa espécie; as plantas estavam dispostas de forma a sugerir a hipótese de se tratar de plantio artificial proposital com mecanização, mas se chegou à conclusão de que se tratava de uma capoeira em pouso.

Frutos ovóides e globosos, com peso de 50 a 60 g e com 5,3 cm de comprimento por 3,8 cm de diâmetro, casca verde-amarelada e rajadas, quando próximos à maturação, apresentando cinco listas longitudinais da base ao ápice do fruto, casca coriácea, suco doce-acidulado, saboroso,

16 °Brix, 127/233 sementes por fruto; quando maduros, os frutos caem da planta, semelhante ao maracujá-amarelo. As sementes são obovadas, levemente reticuladas/sementes por grama.

As sementes são de tamanho reduzido, em relação a outras passifloráceas e perdem rapidamente a capacidade de germinação. No início do desenvolvimento, as plântulas são delicadas com caule delgado. Em cultivo, apresentam crescimento inicial lento e posteriormente vigoroso. Algumas plantas chegaram a viver nove anos.

## **Aspectos agrônômicos**

Essa espécie tem-se mostrado resistente à morte precoce de plantas de outras passifloráceas (Oliveira, 1987) e suscetível ao nematóide *Meloidogyne incognita*, raça I, de modo generalizado, é tolerante à bacteriose, à antracnose e à ferrugem, doenças do maracujá-amarelo.

Descendente de híbridos interespecíficos de *P. edulis* vs. *P. setacea*, os frutos mostraram-se vigorosos, mas com a presença de plântulas anormais, com ausência parcial de clorofila, albinas, grãos de pólen de baixa viabilidade, entretanto, os óvulos foram bastante férteis, permitindo a reprodução sexual entre híbridos e os progenitores. Em relação à morfologia, as folhas, flores e frutos dos híbridos foram intermediários aos progenitores, embora em alguns caracteres tenha ocorrido predominância de um dos progenitores. Entre os descendentes, foram observados indivíduos com baixa reprodução do *Meloidogyne incognita*, raça I, o que indica resistência ao parasito (Priolli, 1991).

Em relação à morte precoce de plantas, os híbridos F<sub>1</sub> dos cruzamentos: *P. edulis* vs. *P. setacea*, *P. alata* e *P. giberti* mostraram-se suscetíveis, indicando a hipótese de que a resistência à doença é devida a gene recessivo (Oliveira & Ferreira, 1991), isso dificulta a transferência do gene para *P. edulis*.

## Conclusão

Considerando a diversidade genética do gênero *Passiflora* e o potencial agrônomo relatado neste capítulo para algumas espécies, é de extrema importância a intensificação dos trabalhos de pesquisa visando ao maior conhecimento do germoplasma de maracujazeiro silvestre para produção de frutos, como trepadeira ornamental ou, ainda, como material genético para trabalhos de melhoramento e como porta-enxerto.

## Referências bibliográficas

BALLARIS, A. de L. **Influência da polinização artificial na taxa de frutificação do maracujá (*Passiflora edulis*, Sims. f. *flavicarpa* Deg.)** 1996. 38 f. Monografia- Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1996.

BIANCO, S.; CORREIA, L. S.; MARTINS, A. B. G. Dados preliminares do comportamento do maracujazeiro (*Passiflora*, sp.) cultivado na região de Ilha Solteira – S.P. In: CONGRESSO OF THE AMERICAN SOCIETY OF HORTICULTURAL SCIENCE, 29.; CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 21; CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 21, 1981, Campinas. **Proceedings...** Campinas, 1982. p. 339-342.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. Belém: Falangola, 1976. 156 p.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. Belém: CEJUP, 1991. 149 p.

CERVI, A. C. **Passifloraceae**. Goiânia: Ed. Universidade de Goiás, 1986. 45 p. (Flora do Estado de Goiás. Coleção Rizzo, 7).

GONZÁLEZ, A. M. **Biologia floral e caracterização físico-química dos frutos de dois acessos de *Passiflora cincinnata* Mast. nas condições de Jaboticabal**. 1996. 79 p. Dissertação (Mestre em Agronomia)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1996.

HIDALGO, A. F.; TAVEIRA, M. B. Germinação de sementes de maracujá-do-mato (*Passiflora nitida* HBK) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 14; REUNIÃO INTERAMERICANA DE HORTICULTURA TROPICAL, 42., 1996, Curitiba. **Resumos...** Londrina: IAPAR, 1996. p. 333.

- HOEHNE, F. C. **Frutas indígenas**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1946. p. 62-63.
- INGLEZ DE SOUZA, J. S.; MELETTI, L. M. M. **Maracujá espécies, variedades e cultivo**. Piracicaba: FEALQ, 1997. v. 3, 150 p.
- KILLIP, E. P. **The American species of *Passifloraceae***. Chicago: Field Museum of Natural History, 1938. p. 7-162. (Botanical series, v. 19).
- KNIGHT JUNIOR, R. J.; WINTERS, H. F. Pollination and fruit set of yellow passionfruit in southern Florida. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 75, p. 412-418, 1962.
- MELO, A. L. **Efeitos da retirada do arilo, do armazenamento e aspectos morfológicos de sementes do maracujazeiro (*Passiflora* spp.)** 1997. 52 f. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1997.
- MELO, A. L. **Métodos de quebra de dormência e de armazenamento de sementes, e aspectos da obtenção de mudas de maracujá suspiro (*Passiflora nitida* H.B.K.)**. 1999. 94 f. Tese (Doutorado)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1999.
- MENEZES, J. M. T. **Seleção de porta-enxertos tolerantes a morte prematura de plantas para *Passiflora adulis* Sims f. *flavicarpa* Deg e comportamento de *Passiflora nitida* HBK na região de Jaboticabal**. 1990. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1990.
- MENEZES, J. M. T.; OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C.; BANZATTO, D. A. Avaliação da taxa de pagamento de enxertos de maracujá-amarelo sobre espécies tolerantes à "morte prematura de plantas". **Científica**, v. 22, n. 1, p. 95-104, 1994.
- OLIVEIRA, J. C. Melhoramento genético. In: RUGGIERO, C. (Ed.). **Cultura do maracujazeiro**. Ribeirão Preto: Legis Summa, 1987. p. 218-246.
- OLIVEIRA, J. C. de; FERREIRA, F. R. Melhoramento genético do maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A. R.; FERREIRA, F. R.; VAZ, R. L. **A cultura do maracujá no Brasil**. Jaboticabal: FUNEP, 1991. p. 211-246.
- OLIVEIRA, A. M. A.; COLEMAN, J. R. Citogenética e aspectos da biologia floral de *Passiflora cincinnata* Mast. e *Pcoccinea* Aubl (PASSIFLORACEAE). **Rev. Bras. de Genét.**, v. 17, n. 3, p. 160, 1994. (Suplemento).
- OLIVEIRA, A. M. A. **Reprodução e citogenética de espécies de *Passiflora***. 1996. 134 f. Tese (Doutorado)- Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 1996.

PEREIRA, M. C. N.; OLIVEIRA, J. C.; MELO, A. C. Observações preliminares do comportamento do maracujá-suspiro nas condições de Jaboticabal, SP. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS, 1997, Campinas. **Programas e resumos**. Campinas: IAC, 1997. p. 75.

PEREIRA, M. C. N. **Fenologia, produção e conservação de frutos de *Passiflora nitida* H.B.K. nas condições de Jaboticabal-SP**. 1998. 74 f. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1998.

PRIOLLI, R. H. G. **Avaliação morfológica híbridos entre *Passiflora* spp. e comportamento em relação ao nematóide formador de galhas *Meloidogyne incognita* KOFOID, WHITE (1919) CHITWOOD (1949). Raça 1**. 1991, 88 f. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1991.

RUGGIERO, C. **Estudos sobre floração e polinização do maracujá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.)** 1973. 92 f. Tese (Doutorado)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista., Jaboticabal, 1973.

SACCO, J. C. Flora ilustrada catarinense: **passifloraceas**. Itajai: R. Reitz, 1980. 132 p.

URASHIMA, A. S.; CEREDA E. Estudo do desenvolvimento do fruto do maracujazeiro *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. Da polinização a colheita. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 10., 1989, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBF, 1989. p. 393-394.

VALLINI, P. C.; RUGGIERO, C.; LAM-SANCHES, A.; FERREIRA, F. R. Studies on the flowering period of yellow passion fruit *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. in the region of Jaboticabal, São Paulo. **Acta Horticulturae**, v. 57, p. 233-236, 1976.

VANDERPLANK, J. **Passion flowers and passion fruit**. Cambridge: The Mit Press, 1991. 176 p.

VASCONCELLOS, M. A. **Biologia floral do maracujá doce (*Passiflora alata* Dryand) nas condições de Botucatu**. 1991. 98 f. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1991.

VILLACHICA, H. **Frutales y hortalizas promissorios de la Amazônia**. Lima: SPT-TCA, 1996. p. 152-156. (SPT-TCA, 44).



Poderosa e lendária família  
Que difere na adaptação.  
Cada espécie tem sua função  
Comprovada em seu uso e valia.

Alimento da fauna silvestre  
De alados, serpentes, roedores,  
E de humanos, seres predadores,  
Que habitam a crosta terrestre.

No mais puro pensar de um poeta  
Flor igual em beleza não há.  
Cujo nome é Maracujá,  
E faz parte da nossa dieta.

*Geovane Alves de Andrade*

# Problemas e perspectivas da avaliação de doenças como suporte ao melhoramento do maracujazeiro

---

Francisco Ferraz Laranjeira

## Introdução

Quantificação de doenças ou patometria é o processo pelo qual os sintomas são mensurados e expressos em unidades que permitam comparações objetivas. Nesse contexto, medidas subjetivas como  *muito intenso*,  *baixa severidade* ou  *grandes áreas lesionadas* são de muito pouca valia. O objetivo precípua da patometria é fornecer dados quantitativos sobre as doenças que possibilitem:

- i. Estimar a extensão dos danos e realizar estudos de perdas.
- ii. Comparar a eficiência de sistemas de controle.
- iii. Realizar estudos básicos de ecologia de fitopatógenos e epidemiologia.
- iv. Comparar seleções e variedades em programas de melhoramento.

Pela descrição dos objetivos, percebe-se a razão de tantos pesquisadores considerarem a quantificação de doenças como tão necessária quanto à diagnose. Nesse caso, racionaliza-se que mais importante do que conhecer o agente causal de dada doença é saber quanto esse patógeno pode induzir sintomas.

Considerando-se especificamente a aplicação da patometria no melhoramento vegetal, ver-se-á que é exatamente essa a situação. O

melhorista nunca está apenas interessado em saber qual o patógeno que afeta a variedade desenvolvida. Ele quer saber se aquela doença é relevante, como seria possível classificar a reação da variedade e como o material selecionado se posiciona em relação a cultivares já lançadas. Em outras palavras, a quantificação de sintomas de doenças é aspecto fundamental do melhoramento genético vegetal.

Neste texto, serão discutidos aspectos da patometria relacionados ao melhoramento, em especial, aos que se refiram ao melhoramento de plantas do gênero *Passiflora*. Sem pretender esgotar o assunto, serão vistos aspectos básicos da quantificação de doenças, características da cultura que favorecem ou não a patometria e ainda observações específicas sobre alguns tipos de doenças que afetam o maracujazeiro.

## Requisitos de uma boa avaliação

Uma boa avaliação de doença deve considerar quatro atributos básicos:

- i. Acurácia.
- ii. Precisão.
- iii. Reprodutibilidade.
- iv. Eficiência.

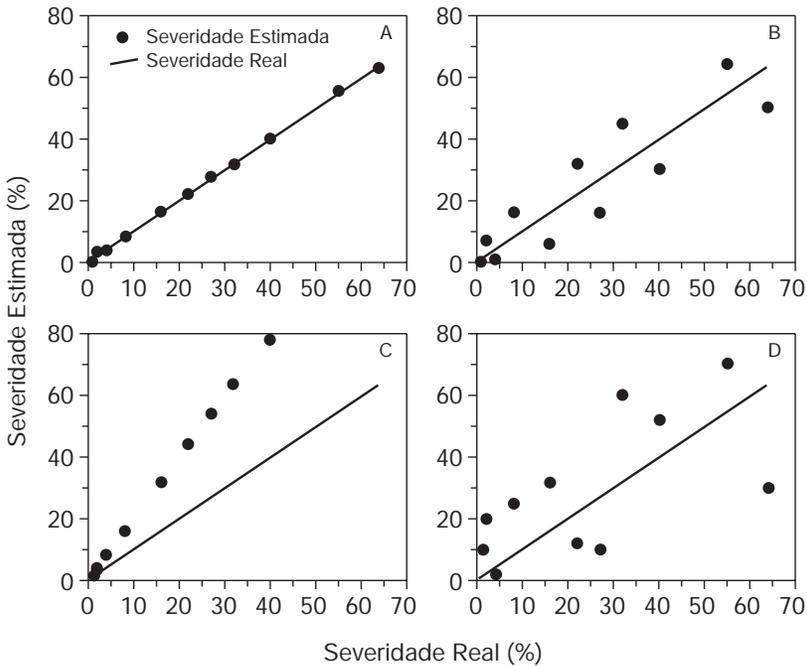
Os dois primeiros atributos referem-se à qualidade da avaliação, o terceiro diz respeito à possibilidade de mais grupos de pesquisa utilizarem os mesmos métodos, e o último atributo refere-se ao balanço entre a qualidade e o tempo de execução.

### Acurácia e Precisão

A acurácia é a medida de quão próximo ao real estão as estimativas de um dado avaliador. Precisão é a medida dos desvios de avaliação em

relação às estimativas do próprio avaliador (Figura 1). Em outras palavras, a precisão diz respeito a quanto um avaliador erra ao avaliar amostras do mesmo valor.

Considerando-se essas definições, um avaliador pode apresentar quatro perfis (Figura 1). É óbvio que se procura sempre um avaliador de perfil A. Por sua vez, com treinamento adequado, é possível desenvolver as habilidades necessárias.



**Figura 1.** Perfis de avaliadores de doenças. Preciso e acurado (A); Acurado, mas impreciso (B); Preciso, mas não-acurado (C); Impreciso e não-acurado (D).

## Reprodutibilidade

Essa característica está mais relacionada ao método utilizado. Como ideal, procura-se aquele que possa ser utilizado de maneira eficiente por diversos grupos de pesquisa ou pelo menos que seja aceito pelos parceiros

de um mesmo projeto. O melhor, entretanto, é que os métodos sejam estabelecidos e aceitos por um grupo mais amplo e tornem-se referência para trabalhos futuros.

Mesmo que o método seja adequado, o treinamento dos avaliadores deve ser feito. A existência de falhas sistemáticas pode comprometer os esforços de um grupo ou mesmo de todo um projeto.

## **Eficiência**

Esse atributo também se relaciona com o método de quantificação, mas igualmente com o esquema de amostragem e número de repetições. Nesse caso, deve haver um balanço eficiente entre a qualidade da avaliação, seu custo e, em especial, o tempo despendido para sua execução.

Uma avaliação pode vir a ser de muito boa qualidade, mas se não permitir ao melhorista um resultado rápido que possibilite a avaliação de um bom número de genótipos, será ineficiente. Ademais, de nada adiantará rapidez se o resultado não discriminar as variedades de maneira conveniente.

## **Erros comuns em avaliação de doenças**

São quatro os equívocos mais corriqueiros na avaliação de doenças. O primeiro deles relaciona-se à expectativa do avaliador. Essa expectativa pode advir do que se conhece da doença - doença "importante" ou não -, do que o avaliador imagina que vá acontecer com cada tratamento e da experiência de quem avalia. Os mais experientes costumam ter uma expectativa baseada em seu próprio conhecimento prático e, em consequência, cometem erros de avaliação.

O segundo erro mais comum é a tendência natural da superestimação os sintomas. Isso ocorre, pois as avaliações normalmente são feitas determinando-se a área sintomática e não a sadia. Aparentemente, quem

avalia está tão concentrado na doença que falha em estabelecer a correta relação do observado com o resto da unidade amostral.

O terceiro erro acontece também por causa de fatores intrínsecos ao homem. Diante de folhas com a mesma porcentagem de área sintomática, mas com tamanhos diferentes de lesão, tende-se a afirmar que a folha com lesões de menor tamanho é a mais afetada. O cérebro, nesse caso, distingue melhor frequência que área.

O quarto erro tem relação com a tendência de grande número de pessoas concentrar as estimativas em valores com 1, 5% e 10%. Por algum motivo, o ser humano aprecia os valores redondos.

O reconhecimento da existência dessas fontes de erro não é uma sentença de imprecisão ao processo de avaliação de doenças. Antes, é mais uma lembrança das nossas falhas e um estímulo a corrigi-las.

## **O que avaliar?**

Existem quatro medidas básicas que podem ser usadas na quantificação de doenças:

- i. Incidência.
- ii. Severidade.
- iii. Intensidade.
- iv. Densidade do patógeno.

A incidência refere-se sempre à proporção de unidades sintomáticas num total de unidades amostrais avaliadas. Dessa forma, faz-se referência a medidas como: proporção de plantas sintomáticas; porcentagem de folhas afetadas; porcentagem de ramos com desfolha. Adiante, será discutida, para cada tipo de doença, qual a medida de danos mais adequada. No entanto, de maneira geral, a incidência é utilizada quando a unidade amostral está doente,

o que implica danos diretos à produção ou fatalidade. Esse é o caso, por exemplo, de plantas com murcha (porcentagem de plantas murchas) ou frutos podres (porcentagem de frutos com podridão).

A severidade faz referência à incidência de doença por unidade de área ou volume avaliado. Por exemplo: porcentagem de área foliar sintomática ou de volume de copa afetada. Embora, na teoria, seja uma medida mais precisa que a incidência, é muito mais difícil de se estimar, e os erros associados podem ser maiores se o método usado não estiver bem calibrado.

A intensidade pode ser classificada apenas como uma designação geral das medidas de avaliação de doenças e, portanto, englobando a incidência e a severidade. Pode, no entanto, assumir um significado alternativo e designar medidas menos quantitativas como aquelas existentes em chaves descritivas (ver adiante). Nesses casos, a intensidade assume valores arbitrários conforme a descrição da chave. Geralmente, utilizam-se escalas de número com zero para unidade amostral sadia e um número inteiro entre 3 e 5 para o valor máximo da chave. É possível ainda combinar avaliações de incidência com intensidade ou severidade, gerando os índices de doença. Esses índices, na classificação aqui adotada, são considerados medidas de intensidade da doença.

Embora as medidas referentes a sintomas sejam as mais utilizadas, para algumas doenças, elas podem não ser suficientes. Essa é a situação que ocorre quando a incidência e a severidade são homogeneamente altas ou baixas, independente do tratamento. Outra circunstância em que as medidas de sintomas são irrelevantes é quando os sintomas são inespecíficos. Nesses casos, deve-se lançar mão da densidade do patógeno que mede a quantidade de propágulos ou outros sinais do patógeno por unidade ou mesmo por unidade de área, volume ou massa do hospedeiro. A avaliação de viroses é um caso típico: sintomas inespecíficos, alta incidência e possibilidade de quantificação - ao menos indireta - dos vírus.

## Como avaliar?

A avaliação de uma doença está diretamente ligada à decisão sobre quais aspectos avaliar. A escolha de uma medida de avaliação pode implicar a escolha do método de avaliação. Serão apresentados aqui alguns dos métodos mais utilizados e que podem ter alguma aplicação na patometria da passicultura.

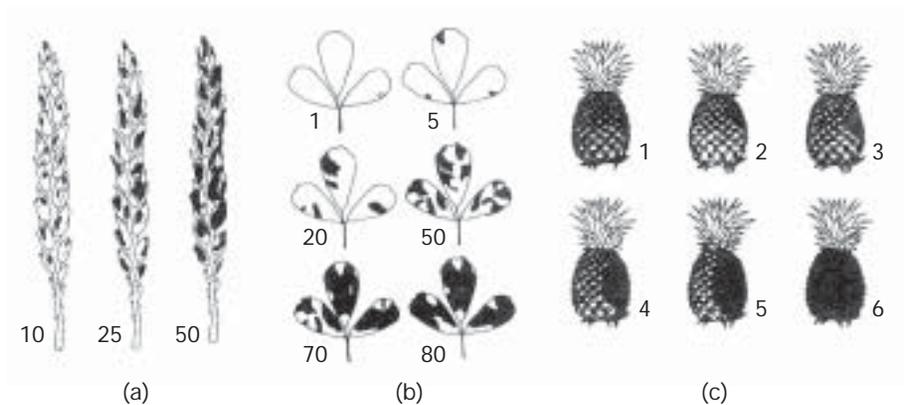
### Freqüência de amostras doentes

Esse método consiste em computar a incidência de determinada classe de sintoma num conjunto de amostras. Como comentado anteriormente, esse método é mais ligado a doenças que atingem diretamente a produção podridão-de-frutos, por exemplo, ou àquelas que determinam a morte da unidade amostral ou comprometem a produção da planta como um todo. Nesse último caso, as mais comuns são as doenças que matam as plantas como, a fusariose, e a podridão-do-pé e a podridão-do-colo. As viroses, de maneira geral, também se enquadram aqui. Apesar disso, doenças foliares podem ser avaliadas com base na freqüência de unidades afetadas. Isso é tanto mais verdadeiro quanto mais a presença dos sintomas implicarem o aniquilamento da unidade amostral. Típica dessa situação é a doença que causa desfolha. Assim, pode-se perfeitamente avaliar a porcentagem de folhas afetadas ou a de desfolha.

### Escalas diagramáticas

Escalas diagramáticas são representações ilustradas de uma série de plantas, folhas, frutos ou outras partes de plantas com sintomas em diferentes níveis de severidade (Figura 2). Atualmente, essas escalas são a principal ferramenta para se estimar a severidade de uma doença. É bom esclarecer que a correta utilização das escalas é que determina seu sucesso. Sua principal função é servir de guia para que o avaliador possa **estimar** o percentual de

sintomas existente na unidade amostral. Caso seja usada para se “enquadrar” a unidade amostral em um dos níveis da escala, ela passa a ser meramente um tipo de chave descritiva, mas já com erro sistemático embutido na avaliação. Para que uma escala seja corretamente usada, os avaliadores devem ser treinados, procurando-se corrigir eventuais problemas de acurácia. Nota-se a razão da demanda por treinamento: o processo não é de classificação, mas de estimativa. Caso não seja bem treinado, o erro pode ser grande se for necessário estimar a severidade de uma folha com 30% de área foliar afetada, mas os níveis da escala sejam 3%, 6%, 15%, 25%, 38% e 50%, por exemplo.



**Figura 2.** Exemplos de escalas diagramáticas representando níveis de doença em diversos órgãos das plantas.  
Fonte: Bergamin Filho & Amorim (1996).

Na passicultura, só foi possível encontrar um exemplo de escala diagramática (Figura 3). A escala para o crestamento bacteriano foi desenvolvida com o objetivo de avaliar a severidade da doença em genótipos de maracujá inoculados em casa de vegetação (Miranda, 2004). Embora a autora relate o sucesso da escala e das avaliações, é necessário apontar que sua utilização está condicionada ao método de inoculação por corte de tesoura.



**Figura 3.** Escala diagramática para avaliação de bacteriose do maracujazeiro em plantas inoculadas em casa de vegetação pelo método da tesoura.  
Fonte: Miranda (2004).

A confecção de uma escala diagramática é tarefa árdua, embora não seja excessivamente complexa. O candidato a desenvolvedor de escalas deve ter bom conhecimento da doença, equipamento para medição precisa da área foliar afetada e disposição para trabalhar com um número significativo de avaliadores até o ajuste final da escala. Outro requisito fundamental é a observância dos aspectos teóricos como, por exemplo, o respeito aos limites da acuidade visual humana (Kranz, 1988; Campbell & Madden, 1990; Bergamin Filho & Amorim, 1996; Do Vale et al., 2004). Embora a grande maioria das escalas publicadas até hoje faça uso de desenhos nas cores preta e branca, o uso de escalas coloridas para doenças específicas deve aumentar a qualidade das avaliações. Isso é especialmente verdadeiro quando se sabe que o matiz da cor é fator de discriminação de sintomas. Avaliações de

doenças cujos sintomas apresentam áreas cloróticas, necróticas e em esporulação podem ser as mais beneficiadas.

### ***Chaves descritivas***

As chaves descritivas são compostas de escalas arbitrárias com um número variável de graus ou classes que são usados na quantificação de doenças. Por serem arbitrárias, baseiam-se na experiência do desenvolvedor com a doença e podem ser não apenas descritivas, mas considerar também diagramas. Embora as classes da chave possam ser de qualquer tipo - símbolos, letras, números ou expressões - o uso de classes numéricas é muito conveniente. Ao contrário das escalas diagramáticas, as unidades amostrais avaliadas com chaves descritivas são classificadas nos graus da chave. É importante frisar que a confecção dessas chaves deve ser criteriosa, pois em essência são imprecisas. Deve-se, por exemplo, abolir expressões subjetivas como *moderado*, *severo*, *intenso*, *levemente*. Esse tipo de expressão, além de não descrever os sintomas de maneira adequada, ainda inibe o uso da chave por outros grupos de pesquisa. Ao contrário das escalas diagramáticas, é muito difícil treinar avaliadores e padronizar o que se quer como *severo* ou equivalentes.

O cuidado deve ser ainda maior quando se sabe que as chaves descritivas são comumente usadas em programas de melhoramento. Isso se dá em função de sua praticidade. Obviamente, é muito mais simples atribuir uma nota a uma planta do que estimar a severidade de cada uma de suas folhas. Essa praticidade se reflete na rapidez das avaliações e, claro, na quantidade de plantas avaliadas por unidade de tempo.

Nas Tabelas 1, 2 e 3 são apresentadas propostas de chaves descritivas para avaliação de doenças foliares do maracujá no campo. Como essas chaves não foram ainda testadas em programas de melhoramento, devem ser ainda validadas e, eventualmente, modificadas. De qualquer forma, essa proposta pretende deixar clara a ausência de chaves e escalas adequadas ao suporte de programas de melhoramento na passicultura.

**Tabela 1.** Proposta de chave descritiva para avaliação da cladosporiose em plantas de maracujá-amarelo.

Classe	Descrição
0	Ausência de sintomas
1	Sintomas apenas em folhas
2	Sintomas em folhas, ramos e botões florais
3	Sintomas em frutos, sem deformação
4	Ocorrência de frutos deformados

**Tabela 2.** Proposta de chave descritiva para avaliação da antracnose em plantas de maracujá-amarelo.

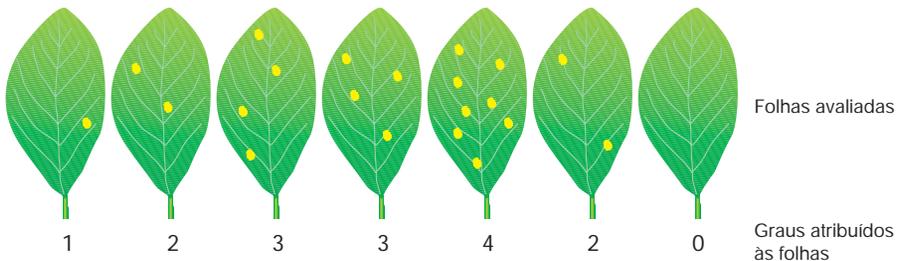
Classe	Descrição
0	Ausência de sintomas
1	Sintomas apenas em folhas
2	Desfolha ou morte descendente de ramos
3	Desfolha e morte descendente de ramos
4	Desfolha, morte descendente de ramos e sintomas em frutos

**Tabela 3.** Proposta de chave descritiva para avaliação da bacteriose em plantas de maracujá-amarelo.

Classe	Descrição
0	Ausência de sintomas
1	Folhas com sintomas pontuais
2	Coalescência de lesões foliares
3	Desfolha
4	Sintomas sistêmicos

## Índices de doença

Os índices de doença são calculados a partir de avaliações com chaves descritivas. Podem ser usados para determinar a intensidade de uma doença em determinada população de um genótipo ou mesmo em uma planta ou campo de cultivo. Na Figura 4, detalha-se o procedimento de cálculo do índice básico da doença. Entretanto, mesmo mais trabalhoso, o índice de Czermainski (Czermainski, 1999) é mais adequado a análises estatísticas. Não importando o índice escolhido, é fundamental que a unidade amostral - planta ou folha - reflita os objetivos e as metas do programa de melhoramento. No caso do maracujá, deve-se fazer distinção entre trabalhos em campo e em casa de vegetação. Em campo, seriam interessantes chaves descritivas e índices para a planta ou para espaços entre moirões das espaldeiras. Para casa de vegetação, é mais adequada a avaliação em folhas. Isso é decorrência do tamanho das plantas e das características da infecção nos dois ambientes. Em casa de vegetação, é rara a manutenção das plantas em crescimento até depois do lançamento das primeiras gavinhas. Além disso, os sintomas são oriundos de apenas um processo de inoculação, ao contrário das condições de campo em que a infecção não é controlada. Assim, é mais conveniente que, em casa de vegetação, sejam usados índices relacionados a folhas.



$$(\sum \text{Número de folhas} \times \text{grau da chave}) / (\text{Número total de folhas} \times \text{Valor máximo da chave})$$



$$[(1 \times 0) + (1 \times 1) + (2 \times 2) + (2 \times 3) + (1 \times 4)] / (7 \times 4) = 0,54 \rightarrow \text{Índice obtido}$$

**Figura 4.** Processo de determinação do índice de McKinney para um conjunto de folhas avaliadas com chave descritiva com graus variando de 0 a 4.

## **Auto-incompatibilidade, propagação por sementes e doenças**

Existem algumas características do maracujá que influenciam diretamente a qualidade da quantificação de doenças na passicultura. Entre essas características, destacam-se a auto-incompatibilidade e a propagação por sementes. A auto-incompatibilidade induz o produtor a ter no seu pomar grande variedade de plantas geneticamente distintas, e a maneira mais fácil de conseguir isso é por meio de sementes. Embora essa situação não traga muitos inconvenientes ao produtor, transforma a vida do pesquisador numa luta sem fim. Com implicações diretas na amostragem e no número de unidades amostrais, aqueles aspectos são cruciais e devem ser observados, caso se deseje uma boa avaliação de doenças. Embora as informações referentes a esse tópico e que poderiam subsidiar o melhoramento sejam escassas, considera-se que o fundamental é a atuação conjunta de melhoristas e fitopatologistas para a solução desses entraves.

### **Amostragem**

A grande variação encontrada num plantio de maracujá implica também uma provável heterogeneidade na reação à maioria das doenças. Aqui se deve lamentar que esse sempre foi um aspecto não muito considerado. O ideal seria ter-se pelo menos um estudo para cada uma das mais importantes doenças do maracujá e que apontasse a real variabilidade na reação. Isso ajudaria na elaboração de planos de amostragem mais eficientes.

Para que um plano de amostragem seja eficiente, ele deve considerar aspectos como técnica de amostragem, unidade amostral e tamanho da amostra. Esse último aspecto será visto adiante com implicações mais relacionadas à experimentação.

A técnica de amostragem tem ligação direta com a distribuição espacial da doença no campo. No caso de experimentos com inoculação controlada ou com distribuição aleatória ou regular do patógeno, esse aspecto não é crítico, pois a avaliação normalmente é feita em todas as parcelas. Pode-se ainda, como alternativa, optar por uma amostragem aleatória. No entanto, o emprego de uma técnica de amostragem adequada é fundamental na quantificação de doenças em populações comerciais a serem selecionadas. De maneira geral, recomenda-se que, para detecção de baixas incidências, seja usada a amostragem estratificada. Em outras situações, a amostragem sistemática em "W", ou seja, o caminhamento em zigue-zague com avaliação de certo número de plantas é suficiente.

A escolha da unidade amostral também é crucial e, como já visto, está ligada à escolha da medida e do método de quantificação. Atenção especial deve ser dada à relevância dessa unidade e sua conexão com a fenologia da planta. Por exemplo, se o interesse for selecionar populações com maior resistência à desfolha, não faz sentido avaliar a ocorrência de sintomas em frutos. No entanto, se essa mesma doença afeta os frutos, em algum momento, eles devem ser a unidade amostral de escolha. Isso é tanto mais importante quanto mais correlacionados estiverem uma dada parte da planta e os danos à produção causados pela doença. Como exemplo hipotético, pode-se admitir uma doença que afeta frutos, mas que afete também os botões florais. Caso haja alta correlação entre severidade de sintomas nos botões florais e danos aos frutos, o melhorista pode optar por avaliar os botões e obter assim uma medida precoce da resistência das populações estudadas.

## **Número e tamanho de repetições**

O número e o tamanho das unidades amostrais talvez sejam os aspectos mais importantes de um plano de amostragem. O outro lado da questão mostra, entretanto, que são também mais afetados pela variação

no comportamento dos genótipos. Praticamente, nada foi feito nesse campo para pesquisas com maracujá. É fundamental apontar que a grande limitação para a pesquisa com maracujá é o tamanho das parcelas. Ao contrário de fruteiras como citros ou manga, a clonagem é de pouco interesse, pois não é possível formar pomares produtivos com apenas um clone. Assim, torna-se quase irrelevante o fato de uma planta apresentar menor quantidade de sintomas ou menores danos à produção. A questão-chave aqui é trabalhar com populações. O que é válido para outros aspectos do melhoramento continua válido quando se aborda a resistência a doenças. Nesse caso, é fundamental que sejam feitos estudos específicos para se determinar o número e o tamanho das repetições de modo a permitir uma correta comparação de tratamentos, no contexto deste trabalho, que permitam a comparação entre genótipos de maracujá. Em trabalho que procurou contribuir para o esclarecimento dessa questão, Ledo e Laranjeira (2003) mostraram que, em casa de vegetação, dez era o número mínimo de plantas por parcela para se obter um tratamento estatístico confiável, considerando-se variáveis como peso da matéria seca (raízes) e da parte aérea, altura das plantas. Assim sendo, o uso de poucas plantas por parcela pode levar à execução de trabalhos pouco confiáveis que não contribuem para o avanço das pesquisas na passicultura. Esse é um caso típico em que não há compensação em enfatizar fatores logísticos em detrimento dos biológico-estatísticos.

## **Variação ambiental**

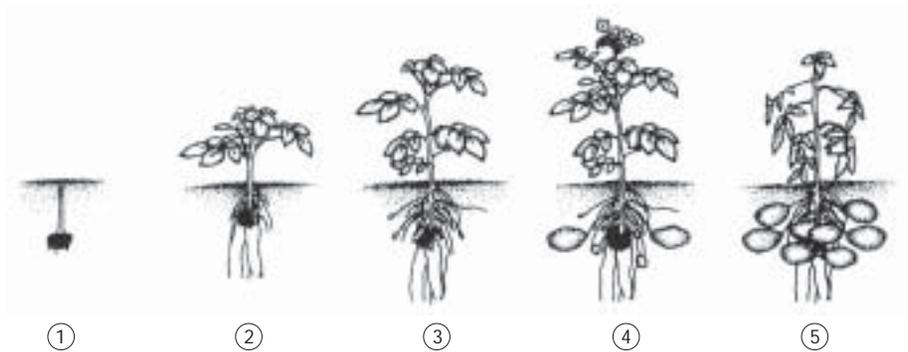
À parte à variação genética, deve-se atentar também para a variação ambiental. No caso da quantificação de doenças, o fator ambiental pode ser preponderante. Em programas de melhoramento, isso é ainda mais importante: dificilmente será encontrada resistência vertical em *P. edulis flavicarpa*. Assim, é fundamental que as comparações entre genótipos sejam feitas no maior número possível de condições ambientais e para isso se deve considerar não apenas as variações espaciais, mas também as sazonais.

## Importância da fenologia

Como visto em outro tópico, há forte conexão entre a quantificação de doenças e a fenologia da planta. Considerando que, segundo uma de suas definições, uma doença seria a consequência da interação entre patógeno e hospedeiro sob a influência do ambiente, como desconsiderar então as mudanças significativas por que passa uma planta desde sua emergência até sua fase reprodutiva? No âmbito do melhoramento, para informar corretamente a reação de uma população, não deveria a dupla melhorista-fitopatologista apontar o estágio exato em que as quantificações foram feitas? Como divulgar na sociedade, informações confiáveis sobre a resistência de seleções se não houver clareza quanto ao período da avaliação? Mais ainda, num país como o nosso onde o maracujá é cultivado em pelo menos 107 das 137 mesorregiões, como padronizar o período de avaliação? Certamente, em função de nossa diversidade climática, não é possível usar datas de calendário ou falar em estações do ano.

A padronização de uma escala fenológica pode ser a resposta. A fenologia é ainda mais importante se for levada em consideração a possibilidade de correlação entre quantificação de sintomas, danos à produção e estádios de crescimento das plantas. Caso um programa de melhoramento adotasse uma escala fenológica para o maracujá, certamente muitas discrepâncias desapareceriam. O diálogo entre parceiros de projeto seria facilitado e, o que é crucial, dados de diferentes regiões poderiam ser comparados. Em consulta à bibliografia disponível sobre passicultura, foi possível encontrar diversos textos que descrevem a biologia da planta, fatores que afetam seu crescimento, aspectos de sua reprodução, desenvolvimento de frutos. No entanto, parece que não houve preocupação ou necessidade de sistematizar esse conhecimento numa escala prática. Isso é espantoso quando se sabe que tal escala nada mais é que uma representação diagramática ou descritiva de fases da planta (Figura 5). Entretanto, por uma

questão de justiça é interessante ressaltar que Maciel et al. (1997a) elaboraram uma escala fenológica, mas apenas para a fase entre a pré-emergência e a expansão dos cotilédones. Produziram, ainda, muitas outras informações úteis (Maciel et al., 1997b) sobre as fases embriônica, juvenil, transicional ou lianescente e adulta de *P. edulis flavicarpa*. Essas informações, aliadas às da literatura nacional sobre o tema, serviram de base para a elaboração de uma proposta de escala fenológica para o maracujá apresentada aqui (Tabela 4). Essa escala, deverá ser aperfeiçoada. É muito provável, por exemplo, que, para trabalhos de melhoramento que visem resistência a doenças, seja necessária a criação de uma escala específica para a fase de desenvolvimento e crescimento dos frutos ou, como alternativa, o estabelecimento de estádios específicos para a fase reprodutiva. No entanto, uma característica que pode dificultar o processo é a produção contínua de flores no maracujá, o que leva a mesma planta a ter flores e frutos em diversos estádios de desenvolvimento.



**Figura 5.** Exemplo de escala fenológica para a batata, englobando desde a germinação até a fase reprodutiva da cultura.

Fonte: Bergamin Filho & Amorim (1996).

**Tabela 4.** Proposta de escala fenológica para a cultura do maracujá..

Fases*	Código para as subfases <sup>y</sup>	Descrição
Embrionária	E1	Pré-germinação
	E2	Formação da radícula
	E3	Emergência ou formação do “gancho”
	E4	Aparecimento das folhas cotiledonares
Juvenil	J1	Folhas cotiledonares completamente expandidas
	J2	Duas folhas definitivas
	J3	Seis folhas definitivas
	J4	Dez folhas definitivas
Transicional	T1	Emissão da primeira gavinha
	T2	Emissão da primeira folha trilobada
Adulta	A1	Emissão do primeiro botão floral
	A1a	Crescimento de ramos laterais
	A1b	Crescimento da cortina de produção

\* As fases foram estabelecidas e descritas por Maciel et al. (1997a, 1997b).

<sup>y</sup> Para a fase adulta, certamente será necessário criar uma escala específica para o crescimento e o desenvolvimento dos frutos.

Fonte: Maciel et al. (1997ab)

## Escolhas

Depois de trabalhados os conceitos básicos de patometria e sua relação com o melhoramento, é necessário que se façam alguns comentários sobre as escolhas referentes às doenças do maracujazeiro.

### Doenças foliares

As doenças foliares mais importantes do maracujazeiro são a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*), o crestamento bacteriano (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*), a cladosporiose (*Cladosporium*

*herbarum*) e a septoriose (*Septoria passiflorae*). Essas doenças causam manchas foliares, mas podem induzir desfolha e mesmo morte de ramos (Liberato & Costa, 2001; Santos Filho et al., 2004; Yamashiro, 1987).

A quantificação desse tipo de doença pode ser bem complexa, não pela avaliação em si, mas pela difícil definição sobre o que avaliar. Visto que vários tecidos são afetados pela doença, o melhorista deve ser bem criterioso em relação ao que é mais importante quantificar. A primeira decisão, é certo, deve estar relacionada ao objetivo do programa. Assim, a seleção de populações com maior resistência à desfolha ou menor severidade de sintomas foliares é suficiente para iniciar os trabalhos? Por sua vez, o objetivo é obter uma população com baixa proporção de plantas sintomáticas ou uma intensidade média de doença que seja baixa? Dependendo das respostas, pode-se optar por uma gama de medidas e métodos, sendo possível e até desejável, a combinação de estratégias conforme o estágio fenológico e o local da avaliação. No entanto, doenças que causam deformação nas folhas são mais difíceis de serem avaliadas por escalas diagramáticas. Outra ressalva é que doenças que se diferenciam pela severidade nos órgãos afetados têm sua quantificação seriamente prejudicada quando a opção se faz apenas por medidas de incidência. Enfim, a definição de como avaliar as doenças foliares do maracujá é complexa e deve levar em conta os aspectos abordados aqui, mas, em essência, deve ser uma decisão tomada preferencialmente por uma equipe multidisciplinar de cada programa de melhoramento.

## **Doenças que afetam o fruto**

Há três maneiras básicas para se quantificar esse tipo de moléstia: incidência de frutos afetados, severidade de sintomas e intensidade. O primeiro caso é mais adequado para doenças que causam podridões, ou seja, inutilizam o fruto. É óbvio, porém, que, em etapas intermediárias do melhoramento, pode ser necessária à seleção de genótipos que apresentem menor severidade da doença para efeito de detecção de possíveis fontes de resistência.

O segundo caso - avaliação da severidade - aplica-se de maneira mais consistente a doenças que não inutilizam a polpa do fruto, mas antes alteram sua aparência. Um bom exemplo desse caso é a cladosporiose (Liberato & Costa, 2001; Santos Filho et al., 2004; Yamashiro, 1987). Imaginemos a avaliação de dois genótipos de maracujá-amarelo: ambos com incidência média de 20% de frutos afetados. Iguais? E se um deles apresentasse apenas de uma a duas “verrugas” por fruto enquanto o outro tivesse frutos deformados pela doença? O terceiro caso, qual seja a avaliação da intensidade da doença pode ser aplicável quando a rapidez da avaliação é mais importante que um alto nível de acurácia.

## Doenças radiculares

Para doenças como a murcha de *Fusarium*, a podridão-do-pé e a podridão-do-colo, a única avaliação confiável e rápida é por meio da incidência de plantas doentes. Obviamente, é possível que algum dia sejam desenvolvidos métodos que permitam, por exemplo, quantificar a incidência de vasos danificados ou mesmo a extensão desse dano. No caso de toxinas produzidas por *Fusarium*, poder-se-ia delinear um método com base numa curva-resposta a níveis de toxina.

Entretanto, enquanto não houver alternativa, o uso da porcentagem de plantas afetadas continuará a ser usada. No entanto, é possível obter informações mais precisas apenas com esse tipo de dado, como se pode observar, por exemplo, nos resultados obtidos por Laranjeira et al. (2005) em que o autor quantificou a incidência da murcha de *Fusarium* em plantas de maracujá-amarelo enxertadas em quatro porta-enxertos (Figura 6). Nota-se que a incidência final é muito semelhante nos quatro tratamentos. Entretanto, foi possível submeter os dados à análise de sobrevivência (Figura 7). Essa análise comprovou estatisticamente que o porta-enxerto de maracujá-amarelo apresentou um perfil de sobrevivência diferente e pior do que o apresentado pelos outros três que não se distinguiram entre si. Caso os autores tivessem se baseado apenas na avaliação final da incidência, nenhuma informação seria obtida e, pior, os outros três porta-enxertos seriam considerados tão suscetíveis quanto o maracujá-amarelo.

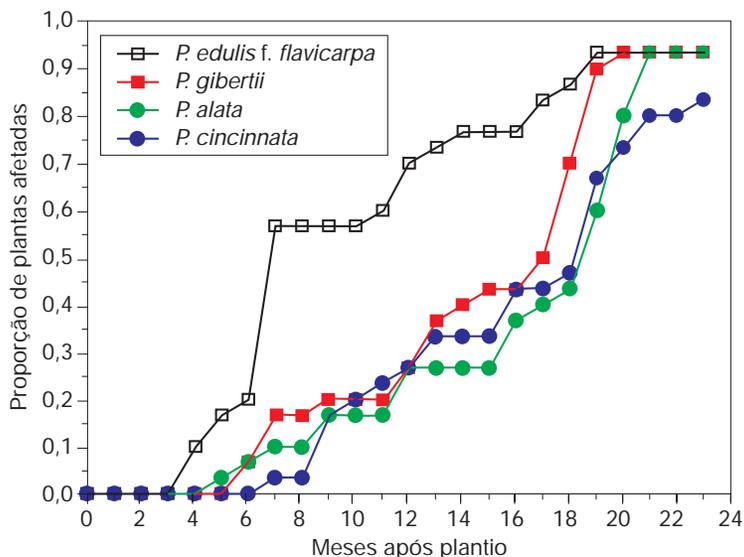


Figura 6. Progresso da murcha de *Fusarium* em plantas de maracujazeiro-amarelo enxertadas em quatro porta-enxertos do gênero *Passiflora*.

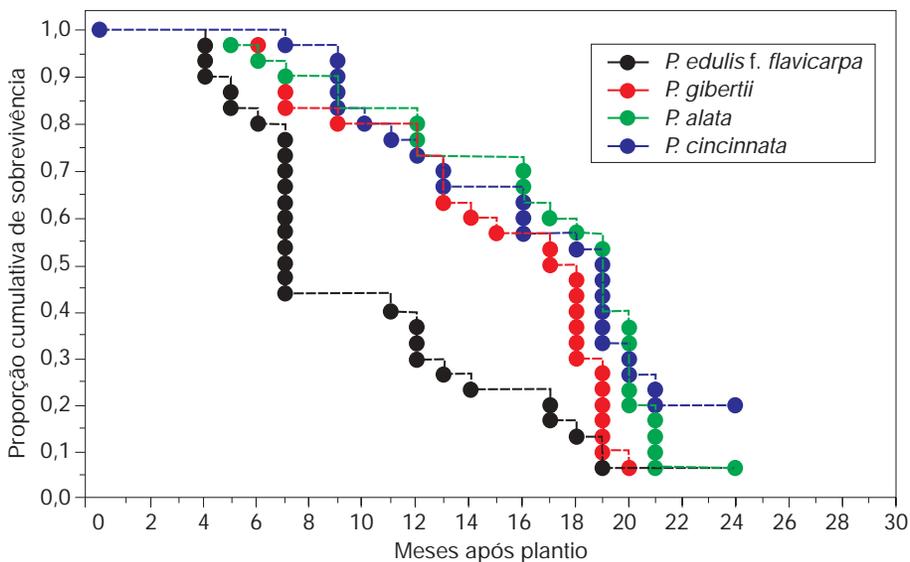


Figura 7. Perfil de sobrevivência em relação à murcha de *Fusarium*, de plantas de maracujazeiro-amarelo, enxertadas em quatro porta-enxertos do gênero *Passiflora*. *P. edulis flavicarpa* diferenciou-se dos outros três de acordo com o teste Gehan´s Wilcoxon ( $P < 0,002$ ).

## **Viroses**

As viroses mais importantes para o maracujá são o endurecimento dos frutos e a pinta verde, também conhecida como definhamento precoce. Em princípio, como afetam a planta como um todo, a escolha lógica é o uso da incidência. Da mesma forma que, para doenças radiculares, não cabe a quantificação da severidade ou da incidência em frutos. No entanto, é sempre importante ter em mente que o objetivo final de um programa de melhoramento direcionado à resistência a doenças é a obtenção de plantas cuja produção seja menos afetada pelas moléstias. Sendo assim, advoga-se, sempre que possível, não só a quantificação de sintomas, mas também a quantificação de danos à produção. Se assim for feito, talvez sejam encontradas populações que mesmo afetadas consigam alguma produção comercializável. Esse já seria um grande feito.

Outra possibilidade na avaliação de viroses é a quantificação de partículas virais por métodos indiretos como ELISA ou PCR. O uso da incidência acoplada com quantificação de danos e da densidade do patógeno pode ser bem eficiente na discriminação de genótipos.

## **Conclusões**

A pesquisa com doenças do maracujazeiro ainda é incipiente, em especial, aquela relacionada a programas de melhoramento. Entretanto, já existem informações suficientes, notadamente, as referentes à patometria, que permitem a execução de trabalhos relevantes. Para que isso ocorra, é preciso, porém, que os trabalhos estejam inseridos no contexto de um amplo programa de melhoramento. Estudos pontuais, fruto apenas do esforço de apaixonados pela passicultura, serão de pouca consequência para a solução dos problemas que se apresentam.

## Referências Bibliográficas

- BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Manejo de fitopatossistemas: conceitos básicos. In: BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Ceres, 1996. p.189-228.
- CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. Monitoring epidemics: disease. In: **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: J. Wiley & Sons, 1990. p. 107-128.
- CZERMAINSKI, A. B. C. Generalização de um índice de intensidade de infecção em experimentos de avaliação de doenças de plantas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 1545-1555, 1999.
- DO VALE, F. X. R.; JESUS Jr., W. C.; LIBERATO, J. R.; SOUZA, C. A. Quantificação de doenças e do crescimento do hospedeiro. In: DO VALE, F. X. R.; JESUS Jr., W. C.; ZAMBOLIM, L. (Ed). **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Perfil, 2004. p. 91-123.
- KRANZ, J. Measuring plant disease. In: KRANZ, J.; ROTEM, J. (Ed). **Experimental techniques in plant disease epidemiology**. Berlin: Springer-Verlag, 1988. p. 35-50.
- LARANJEIRA, F. F.; LIMA, A. A.; COSTA, M. M.; PFENNING, L. H. Progresso da fusariose do maracujá em porta-enxertos do gênero *Passiflora*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 146, 2005. Suplemento.
- LEDO, C. A. S.; LARANJEIRA, F. F. Tamanho ótimo de parcelas para experimentos em casa de vegetação com maracujazeiro amarelo. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 6., 2003, Campos dos Goytacazes. **Anais...** Campos dos Goytacazes: UENF, 2003. p. 92.
- LIBERATO, J. R.; COSTA, H. Doenças fúngicas, bacterianas e fitonematóides. In: BRUCKNER, C.H. (Ed). **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001. p. 243-276.
- MACIEL, N.; BAUTISTA, D.; AULAR, J. Growth and development of grenadilla plants I. Morphology during the first phases of the growth cycle. **Fruits**, v. 52, p. 11-17, 1997a.
- MACIEL, N.; BAUTISTA, D.; AULAR, J. Growth and development of grenadilla plants II. Qualitative architectural aspects. **Fruits**, v. 52, p. 93-97, 1997b.
- MIRANDA, J. F. **Reação de variedades de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) a bacteriose causada por *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae***. 2004. 48 f. Dissertação (Mestrado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2004.

SANTOS FILHO, H. P.; LARANJEIRA, F. F.; SANTOS, C. C. F.; BARBOSA, C. J. Doenças do maracujazeiro. In: LIMA, A. A.; CUNHA, M. A. P. (Ed). **Maracujá: produção e qualidade na passicultura**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 239-280.

YAMASHIRO, T. Principais doenças do maracujazeiro amarelo no Brasil. In: RUGGIERO, C. (Ed). **Cultura do maracujazeiro**. Ribeirão Preto: Legis Summa, 1987. p. 146-159.



Alegra e enriquece a paisagem pobre.  
Com densas ramagens forma sua teia,  
Ou vestindo fios onde serpenteia,  
Agarra, enrosca, abraça e encobre.

Contém no seu fruto o quinhão mais nobre.  
É dali que o comércio se desencadeia.  
Não há nenhuma parte que despreze ou sobre  
Deste fruto maduro cor de lua cheia.

Devolve aos ramos secos sua cor nativa,  
E ao solo as sementes para que reviva  
Num ciclo infinito em que renascerá.

É esse o destino do Maracujá;  
Remédio, ornamento e fruto *in natura*  
Para o bem de cada geração futura.

*Geovane Alves de Andrade*

# Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro - Desafios da pesquisa

---

Fábio Gelape Faleiro

Nilton Tadeu Vilela Junqueira

Marcelo Fideles Braga

José Ricardo Peixoto

## Introdução

O tema “Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro”, devido a sua importância estratégica atual e futura, foi escolhido para orientar as discussões durante a IV Reunião Técnica de Pesquisas em Maracujazeiro, realizada na Embrapa Cerrados, a qual culminou com a edição deste livro.

Pesquisas envolvendo prospecção, conservação, caracterização e uso do germoplasma de maracujazeiro são fundamentais para subsidiar a incorporação de novos materiais de maracujazeiro-azedo e doce com características agrônômicas de interesse em programas de melhoramento genético. São importantes, também, em sistemas de produção de mudas por enxertia objetivando a resistência a fungos de solo e à morte precoce. Tais pesquisas são igualmente essenciais para a diversificação do uso de maracujazeiro como, por exemplo, plantas ornamentais e medicinais.

Com o avanço das fronteiras agrícolas no Centro-Norte do Brasil (principal centro de distribuição geográfica do maracujá), os trabalhos visando à conservação de recursos genéticos tornaram-se estrategicamente importantes. Em relação ao melhoramento genético, novas variedades estão sendo desenvolvidas e serão incorporadas aos sistemas de produção do maracujá. Tal fato contribuirá para a efetiva

redução de perdas na lavoura, para racionalização do uso de insumos agrícolas e incremento da produtividade e, conseqüentemente, redução de custos de produção, garantindo maior competitividade e sustentabilidade da atividade agrícola, aumento de renda dos beneficiários diretos e da geração potencial de empregos. Nos últimos anos, com os avanços da biotecnologia moderna, novas ferramentas estão sendo desenvolvidas para tornar mais eficientes os programas de melhoramento e diminuir o tempo gasto no desenvolvimento de novas variedades. Tais ferramentas também merecem uma discussão com equipes multidisciplinares com vistas na utilização prática e aplicada delas.

Neste capítulo, são discutidos alguns aspectos relacionados ao germoplasma e ao melhoramento genético do maracujazeiro no Brasil que motivaram a apresentação do projeto em rede *Caracterização de germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro assistidos por marcadores moleculares* e a realização da IV Reunião Técnica de Pesquisas em Maracujazeiro.

## **Variabilidade genética, morfológica, agrônômica e molecular do maracujá**

Maracujá é uma denominação indígena, de origem tupi, que significa 'alimento em forma de cuia'. Os maracujás pertencem à família *Passifloraceae* e também são conhecidos como flor-da-paixão, nome popular pouco usual no Brasil que tem origem na correlação da morfologia da flor com os símbolos da Paixão de Cristo (Souza & Meletti, 1997). Tal correlação é explicada por Frei Vicente (Hoehne, 1937) referindo-se, inicialmente, aos três estiletos/estigmas que representam a Santíssima Trindade ou aos três cravos utilizados na crucificação de Jesus Cristo; os cinco filetes/estames representam as cinco chagas e a corona/verticilos, a coroa de espinhos de Jesus Cristo. As folhas, em forma de lança, também, segundo Frei Vicente, estão relacionadas à Paixão de Cristo.

As *Passifloraceae* estão largamente distribuídas pelos trópicos (Oliveira, 1987). Segundo Souza & Melleti (1997), há mais de 580 espécies, a maioria procedente da América tropical e, principalmente, do Brasil. Grande parte dos autores, incluindo Killip (1938) e Sacco (1980), considera que essa família é composta de 12 gêneros. Lopes (1994) cita que no Brasil são encontrados os gêneros *Dilkea* e *Passiflora*. Segundo Vanderplank (1996), a família *Passifloraceae* é formada por 630 espécies em 18 gêneros. Desses, o gênero *Passiflora* é o mais importante economicamente e o que apresenta maior número de espécies cujo maior centro de distribuição geográfica localiza-se no Centro-Norte do Brasil (Lopes, 1991). Estima-se que o gênero *Passiflora* seja composto de 465 espécies, das quais de 150 a 200 são originárias do Brasil e podem ser utilizadas como alimento, remédio e ornamento. Cerca de 70 espécies produzem frutos comestíveis (Cunha et al., 2002). Portanto, existe ampla variabilidade genética a ser conhecida, caracterizada, protegida, conservada e convenientemente utilizada comercialmente ou em programas de melhoramento genético.

Em relação à citogenética do maracujá, Snow (1993) menciona que 75 espécies foram estudadas, com o número de cromossomos  $2n=12, 14, 18, 20, 24, 27, 36$  e  $84$  sendo que os números básicos de cromossomos devem ser  $x=6$  e  $x=9$  no gênero *Passiflora*. Lopes (1994) também relata a existência de  $x=10$ , além dos citados acima. Beal (1975), em estudos da meiose de maracujá-amarelo e roxo, ambos com  $2n=18$ , indicou uma homologia próxima dos cromossomos das duas formas.

Quanto à variabilidade morfológica, o gênero *Passiflora* compreende plantas trepadeiras herbáceas ou lenhosas, podendo apresentar-se como ervas e arbustos de hastes cilíndricas ou quadrangulares, angulosas, suberizadas, glabras ou pilosas, sendo que as principais espécies fruteiras de *Passiflora* são diferenciadas morfológicamente com base nas características das hastes, número de pecíolos, glândulas peciolares, brácteas, sementes, além da morfologia foliar e dos frutos (Teixeira, 1994). Dentro da mesma espécie, diferenças na morfologia dos frutos como comprimento, diâmetro, peso da polpa, semente, casca do próprio fruto,

espessura da casca e °Brix são comuns, a exemplo das verificadas por Ferreira et al. (1976) em *P. edulis* f. *flavicarpa* e Meletti et al. (2003) e Martins et al. (2003) em *P. alata*. Cunha & Rocha (1997) têm utilizado várias características para diferenciar acessos do banco ativo de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical: vigor vegetativo, produtividade, época de florescimento, horário de abertura das flores, coloração e tamanho das flores, número de frutos por planta, peso médio de 100 frutos, tamanho dos frutos, diâmetro mediano do fruto, coloração externa e interna do fruto maduro, número de sementes por fruto maduro, espessura de casca, cor do suco, teor de sólidos solúveis totais (°Brix), acidez titulável, rendimento em suco, ocorrência de insetos-praga e inimigos naturais, avaliação visual de doenças, ocorrência de morte precoce, viabilidade de pólen e avaliação do grau de incompatibilidade. Diversas outras características das folhas, flor e fruto são também utilizadas como fatores da correta identificação dos acessos existentes no banco de germoplasma.

Muitas das espécies de *Passiflora* são cultivadas pelas propriedades alimentícias, ornamentais e medicinais, mas, principalmente, pela qualidade de seus frutos (Souza & Meletti, 1997; Tocchini et al., 1994). Os frutos, além de consumidos in natura, são usados para fazer sucos, doces, refrescos, sorvetes. O valor ornamental é conferido pelas belas flores que a planta produz que exercem atração pelo seu tamanho, pela exuberância de suas cores e pela originalidade de suas formas. O uso medicinal, bastante difundido, baseia-se nas propriedades calmantes, sendo um sedativo natural encontrado nos frutos e nas folhas (Souza & Meletti, 1997), nas propriedades como vermífugo e febrífugo e também nos efeitos diuréticos, antituberculose, hipnóticos e abortivos para o gado (Oliveira, 1987).

No Brasil, as espécies com maior expressão comercial são a *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (maracujá-amarelo ou azedo), a *Passiflora edulis* (maracujá-roxo) e a *Passiflora alata* (maracujá-doce) (Souza & Meletti, 1997). O maracujá-azedo é o mais conhecido, cultivado e comercializado devido à qualidade de seus frutos e ao seu maior rendimento industrial. O maracujá-roxo é muito apreciado na Austrália e na

África do Sul, sendo usado para fazer suco ou consumido como fruta fresca. O maracujá-doce tem sua produção e comercialização limitada pela falta de hábito de consumo e pelo desconhecimento pela maioria da população. Ao contrário do maracujá-azedo, o maracujá-doce é consumido exclusivamente como fruta fresca (Souza & Melleti, 1997).

O cultivo do maracujazeiro em escala comercial teve início no começo da década de 1970, com o maracujá-azedo. Atualmente, segundo Lima (2001), o agronegócio do maracujá no Brasil gera R\$ 500 milhões, emprega 250.000 pessoas e pode gerar de 5 a 6 empregos diretos e indiretos por hectare, durante dois anos, com apenas R\$ 12.000,00 de investimentos, fazendo com que tal cultura seja excelente alternativa para a agricultura familiar. Em 2000, a espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* ocupava, no Brasil, área de aproximadamente 33.400 ha com uma produção de 330,8 mil toneladas e produtividade de 9,9 t/ha (Frutiséries, 2002).

Apesar da grande importância econômica do maracujá atual e potencial, é incipiente o número de cultivares comerciais lançado no mercado com características definidas e garantia de origem. Os plantios comerciais têm-se limitado simplesmente ao emprego de sementes botânicas do maracujá-azedo, do maracujá-roxo e do maracujá-doce. No caso do maracujá-azedo, algumas variedades botânicas como Gigante Amarelo, Redondão, Moranga, Vermelho, Marília Longo, Marília Seleção Cerrado, IAC 277, IAC 275 têm sido avaliadas para a produtividade e resistência a doenças. Estudos preliminares têm mostrado que existe pouca variabilidade genética entre as cultivares atuais para a resistência a doenças (Junqueira et al., 2003; Nascimento, 2003). Estudos de genótipos de maracujazeiro-azedo, cultivados no Rio de Janeiro, baseados em características morfoagronômicas e marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), também não mostraram expressiva variabilidade genética (Pio Viana et al., 2002a, 2002b; Pio Viana et al., 2003).

Por sua vez, espécies silvestres do gênero *Passiflora* (*P. laurifolia*, *P. nitida*, *P. tenuifolia*, *P. mucronata*, *P. giberti*, *P. amethystina*, *P. quadrangularis*, *P. setacea*, *P. coccinea*, *P. caerulea*, entre outras) têm apresentado, com base

em estudos preliminares, variabilidade para resistência às principais doenças do maracujazeiro (Cunha et al., 2002; Santos Filho & Junqueira, 2003) e também variabilidade ao nível do DNA (Vieira et al., 1997; Angel et al., 1998; Cassiano et al., 1998; Crochemore, 2002; Pio Viana et al., 2003; Faleiro et al., 2004a, 2005a). Várias dessas espécies têm sido citadas como potenciais fontes de resistência que podem contribuir para o controle de doenças causadas por fungos (Santos Filho & Santos, 2003) por bactérias (Seixas, 1989, Santos & Santos Filho, 2003) e por alguns vírus (Rezende, 1994). Além disso, tais espécies também poderiam ser testadas como porta-enxertos visando à resistência a fungos de solo e à morte precoce, considerando que existe um potencial já referenciado na literatura (Maldonado, 1991; Junqueira et al., 2002; Santos Filho & Santos, 2003). Esses resultados mostram que tais espécies apresentam grande potencial, entretanto, estudos básicos e essenciais de caracterização agrônômica e molecular de tais espécies praticamente não existem.

A caracterização e a exploração da variabilidade genética entre as espécies de *Passiflora* e, também, dentro da espécie cultivada (*P. edulis* f. *flavicarpa*) podem revelar fontes de resistência ou tolerância de grande valor para o controle dessas doenças no campo ou utilização em programas de melhoramento genético. Além das espécies silvestres, o uso de variedades comerciais em programas de melhoramento é necessário com a finalidade de fornecer genes relacionados à produtividade e à qualidade dos frutos. Segundo Meletti et al. (1992), Souza & Meletti (1997) citado por Oliveira & Ruggiero (1998) é possível e recomendável utilizar a variabilidade genética natural da espécie comercial *P. edulis* f. *flavicarpa* em programas de melhoramento genético, com significativos ganhos. Tal variabilidade já foi observada por Landgraf (1978), Oliveira (1980), Maluf et al. (1989), entre outros. Estudos mais aprofundados de caracterização agrônômica e molecular de variedades comerciais de maracujá são necessários e de grande interesse para o melhoramento genético, orientando a escolha de genitores e o planejamento dos cruzamentos. Segundo Cunha (1998a), estudos acurados e detalhados da variabilidade genética do maracujazeiro poderão indicar

recursos genéticos valiosos sejam novas espécies nos sistemas de produção como opções adicionais aos maracujazeiros azedo e doce, sejam genes de espécies silvestres ou selvagens úteis ao melhoramento das atuais espécies cultivadas. Nesse sentido, esse mesmo autor aponta que tais estudos são prioritários para as pesquisas com o maracujá.

## Germoplasma de *Passiflora* no Brasil

O Brasil é um dos mais importantes centros de diversidade do maracujá, pois muitas espécies selvagens de *Passiflora* são nativas, notadamente, no Centro-Norte do País (Ferreira, 1994). Estima-se que mais de 200 espécies de *Passiflora* sejam nativas do Brasil (Oliveira et al., 1988). Além desse número expressivo de espécies, deve-se enfatizar que, em geral, existe material ainda não descrito que provavelmente constitua espécie nova (Ferreira, 1994). Afora essa ampla variabilidade interespecífica, há de se destacar que, na espécie cultivada *P. edulis*, existe também variabilidade, tendo em vista que é uma espécie alógama e apresenta auto-incompatibilidade (Ruggiero et al., 1975) e compatibilidade interespecífica (Lopes, 1991), notadamente, aquelas espécies compatíveis com as cultivadas, com  $2n=18$  (Ferreira, 1998).

Segundo Ferreira (1994), o Sistema Nacional de Recursos Genéticos conta com dois componentes básicos: a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e os Bancos Ativos de Germoplasma, espalhados por todo território brasileiro, a exemplo dos bancos da UNESP/FCAVJ, em Jaboticabal, SP, da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, em Cruz das Almas, BA. Cunha (1998b) relata os atuais acessos disponíveis no banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Além desses dois bancos, têm-se, no Brasil, outras coleções ativas ou coleções de trabalho de *Passiflora*, mantidas por diversas instituições, tais como: EBDA e UESB na Bahia, IAPAR no Paraná, IAC e ESALQ em São Paulo, Embrapa Cerrados e UnB no Distrito Federal.

Apesar da grande variabilidade genética natural do maracujá, a preocupação em preservá-la não tem sido expressiva, em âmbito nacional e mundial, visto que o material mantido em coleções é modesto (Souza & Meletti, 1997). Em levantamento realizado pelo *International Board for Plant Genetic Resources* (IBPGR), foi verificado que apenas 15 países mantêm coleções de germoplasma de *Passiflora* (Gulick & Van Sloten, 1984), sendo o número de acessos inferior a quatrocentos (Souza & Meletti, 1997). Ferreira (1998) registrou os acessos dos principais bancos de germoplasma de maracujá no mundo. No Brasil, ainda existe preocupação com a ampliação de novas áreas do Centro-Norte para fins agrícolas, o que implica a eliminação de espécies selvagens e o desaparecimento de muitos genótipos que poderiam ser empregados, por exemplo, no melhoramento genético do maracujá-azedo. Para minimizar o problema, é importante a criação, ampliação e manutenção de maior número de bancos de germoplasma. Além disso, são necessários trabalhos minuciosos de caracterização morfológica, agrônômica, citogenética e molecular de todos os acessos. Com esses trabalhos, estaria garantida sua utilização prática em cultivos comerciais, em programas de melhoramento genético, como porta-enxertos, em intercâmbio de germoplasma, bem como o uso de princípios ativos, moléculas e genes desse valioso patrimônio genético.

Segundo Ferreira (1994), não obstante a importância da cultura do maracujá para o Brasil, nota-se uma carência de pesquisa, notadamente nas áreas básicas, em relação a germoplasma e taxonomia. Tais estudos são fundamentais para a utilização da variabilidade genética em programas de melhoramento e para subsidiar uma futura e estratégica relação de intercâmbio de germoplasma em nível mundial, uma vez que a demanda desse material tem sido cada vez maior. Infelizmente, por questões políticas e fitossanitárias, esse intercâmbio está cada vez mais restrito, continuando a ser o material existente na natureza a maior fonte de germoplasma, no momento atual (Ferreira, 1998). Segundo Cunha (1998a, 1998b, 1998c), expandir a variabilidade genética existente nas coleções, caracterizar e avaliar o germoplasma e utilizá-los em programas de melhoramento são prioridades da pesquisa relacionada a recursos genéticos do maracujá.

## Utilização do germoplasma de *Passiflora* em programas de melhoramento genético e como porta-enxerto visando à resistência a doenças

O maracujazeiro-azedo é atacado por várias doenças causadas por fungos, bactérias e por vírus e similares, afetando o sistema radicular e a parte aérea (Santos Filho & Junqueira, 2003). Entre elas, destaca-se a morte precoce do maracujazeiro (agente causal não identificado), virose do endurecimento do fruto (PWV), bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*) fusariose (*Fusarium oxysporum* f.sp. *passiflorae*), antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) e verrugose (*Cladosporium* spp.) (Ruggiero et al., 1996).

Nas revisões de literatura, feitas por Oliveira et al. (1994) e Oliveira & Ruggiero (1998), são citados vários usos do germoplasma de *Passiflora* como potenciais fontes de resistência a doenças em programas de melhoramento genético ou como porta-enxertos. Purss (1958) verificou que algumas espécies de *Passiflora* (*P. aurantia*, *P. incarnata*, *P. suberosa*, *P. herbetiana*, *P. edulis*) foram resistentes à fusariose. Oliveira et al. (1984) estudaram a sobrevivência de plantas de *P. edulis*, enxertadas em *P. giberti*, em área com histórico de ocorrência de morte precoce, e observaram uma porcentagem de sobrevivência de mais de 93% das plantas enxertadas e menos de 5% das plantas de pé-franco. Seixas et al. (1988), utilizando *P. macrocarpa* como porta-enxerto, observaram uma porcentagem de sobrevivência de 44% das plantas enxertadas e 0% das plantas de pé-franco após dois anos e meio de cultivo em área com histórico de morte precoce e presença de nematóides. Yamashiro & Landgraff (1979) verificaram a resistência das espécies *P. alata*, *P. macrocarpa* e *P. quadrangularis* à fusariose e recomendaram-nas como porta-enxerto do maracujazeiro-azedo. Oliveira & Ruggiero (1998) citaram o potencial das espécies *P. alata*, *P. nitida*, *P. macrocarpa*, *P. setacea*, *P. giberti*, *P. laurifolia* e *P. suberosa* como fontes de resistência a doenças em porta-enxerto do maracujá-azedo ou em programas de melhoramento genético. Esses mesmos autores citam as espécies *P. giberti*, *P. maliformis*, *P. cincinnata*, *P.*

*laurifolia*, *P. caerulea* e *P. setacea* como promissoras fontes de resistência à bacteriose e as espécies *P. edulis*, *P. laurifolia*, *P. setacea*, *P. giberti* e *alata* à verrugose. Oliveira et al. (1994) mostraram, com base em inoculações controladas, a imunidade da espécie *P. nitida* à antracnose. Em relação ao PWV, segundo Leão (2001), não há relatos de fontes de imunidade em plantas do gênero *Passiflora*, embora diferentes níveis de resistência tenham sido verificados mesmo dentro da espécie *P. edulis* f. *flavicarpa*.

Para que toda essa variabilidade genética para resistência a doenças seja aproveitada em programas de melhoramento, torna-se necessária a realização de hibridações intra-específicas ou o uso da biotecnologia moderna na obtenção de híbridos somáticos ou na utilização da tecnologia do DNA recombinante e engenharia genética.

Oliveira & Ferreira (1991) obtiveram muitos híbridos interespecíficos. Priolli (1991) caracterizou plantas oriundas de cruzamentos entre *P. edulis* e *Passiflora* sp.; de *P. edulis* e *P. giberti*. Relatos preliminares mostraram progresso na transferência de resistência a nematóides de *P. edulis* para *P. coccinea*. Por sua vez, Oliveira & Ruggiero (1998) relataram alguns problemas com os híbridos interespecíficos, como a suscetibilidade à doença, falta de adaptação, baixo vigor, macho esterilidade, produção de pólen inviável, entre outros. Por exemplo, o híbrido *P. edulis* vs. *P. giberti* apresentou macho esterilidade, com reduzida produção de pólen viável; o híbrido *P. edulis* vs. *P. alata* permitiu a obtenção de plantas F<sub>2</sub>, entretanto, os descendentes apresentaram alta suscetibilidade a doenças da parte aérea e o híbrido *P. edulis* vs. *P. setacea* permitiu a obtenção de plantas F<sub>2</sub> e RC<sub>1</sub>, embora tais plantas apresentassem problemas de suscetibilidade à morte precoce e macho esterilidade. No programa de melhoramento genético do maracujazeiro realizado na Embrapa Cerrados, híbridos interespecíficos de *P. edulis* f. *flavicarpa* com *P. setacea*, *P. coccinea* e *P. caerulea* têm sido obtidos com sucesso e confirmados com base em marcadores moleculares (Faleiro et al., 2005b).

Em relação ao uso da biotecnologia moderna na obtenção de híbridos somáticos, vários autores têm obtido sucesso utilizando as

espécies *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. incarnata*, *P. alta*, *P. amethystina*, *P. cincinnata*, *P. gilberti* e *P. coccinea* (Otoni et al., 1995; Dornelas & Vieira, 1993; Dornelas et al., 1995; Barbosa & Vieira, 1997; Barbosa, 1998). A hibridação somática, via fusão de protoplastos, representa alternativa de transferência de genes presentes em espécies selvagens para a espécie cultivada. Técnicas de cultura de tecidos e de protoplastos de várias espécies de *Passiflora* foram estabelecidas por pesquisadores da ESALQ. Híbridos somáticos, envolvendo a espécie cultivada e espécies selvagens de *Passiflora*, devido à sua natureza tetraplóide prestam-se, em princípio, como porta-enxertos, uma vez que seus caules são mais vigorosos do que o parental selvagem resistente. A obtenção desses híbridos é laboriosa, sendo evidente a necessidade de avaliar seu potencial agrônomo em programas de melhoramento do maracujazeiro, visando à resistência a doenças. O pareamento homeólogo e a ocorrência de recombinação são essenciais para a introdução de genes de espécies selvagens para a espécie domesticada. Em relação à engenharia genética, grupos de pesquisa da ESALQ e da UFV têm trabalhado na obtenção de plantas transgênicas para resistência à bacteriose e resistência a PWV. Sendo o maracujá uma cultura em franca expansão, muito pouco estudada e com ampla base genética a ser explorada, é possível que muito ainda deva ser feito em estudos básicos e melhoramento genético convencional com boas perspectivas de ganhos genéticos.

Segundo Oliveira & Ruggiero (1998), estudos detalhados de biologia floral e cruzamentos controlados precisam ser realizados para incorporar genes favoráveis de espécies silvestres nas espécies *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. alata*. Souza & Pereira (2000) e Souza et al. (2002) estudaram o desenvolvimento do grão de pólen e do saco embrionário de *P. edulis* f. *flavicarpa* distinguindo com mais detalhes todos os estágios do processo de formação dos gametas. Segundo Akamine & Girolami (1959), a abertura da flor ocorre de meio-dia até à noite no maracujá-amarelo, e a polinização é feita, em especial, por insetos, sendo a mamangava o principal agente polinizador. Segundo Vallini et al. (1976), o maracujá-amarelo é uma planta de dia longo, necessitando de fotoperíodos superiores a 11 horas para o florescimento. Segundo Akamine & Girolami (1959), um mínimo de 190 grãos

de pólen é necessário para efetivar a polinização com a formação de frutos, sendo de dois a sete grãos de pólen para cada semente formada. Segundo esses autores, a melhor hora para a polinização, é quando o estilete curva-se totalmente, após a antese. De acordo com a curvatura do estilete, Ruggiero et al. (1976) verificaram que ocorrem três tipos de flor no maracujá-amarelo: de estiletes totalmente curvos, parcialmente curvos e sem curvatura. Segundo esses autores, as flores com estiletes sem curvatura não frutificam devido à inviabilidade dos óvulos, contudo, apresentam pólen viável quando transferido para os outros tipos de flor.

A auto-incompatibilidade também é uma característica importante da biologia floral encontrada em maracujazeiro-amarelo (Knight Júnior & Winters, 1962; Akamine & Girolami, 1959). Tal característica tem implicações importantes nas metodologias de melhoramento genético (Allard, 1966) por induzir a alogamia e o alto grau de heterozigose, além de ter influências na compatibilidade entre cruzamentos. Por sua vez, Payan & Martin (1975) não consideraram a auto-incompatibilidade uma barreira em cruzamentos interespecíficos, sendo a falta de estímulo hormonal o principal obstáculo à hibridação. Segundo eles, a aplicação de substâncias promotoras de crescimento no ovário possibilitou a produção normal de frutos, o mesmo sendo conseguido pela polinização dupla, na qual dois estigmas são polinizados por outra espécie e o terceiro por uma planta compatível da mesma espécie. Bruckner (1994) demonstrou que a auto-incompatibilidade em maracujazeiro é do tipo homomórfica e esporofítica, de herança monofatorial e que é possível a autofecundação quando as flores estão na pré-antese.

Oliveira & Ruggiero (1998) relatam que a transferência de resistência de *P. setacea* para *P. edulis* é a mais promissora, embora estudos devam ser feitos para contornar a macho esterilidade dos descendentes híbridos e as dificuldades das metodologias de avaliação da resistência genética. Estudos detalhados de caracterização da genética da resistência em espécies cultivadas e silvestres são essenciais para subsidiar a utilização do germoplasma de *Passiflora* em programas de melhoramento genético e como porta-enxerto visando à resistência a doenças.

## **O melhoramento genético do maracujazeiro**

A introdução de plantas, métodos de seleção massal, entre e dentro de famílias de meios-irmãos e irmãos completos, seleção recorrente e a seleção clonal mostraram a eficiência, principalmente, para o aumento da produtividade (Oliveira, 1980; Maluf et al., 1989; Cunha et al., 1997a, 1997b; Meletti et al., 2000). Segundo Cunha (1996, 1998a), tais estudos precisam ser conduzidos de forma sistematizada, embora reconheça a escassez de recursos não só financeiros, mas também humanos, com poucos se dedicando integralmente ao maracujá. Segundo esse autor, cruzamentos podem ser realizados entre plantas irmãs, retrocruzamentos e autopolinização, não havendo problemas em relação à técnica de hibridação e utilização da heterose em maracujá, devendo-se levar adiante programas de hibridação como prioridade.

Nos últimos anos, tem-se observado redução na produtividade do maracujazeiro (Frutiséries, 2002), o que se deve, principalmente, à ocorrência de doenças nessa cultura, as quais depreciam a qualidade do fruto, diminuindo seu valor comercial e reduzindo a produtividade e a longevidade da cultura. Oliveira et al. (1994) comentam que, em algumas regiões, a cultura tem-se comportado como nômade, ou seja, tem um período curto de vida, de 1 a 2 anos; em outros, a vida útil tem sido de 3 a 5 anos e explicam que, em local indene, onde a cultura nunca foi comercialmente cultivada, em geral, inexistem problemas graves, mas à medida que a população de maracujazeiros cresce, crescem também os problemas fitossanitários, principalmente, com as doenças, reduzindo drasticamente a vida útil da lavoura.

Para atenuar o problema, produtores vêm aplicando fungicidas e antibióticos, o que onera os custos de produção e diminui a qualidade mercadológica devido à presença de resíduos de agroquímicos em frutos, além de afetar o meio ambiente com resíduos de agroquímicos no solo, no ar e na água e colocar em risco a saúde dos trabalhadores rurais e consumidores. A intensificação do uso de defensivos agrícolas tem onerado

de tal forma a produção que, juntamente com a redução da longevidade da lavoura, tem tornado o cultivo do maracujá economicamente inviável.

O uso de cultivares resistentes, bem como o de outras técnicas de manejo integrado tem sido a medida mais eficaz, econômica e ecológica de controle de doenças. O desenvolvimento de variedades resistentes a doenças é básico para todas culturas agrícolas visando: minorar custos de produção, garantir a segurança de trabalhadores agrícolas e de consumidores e a qualidade mercadológica, a preservação do ambiente e a sustentabilidade do agronegócio (Quirino, 1998). No caso do maracujá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*), tal estratégia é ainda mais necessária considerando a alta suscetibilidade das atuais cultivares à virose do endurecimento dos frutos (PWV), antracnose, septoriose, verrugose e bacteriose (Junqueira et al., 2003).

As hibridações intra e interespecíficas têm sido relatadas com resultados promissores por Oliveira (1980), Oliveira et al. (1994), Vanderplank (1996) e por vários autores citados neste projeto, sendo que híbridos têm sido produzidos na natureza e pela intervenção do homem. Espécies silvestres de maracujá nativas e espontâneas no Centro-Norte brasileiro são alternativas para a ampliação da base genética da resistência, entretanto, trabalhos de melhoramento genético são necessários para combinar a resistência com características de produtividade e qualidade de frutos. Métodos de melhoramento, baseados em hibridações interespecíficas, têm sido citados como promissores, embora possam existir alguns problemas dos híbridos F1 relacionados a macho esterilidade, viabilidade de pólen, falta de adaptação e suscetibilidade às doenças de parte aérea (Oliveira & Ruggiero, 1998). O método do retrocruzamento tem sido muito utilizado para incorporação de genes de resistência em variedades comerciais.

Marcadores moleculares do DNA têm sido empregados como ferramenta auxiliar nas diferentes etapas do melhoramento genético, desde a caracterização do germoplasma até as etapas finais de seleção de plantas melhoradas (Ferreira & Grattapaglia, 1997). No caso do método dos retrocruzamentos, os marcadores moleculares do DNA apresentam aplicação adicional para acelerar a recuperação do genoma recorrente por meio da

metodologia de genótipos gráficos (Young & Tanksley, 1989). O potencial dessa metodologia foi levantado por Openshaw et al. (1994) e vem sendo utilizada com sucesso no melhoramento genético do feijoeiro (Faleiro et al., 2004b; Souza et al., 2003) e do maracujazeiro (Faleiro et al., 2004c) visando à resistência a múltiplas doenças. A redução do tempo necessário para a recuperação do genoma recorrente é feita diminuindo o número de retrocruzamentos de oito ou nove para três ou quatro.

Considerando que o maracujá é uma cultura em franca expansão, pouco estudada e ainda em fase de domesticação, trabalhos de melhoramento genético são cada vez mais necessários com a finalidade de equacionar problemas como baixa produtividade, falta de adaptação a certos ecossistemas, não-atendimento a exigências do consumidor e indústria e principalmente suscetibilidade a várias doenças. Logicamente, cada região produtora deve desenvolver suas variedades de maracujá-azedo e doce que atendam as exigências de toda cadeia produtiva e que permitam que tal atividade seja desenvolvida de forma econômica, sustentável e com menor impacto ao meio ambiente.

## **Considerações Finais**

Programas de conservação, caracterização e uso de germoplasma de maracujazeiro são cada vez mais importantes e estratégicos, considerando que o Centro-Norte do Brasil é o maior centro de distribuição geográfica, que a base genética do maracujazeiro-doce e do azedo deve ser ampliada e que existe potencial pouco explorado de utilização do maracujazeiro como planta ornamental e medicinal. Programas de melhoramento genético também são estratégicos uma vez que o maracujazeiro é uma cultura em franca expansão com problemas agrônômicos que podem ser equacionados por tais programas. Nesse sentido, as demandas de pesquisas são inúmeras e somente poderão ser atendidas com o esforço conjunto da iniciativa pública e privada e com a formação de redes de pesquisa interinstitucionais e multidisciplinares que garantam a continuidade da pesquisa e sua atuação nas diferentes fases dos programas de conservação e uso de germoplasma e de melhoramento genético do maracujazeiro.

## Referências Bibliográficas

- AKAMINE, E. K.; GIROLAMI, G. **Pollination and fruit set in the yellow passion fruit.** Havai: University of Hawaii, 1959. 44 p. (University Hawaii. Technical Bulletin, 39).
- ALLARD, R. W. **Principles of plant breeding.** New York: J. Wiley, 1966. 485 p.
- ANGEL, F. O.; FAJARDO, D.; GRUM, M.; TOHME, J.; LOBO, M. Genetic variation analysis of the genus *Passiflora* L. using RAPD markers **Euphytica**, v. 101, p. 341-347, 1998.
- CASSIANO, A. P. A. A.; LEMOS, E. G. M.; OLIVEIRA, J. C. Avaliação de espécies de *Passiflora* através de marcadores RAPD. **Genetics and Molecular Biology**, v. 21, p. 214, 1998. Suplemento.
- BARBOSA, L. V. **Citologia de híbridos somáticos de *Passiflora* spp obtidos por fusão de protoplastos.** 1998. 97 f. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1998.
- BARBOSA, L. V.; VIEIRA, M. L. C. Meiotic behavior of passion fruit somatic hybrids, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener + *P. amethystina* Mikan. **Euphytica**, v. 98, p. 121-127, 1997.
- BEAL, P. R. Hybridization of *Passiflora edulis* Sims and *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 32, n. 1, p. 101-111, 1975.
- BRUCKNER, C. H. **Auto-incompatibilidade no maracujá (*Passiflora edulis* Sims).** 1994. 85 f. Tese (Doutorado)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1994.
- CROCHEMORE, M. L. Diversidade genética do maracujazeiro (*Passiflora* spp.). In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO, 3., 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 2002. p. 69-74.
- CUNHA, M. A. P. da. Melhoramento genético vegetal no Nordeste: grandes linhas e estratégias de atuação. In: ENCONTRO DE GENÉTICA DO NORDESTE, 13., 1998, Feira de Santana. **Anais...** Feira de Santana: SBG/UEFS, 1998c. p. 232-258.
- CUNHA, M. A. P. da. Prioridades de pesquisa por subárea e objetivo. In: REUNIÃO TÉCNICA PESQUISA EM MARACUJAZEIRO NO BRASIL, 1., 1997, Cruz das Almas. [**Anais...**] Cruz das Almas: EMBRAPA/CNPMPF, 1998a. p. 11-14. (EMBRAPA-CNPMPF. Documentos, 77).
- CUNHA, M. A. P. da. **Seleção para produtividade em populações de maracujazeiro. I. Seleção massal estratificada modificada.** Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMPF, 1997a. 4 p. (EMBRAPA-CNPMPF. Comunicado Técnico, 48).

CUNHA, M. A. P. da. **Seleção para produtividade em populações de maracujazeiro. II. Seleção entre e dentro de famílias de meios-irmãos modificada.** Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMPF, 1997b. 4 p. (EMBRAPA-CNPMPF. Comunicado Técnico, 49).

CUNHA, M. A. P. da. Banco ativo de germoplasma de maracujá. In: REUNIÃO TÉCNICA PESQUISA EM MARACUJAZEIRO NO BRASIL, 1., 1997, Cruz das Almas. [Anais...] Cruz das Almas: EMBRAPA/CNPMPF, 1998b. p. 15-23. (EMBRAPA-CNPMPF. Documentos, 77).

CUNHA, M. A. P. da. Recursos genéticos e modificações em métodos de seleção para produtividade em maracujá. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 18, n. 3, p. 413-423, 1996.

CUNHA, M. A. P. da; ROCHA, E. S. **Banco ativo de germoplasma de maracujazeiro da Embrapa Mandioca e Fruticultura.** Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMPF, 1997. 4 p. (EMBRAPA-CNPMPF. Pesquisa em Andamento, 46).

CUNHA, M. A. P.; BARBOSA, L. V.; JUNQUEIRA, N. T. V. Espécies de maracujazeiro. In: LIMA, A. A. (Ed.). **Maracujá Produção: aspectos técnicos.** Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 104 p. (Embrapa Informação Tecnológica. Frutas do Brasil; 15).

DORNELAS, M. C.; TAVARES, F. C. A.; OLIVEIRA, J. C.; VIEIRA, M. L. C. Plant regeneration form protoplast fusion in *Passiflora* spp. **Plant Cell Reports**, v. 15, p. 106-110, 1995.

DORNELAS, M. C.; VIEIRA, M. L. C. Plant regeneration from protoplast cultures of *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Deg., *P. amethystina* Mikan. and *P. cincinnata* Mast. **Plant Cell Reports**, v. 13, p. 103-106, 1993.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BELLON, G.; BORGES, T. A.; ANJOS, J. R. N.; PEIXOTO, J. R.; BRAGA, M. F.; SANTOS, D. G. Diversidade genética de espécies silvestres de maracujazeiro com resistência múltipla a doenças com base em marcadores RAPD. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. S325, 2004a. Suplemento.

FALEIRO, F. G.; RAGAGNIN, V. A.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Use of molecular markers to accelerate the breeding of common bean lines resistant to rust and anthracnose. **Euphytica**, v. 138, p. 213-218, 2004b.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BELLON, G.; KRALH, L. L.; ANJOS, J. R. N.; PEIXOTO, J. R.; BRAGA, M. F.; REZENDE, A. M. Utilização de marcadores moleculares em retrocruzamentos visando a resistência do maracujazeiro-azedo a múltiplas doenças. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. S325, 2004c. Suplemento.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; BELLON, G.; LAGE, D. A. C.; FERREIRA, U. O. C.; SANTOS, J. B. Caracterização molecular e morfológica da espécie *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* silvestre no cerrado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 3., 2005, Gramado. **Anais...** Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2005a. 1 CD-ROM.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; BELLON, G.; PEIXOTO, J. R.; BARROS, A. M.; BORGES, T. A.; ALMEIDA, D. A.; COSTA, B. Obtenção de populações de retrocruzamentos e confirmação da fecundação cruzada no maracujazeiro com base em marcadores moleculares. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 3., 2005, Gramado. **Anais...** Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2005b. 1 CD-ROM.

FERREIRA, F. R. Germoplasma de maracujá. In: REUNIÃO TÉCNICA PESQUISA EM MARACUJAZEIRO NO BRASIL, 1., 1997, Cruz das Almas. [**Anais...**] Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMPF, 1998. p. 48-53. (EMBRAPA-CNPMPF. Documentos, 77).

FERREIRA, F. R. Germoplasma de *Passiflora* no Brasil. In: SÃO JOSE, A. R. (Ed.) **Maracujá: produção e mercado**. Vitória da Conquista: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 1994. p. 24-26.

FERREIRA, F. R.; VALLINI, P. C.; RUGGIERO, C.; LAM-SANCHES, A.; OLIVEIRA, J. C. de. Correlações fenotípicas entre diversas características do fruto do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 3., 1975, Rio de Janeiro. **Anais...** Campinas: SBF, 1976. p. 481-489.

FRUTISÉRIES 2: maracujá. Brasília, DF: MI/SIN/DDH, 2002. 8 p.

GULICK, P.; VAN SLOTEN, D. H. **Directory of germplasm collections, 6 – I: tropical and subtropical fruits and tree nuts**. Rome: IBPGR, 1984. 191 p.

HOEHNE, F. C. **Botânica e agricultura no Brasil (Século XVI)**. São Paulo: Companhia Editora Nacional: Brasiliense, 1937. 410 p. v. 71, 5ª Série.

JUNQUEIRA, N. T. V.; ANJOS, J. R. N.; SILVA, A. P. O.; CHAVES, R. C.; GOMES, A. C. Reação às doenças e produtividade de onze cultivares de maracujá-azedo cultivadas sem agrotóxico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 8, p. 1005-1010, 2003.

JUNQUEIRA, N. T. V.; LAGE, D. A. C.; BORGES, T. A.; CHAVES, R. C.; FIALHO, J. F. **Produção de mudas de maracujazeiro-azedo por enxertia em estacas herbáceas enraizadas de passifloras silvestres**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2002. (Embrapa Cerrados. Comunicado Técnico, 70).

KILLIP, E. P. **The American species of *Passifloraceae***. Chicago: Field Museum of Natural History, 1938. p. 7-162. (Botanical series, v. 19).

KNIGHT JUNIOR, R. J.; WINTERS, H. F. Pollination and fruit set of yellow passionfruit in southern Florida. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 75, p. 412-418, 1962.

LANDGRAF, J. H. Perspectiva da cultura do maracujá no Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 2., 1978, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: SBF, 1978. p. 2-8.

LEÃO, R. M. K. **Reação de genótipos de maracujá azedo ao vírus do endurecimento do fruto ("Passionfruit woodiness virus" – PWV) e à bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae***. 2001. 89 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2001.

LIMA, M. M. **Competitividade da cadeia produtiva do maracujá na região integrada de desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno-Ride**. 2001. 171 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2001.

LOPES, S. C. Citogenética do maracujá, *Passiflora* spp. In: SÃO JOSÉ, A. R.; FERREIRA, F. R.; VAZ, R. L. (Ed.). **A cultura do maracujá no Brasil**. Jaboticabal: FUNEP, 1991. p. 201-209.

LOPES, S. C. Citogenética do maracujá, *Passiflora* spp. In: SÃO JOSÉ, A. R. **Maracujá: produção e mercado**. Vitória da Conquista: UESB, 1994. p. 19-23.

MALDONADO, J. F. M. Utilização de porta-enxertos do gênero *Passiflora* para maracujazeiro amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 13, n. 2, p. 51-54, 1991.

MALUF, W. R.; SILVA, J. R.; GRATTAPAGLIA, D.; TOMA-BRAGHINI, M.; CORTE, R. D.; MACHADO, M. A.; CALDAS, L. S. Genetic gains via clonal selection in passion fruit *P. edulis* Sims. **Revista Brasileira de Genética**, v. 12, p. 833-841, 1989.

MARTINS, M. R.; OLIVEIRA, J. C.; DI MAURO, A. R.; SILVA, P. C. Avaliações de populações de maracujazeiro doce (*Passiflora alata* Curtis) obtidas de população aberta. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 111-114, 2003.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; PINTO-MAGLIO, C. A. F.; MARTINS, F. P. Caracterização de germoplasma de maracujazeiro *Passiflora* sp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 14, p. 157-162, 1992.

MELETTI, L. M. M.; SANTOS, R. R.; MINAMI, K. Melhoramento genético do maracujazeiro-amarelo: obtenção do cultivar 'Composto IAC-27'. **Scientia Agricola**, v. 57, p. 491-498, 2000.

MELETTI, L. M. M.; BERNACI, L. C.; SOARES-SCOTT, M. D.; AZEVEDO FILHO, J. A.; MARTINS, A. L. M. Variabilidade genética em caracteres morfológicos, agronômicos e

citogenéticos de populações de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 275-278, 2003.

NASCIMENTO, A. C. **Produtividade, incidência e severidade de doenças em nove genótipos de maracujazeiro-azedo sob três níveis de adubação potássica no Distrito Federal**. 2003. 148 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2003.

OLIVEIRA, J. C. de; RUGGIERO, C.; NAKAMURA, K.; BAPTISTA, M. Comportamento de *Passiflora edulis* enxertado sobre *P. giberti* N.E. Brown. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 7., 1983, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: SBF/EMPASC, 1984. v. 3. p. 989-993

OLIVEIRA, J. C. de; SALOMÃO, T. A.; RUGGIERO, C.; ROSSINI, A. de C. Observações sobre o cultivo de *Passiflora alata* Ait. (maracujá-guaçu). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 1, p. 59-63, 1980.

OLIVEIRA, J. C.; FERREIRA, F. R. Melhoramento genético do maracujazeiro. In: **A cultura do maracujá no Brasil**. Ribeirão Preto: FUNEP, 1991. p. 211-239.

OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. Aspectos sobre o melhoramento do maracujazeiro amarelo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 5., 1998, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 1998. p. 291-310.

OLIVEIRA, J. C. **Melhoramento genético de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. visando aumento de produtividade**. 1980. 133 f. Tese (Livre-Docência)- Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, 1980.

OLIVEIRA, J. C. Melhoramento genético. In: RUGGIERO, C. (Ed.). **Maracujá**. Ribeirão Preto: Legis Summa, 1987. p. 218-246.

OLIVEIRA, J. C.; CARNIER, P. E.; ASSIS, G. M. Preservação de germoplasma de maracujazeiros. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1., 1988. Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FCAV, 1988. p. 200.

OLIVEIRA, J. C.; NAKAMURA, K.; MAURO, A. O.; CENTURION, M. A. P. C. Aspectos gerais do melhoramento do maracujazeiro. In: SÃO JOSE, A. R. (Ed.). **Maracujá: produção e mercado**. Vitória da Conquista: UESB, 1994. p. 27-37.

OPENSHAW, S. J.; JARBOE, S. G.; BEAVIS, W. D. Marker-assisted selection in backcross breeding. In: LOWER, R. (Ed.). **ASHS/CSSA Joint Plant Breeding Symposium on Analysis of Molecular Marker Data**. Corvallis: Oregon State University, 1994. p. 41-43.

OTONI, W. C.; BLACKHALL, N. W.; D'UTRA VAZ, F. B.; CASALI, V. W. D.; POWER, J. B.; DAVEY, M. R. Somatic hybridization of the *Passiflora* species, *P. edulis* f. *flavicarpa*

Degener and *P. incarnata* L. **Journal of Experimental Botany**, v. 46, n. 288, p. 777-785, 1995.

PAYAN, F. R.; MARTIN, F. W. Barriers to the hybridization of *Passiflora* species. **Euphytica**, v. 24, p. 709-716, 1975.

PINTO, P. H. D. **Reação de genótipos de maracujá azedo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Denger) ao vírus *Passionfruit Woodiness Virus* (PWV) e ao fungo *Septoria passiflorae***. 2002. 62 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2002.

PIO VIANA, A.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SOUZA, M. M.; MALDONADO, F.; AMARAL JÚNIOR, A. T. Diversidade morfo-agronômica em populações de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO, 3., 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 2002a. p. 156-159.

PIO VIANA, A.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SOUZA, M. M.; MALDONADO, F.; AMARAL JÚNIOR, A. T. Diversidade em maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e *Passiflora* spp. por marcadores RAPD. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO, 3., 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 2002b. p. 160-163.

PIO VIANA, A.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SOUZA, M. M.; MALDONADO, F.; AMARAL JÚNIOR, A. T. Diversidade entre genótipos de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de passifloras determinada por marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 489-493, 2003.

PRIOLLI, R. H. G. **Avaliação morfológica de híbridos entre *Passiflora* spp. E comportamento em relação ao nematóide formador de galhas *Meloidogyne incógnita* Kofoid, White (1919) Chitwood (1949) raça 1**. 1991. 88 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, 1991.

PURSS, G. S. Studies of the resistance of species of *Passiflora* to *Fusarium* wilt (*F. oxysporum* f. *passiflorae*). **Queensland Journal of Agricultural Science**, v. 15, p. 95-99, 1958.

QUIRINO, T. R. Agricultura e meio ambiente: tendências. In: SILVEIRA, M. A.; VILELA, S. L. O. (Ed.). **Globalização e sustentabilidade da agricultura**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. p. 109-138. (Embrapa-CNPMA. Documentos, 15).

REZENDE, J. A. M. Doenças de vírus e micoplasma do maracujazeiro no Brasil. In: SÃO JOSE, A. R. (Ed.). **Maracujá: produção e mercado**. Vitória da Conquista: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 1994. p. 116-125.

RUGGIERO, C.; LAM-SANCHES, A.; CARVALHO, R. P. L. Ocorrência de diferentes tipos de flores de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.). **Científica**, v. 4, p. 82-86, 1976.

RUGGIERO, C.; LAM-SANCHEZ, A.; MIGUEL, S. Estudo de incompatibilidade em flores de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 3., 1975, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SBF, 1975. p. 491-495.

RUGGIERO, C.; SÃO JOSÉ, A. R.; VOLPE, C. A.; OLIVEIRA, J. C.; DURIGAN J. F.; BAUMGARTNER, J. G.; SILVA, J. R.; NAKAMURA, K.; FERREIRA, M. E.; KAVARTI, R.; PEREIRA, V. P. **Maracujá para exportação**: aspectos técnicos da produção. Brasília, DF: Embrapa-SPI, 1996. 64 p. (Série Publicações Técnicas FRUPEX, 19)

SACCO, J. C. **Passifloráceas**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodriguez, 1980. 130 p. (Flora Ilustrada Catarinense).

SANTOS FILHO, H. P.; JUNQUEIRA, N. T. **Maracujá**: fitossanidade. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 86 p. (Embrapa Informação Tecnológica. Série Frutas do Brasil, 32).

SANTOS FILHO, J. P.; SANTOS, C. C. F. Doenças causadas por fungos. In: SANTOS FILHO, H. P.; JUNQUEIRA, N. T. (Ed.). **Maracujá**: fitossanidade. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p. 12-21. (Embrapa Informação Tecnológica. Série Frutas do Brasil, 32).

SANTOS, C. C. F.; SANTOS FILHO, J. P. Doenças causadas por bactérias. In: SANTOS FILHO, H. P.; JUNQUEIRA, N. T. (Ed.). **Maracujá**: fitossanidade. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p. 22-24. (Embrapa Informação Tecnológica. Série Frutas do Brasil, 32).

SEIXAS, L. F. Z. **Comportamento de espécies e híbridos interespecíficos de maracujazeiro quando inoculados com *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* (Per.) Dye**. 1989. 193 f. Monografia (Trabalho de Graduação)- Universidade de São Paulo, Jaboticabal, 1989.

SEIXAS, L. F. Z.; OLIVEIRA, J. C. de; TIHOHOD, D.; RUGGIERO, C. Comportamento de *Passiflora macrocarpa* como porta-enxerto para *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg., cultivado em local com histórico de morte prematura de plantas e nematóides do maracujazeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9., 1987, Campinas, SP. **Anais...** Campinas: SBF, 1988. v. 2. p. 597-601

SNOW, N. New chromosome reports in *Passiflora* (*Passifloraceae*). **Systematic Botany**, v. 18, n. 2, p. 261-273, 1993.

SOUZA, J. S. I.; MELETTI, L. M. M. **Maracujá**: espécies, variedades, cultivo. Piracicaba: FEALQ, 1997. 179 p.

SOUZA, M. M.; PEREIRA, T. N. S. Development of pollen grain in yellow passion-fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*; Passifloraceae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p. 469-473, 2000.

SOUZA, M. M.; PEREIRA, T. N. S.; HOFFMANN, M.; MELO, E. J. T.; LOURO, R. P. Embryo sac development in yellow passion-fruit *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (Passifloraceae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, p. 471-475, 2002.

SOUZA, T. L. P. O.; RAGAGNIN, V. A.; ALZATE-MARIN, A. L.; FALEIRO, F. G.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Backcross assisted by RAPD markers to Develop common bean lines with carioca type grains containing the *Ur-11* rust resistance gene. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v. 46, p. 195-196, 2003.

TEIXEIRA, C. G. Cultura. In: ITAL. **Maracujá**: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. 2. ed. rev. e ampl. Campinas, 1994. p. 1-142. (Série Frutas Tropicais, 9).

TOCCHINI, R. P.; NISIDA, A. L. A. C.; HASHIZUME, T.; MEDINA, J. C.; TURATTI, J. M. Processamento: produtos, caracterização e utilização. In: ITAL. **Maracujá**: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. 2. ed. rev. e ampl. Campinas, 1994. p. 161-195. (Série Frutas Tropicais, 9).

VALLINI, P. C.; RUGGIERO, C.; LAM-SANCHES, A.; FERREIRA, F. R. Studies on the flowering period of yellow passion fruit *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. in the region of Jaboticabal, São Paulo. **Acta Horticulturae**, v. 57, p. 233-236, 1976.

VANDERPLANK, J. **Passion flowers**. Massachusetts: MIT Press, 1996. 224 p.

VIEIRA, M. L. C.; OLIVEIRA, C. A.; MAYEDA, M. Y.; DORNELAS, M. C.; FUNGARO, M. H. P. Estudo do cariótipo e da variabilidade genética detectada por RAPD em espécies de maracujazeiro (*Passiflora* L.). **Brazilian Journal of Genetics**, v. 20, p. 88, 1997. Suplemento.

YAMASHIRO, T.; LANDGRAFF, J. H. Maracujá-acú (*Passiflora alata*, Ait) porta-enxerto resistente à fusariose do maracujá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, Deg.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 5., 1975, Pelotas. **Anais...** Pelotas: SBF, 1979. v. 3, p. 918-921.

YOUNG, N. D.; TANKSLEY, S. D. Restriction fragment length polymorphism maps and the concept of graphical genotypes. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 77, p. 95-101, 1989.



O maracujazeiro é uma planta mutante  
Por ser filho dileto da selva tropical  
Suas folhas conservam o verde pujante  
Para sobressair como espécie vegetal.

Num remoto passado agora distante  
Talvez por contemplar um recurso natural,  
Buscou da natureza cada tom resultante  
Para vestir suas flores com a cor do local.

*Geovane Alves de Andrade*

# Citogenética clássica e molecular em *passifloras*

---

Marta Dias Soares-Scott

Laura Maria Molina Meletti

Luís Carlos Bernacci

Ilene Ribeiro da Silva Passos

## Introdução

A citogenética desenvolveu-se principalmente a partir do início do século passado, e seu progresso acompanhou o aprimoramento de técnicas e equipamentos de microscopia. É a ciência que estuda os constituintes celulares portadores da informação genética (cromossomos). Com o renascimento das leis de Mendel, surgiu a teoria da herança cromossômica que relaciona os cromossomos com as leis mendelianas de herança sendo um marco para o estudo dos cromossomos, no qual a citologia e a genética passaram a sobrepor seus conhecimentos numa área denominada *Citogenética*.

## Citogenética clássica

A partir da forma e do número de cromossomos de uma espécie, é estabelecido seu cariótipo. A representação do cariótipo pode ser um cariograma (imagem dos cromossomos) ou um ideograma (esquema dos cromossomos) e é ele que fornece as informações substanciais para o estabelecimento das relações entre espécies, com respeito à organização dos cromossomos.

Estudos cromossômicos têm sido utilizados na determinação das relações filogenéticas e evolutivas entre grupos de plantas (Raven, 1975).

A análise citogenética comumente utilizada na citotaxonomia vegetal inclui basicamente o número e a morfologia dos cromossomos mitóticos, o aspecto do núcleo interfásico, o comportamento de cromossomos meióticos e a microsporogênese (Vosa, 1985; Guerra, 1988).

A análise cariotípica, envolvendo a avaliação de dados como tamanho de cromossomos, relação entre os braços, presença de constrição secundária e satélite, propriedades de coloração, pode trazer informações valiosas, principalmente, quando se quer comparar espécies diferentes ou examinar a variação entre indivíduos da mesma espécie (Ruas, 1989). Rearranjos estruturais podem ser detectados por meio de diferenças no tamanho relativo, posição de centrômero, número básico de cromossomos ( $x$ ) e número, tamanho e posição de satélites.

Variações quanto ao número, posição e tamanho de constrições secundárias e de satélite são freqüentemente observadas em vegetais, sendo úteis como marcadores. Murray (1975) e Stebbins (1971) sugerem que esses marcadores possam ser incorporados ou suprimidos ao longo do processo evolutivo.

Nessa análise cromossômica para determinação de um cariótipo, são utilizadas colorações ditas convencionais usando corantes como Giemsa, Orceína Acética, reativo de Schiff, hematoxilina/eosina (Figura 1).

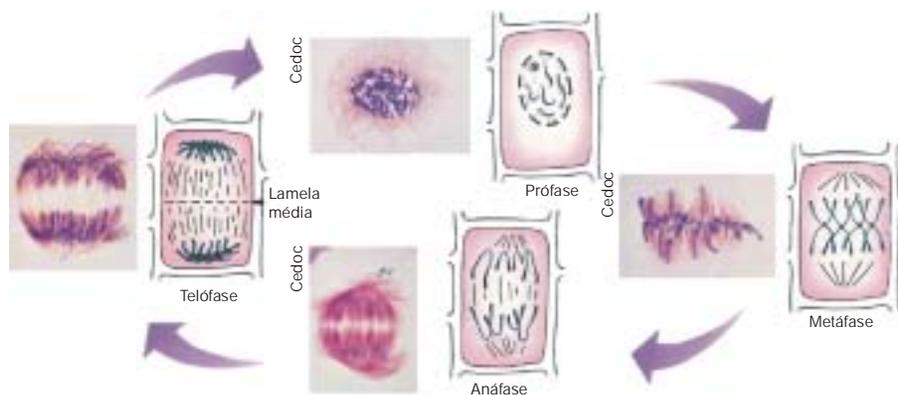


Figura 1. Divisão celular, fases da mitose.

A divisão meiótica tem sido descrita e estudada em diferentes organismos, mostrando alta estabilidade evolutiva. Alterações cromossômicas, quando aparecem, podem ser barradas pela complexidade desses eventos pela dificuldade no pareamento dos cromossomos, na formação e na manutenção de quiasmas e na co-orientação dos centrômeros (Moraes-Fernandes et al., 1985). Alguns estudos têm mostrado a ocorrência de irregularidades meióticas em células-mãe de pólen que está relacionada com o comportamento e a distribuição dos cromossomos. As irregularidades mais freqüentes são: presença de células com alteração de número cromossômico; ocorrência de univalentes por falta de pareamento de alguns pares de homólogo; bivalentes não orientados por problemas de fuso; pontes, terminalização inadequada de quiasmas; micronúcleos resultantes de quebras ou univalentes (Consolaro et al., 1996; Pagliarini, 1990; Soares-Scott et al., 2003). A fertilidade dos gametas masculinos e femininos é dependente da normalidade meiótica.

A poliploidia é o tipo de variação cromossômica predominante na evolução das plantas, sendo de fundamental interesse para o melhoramento vegetal. Diferentes tipos de célula podem sofrer ciclos endomitóticos ou mesmo um erro meiótico (não-redução cromossômica) e resultam em células poliplóides (Guerra, 1988).

Dentro de um gênero ou mesmo de uma espécie, podem ocorrer diversos números gaméticos que são múltiplos perfeitos, denominados de série poliplóide, sendo considerado como número básico o menor número haplóide dessa série, representado por  $x$  (Rieger et al., 1976; Guerra, 1988).

Do mesmo modo, quando se trabalha com qualquer grupo vegetal a fim de desenvolver novas combinações e cruzamentos, é necessário conhecer o número, o tamanho e a forma dos cromossomos, além de marcadores úteis para o reconhecimento de cada par cromossômico. A partir das informações citogenéticas de duas espécies de plantas, pode-se prever a viabilidade de um possível híbrido. Moraes-Fernandes et al. (2000) enfatizam que o conhecimento sobre relações citotaxonômicas, estrutura citogenética e história evolutiva das espécies envolvidas nos cruzamentos também é

importante para a escolha da espécie doadora de características como resistência a doenças e fornecem contribuição valiosa ao melhoramento varietal (Moraes-Fernandes, 1982). Vários genes de resistência a estresses bióticos e abióticos estão localizados em cromossomos homeólogos com distâncias similares do centrômero, sugerindo que eles devem representar variantes alélicas em diferentes locos homeólogos. Como a homologia não é perfeita, pois não ocorre com todos os genes, os cromossomos são chamados homeólogos (Moraes Fernandes, 1982; Law et al., 1987). A introdução de genes pode ser incrementada por procedimentos eficientes para a detecção de cromossomos ou segmentos cromossômicos (Jiang et al., 1994), pois o estado híbrido de uma planta pode ser determinado pelo número somático de cromossomos e também pelo comportamento meiótico (Sharma & Gill, 1983; Sethi, 1989).

## Coloração diferencial, bandeamentos

A caracterização cromossômica foi por muito tempo baseada unicamente em parâmetros morfológicos, como tamanho dos braços, posição dos centrômeros e localização das constrições secundárias (Figura 2).

A introdução das técnicas de bandeamento permitiu a visualização de blocos de coloração diferenciada, essas regiões geralmente aparecem como faixas transversais mais coradas nos cromossomos, recebendo assim a denominação de bandas, permitindo que a caracterização cromossômica seja significativamente melhorada.

Os bandeamentos identificam a distribuição e a quantidade de heterocromatina (C, G, N), diferenciação de tipos de heterocromatina (AT e CG) usando fluorocromos (DAPI e CMA), localização de regiões organizadoras de nucléolo, mediante impregnação pela prata (Ag-NOR). Estes são importantes para a identificação de cromossomos homólogos e homeólogos e para a caracterização de polimorfismos ou de relações de parentesco entre espécies próximas, distinguindo possíveis rearranjos cromossômicos.

**Figura 2.** Esquema de cromossomo metafásico com bandas.

As técnicas de bandeamento cromossômico expandiram os horizontes da citogenética, e a primeira aplicação do bandeamento deu-se no pareamento cromossômico. Essas técnicas têm possibilitado compreender melhor as alterações cromossômicas que se estabelecem em cada genótipo (Guerra, 1988).

O bandeamento C diferencia regiões de heterocromatina constitutiva que são seqüências de DNA altamente repetitivas as quais não codificam proteínas (não têm atividade gênica). Outra característica desse tipo de cromatina é seu alto grau de condensação em quase todas as fases do ciclo celular. Ela se concentra em blocos, distribuídos preferencialmente em algumas regiões dos cromossomos, como ao redor da constrição secundária, e em porções proximais e terminais. Essa distribuição, como também o tamanho dos blocos, é igual nos cromossomos homólogos.

Assim, esse procedimento pode ser empregado na caracterização de diferentes acessos de uma mesma espécie, na identificação de linhas de adição e de substituição (Friebe et al., 1993) e na detecção de alterações estruturais, como deleções, inversões e translocações (Gill et al., 1991).

O bandeamento N é um procedimento inicialmente reportado por Gerlach (1977) e modificado por Endo & Gill (1984). Consiste na imersão das lâminas em ácido acético 45% quente e uma curta imersão em tampão fosfato quente. Assim como o bandeamento C, o bandeamento N é uma técnica usada na análise de cariótipos e na construção de ideogramas (Jewell, 1979; Gill et al., 1991).

O DNA ribossômico (DNAr) é responsável pela síntese de proteínas por meio da transcrição dos diferentes tipos de RNAr. Esses genes estão localizados em porções que, após a compactação, formam as constrições secundárias, denominadas regiões organizadoras de nucléolos ou RONS. Para a detecção das RONS são utilizadas diversas técnicas. A mais comum é a da impregnação pela prata, o bandeamento com a prata, (AgAS) que detecta as regiões ativas na interfase precedente pela associação da prata com as proteínas nucleolares (Howell & Black, 1980; Margarido & Galettip, 2000). Nem toda constrição secundária pode ser considerada região organizadora de nucléolo.

A técnica de bandeamento C-CMA/DAPI é um procedimento de coloração com os fluorocromos CMA (reconhece sítios ricos em GC) e DAPI (reconhece sítios ricos em AT) aplicado após o desgaste cromossômico pelos passos normais de bandeamento: hidrólise ácida, relaxamento dos cromossomos com hidróxido de bário 5% e retirada de cromatina com 2xSSC. Esse tipo de tratamento oferece maior contraste entre as regiões marcadas pelos fluorocromos e o restante dos cromossomos, proporcionando melhor diferenciação entre regiões ricas em GC (CMA+/DAPI-), AT (CMA-/DAPI+) e balanceada GC/AT ou neutra (CMA<sup>0</sup>/DAPI<sup>0</sup>).

O fato de se detectar a ocorrência e a posição física de diferentes famílias de DNA altamente repetido (heterocromatina) implica maior compreensão de como os genomas estão organizados e as relações entre

espécies, gêneros e famílias, bem como os mecanismos de ajustes que ocorrem nos cariótipos de diferentes organismos durante o processo evolutivo.

## Citogenética molecular

Mais recentemente, com o advento das técnicas em Biologia Molecular, a citogenética tem acumulado refinamentos, sobretudo, os relacionados com a localização de genes ou de seqüências de DNA repetitivo. Esses estudos são possíveis com as Híbridações Fluorescentes *in situ* ou FISHs. Além dessas, a hibridação de genomas inteiros, através de GISH (Hibridação Genômica *in situ*), tem fornecido interessantes dados sobre o estudo de híbridos e espécies proximamente relacionadas. Essas técnicas têm sido amplamente utilizadas para localizar diferentes seqüências de DNA em cromossomos mitóticos ou meióticos, em núcleos interfásicos e em fibras de cromatina estendidas (Dong et al., 2001). A detecção dessas seqüências *in situ* tem gerado avanços importantes na citogenética de plantas, destacando-se a construção de mapas físicos, a investigação detalhada da estrutura cromossômica, o acompanhamento da quantidade de cromatina introduzida em cruzamentos interespecíficos e a análise de pareamentos intergenômicos em plantas híbridas.

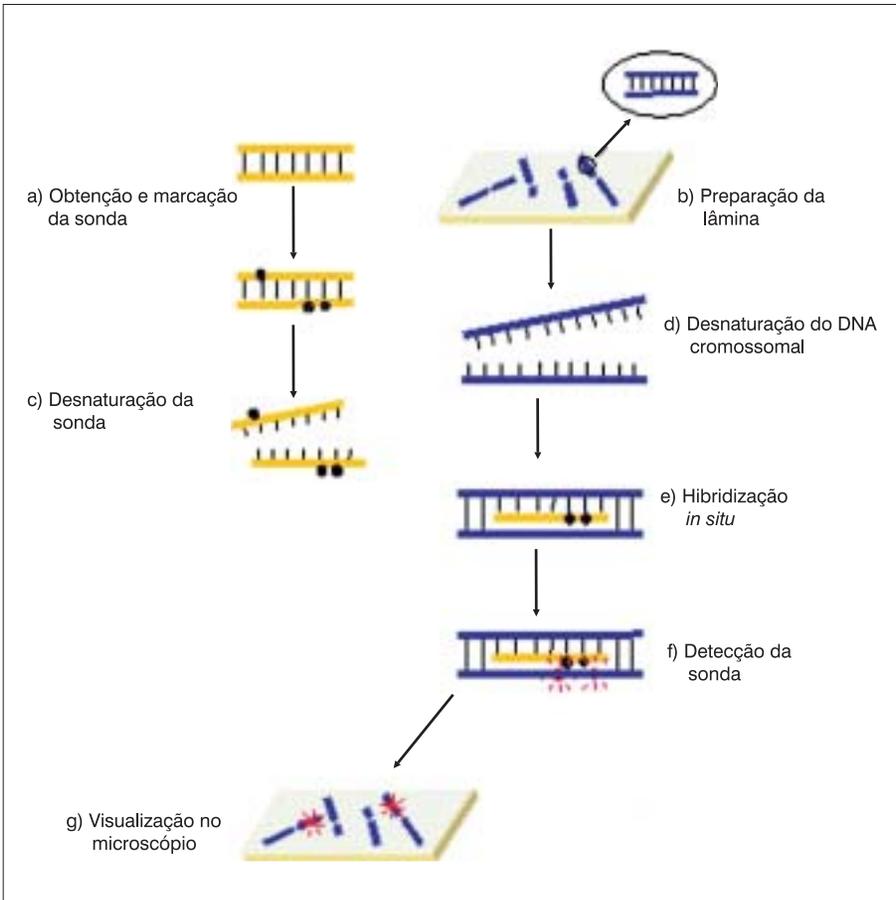
A técnica de FISH (*fluorescent in situ hybridization*) tornou-se a mais promissora dentro da Citogenética nos últimos anos. Os segmentos de DNA ou RNA, marcados, funcionam como sondas para localizar as seqüências do DNA cromossomal complementares a ela e reconhecem especificamente um único par cromossômico, regiões específicas, tais como centrômeros e telômeros ou até mesmo um sítio específico denominado DNA-alvo. Para visualizar as regiões hibridizadas com a sonda, é necessário associar um corante à sonda e outro ao restante dos cromossomos. A detecção da sonda era feita, inicialmente, por auto-radiografia, utilizando radioisótopos ou pela associação da seqüência de DNA com um sistema enzimático (geralmente a fosfatase alcalina). Atualmente, é realizada mediante o emprego de fluorocromos (moléculas que fluorescem quando excitadas por um comprimento de luz específico). A marcação das sondas envolve a

incorporação de análogos de nucleotídeos trifosfatados, diretamente associados a compostos fluorescentes (marcação direta), ou a moléculas repórteres marcadoras que serão detectadas através de reagentes secundários (detecção indireta). As moléculas marcadoras mais usadas na marcação indireta são a biotina e a digoxigenina, enquanto os fluorocromos mais utilizados para sinalizar a presença das sondas são o FITC (isotiocianato de fluoresceína), de cor verde, e a rodamina, de cor vermelha. O primeiro passo é o desenvolvimento da sonda que são seqüências de DNA, geralmente, com cerca de 100 a 300 pb até acima de 1Mpb, complementar ao DNA-alvo (Figura 3).

Essas seqüências podem ser cópias de um gene ou de qualquer fragmento do DNA que possa ser isolado. Sondas contendo elementos repetitivos, usados para detectar regiões heterocromáticas ou grandes repetições gênicas são particularmente úteis no mapeamento e estudo evolutivo dessas seqüências nos genomas vegetais.

O grau de especificidade cromossômica varia de sonda para sonda e depende, em muitos casos, do rigor da reação de hibridação. A especificidade de uma hibridação está baseada no princípio da complementaridade das bases na dupla fita.

As primeiras seqüências detectadas foram as de DNA repetitivo cujas unidades de repetição podem estar distribuídas em *tandem* ou dispersas ao longo do genoma. As seqüências em *tandem* ocorrem em blocos de centenas a milhares de cópias, localizadas em um ou mais sítios de um dado genoma. Essa categoria inclui DNA codificante, como genes para RNAr, e não-codificante, como DNA telomérico, centromérico e outros (Leitch et al., 1994). Os genes ribossomais 5S e 45S têm sido as seqüências mais utilizadas na hibridização *in situ*. A unidade de repetição do DNAr 45S é uma seqüência com cerca de 9,2 kb contendo os genes para DNAr 18S, 5,8S e 26S, sempre nessa ordem. Esses genes foram muito bem conservados durante a evolução vegetal, o que permite a hibridização de uma seqüência extraída de uma espécie em qualquer outra espécie vegetal.



**Figura. 3.** Esquema simplificado da técnica de hibridização *in situ*. (a) A seqüência de DNA a ser utilizada como sonda deve ser isolada e marcada. (b) Paralelamente, devem ser preparadas lâminas com cromossomos bem espalhados. (c, d, e) Posteriormente, os DNAs da sonda e dos cromossomos devem ser desnaturados e colocados em contato para que ocorra a renaturação e conseqüentemente a hibridização *in situ*. (f, g) A localização da sonda é feita por uma molécula reconhecedora ligada a um fluorocromo e observada na microscopia de fluorescência.

Fonte: Brasileiro-Vidal & Guerra, (2002).

Além dos genes ribossomais, as seqüências em *tandem* mais utilizadas na FISH são as do DNA telomérico e as do DNA centromérico. A hibridização de seqüências exclusivas da região terminal ou da região centromérica permite identificar alterações estruturais que modifiquem a localização dessas sondas, como deleções, inversões ou translocações.

Os microsatélites são formados geralmente por unidades de repetição com cinco nucleotídeos ou menos, também, encontram-se arranjados em *tandem* e podem ser detectados por FISH.

A segunda categoria de DNA repetitivo é a de seqüências dispersas, intercaladas por seqüências de DNA de cópia simples ou repetitivas. Um exemplo de seqüências dispersas são os retrotransposons, amplamente encontrados nos genomas de plantas, em especial, naqueles com elevada quantidade de DNA.

A hibridização *in situ* também pode utilizar como sonda o DNA genômico total de uma espécie, proporcionando a marcação de todos os seus cromossomos. Esse tipo de hibridização é denominado de GISH (Genomic *In Situ* Hybridization). A técnica de GISH permite distinguir os cromossomos oriundos de diferentes parentais, em híbridos interespecíficos, ou em espécies aloploplóides (Raina & Rani, 2001).

Um fator que interfere na visualização dos sinais de hibridação é o nível de condensação dos cromossomos mitóticos; a alternativa para aumentar o nível de resolução da hibridização *in situ* é o uso de cromossomos meióticos na fase de paquíteno. Esses cromossomos encontram-se de 7 a 40 vezes mais estendidos que os cromossomos mitóticos (De Jong et al., 2000). Esses aprimoramentos também serão importantes para facilitar a integração dos mapas cromossômicos com os de ligação já existentes e a análise comparada desses mapas em espécies próximas (Cheng et al., 2001; Draye et al., 2001).

## Citogenética de *Passiflora*

O gênero *Passiflora*, bem como os demais gêneros de passifloráceas, tem sido muito pouco estudado citologicamente. As mais amplas contagens cromossômicas foram realizadas por Bowden (1945), Beal (1969ab,1973),

Storey (1950), Guerra (1986) e Snow & MacDougal (1993). Segundo Soares-Scott (1998), existem informações citogenéticas registradas na literatura para apenas 68 espécies do gênero *Passiflora*, 8 subespécies e 14 híbridos interespecíficos, mostrando que das 400 espécies conhecidas, menos de 30% apresentam identificação cromossômica, restringindo-se em sua maioria (mais de 20%) à contagem do número cromossômico (Tabela 1). Segundo Melo et al. (2001) esse número de espécies representa 16,1% das 83 registradas no gênero. A maioria dos trabalhos compilados nesse levantamento cita apenas o número cromossômico, raramente, com análises cariotípicas e medidas cromossômicas. A escassez de tais dados pode ser, em parte, justificada pela dificuldade de coleta e germinação de sementes das espécies e pelo pequeno tamanho dos cromossomos nas espécies do gênero.

**Tabela 1.** Números cromossômicos de *Passiflora* spp.: espécies subespécies e híbridos. Nomes dos subgêneros em negrito. \* Apud Snow & MacDougal (1993).

Espécies	n	2n	Referências
<b><i>Astephia</i></b> Killip <i>P. penduliflora</i> DC.	6		Beal, 1971*
<b><i>Astrophea</i></b> (DC.) Mast. <i>P. lindeniana</i> Triana & Planch.	12		Berry, 1987
<b><i>Calopanthanthus</i></b> (Harms) Killip <i>P. racemosa</i> Brot.		18	Beckett, 1960
<b><i>Decaloba</i></b> (DC.) Rchb. <i>P. aurantia</i> G.Forst.	6	12	Beal, 1969 Snow & MacDougal, 1993
<i>P. biflora</i> Lam.	6	12	Beal 1971*
<i>P. bryonioides</i> Kunth		12	Snow & MacDougal, 1993
<i>P. aff. candollei</i> Triana & Planch.		12	Bowden, 1945; Snow & MacDougal, 1993
<i>P. capsularis</i> L.		12	Snow & MacDougal, 1993
<i>P. cinnabarina</i> Lindl.	6	12	Bowden, 1945; Beal, 1971*; Snow & MacDougal, 1993; Melo et al., 2001
<i>P. citrina</i> J.M.MacDougal		12	Beal, 1969
<i>P. cobanensis</i> Killip		12	Bowden, 1945
<i>P. conzattiana</i> Killip		12	Snow & MacDougal, 1993
<i>P. coriacea</i> Juss.	6	12	Diers 1961*; Beal, 1971*
		12	Snow & MacDougal, 1993;
			Melo et al., 2001
<i>P. costaricensis</i> Killip		12	Snow & MacDougal, 1993

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Espécies	n	2n	Referências
<i>P. escobariana</i> J.M.MacDougal		12	Snow & MacDougal, 1993
<i>P. exsudans</i> Zucc.		24	Snow & MacDougal, 1993
<i>P. gibertiana</i> J.M.MacDougal		12	Snow & MacDougal, 1993
<i>P. gracilis</i> Link		20	Bowden, 1945
		18	La Cour, 1952*
<i>P. herbetiana</i> Ker Gawl.	6	12	Beal, 1969; Melo et al., 2001
<i>P. holosericea</i> L.		14	Snow & MacDougal, 1993
<i>P. juliana</i> J.M.MacDougal		12	Snow & MacDougal, 1993
<i>P. karwinskii</i> Mast.	6		Snow & MacDougal, 1993
<i>P. lutea</i> L.		84	Bowden 1940, 1945; Darlington & Janaki Ammal, 1945*
		24	Baldwin, 1949
<i>P. misera</i> Kunth		12 36	Melo et al., 2001
<i>P. morifolia</i> Mast.	6		Snow & MacDougal, 1993
		12	Melo et al., 2001
<i>P. nubicola</i> J.M.MacDougal	6		MacDougal, 1989b
<i>P. oaxacensis</i> J.M.MacDougal		12	Snow & MacDougal, 1993
<i>P. obtusifolia</i> Sessé & Moc.		12	Snow & MacDougal, 1993
<i>P. porphyretica</i> Mast.		12	Snow & MacDougal, 1993
<i>P. bicornis</i> Mill.	6	12	Storey, 1950
<i>P. quinquangularis</i> J.M.MacDougal		12	Snow & MacDougal, 1993
<i>P. rovirosae</i> Killip		12	Snow & MacDougal, 1993
<i>P. rubra</i> L.		12	Snow & MacDougal, 1993
<i>P. sanguinolenta</i> Mast. & Linden		12	Snow & MacDougal, 1993
<i>P. standleyi</i> Killip		12	Snow & MacDougal, 1993
<i>P. suberosa</i> L.	12	24	Storey, 1950; Beal, 1969
	18	36	Storey, 1950
		12	Diers, 1961*
		24	Beal, 1971*; Snow & MacDougal, 1993.
<i>P. tricuspis</i> Mast.		12	Melo et al. 2001
<i>P. xiikzodz</i> J.M.MacDougal		12	Snow & MacDougal, 1993
<b><i>Distephana</i></b> (Juss.) Killip			
<i>P. cocicnea</i> Aubl.		18	Beal, 1971*; Soares-Scott et al., 2001; Melo et al., 2001
<i>P. vitifolia</i> Kunth	9	18	Storey, 1950
	9		Beal, 1969
		18	Snow & MacDougal, 1993
<b><i>Dysosmia</i></b> (DC.) Rchb.			
<i>P. foetida</i> L.		18	Heitz, 1927*; Janaki Ammal, 1945*
		20	Nishiyama & Kondo, 1942*; Guerra, 1986
		22	Bowden, 1945; Harvey, 1966*
	10	20	Storey, 1950
	10		Beal, 1969

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Espécies	n	2n	Referências
<i>Murucuja</i> (Tourn. ex Mill.) Mast. <i>P. cubensis</i> Urb.		12	Lepper & Duharte Gongora, 1988*
<b>Passiflora</b> <i>P. actinia</i> Hook.		18	Soares-Scott et al., 2001; Melo et al., 2001
<i>P. alata</i> Curtis	9	18	Beal, 1969 Guerra, 1986; Mayeda & Vieira, 1994; Souza et al., 2003; Meletti et al., 2003.
<i>P. amethystina</i> J.C.Mikan <i>P. caerulea</i> L.		18	Mayeda & Vieira, 1994
		18	Heitz, 1926*; Nakajima, 1931 Simonet & Miedzyrzecki, 1932*; Bowden, 1940; Darlington & Janaki Ammal, 1945*
	9		Beal, 1969
<i>P. cincinnata</i> Mast.		18	Beal, 1971*; Guerra, 1986.
<i>P. edmundoi</i> Sacco	9	18	Melo et al., 2001; Souza et al., 2003
<i>P. edulis</i> Sims	9	18	Jannaki Ammal, 1945*; Beal, 1969
		18	Storey, 1950; Dornelas & Vieira, 1991; Mayeda & Vieira 1994; Soares-Scott et al., 2003
	9		Beal, 1969; Soares-Scott et al., 2003
<i>P. galbana</i> Mast.		18	Melo et al., 2001
<i>P. gibertii</i> N.E.Br.		18	Mayeda & Vieira, 1994
<i>P. incarnata</i> L.		18	Heitz, 1926*; Bowden, 1945; Storey, 1950; Mayeda & Vieira, 1995; Soares-Scott et al., 2003
		36	Lloyd, 1963*
	9		Beal, 1969; Soares-Scott et al., 2003
<i>P. jilekii</i> Wawra	9		Melo et al., 2001
<i>P. kermesina</i> Link & Otto	9	18	Storey, 1950; Beal, 1969
		18	Mayeda & Vieira, 1995; Melo et al., 2001
<i>P. laurifolia</i> L.	9	18	Storey, 1950
		18	Simmonds, 1954
<i>P. ligularis</i> Juss		18	Storey, 1950
	9	18	Beal, 1969
	9		Beal, 1971*
		18	Guerra, 1986; Snow & MacDougal, 1993; Soares-Scott et al., 2001
<i>P. malacophylla</i> Mast.	9	18	Souza et al., 2003
<i>P. manicata</i> (Juss) Pers.		18	Storey, 1950
<i>P. mucronata</i> Lam.	9	18	Guerra, 1986; Melo et al., 2001; Souza et al., 2001
<i>P. nitida</i> Kunth		18	Dornelas & Vieira, 1991; Passos, 1999; Melo et al., 2001
<i>P. quadrangularis</i> L.		18	Janaki Ammal, 1945; Beckett, 1960; Soares-Scott et al., 1999; Souza et al., 2003
	9		Storey, 1950; Beal, 1969

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Espécies	n	2n	Referências
<i>P. semantic</i> Grebes.	9	18	Storey, 1950; Beal, 1969
<i>P. serrato-digitata</i>	9	18	Soares-Scott et al., 1999
<i>P. setacea</i> DC.	9	18	Soares-Scott et al., 1998, 2003
	9		Melo et al., 2001; Soares-Scott et al., 2003
<i>P. subpeltata</i> Ortega	9	18	Storey, 1950; Beal, 1969; Melo et al., 2001
<i>P. trisulca</i> Mast.		18	Snow & MacDougal, 1993
<b><i>Pseudomurucuja</i></b> (Harms) Killip			
<i>P. perfoliata</i> L.	12		Beal, 1971*
<b><i>Tacsonia</i></b> (Juss) Triana & Planch.			
<i>P. antioquiensis</i> H.Karst.	9		Beal, 1969
		18	Snow & MacDougal, 1993
<i>P. cumbalensis</i> (H.Karst.) Harms	9		Escobar, 1986
<i>P. mixta</i> L.f.		18	La Cour, 1952*; Melo et al., 2001
<i>P. tripartita</i> (Juss.) Poir.	9		Beal, 1969; Berry, 1987
		18	Bowden, 1945; Storey, 1950; Heiser, 1963*
<b>híbridos</b>			
<i>P. alata</i> x <i>P. caerulea</i>		18	Storey, 1950
<i>P. caerulea</i> x <i>P. quadrangularis</i>	9		La Cour, 1951*
<i>P. caerulea</i> x <i>P. sp</i>			Storey, 1950
<i>P. edulis</i> + <i>P. amethystina</i>		36	Dornelas, 1995
<i>P. edulis</i> + <i>P. cincinata</i>		36	Dornelas, 1995
<i>P. edulis</i> + <i>P. giberti</i>		36	Dornelas, 1995
<i>P. edulis</i> + <i>P. incarnata</i>		36	Knight, 1991; Soares-Scott et al., 1995
<i>P. edulis</i> x <i>P. alata</i>		18	Soares-Scott et al., 1995
<i>P. maliformis</i> x <i>P. laurifolia</i>		18	Storey, 1950
<i>P. quadrangularis</i> x <i>P. racemosa</i>		27	Beckett, 1960
<i>P. racemosa</i> x <i>P. coccinea</i>	9	18	Janaki Ammal, 1945*; Storey, 1950

As espécies estudadas no gênero *Passiflora* possuem amplitude significativa para tamanho e número de cromossomos, podendo ser agrupadas segundo o número básico de cromossomos (x) em três grupos: x = 6, x = 9 e x = 9 ou 10 que estão em maior frequência, mas há registros para x = 7, 10, 11, 12, 18 e 42. O número cromossômico 2n varia no grupo x = 6, havendo espécies com 2n = 12, 2n = 24, 2n = 36 e 2n = 84 cromossomos; no grupo x = 9 com espécies onde 2n = 18 cromossomos e no grupo x = 9 ou 10 com espécies 2n = 18, 2n = 20, 2n = 22. Em *P. foetida*, foram identificados vários números cromossômicos, 2n = 18, 28 e 22. Esses resultados parecem indicar a ocorrência de aneuploidia na evolução dessa espécie, o que nos

permite acreditar que esse processo também faz parte do processo evolutivo no gênero *Passiflora*.

O menor número haplóide é  $x = 6$  ( $n = 6$ ) e sugere a ocorrência de poliploidia nos processos evolutivos. Uma possível triploidia foi sugerida para a origem das espécies com  $2n = 18$  (Storey, 1950), hexaploidia nas espécies com  $2n = 36$  (Meletti et al., 1992) e poliploidia na espécie *P. lutea* com  $2n = 84$  (Bowden, 1940, 1945).

No gênero, constata-se uma variação no nível de ploidia que vai até  $14x$  ( $14n$ ).

Todas as espécies horticulturalmente importantes mostram  $2n = 18$ , inclusive, *Passiflora edulis* (Figura 4) (Lopes, 1994; Soares-Scott, 1998).

Há indicações sugerindo que as espécies com  $2n = 18$  poderiam ter evoluído através da poliploidia ou pelo processo inverso, a partir de espécies com  $2n = 24$  por sucessivas perdas de pares cromossômicos.

Em *P. suberosa*, são descritos três números cromossômicos,  $2n=12$ , 24 e 36; essas diferenças estão associadas a grandes diferenças morfológicas nesse grupo.

A hipótese de perdas cromossômicas pode ser sustentada pela existência de espécies com números cromossômicos intermediários, com  $2n = 18$  (Heitz, 1927; Janaki Ammal, 1945),  $2n = 20$  (Nishiyama & Kondo, 1942; Guerra, 1986) e  $2n = 22$  (Bowden, 1945; Harvey, 1966) em *P. foetida* e  $2n = 20$  (Bowden, 1945),  $2n = 18$  (La Cour, 1952) em *P. gracilis*.

Segundo Melo et al. (2001), a análise citogenética, até o presente, divide o gênero *Passiflora* em três grandes grupos: um com  $n=6$ , 12,18 (5 subgêneros); outro com  $n=10$  (1 subgênero); um terceiro grupo com  $n=9,36$  (6 subgêneros). Há uma exceção com  $2n=14$ , para *P. holosericea* L. e *P. lobata* (Snow & MacDougal, 1993) que pode ter sido originado por disploidia de  $2n=12$ . Ainda segundo o autor, o registro para *P. lutea* L. ( $2n=84$ ) não foi confirmado em trabalhos posteriores, sugerindo que possam ser contagens imprecisas, devido à não-utilização de bloqueadores de divisão, assim como os diferentes números em *P. foetida* ( $2n=18, 20, 22$ ).

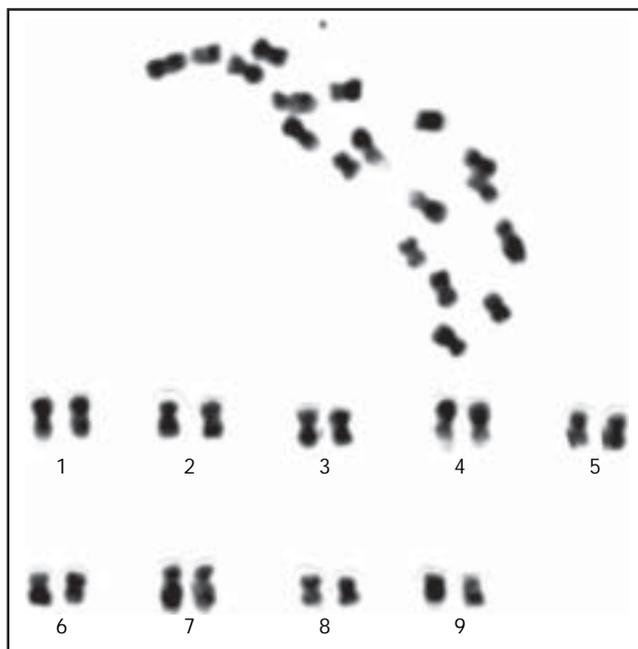


Figura 4. Metáfase mitótica de *Passiflora edulis*  $2n=18$ .

Melo & Guerra (2003) passam a considerar o grupo  $x=12$ , não como grupo secundário, já que ele aparentemente tem papel importante na evolução do gênero e é representado em outros gêneros da família. Dentro da citotaxonomia do grupo, é importante lembrar que  $x=6$  é derivado de  $x=12$  ou vice-versa.

Todas as espécies estudadas mostram cromossomos pequenos, com comprimento médio variando de 1,63 a 3,73  $\mu\text{m}$ . Possuem cariótipos em sua maioria simétricos, mas com diferenças significativas entre os táxons analisados até agora. Os centrômeros em posição mediana e submediana, com relação de braços variando de 1,12 a 1,59 e presença de satélites.

Foi detectada a presença de satélites em *P. maliformis*, *P. seemanni* e *P. quadrangularis* que possuem cromossomos muito pequenos sendo três pares com satélites (Beal, 1969a, 1969b).

Alguns cromossomos com satélite foram identificados por Mayeda & Vieira (1995) no par 8 das espécies, *P. edulis*, *P. amethystina*, *P. alata* e *P. giberti*.

Soares-Scott (1998) identificou satélites em *P. edulis* (4 e 7) e *P. incarnata* e três pares em *P. setacea* (4, 7 e 8) (Figura 5).

Melo et al. (2001) identificam satélites em *P. capsularis*, *P. misera*, *P. morifolia*, *P. coccinea* e *P. nitida*. Souza et al. (2003) apontam satélites em seis espécies (*P. alata*, *P. malacophylla*, *P. edmundoi*, *P. mucronata*, *P. galbana* e *P. quadrangularis*).

Foram encontradas divergências em relação a número de satélites e a posição deles. Em *P. edulis*, Mayeda & Vieira (1995) apontam dois satélites e Soares-Scott et al. (1999) três. Em *P. alata*, há divergências na localização dos cromossomos com satélite. Melo et al. (2001) observaram satélites nos dois pares menores, Soares-Scott et al. (1998, 1999) concordaram quanto ao par 7, mas indicaram também o par 4 e Souza et al. (2003) observaram-nos nos pares 1 e 2. Essas diferenças devem ocorrer por causa da qualidade da preparação citológica, devido ao grau de compactação dos cromossomos ou mesmo em razão da variabilidade em diferentes populações dentro das espécies.

Estudos citogenéticos em híbridos interespecíficos de *Passiflora*, tanto zigóticos como somáticos, são muito pouco frequentes. É importante considerar que a maioria dos híbridos obtidos, mesmo os que não foram analisados citogeneticamente é originada de progenitores com  $2n = 18$  cromossomos sempre envolvendo espécies de interesse agrônômico. Esses híbridos sexuais mostraram compatibilidade interespecífica, já que apresentaram alguma fertilidade na parte masculina ou feminina, apesar de não produzirem frutos sugerindo que podem ser espécies relacionadas e com origens em comum.



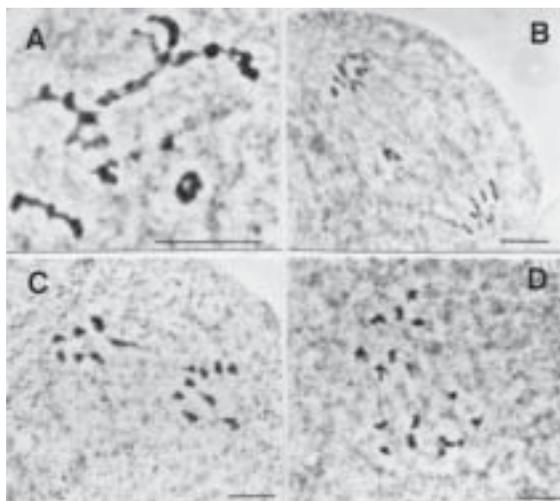
**Figura 5.** Cromossomos metafásicos de *P. setacea* portadores de satélites.

Híbridos interespecíficos em *Passiflora* foram obtidos por fusão de protoplastos por Otoni et al. (1995), Dornelas. (1995), Barbosa & Vieira (1997). Matos et al. (2005) obtiveram plantas por fusão de protoplastos, este material está sendo analisado molecular e citogeneticamente para confirmação da hibridação. Soares-Scott et al. (2003) observaram irregularidade meiótica e alterações na formação do pólen, bem como diminuição na viabilidade polínica em ambos os híbridos, sexual (*P. edulis* x *P. setacea*) e somático (*P. edulis* + *P. incarnata*). Quando se compara a meiose entre os híbridos, o híbrido sexual (Figuras 6 e 7) mostra-se mais regular que o somático.

O número cromossômico foi identificado nesses híbridos, mostrando  $2n=18$  (*P. edulis* x *P. setacea*) e  $4n=36$  (*P. edulis* + *P. incarnata*)

Na microsporogênese, observa-se a presença de multivalentes e a de univalentes confirmando, também, a recombinação meiótica no híbrido, fundamentais para a introdução gênica.

No híbrido somático *P. edulis*+ *P. incarnata*, observam-se diferenças no tamanho de grão de pólen e diminuição na viabilidade polínica (Soares-Scott et al. 2003). Barbosa & Vieira (1997) apesar de constatarem irregularidades na meiose, obtiveram alta viabilidade polínica no híbrido somático *P. edulis* f. *flavicarpa* + *P. amethystina*. A obtenção de pólenes viáveis indica que esses híbridos podem e devem ser usados em novos cruzamentos, sendo material com potencial no melhoramento genético.



**Figura 6.** Anormalidades em híbrido sexual *P. edulis* x *P. setacea*: A. multivalentes em MI. B. cromossomos retardatários em anáfase I. C. diferença de número de cromossomos diferentes nos pólos.

Fonte: Soares-Scott et al. (2003).

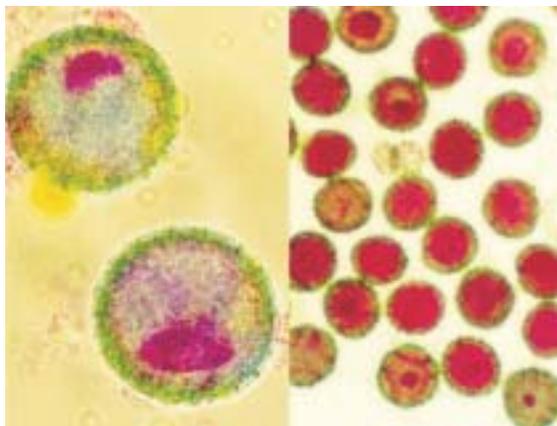


Figura 7. Grãos de pólen de *P. edulis* x *P. setacea*, pólen viáveis e inviáveis.

## Citogenética molecular em *Passiflora*

Melo & Guerra (2003), utilizando hibridação *in situ* FISH, tentaram encontrar correlação entre número de sítios rDNA 45s e 5S com nível de ploidia em 20 espécies de *Passiflora*. Entretanto, esse número pode variar bastante, conforme já observado por diversos autores em outros vegetais (Vanzela et al., 1998; Frello & Heslop-Harrison, 2000). Para o rDNA 5S, mostra-se em um único sítio à exceção de *P. suberosa* e *P. foetida* com 2 sítios e *P. misera* com 6 sítios, talvez indicando possível origem poliplóide.

Quanto a rDNA 45S, o sinal é maior, o número de sinais maiores também. A metodologia usada resultou em cromossomos muito compactados com dificuldade na localização dos pares portadores desses sítios, talvez pelo tempo empregado com o bloqueador de divisão que utiliza 24 horas. Segundo esses autores, as espécies de importância agrônômica (do grupo  $x=9$ ) indicam que a posição e o número de sítios de rDNA são muito restritos e que esse marcador não seria um marcador citológico para caracterizar espécies.

Soares-Scott et al. (2003) vêm trabalhando com hibridação *in situ* FISH utilizando a sonda de Pta 71 para a detecção das regiões organizadoras do nucléolo (Pta 71 que tem 9 kb e que contém o DNAr 45S (18S + 5,8S = 26S) de *Triticum aestivum* (Gerlach & Bedbrook, 1979).

As análises foram realizadas nas espécies *P. edulis*, *P. incarnata*, *P. setacea*, *P. coccinea* e nos híbridos *P. edulis* x *P. incarnata* e *P. edulis* x *P. setacea*. O híbrido *P. edulis* x *P. incarnata* apresentou dois sinais fluorescentes (Figura 8). No híbrido *P. edulis* x *P. setacea*, foi observado de quatro a seis sinais fluorescentes com essa mesma sonda (Figura 9). Pôde-se verificar que algumas marcações dos sítios de DNAr 45S envolveram apenas parte das constrições secundárias. Em *P. incarnata*, verificaram-se apenas dois sinais. As espécies *P. setacea* e *P. coccinea* mostraram 4 sinais.

A espécie progenitora, *P. edulis*, mostra quatro sinais, concordante com Melo & Guerra (2003) que observaram, também, nessa espécie 4 sítios subterminais de DNAr 45S. Esses resultados parecem confirmar a hipótese de herança nos híbridos de cromossomos portadores de satélite conforme sugerido anteriormente (Soares-Scott, 1998). No caso, talvez se possa observar perda ou recombinação de seqüências de rDNA 45S nesses híbridos por mecanismos de supressão gênica (Leitch & Bennet, 1977; Vogel et al., 1999).

A hibridização *in situ*, utilizando como sonda o DNA genômico total de uma espécie denominado de GISH (Genomic *In Situ* Hybridization), está sendo feita em híbridos de Passiflora (Soares-Scott et al., 2003).

O resultado demonstrou que existe realmente um híbrido (*P. edulis* x *P. setacea*) (Figura 10) e que a sonda feita foi capaz de evidenciar diferentes seqüências cromossômicas das duas espécies. Pôde-se verificar um lote de cinco cromossomos inteiros corados em vermelho o de *P. setacea*, outro lote de 9 com fluorescência em amarelo de *P. edulis* e um lote de coloração laranja indicando seqüências de ambas as espécies *P. setacea* e *P. edulis*.

Na microsporogênese, observa-se a presença de multivalentes e univalentes confirmando também a recombinação meiótica nos híbridos, fundamentais para a introdução gênica. Outros híbridos estão sendo trabalhados e vêm confirmando a eficiência do método e da sonda.

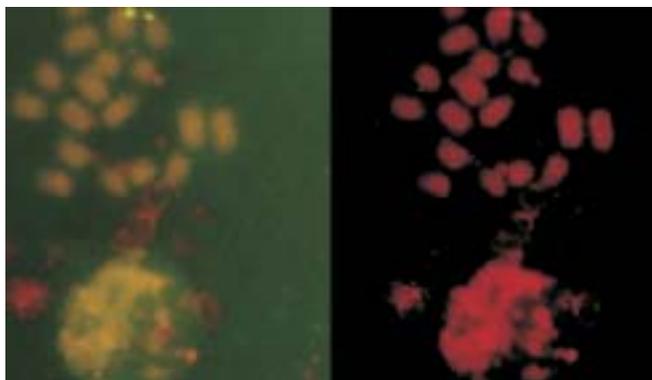


Figura 8. HIS rDNA45S *P. edulis* x *P. incarnata* 2 sinais.

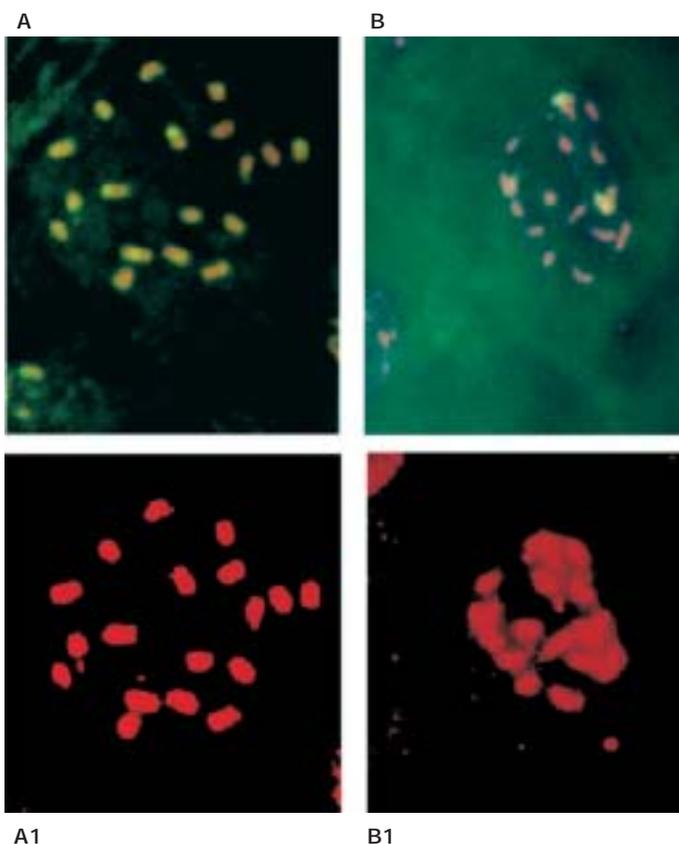


Figura 9. Hibridação *in situ* *Pedalis* x *P. setacea* quatro a seis sinais.

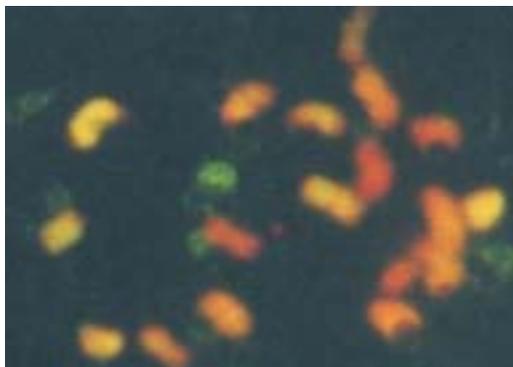


Figura 10. Hibridação genômica *in situ* (Gish), *P. edulis* x *P. setacea*.

## Conclusão

O conhecimento mais exato e preciso possível da origem e da relação entre as espécies indicará os procedimentos adequados à manipulação genética dentro de um programa de melhoramento genético. Portanto, o conhecimento adquirido nas áreas de biologia celular e molecular tem e vem contribuindo para o entendimento de como os genes estão organizados nos genomas.

## Referências bibliográficas

- BARBOSA, L. V.; VIEIRA M. L. C. Meiotic behavior of passion fruit somatic hybrids, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener + *P. amethystina* Mikan. **Euphytica**, v. 98, p. 121-127, 1997.
- BEAL, P. R. Cytology of the native Australian *Passiflora* species. 1. Chromosome number and horticultural value. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 26, n. 3, p. 407- 421, 1969a.
- BEAL, P. R. Chromosome numbers of exotic *Passiflora* species in Australia. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 26, n. 1, p. 73-81, 1969b.
- BEAL, P. R. Cytology of native Australian and several exotic *Passiflora* species. 2. Chromosome morphology. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 30, n. 1, p. 17-18, 1973.

BOWDEN, W. M. The chromosome complement and its evolutionary relationship to cold resistances in the higher plants. **Chronicles of Botany**, v. 6, p. 123-125, 1940.

BOWDEN, M. W. A list of chromosome numbers in higher plants. II *Menispermaceae* to *Verbenaceae*. **American Journal of Botany**, v. 32, p. 191-201, 1945.

BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; GUERRA, M. Citogenética molecular em cereais. In: BRAMMER, S. P.; IORCZESKI, E. J. (Org.). **Atualização em técnicas celulares e moleculares aplicadas ao melhoramento genético vegetal**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2002. p. 277-298.

CHENG, Z.; PRESTING, G. G.; BUELL, C. R.; WING, R. A.; JIANG, J. High-resolution pachytene chromosome mapping of bacterial artificial chromosomes anchored by genetic markers reveals the centromere location and the distribution of genetic recombination along chromosome 10 of rice. **Genetics**, v. 157, p. 1749-1757, 2001.

CONSOLARO, M. E. L.; PAGLIARINI, M. S.; CHAVES, L. J. Meiotic Behavior, Pollen Fertility and Seed Production in Brazilian Populations of *Centella asiatica* (L.) Urban (Umbelliferae). **Cytologia**, v. 61, p. 375-381, 1996.

DE JONG, J. H.; ZHONG, X.-B.; FRANSZ, P. F.; WENNEKES- VAN EDEN, J.; JACOBSEN, E.; ZABEL, P. High resolution FISH reveals the molecular and chromosomal organization of repetitive sequences of individual tomato chromosomes. In: OLMO, E.; REDI, C. A. **Chromosomes Today**. Switzerland: Birkhäuser Verlag, 2000. v. 13, p. 267-275.

DONG, J.; KHARB, P. CERVERA, M.; HALL, T. C. The use of FISH in chromosomal localization of transgenes in rice. **Methods in Cell Science**, v. 23, p. 105-113, 2001.

DORNELAS, M. C. **Cultura e fusão de protoplastos de *Passiflora* spp.** 1995. 182 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1995.

DRAYE, X.; LIN, Y.-R.; QIAN, X.-Y.; BOWERS, J. E.; BURROW, G. B.; MORRELL, P. L.; PETERSON, D. G.; PRESTING, G. G.; REN, S.-X.; WING, R. A.; PATERSON, A. H. Toward integration of comparative genetic, physical, diversity, and cytomolecular maps for grasses and grains, using the sorghum genome as a foundation. **Plant Physiology**, v. 125, p. 1325-1341, 2001.

ENDO, T. R.; GILL, B. S. Somatic karyotype, heterochromatin distribution, and nature of chromosome differentiation in common wheat, *Triticum aestivum* L. em Thell. **Chromosoma**, v. 89, p. 361-369, 1984.

FRELLO, S.; HESLOP-HARRISON, J. S. **Repetitive DNA sequences in *Crocus vernus* Hill (Iridaceae): The genomic organization and distribution of dispersed elements in the genus *Crocus* and its allies.** **Genome**, v. 43, n. 5, p. 902-909, 2000.

FRIEBE, B.; TULEEN, N.; JIANG, J.; GILL, B. S. Standart karyotype of *Triticum longissimum* and its cytogenetic relationship with *T. aestivum*. **Genome**, v. 36, p. 731-742, 1993.

GERLACH, W. L. N-banded karyotypes of wheat species. **Chromosoma**, v. 62, p. 49-56, 1977.

GERLACH, W. L.; BEDBROOK, J. R. Cloning and characterization of ribosomal RNA genes from wheat and barley. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 7, p. 1869-1885, 1979.

GILL, B. S.; FRIEBE, B.; ENDO, T. R. Standard karyotype and nomenclature system for description of chromosome bands and structural aberrations in wheat (*Triticum aestivum*). **Genome**, v. 34, n. 5, p. 830-839, 1991.

GUERRA, M. S. Citogenética de Angiospermas coletadas em Pernambuco. **Rev. Bras. Genet.**, v. 9, p. 21-40, 1986.

GUERRA, M. S. **Introdução à citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 142 p.

HARVEY, M. J. IOPB chromosome number reports VIII. **Taxon**, v. 15, p. 155-163, 1966.

HEITZ, E. Pflanzliche Chromosomen-Zahlen, ed. G. Tischler. **Tabulae Biologicae**, v. 4, p. 1-83, 1927.

HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer; a 1 step method. **Experientia**, v. 36, p. 1014-1015, 1980.

JANAKI AMMAL, E. K.; DARLINGTON, C. D. **Chromosome Atlas of cultivated plants**. London: George Allen and Unwin, 1945. 397 p.

JEWELL, D. C. Chromosome N-Banding in *Triticum aestivum* cv. Chinese Spring and *Aegilops variabilis*. **Chromosoma**, v. 71, p. 129-134, 1979.

JIANG, J.; FRIEBE, B.; GILL, B. S. Recent advances in alien gene transfer in wheat. **Euphytica**, v. 73, p. 199-212, 1994.

LA COUR, L. F. Chromosome counts of species and varieties of garden plants. **Annual Report-John Innes Horticultural Institute**, v. 42, p. 47-50, 1951.

LAW, C. N.; SNAPE, J. W. ; WORLAND, A. J. Aneuploidy in wheat and its uses in genetic analysis. In: LUPTON, F. G. H. **Wheat breeding**. London: Chapman and Hall, 1987. p. 71-108.

LEITCH, A. R.; SCHWARZACHER, T.; JACKSON, D.; LEITCH, I. J. An introduction to *in situ* hybridization. In: LEITCH, A. R.; SCHWARZACHER, T.; JACKSON, D.; LEITCH, I. J. **In situ hybridization: a practical guide**. Oxford: Bios Scientific, 1994. Cap. 1, p. 1-2.

LEITCH, I. J.; BENNETT, M. D. Polyploidy in angiosperms. **Trends in Plant Science**, v. 2, p. 470-476, 1997.

LOPES, S. C. Citogenética do maracujazeiro - *Passiflora* spp. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.). **Maracujá produção e mercado**. Vitória da Conquista: DFZ/ UESB, 1994. 255 p.

MARGARIDO V. P.; GALETTI P, M. Amplification of a GC-rich heterochromatin in the freshwater fish *Leporinus desmotes* (Characiformes, Anostomidae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 3, p. 569-573, 2000.

MATOS, G. V. C.; PASSOS, I. R. S.; BINSFIELD, P. C.; DORNELAS, M. C.; SCOTT, M. D. S.; SAWAZAKI, H. E.; MELETTI, L. M. M.; BERNACCI, L. C. Hibridação somática em *Passiflora* spp. **Genetics And Molecular Biology**, 2005. Suppl.

MAYEDA, L. Y.; VIEIRA, M. L. C. Estudo cariotípico de três espécies do gênero *Passiflora*(Passifloraceae). **Genetics And Molecular Biology**, v. 18, p. 426, 1995. Suppl.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; PINTO-MAGLIO, C. A. F.; MARTINS, F. P. Caracterização de Germoplasma de Maracujazeiro (*Passiflora* spp). **Revista Bras. Fruticultura**, v. 14, n. 2, p. 157-162, 1992.

MELETTI, L. M. M.; BERNACCI, L. C.; SOARES-SCOTT, M. D ; AZEVEDO FILHO, J. A; MARTINS, A. L. M. Variabilidade genética em caracteres morfológicos, agronômicos e citogenéticos de populações de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis). **Revista Brasileira De Fruticultura**, v. 25, n. 2, p. 275-278, 2003.

MELO, N. F. de; CERVI, A.; GUERRA, M. Karyologia and cytotaxonomy of the genus *Passiflora* L. ( Passifloraceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 226, p. 69-84, 2001.

MELO, N. F. de; GUERRA, M. Variability of the 5S and 45S rDNA Sites in *Passiflora* L. Species with Distinct Base Chromosome Numbers. **Annals of Botany**, v. 92, p. 309-316, 2003.

MORAES-FERNANDES, M. I.; ZANETTINI, M. H. B.; GUERRA, M. S.; DEL DUCA, L. J. A.; SERENO, M. J. C.; ZANELLA, C. C. Instabilidade cromossômica e adaptação em trigo. In: AGUIAR-PERECIN, M. L. R.; MARTINS, P. S.; BANDEL, G. **Tópicos de cito genética e evolução de plantas**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1985. p. 69-110.

MORAES-FERNANDES, M. I. B. de. Citogenética. In: OSÓ RIO, E. A. (Ed.). **Trigo no Brasil**. Campinas: Fundação Cargill, 1982. p. 95-144.

MORAES-FERNANDES, M. I. B. de; ZANATTA, A. C. A.; PRESTES, A. M.; CAETANO, V. R.; BARCELLOS, A. L.; ANGRA, D. C.; PANDOLFI, V. Cytogenetics and immature embryo culture at Embrapa Trigo breeding program: transfer of disease resistance from related species by artificial resynthesis of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p. 1051-1062, 2000. Suppl.

MURRAY, B. G. The cytology of the genus *Brista*, L. Graminae. I. Chromosome Numbers, karyotypes and Nuclear DNA variation. **Chromosoma**, Berlin, v. 49, p. 299-308, 1975.

NISHIYAMA I.; KONDO, N. **Report of the Kihara Institute for Biological Research**, v. 1, p. 29, 1942.

OTONI, W. C.; BLACKHALL, N. W.; d'UTRA VAZ, F. B.; CASALI, V. W.; POWER, J. B.; DAVEY, M. R. Somatic hybridization of the *Passiflora* species, *P. edulis* f. *flavicarpa* Degener and *P. incarnata* L. **J. Exp. Bot.**, v. 46, p. 777-785, 1995.

PAGLIARINI, M. S. Meiotic Behavior and Pollen Fertility in *Aptenia Cordifolia* (Aizoaceae). **Caryologia**, v. 43, n. 2, p. 157-162, 1990.

RAINA, S. N.; RANI, V. GISH technology in plant genome research. **Methods in Cell Science**, v. 23, p. 83-104, 2001.

RAVEN, P. H. The bases of angiosperm phylogeny: cytology. **Ann. Mo. Bot. Gard.** v. 62, p. 724-764, 1975.

RIEGER, R.; MICHAELIS, A.; GREEN, M. M. **Glossary of genetics and cytogenetics: classical and molecular**. New York: Springer, 1976. 647 p.

RUAS, C. F. **Evolução cariotípica no gênero *Mikania* Willd (Compositae)**. 1989. 137 f. Dissertação (Mestrado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1989.

SETHI, G. S. Towards the introgression of rye genes into wheat. In: MUJEEB-KAZI, A.; SITCH, L. A. (Ed.). **Review of advances in plant biotechnology: 1985-1988**. Mexico: CIMMYT, 1989. p. 145-155.

SHARMA, H. C.; GILL, B. S. New hybrids between *Agropyron* and wheat. 2. Production, morphology and cytogenetic analysis of F1 hybrids and backcross derivatives. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 66, p. 111-121, 1983.

SOARES-SCOTT, M. D. **Caracterização Citogenética de algumas Espécies e Híbridos Interespecíficos de *Passiflora***. 1998. Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

SOARES-SCOTT, M. D.; MELETTI, L. M. M.; ROSA, C.; RECCO-PIMENTEL, S. M. Análise citológica em híbridos interespecíficos de *Passiflora* L. **Genetics and Molecular Biology**, v. 18, p. 427, 1998. Suppl.

SOARES-SCOTT, M. D.; MAGOLIN, C. A.; RECCO-PIMENTEL, S. M. Análise citogenética e padronização de métodos de isolamento de DNA genômico de espécies e híbridos de *Passiflora* L. **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, p. 381, 1999. Suppl.

SOARES-SCOTT, M. D.; MELETTI, L. M. M.; RECCO-PIMENTEL, S. M. Análise citogenética molecular em *Passiflora* L.: Caracterização cromossômica e localização de RNAr por hibridação in situ (ISH) em híbridos interespecíficos. **Genetics and Molecular Biology**, 2002. Suppl.

SOARES-SCOTT, M. D.; MELETTI, L. M. M.; RECCO-PIMENTEL, S. M. Meiotic behaviour and pollen fertility in sexual and somatic hybrids of *Passiflora* species. **Caryologia**, v. 56, n. 1, p. 129-138, 2003.

SOARES-SCOTT, M. D.; MELETTI, L. M. M.; BERNACCI, L. C.; PASSOS, I. R. S.; FREGONEZI, J. N.; VANZELA, A. L. L.; JUNQUEIRA, N. T. V.; RECCO-PIMENTEL, S. M. Caracterização Cromossômica e Identificação de Genomas Parentais em Híbrido Interespecífico de *Passiflora*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 6., 2003, Campos dos Goytacazes. **Resumos...** Campos dos Goytacazes: UENF, 2003. 1 CD-ROM.

SNOW, N.; MacDOUGAL, J. P. New Chromosomes Reports in *Passiflora* (Passifloraceae). **Syst. Bot.**, v. 18, n. 2, p. 261-273, 1993.

SOUZA, M. M. de; PEREIRA, T. N. S.; SILVA, L. C.; REIS, D. S. S.; SUDRÉ, C. P. Karyotype of six *Passiflora* species in the State of Rio de Janeiro. **Cytologia**, v. 68, n. 2, p. 165-171, 2003.

STEBBINS, G. P. **Chromosome Evolution in higher Plants**. Londres: Edward Arnold, 1971.

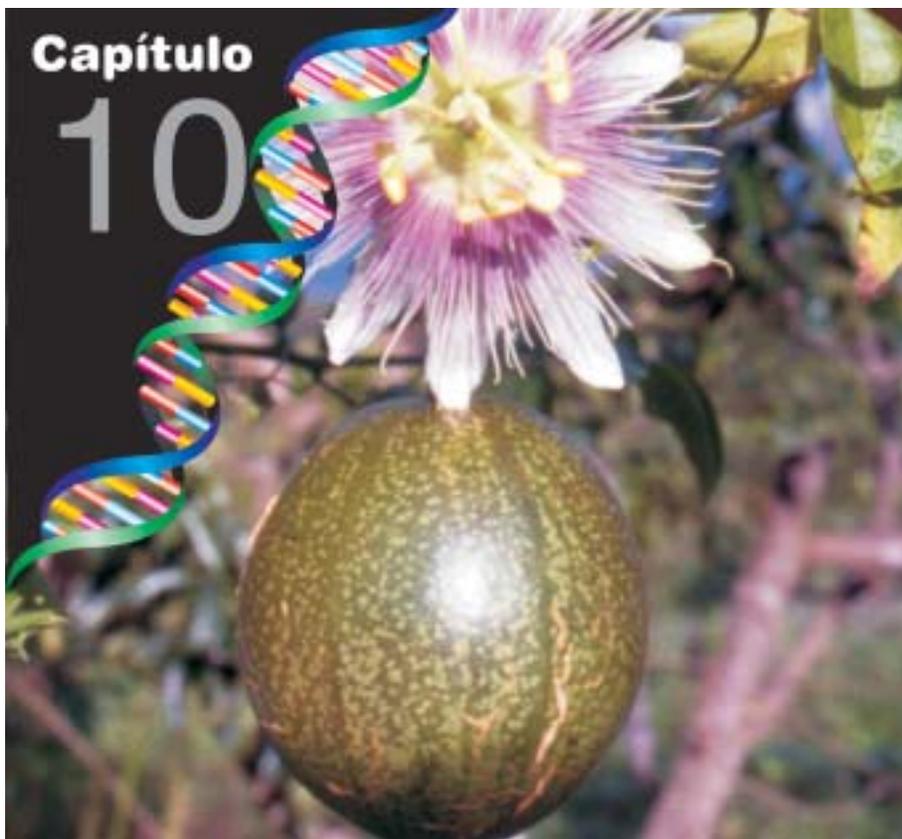
STOREY, W. B. Chromosomes numbers of some species of *Passiflora* occurring in Hawaii. **Pacific Science**, v. 4, p. 37-42, 1950.

VANZELA, A. L. L.; CUADRADO, A.; JOUVE, N. Multiple locations of the rDNA sites in holocentric chromosomes of *Rhynchospora* (Cyperaceae). **Chromosome Research**, v. 6, n. 5, p. 345-349, 1998.

VOGEL, J. C.; BARRET, J. A.; RUMSEY, F. J.; GIBBY, M. Identifying multiple origins in polyploid homosporous pteridophytes. In: HOLLINGSWORTH, P. M.; BATEMAN, R. M.; GORNALL, R. J. (Ed.). **Molecular systematics and plant evolution**. London: Taylor & Francis, 1999. p. 101-117.

VOSA, C. G. Plant chromosome banding and cytotaxonomy. **Tópicos de citogenética e evolução de plantas**. In: AGUIAR-PERECIN, M. L. R.; MARTINS, P. S.; BANDEL, G. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1985. p. 17-25.





Misturou o azul da montanha distante,  
E o brilho impetuoso de um manancial,  
Junto ao branco das garças no exato instante  
Em que todas revoavam sobre amplo ninhal.

Foi da plumagem rubra da arara elegante,  
E dos tons de carmim de um ocaso outonal  
Que surgiram as cores mais predominantes  
Das espécies encontradas no Brasil Central.

Mas faltava algo para lá de importante  
Retratar o sol em sua cor triunfal.  
Por isso o amarelo é a cor mais constante  
Do fruto quando está em maturação final.

*Geovane Alves de Andrade*

# Genética quantitativa aplicada ao melhoramento genético do maracujazeiro

---

Alexandre Pio Viana  
Gustavo Menezes Gonçalves

## Introdução

A fruticultura constitui-se em um dos mais promissores ramos do agronegócio brasileiro a qual vem aumentando em importância, nos últimos anos, no Brasil, propiciando diversificação agrícola e sendo expressiva fonte de renda para produtores. Nesse contexto, na cultura do maracujazeiro, tem-se notado grande crescimento, com seu mercado em expressiva expansão, tendo sido produzidas no Brasil 317.146 toneladas em 1999 (Agriannual, 2002).

Essa cultura apresenta características interessantes sob o ponto de vista socioeconômico, pois necessita de considerável mão-de-obra, fornece estabilização do fluxo de renda, uma vez que é colhido e de forma continuada por safra e gera divisas para o País (Leite et al., 1994).

Entretanto, para vislumbrar todo esse mercado, é necessário considerar fatores limitantes da cultura do maracujazeiro, como é o caso da baixa produtividade causada, entre outras causas, pela falta de genótipos altamente produtivos e pela grande variabilidade existente em pomares comerciais, refletindo a necessidade do melhoramento genético para a espécie.

Nesse contexto, estudos em genética quantitativa para essa espécie, envolvendo as várias características de interesse para o melhoramento, são

raros e têm uma abordagem bastante superficial, levando a uma insipiência no conhecimento da ação gênica das principais características. Trabalhos que visem estimar parâmetros genéticos nas populações de maracujazeiro-amarelo em estudo, selecionar alternativas de seleção mais eficientes por meio de ganhos preditos, estimar as associações entre as diversas características estudadas, entre outros, são de fundamental importância e devem ser estimulados nas várias equipes de pesquisa com essa cultura no Brasil.

## **Melhoramento do maracujazeiro**

O melhoramento do maracujazeiro está diretamente relacionado ao fruto, focalizando três pontos principais: melhoramento visando atender as exigências do mercado "qualidade", aumento na produtividade e resistência a doenças.

A escolha do germoplasma é base essencial de qualquer programa de melhoramento. As características do germoplasma determinarão o potencial máximo ao qual a população submetida ao melhoramento pode chegar, e os métodos de melhoramento o quanto do potencial máximo será alcançado (Hallauer & Miranda Filho, 1988).

Sendo o maracujazeiro uma planta alógama, é possível aplicar vários métodos de melhoramento seja via aumento da frequência de genes favoráveis, seja pela exploração do vigor híbrido (Bruckner, 1997). A frequência de genes favoráveis pode ser aumentada pela seleção massal ou pela seleção com teste de progênies, já o vigor híbrido é explorado por meio de híbridos, variedades sintéticas ou compostos (Albuquerque, 2001).

Oliveira & Ferreira (1991) citaram como métodos de melhoramento para o maracujazeiro a introdução de plantas, a hibridação, a seleção massal e a seleção com teste de progênie.

A seleção com teste de progênies pode ser realizada com progênies de meios-irmãos ou irmãos completos. Progênies de meios-irmãos podem

ser facilmente obtidas coletando-se um fruto por planta selecionada, sendo esta fecundada por pólen provenientes da população. No caso de irmãos completos, há necessidade de realização de polinização controlada entre plantas selecionadas (Bruckner, 1997).

A heterose é mais bem explorada em híbridos que podem ser obtidos a partir de linhagens endogâmicas selecionadas, variedades de polinização aberta, clones ou outras populações divergentes (Allard, 1999).

De acordo com Hallauer & Miranda Filho (1988) compostos podem ser produzidos de cruzamentos, em todas as combinações possíveis, entre variedades ou populações de polinização livre, com boa capacidade geral de combinação. Assim, compostos podem ser considerados como boa opção de melhoramento para o maracujazeiro em que a maior produtividade pode ser combinada com maior eficiência na polinização, diminuindo os efeitos da incompatibilidade, sendo que suas sementes podem ser multiplicadas pelo produtor.

## **Parâmetros genéticos**

A estimação de parâmetros genéticos tem fundamental importância para programas de melhoramento, pois permitem identificar a natureza da ação dos genes envolvidos no controle dos caracteres quantitativos e assim avaliar a eficiência das diferentes estratégias de melhoramento pela obtenção de ganhos genéticos preditos e manutenção de uma base genética adequada, sendo os parâmetros genéticos mais importantes, as variâncias genéticas aditiva e não-aditiva, as herdabilidades e as correlações (Cruz & Carneiro, 2003). As estimativas de parâmetros genéticos não devem ser extrapoladas para outras populações ou outras condições experimentais, pois são características próprias da população em estudo.

Os parâmetros genéticos podem ser obtidos da análise de variância dos dados, realizadas conforme delineamentos genéticos pelos quais se estimam os componentes de variância genética de uma população.

Segundo Cruz & Carneiro (2003), um delineamento genético é qualquer sistema de cruzamento planejado, estabelecido de forma que se conheça a relação de parentesco entre indivíduos ou grupos de indivíduos, sendo exemplos os delineamentos I e II de Comstock e Robinson, os dialelos e os ensaios de famílias.

Fisher (1918), citado por Furtado (1996), foi quem primeiro partiu a variação genotípica desmembrada em: variância genética aditiva - atribuída aos efeitos médios dos genes, variância devida aos desvios da dominância - resultante de interações entre alelos de um mesmo loco e variância epistática - atribuída a interações alélicas entre diferentes locos.

Segundo Falconer (1987), a variância genética aditiva é a principal causa da semelhança entre parentes, pois é a parte da variação genética herdável, assim, ela é o determinante principal das propriedades genéticas de uma população e da resposta da população à seleção.

De acordo com Hanson (1963), a herdabilidade pode ser definida como a fração do diferencial de seleção que se espera ganhar quando a seleção é praticada sobre uma unidade de seleção definida. Assim, a herdabilidade pode ser usada no sentido amplo ou no restrito, no primeiro caso considera-se a variabilidade genética total em relação à fenotípica. Já a herdabilidade no sentido restrito considera apenas a porção aditiva da variação genética em relação à fenotípica, ou seja, a fração das diferenças fenotípicas entre os pais que se espera recuperar entre os descendentes.

A herdabilidade no sentido restrito é mais útil nos programas de melhoramento do que a no sentido amplo, pois quantifica a proporção aditiva da variância genética que pode ser transmitida para a próxima geração, sendo a herdabilidade no sentido amplo importante no caso de plantas de propagação vegetativa, em que o genótipo é herdado integralmente pelos descendentes. No caso de maracujazeiro-amarelo, a seleção baseada em clones não tem apresentando resultados de ampla aplicação, demonstrados pela falta de adaptabilidade e estabilidade dos genótipos selecionadas, alta incidência de doenças em locais específicos,

causados provavelmente pelo estreitamento da base genética da população. Estudos com seleção recorrente devem ser estimulados, uma vez que podem potencializar os ganhos em várias características pelo uso de índices multivariados e correta aplicação dos métodos de melhoramento.

O conhecimento da associação entre as características é ponto importante de um programa de melhoramento bem planejado. As correlações são levadas em consideração na escolha dos métodos de melhoramento quando se formulam estratégias de seleção simultâneas para as várias características estudadas, predizendo a alteração na média de um caráter quando se seleciona em outro, ou quando se objetiva melhorar algum caráter específico que apresente baixa herdabilidade ou problemas em sua avaliação, em que pode ser utilizada uma característica de fácil mensuração e alta herdabilidade correlacionada com esta outra.

## **Delineamentos genéticos aplicáveis ao maracujazeiro-amarelo**

Vários delineamentos estão disponíveis para utilização na cultura do maracujazeiro-amarelo, seu uso e aplicação vão depender da facilidade de obtenção das progênies. Citam-se os delineamentos I, II e III de Comstock & Robinson (1948), os dialelos e suas variações nas interpretações dos resultados. O Delineamento II parte do cruzamento entre um grupo de fêmeas e machos em esquema fatorial onde se tem as mesmas pressuposições do delineamento I. O delineamento III parte de progenitores em linhas puras, obtendo-se os F1 e F2 e retrocruzando-se os F2 com ambos os pais para a obtenção das progênies, sendo os machos indivíduos F2 (efeito aleatórios) e os parentais apresentando efeito fixo. Sendo este último de aplicação restrita para maracujazeiro-amarelo, devido à dificuldade de obtenção de linhagens puras.

O Delineamento I é utilizado com o objetivo de se estimarem os componentes de variância genética de uma população (Hallauer & Miranda Filho, 1988, Cruz & Carneiro, 2003). O esquema de famílias desse

delineamento, freqüentemente utilizado na cultura do milho (Hallauer & Miranda Filho, 1988; Eyherabide & Hallauer, 1991; Furtado, 1996; Paterniani & Campos, 1999), permite adotar diferentes estratégias de seleção, como seleção entre machos, entre fêmeas, entre fêmeas dentro de machos e seleção combinada, quando a avaliação é feita em nível de média ou total de parcelas, que são representadas por um grupo de indivíduos, amostras da descendência de determinado cruzamento (Cruz & Carneiro, 2003).

Utilizando o Delineamento I de Comstock & Robinson (1948), é possível estimar os coeficientes de correlação genética aditiva (Furtado, 1996), ou seja, a fração herdável da correlação genética. A correlação pode ser causada por efeitos pleiotrópicos dos genes ou pela falta de equilíbrio de ligação (Vencovsky, 1978), mas de acordo com Falconer (1987), a principal causa da correlação genética é a pleiotropia, pois as ligações gênicas são causas transitórias.

Esse delineamento envolve a avaliação de progênies obtidas de cruzamentos entre plantas tomadas ao acaso em uma população na qual cada macho (m) é cruzado com um igual número de fêmeas (f), sendo um grupo diferente de fêmeas para cada macho, produzindo mf progênies para avaliação (Cruz & Carneiro, 2003). Furtado (1996) relata que a estrutura genética das progênies é formada por irmãos completos e meios-irmãos, apresentando o primeiro, ambos os pais em comum, e o segundo, apenas o progenitor masculino em comum. De acordo com o esquema abaixo, percebe-se a facilidade de aplicação desse delineamento para maracujazeiro-amarelo e seu potencial de aplicação em estudos de genética quantitativa.

$$\begin{array}{c}
 m_1 \times \left\{ \begin{array}{l} f_1 = p_{1,1} \\ f_2 = p_{1,2} \\ f_3 = p_{1,3} \\ f_4 = p_{1,4} \\ f_5 = p_{1,5} \end{array} \right. \quad
 m_2 \times \left\{ \begin{array}{l} f_6 = p_{2,6} \\ f_7 = p_{2,7} \\ f_8 = p_{2,8} \\ f_9 = p_{2,9} \\ f_{10} = p_{2,10} \end{array} \right. \quad
 m_m \times \left\{ \begin{array}{l} f_b = p_{m,b} \\ f_c = p_{m,c} \\ f_d = p_{m,d} \\ f_e = p_{m,e} \\ f_f = p_{m,f} \end{array} \right.
 \end{array}$$

Por ser um delineamento genético com efeitos aninhados, as esperanças dos quadrados médios são obtidas para um modelo estatístico hierarquizado. Assim, os componentes de variância, associados aos efeitos de

machos e aos efeitos de fêmeas dentro de machos, podem ser estimados a partir dos quadrados médios apropriados. O conhecimento da co-variância entre parentes possibilita o relacionamento desses componentes de variância com os componentes de variância genética: variância genética aditiva ( $\hat{\sigma}_A^2$ ) e variância genética devida aos desvios de dominância ( $\hat{\sigma}_D^2$ ) (Furtado, 1996; Cruz & Carneiro, 2003). No modelo utilizado, o componente de variância associado ao efeito do macho ( $\hat{\sigma}_M^2$ ) representa a co-variância entre meios-irmãos, e o componente de variância associado aos efeitos de fêmeas dentro de macho ( $\hat{\sigma}_F^2$ ) corresponde à diferença entre a co-variância de irmãos completos e a co-variância de meios-irmãos.

## Aplicação dos delineamentos em maracujazeiro-amarelo

Na cultura do maracujazeiro, alguns delineamentos genéticos podem ser utilizados para a correta estimação de parâmetros importantes na orientação dos procedimentos a serem adotados, assim como os métodos de melhoramento a serem elaborados. A obtenção das progênies pode ser alcançada facilmente por meio de esquemas de cruzamentos controlados, como exemplo, citam-se as progênies de irmãos completos obtidas de trabalhos desenvolvidos por Viana (2004) e Gonçalves (2005) no norte do Estado do Rio de Janeiro onde foram amostradas plantas ao acaso nas linhas de plantio, em áreas comerciais, em uma população formada pelos seguintes materiais: Maguary, Yellow Master e seleções de São Francisco do Itabapoana, com coeficiente de endogamia  $F=0$ . Foram feitos cruzamentos seguindo o Delineamento I, procedimento proposto por Comstock & Robinson (1948), formando progênies de irmãos completos e meios-irmãos. Para tanto, uma planta doadora de grãos de pólen (macho) foi cruzada com um grupo de cinco plantas receptoras (fêmeas), de modo que cada macho foi cruzado com um grupo de fêmeas diferentes, obtendo-se três frutos por fêmea.

A estrutura genética das progênies incluiu irmãos completos e meios-irmãos. Os indivíduos dentro de cada progênie de fêmea são irmãos

completos e, dentro de progênies de macho, dois indivíduos tomados ao acaso podem ser irmãos completos ou meios-irmãos.

Logo em seguida, foram instalados experimentos em três ambientes, Miracema, RJ, Viçosa, MG e Campos dos Goytacazes, RJ.

O delineamento estatístico utilizado foi em blocos ao acaso em que as progênies (tratamentos) foram agrupadas em três "sets" que constituem grupos de tratamentos, cada qual com três repetições. As principais características avaliadas foram: número de dias até a antese, número de frutos por planta, peso de frutos, comprimento de frutos, largura de frutos, espessura de casca, porcentagem de polpa. A seguir serão discutidas as análises envolvidas nesse tipo de delineamento e as informações obtidas deste trabalho.

## Análises de variância

### Análises de variância individuais

Pela estrutura do delineamento adotado, pode-se montar o seguinte quadro de análise de variância, considerando-se os ambientes individuais.

$$Y_{jkmf} = \mu + S_j + R/S_{(j)k} + M/S_{(j)m} + F/M/S_{(jm)f} + \epsilon_{jkmf}$$

onde:

$m$  = constante geral;

$S_j$  = efeito do  $j$ -ésimo set.  $j = 1, 2, \dots, s$ .  $S_j \sim \text{NID}(0, s^2_s)$ ;

$R/S_{(j)k}$  = efeito da  $k$ -ésima repetição dentro do  $j$ -ésimo set.  $k = 1, 2, \dots, r$ .  $R/S_{(j)k} \sim \text{NID}(0, s^2_R)$ ;

$M/S_{(j)m}$  = efeito do  $m$ -ésimo macho dentro do  $j$ -ésimo set.  $m = 1, 2, \dots, m$ .  $M/S_{(j)m} \sim \text{NID}(0, s^2_M)$ ;

$F/M/S_{(jm)f}$  = efeito da  $f$ -ésima fêmea hierarquizada ao  $m$ -ésimo macho.  $f = 1,$

$$2, \dots, f. F/M/S_{(jm)_f} \sim \text{NID}(0, s_F^2);$$

$\epsilon_{jkmf}$  = erro experimental,  $\sim \text{NID}(0, s^2)$ .

Quando se tem número de fêmeas desigual aos demais para algum macho, nas estimativas realizadas através das esperanças do quadrado médio, em que se utiliza o número de fêmeas “f”, este pode ser corrigido conforme recomendam Cruz & Carneiro (2003) e Barbin (1993), considerando um número k de fêmeas que representa um valor médio ponderado, dado por:

$$k = \left( \frac{\sum_{i=1}^m f_i - \frac{\sum_i f_i^2}{\sum_i f_i}}{m-1} \right) \frac{1}{m-1}$$

onde: “f” representa fêmeas e “m” machos.

Encontram-se, na Tabela 1, as esperanças dos quadrados médios e o teste F para as fontes de variação utilizadas nas análises individuais, consideram-se os efeitos associados a esse modelo todos aleatórios.

**Tabela 1.** Modelo genético estatístico com as esperanças dos quadrados médios e teste F utilizados nas análises individuais.

FV	GL	QM	E(QM)	F
Set (S)	s-1			
Repetição (R) / S	s(r-1)			
[Progênieis]	[s(mf-1)]	QM <sub>4</sub>	s <sup>2</sup> + rs <sub>p</sub> <sup>2</sup>	QM <sub>4</sub> /QM <sub>1</sub>
Machos (M) / S	s(m-1)	QM <sub>3</sub>	s <sup>2</sup> + rs <sub>F</sub> <sup>2</sup> + rfs <sub>M</sub> <sup>2</sup>	QM <sub>3</sub> /QM <sub>2</sub>
Fêmeas (F) / M / S	sm(f-1)	QM <sub>2</sub>	s <sup>2</sup> + rs <sub>F</sub> <sup>2</sup>	QM <sub>2</sub> /QM <sub>1</sub>
Erro	s(r-1)(mf-1)	QM <sub>1</sub>	s <sup>2</sup>	
Total	smfr-1			

## Análises de variância conjuntas

Para as análises de variância conjuntas, pode-se adotar o modelo misto, com efeito de ambiente sendo fixo e os demais aleatórios, seguindo o seguinte modelo:

$$Y_{ijkmf} = \mu + E_l + S_j + ES_{lj} + R/ES_{(lj)k} + M/S_{(j)m} + F/M/S_{(jm)f} + EM/S_{(j)lm} + EF/M/S_{(j)mfl} + \varepsilon_{ijkmf}$$

onde:

$m$  = constante geral;

$E_l$  = efeito do  $l$ -ésimo ambiente.  $l = 1, 2, \dots, e$ ;

$S_j$  = efeito do  $j$ -ésimo set.  $j = 1, 2, \dots, s$ .  $S_j \sim \text{NID}(0, s^2_s)$ ;

$ES_{lj}$  = efeito da interação do  $l$ -ésimo ambiente com o  $j$ -ésimo set;

$R/ES_{(lj)k}$  = efeito da  $k$ -ésima repetição dentro da interação ambiente x set.  $k = 1, 2, \dots, r$ .  $R/ES_{(lj)k} \sim \text{NID}(0, s^2_R)$ ;

$M/S_{(j)m}$  = efeito do  $m$ -ésimo macho dentro do  $j$ -ésimo set.  $m = 1, 2, \dots, m$ .  
 $M/S_{(j)m} \sim \text{NID}(0, s^2_M)$ ;

$F/M/S_{(jm)f}$  = efeito da  $f$ -ésima fêmea hierarquizada ao  $m$ -ésimo macho.  $f = 1, 2, \dots, f$ .  $F/M/S_{(jm)f} \sim \text{NID}(0, s^2_F)$ ;

$EM/S_{(j)lm}$  = efeito da interação ambiente x macho dentro do  $j$ -ésimo set.  
 $EM/S_{(j)lm} \sim \text{NID}(0, s^2_{EM})$ ;

$EF/M/S_{(j)mfl}$  = efeito da interação ambiente x fêmea dentro do  $m$ -ésimo macho.  $EF/M/S_{(j)mfl} \sim \text{NID}(0, s^2_{EF})$ ;

= erro experimental,  $\varepsilon_{ijkmf} \sim \text{NID}(0, s^2)$ .

Encontram-se, na Tabela 2, as esperanças dos quadrados médios e o teste F para as fontes de variações utilizadas na análise conjunta.

**Tabela 2.** Modelo genético estatístico com as esperanças dos quadrados médios e teste F utilizados nas análises conjuntas.

FV	GL	QM	E(QM) <sup>1/</sup>	F
Ambiente (E)	e-1	QM <sub>10</sub>	$\sigma^2 + r \theta \sigma_{EF}^2 + rf \theta \sigma_{EM}^2 + fm \sigma_R^2 + fmr \theta \sigma_{ES}^2 + fmrs \Phi_E$	QM <sub>10</sub> /QM <sub>8</sub>
Set (S)	s-1	QM <sub>9</sub>	$\sigma^2 + re \sigma_F^2 + ref \sigma_M^2 + refm \sigma_S^2$	
E x S	(e-1)(s-1)	QM <sub>8</sub>	$\sigma^2 + r \theta \sigma_{EF}^2 + rf \theta \sigma_{EM}^2 + fm \sigma_R^2 + fmr \theta \sigma_{ES}^2$	
Repetição (R) / E x S	es(r-1)	QM <sub>7</sub>	$\sigma^2 + fm \sigma_R^2$	
[Progênies]	[s(mf-1)]	QM <sub>6</sub>	$\sigma^2 + re \sigma_P^2$	QM <sub>6</sub> /QM <sub>1</sub>
Machos (M) / S	s(m-1)	QM <sub>5</sub>	$\sigma^2 + re \sigma_F^2 + ref \sigma_M^2$	QM <sub>5</sub> /QM <sub>4</sub>
Fêmeas (F) / M / S	ms(f-1)	QM <sub>4</sub>	$\sigma^2 + re \sigma_F^2$	QM <sub>4</sub> /QM <sub>1</sub>
E x M / S	s(e-1)(m-1)	QM <sub>3</sub>	$\sigma^2 + r \theta \sigma_{EF}^2 + rf \theta \sigma_{EM}^2$	QM <sub>3</sub> /QM <sub>2</sub>
E x F / M / S	ms(e-1)(f-1)	QM <sub>2</sub>	$\sigma^2 + r \theta \sigma_{EF}^2$	QM <sub>2</sub> /QM <sub>1</sub>
Erro	es(r-1)(fm-1)	QM <sub>1</sub>	$\sigma^2$	
Total	emrsf-1			

$${}^{1/} \theta = \frac{e}{e-1}; \quad \Phi_E = \frac{\sum E_i^2}{e-1}$$

## Parâmetros genéticos da população

### Componentes de variância genética

Com base nos valores de quadrados médios, obtidos pela análise de variância, podem-se estimar os componentes de variância associados aos efeitos de natureza genética do modelo estatístico, efeitos de macho ( $\hat{\sigma}_M^2$ ) e de fêmea dentro de macho ( $\hat{\sigma}_F^2$ ), por:

$$\hat{\sigma}_M^2 = \frac{QM_3 - QM_2}{rf} ; \hat{\sigma}_M^2 = \frac{QM_5 - QM_4}{ref}, \text{ para análise individual e conjunta respectivamente.}$$

$$\hat{\sigma}_F^2 = \frac{QM_2 - QM_1}{r} ; \hat{\sigma}_F^2 = \frac{QM_4 - QM_1}{re}, \text{ para análise individual e conjunta respectivamente.}$$

A natureza desses componentes pode ser estabelecida pelo conhecimento da co-variância entre os indivíduos aparentados avaliados no Delineamento I (irmãos completos - IC e meios-irmãos - MI), segundo Furtado (1996) e Cruz & Carneiro (2003), dadas por:

$$COV(IC) = \sigma_M^2 + \sigma_F^2 ; COV(MI) = \sigma_M^2$$

Por princípio de semelhança entre aparentados, as co-variâncias entre IC e MI podem ser expressas em termos de variância genética aditiva ( $\hat{\sigma}_A^2$ ) e variância genética devida aos desvios de dominância ( $\hat{\sigma}_D^2$ ). Considerando a ausência de epistasia e uma população não endogâmica ( $F=0$ ), de acordo com Falconer (1987) e Cruz & Carneiro (2003), têm-se:

$$COV(IC) = \frac{1}{2}\sigma_A^2 + \frac{1}{4}\sigma_D^2 ;$$

$$COV(MI) = \frac{1}{4}\sigma_A^2$$

Então as co-variâncias entre parentes podem ser relacionadas com os componentes de variância genética, assim:

$$\hat{\sigma}_A^2 = 4\hat{\sigma}_M^2 ;$$

$$\hat{\sigma}_D^2 = 4(\hat{\sigma}_F^2 - \hat{\sigma}_M^2)$$

## Coeficientes de herdabilidade

A herdabilidade, sob o conceito de seleção, pode ser definida como a fração do diferencial de seleção que se espera ganhar quando a seleção é praticada sobre determinada unidade de seleção, assim, para cada unidade de seleção, podem-se estimar os coeficientes de herdabilidade nos sentidos amplo e restrito, conforme descrito por Furtado (1996) e Cruz & Carneiro (2003).

### a) Herdabilidades para seleção baseada na média de machos

Neste caso, a seleção é praticada entre os valores médios obtidos para cada família de macho, assim, as herdabilidades nos sentidos amplo ( $h_{MA}^2$ ) e no restrito ( $h_{MR}^2$ ), são dadas por:

- Para as análises individuais:

$$h_{MA}^2 = \frac{\frac{f+1}{4f} \hat{\sigma}_A^2 + \frac{1}{4f} \hat{\sigma}_D^2}{\hat{\sigma}_M^2 + \frac{\hat{\sigma}_F^2}{f} + \frac{\hat{\sigma}^2}{rf}} = \frac{\hat{\sigma}_M^2 + \frac{\hat{\sigma}_F^2}{f}}{\frac{QM_3}{rf}} ; \quad h_{MR}^2 = \frac{\frac{f+1}{4f} \hat{\sigma}_A^2}{\frac{QM_3}{rf}}$$

- Para a análise conjunta:

$$h_{MA}^2 = \frac{\frac{f+1}{4f} \hat{\sigma}_A^2 + \frac{1}{4f} \hat{\sigma}_D^2}{\hat{\sigma}_M^2 + \frac{\hat{\sigma}_F^2}{f} + \frac{\hat{\sigma}^2}{ref}} = \frac{\hat{\sigma}_M^2 + \frac{\hat{\sigma}_F^2}{f}}{\frac{QM_5}{ref}} ; \quad h_{MR}^2 = \frac{\frac{f+1}{4f} \hat{\sigma}_A^2}{\frac{QM_5}{ref}}$$

### b) Herdabilidades para seleção baseadas na média de fêmeas

Nesse tipo de seleção, pratica-se a seleção entre famílias de fêmeas, independentemente do grupo de macho a que ela pertença, sendo as herdabilidades, nos sentidos amplo ( $h_{FA}^2$ ) e restrito ( $h_{FR}^2$ ), dadas por:

- Para as análises individuais:

$$h_{FA}^2 = \frac{\frac{2mf - f - 1}{mf - 1} \times \frac{1}{4} \hat{\sigma}_A^2 + \frac{1}{4} \hat{\sigma}_D^2}{\frac{mf - f}{mf - 1} \hat{\sigma}_M^2 + \hat{\sigma}_F^2 + \frac{\hat{\sigma}^2}{r}} = \frac{\frac{f(m - 1)}{mf - 1} \hat{\sigma}_M^2 + \hat{\sigma}_F^2}{\frac{QM_4}{r}} ;$$

$$h_{FR}^2 = \frac{\frac{2mf - f - 1}{mf - 1} \times \frac{1}{4} \hat{\sigma}_A^2}{\frac{QM_4}{r}}$$

- Para a análise conjunta:

$$h_{FA}^2 = \frac{\frac{2mf - f - 1}{mf - 1} \times \frac{1}{4} \hat{\sigma}_A^2 + \frac{1}{4} \hat{\sigma}_D^2}{\frac{mf - f}{mf - 1} \hat{\sigma}_M^2 + \hat{\sigma}_F^2 + \frac{\hat{\sigma}^2}{re}} = \frac{\frac{f(m - 1)}{mf - 1} \hat{\sigma}_M^2 + \hat{\sigma}_F^2}{\frac{QM_6}{re}} ;$$

$$h_{FR}^2 = \frac{\frac{2mf - f - 1}{mf - 1} \times \frac{1}{4} \hat{\sigma}_A^2}{\frac{QM_6}{re}}$$

### c) Herdabilidades para seleção baseadas na média de fêmeas dentro de machos

Nessa estratégia de seleção, pratica-se a seleção estratificada de famílias de fêmeas onde um número de famílias de cada grupo de fêmeas é selecionado dentro de cada grupo de macho, assim, as herdabilidades, nos sentidos amplo ( $h_{F/MA}^2$ ) e restrito ( $h_{F/MR}^2$ ), são dadas por:

- Para as análises individuais:

$$h_{F/MA}^2 = \frac{\frac{1}{4}\hat{\sigma}_A^2 + \frac{1}{4}\hat{\sigma}_D^2}{\hat{\sigma}_F^2 + \frac{\hat{\sigma}^2}{r}} = \frac{\frac{1}{4}\hat{\sigma}_A^2 + \frac{1}{4}\hat{\sigma}_D^2}{\frac{QM_2}{r}} \quad ; \quad h_{F/MA}^2 = \frac{\frac{1}{4}\hat{\sigma}_A^2}{\frac{QM_2}{r}}$$

- Para a análise conjunta:

$$h_{F/MA}^2 = \frac{\frac{1}{4}\hat{\sigma}_A^2 + \frac{1}{4}\hat{\sigma}_D^2}{\hat{\sigma}_F^2 + \frac{\hat{\sigma}^2}{re}} = \frac{\frac{1}{4}\hat{\sigma}_A^2 + \frac{1}{4}\hat{\sigma}_D^2}{\frac{QM_4}{re}} \quad ; \quad h_{F/MA}^2 = \frac{\frac{1}{4}\hat{\sigma}_A^2}{\frac{QM_4}{re}}$$

## Co-variâncias e coeficientes de correlação genética aditiva

Podem-se estimar os coeficientes de correlação genética aditiva ( $r_{GA}$ ) entre duas características, x e y, de acordo com o procedimento relatado por Furtado (1996), ou seja:

$$r_{GA} = \frac{\hat{\sigma}_{Axy}}{\sqrt{\hat{\sigma}_{Ax}^2 \hat{\sigma}_{Ay}^2}}$$

onde:

$\hat{\sigma}_{Axy}$  = estimador da co-variância genética aditiva entre duas características;

$\hat{\sigma}_{Ax}^2$  e  $\hat{\sigma}_{Ay}^2$  = estimadores da variância genética aditiva em relação às características x e y respectivamente.

A co-variância genética aditiva entre dois indivíduos pode ser estimada de maneira semelhante aos componentes de variância genética. As co-variâncias em machos ( $\sigma_{Mxy}$ ) podem ser expressas em função da co-variância genética aditiva, assim:

$$\sigma_{M_{xy}} = \frac{1}{4} \sigma_{A_{xy}}, \text{ ou seja:}$$

$$\hat{\sigma}_{A_{xy}} = 4\hat{\sigma}_{M_{xy}}$$

E do conhecimento das esperanças do produto médio, pode-se estimar  $\hat{\sigma}_{M_{xy}}$  pela expressão:

$$\hat{\sigma}_{M_{xy}} = \frac{PM_M - PM_F}{fr}, \text{ onde:}$$

$PM_M$  = produto médio em macho;

$PM_F$  = produto médio em fêmea dentro de macho.

Avalia-se a hipótese de que o coeficiente de correlação seja igual a zero pela estatística "t", segundo Cruz & Regazzi (2001), pela expressão:

$$t = \frac{r}{\sqrt{1-r^2}} \sqrt{n-2}$$

Em que "t" está associado a n-2 graus de liberdade e a 1% ou a 5% de probabilidade. Sendo:

n = número de pares de observações.

## Outros parâmetros importantes que podem ser obtidos

a) Grau médio de dominância

$$GMD = \sqrt{\frac{2\hat{\sigma}_D^2}{\hat{\sigma}_A^2}}$$

b) Coeficiente de variação genético aditivo

$$CV_a = \frac{100 \sqrt{\hat{\sigma}_A^2}}{\hat{m}}$$

c) Coeficiente de variação experimental

$$CV_e = \frac{100 \sqrt{QM_1}}{\hat{m}}$$

d) Variância genética aditiva por ambiente

$$\hat{\sigma}_{AE}^2 = 4\hat{\sigma}_{EM}^2$$

e) Variância genética devida aos desvios da dominância por ambiente

$$\hat{\sigma}_{DE}^2 = 4(\hat{\sigma}_{EF}^2 - \hat{\sigma}_{EM}^2)$$

## Alternativas de seleção no Delineamento I

Neste caso, utilizando-se o Delineamento I, podem-se avaliar as seguintes alternativas de seleção: seleção entre famílias de machos, seleção entre famílias de fêmeas, seleção entre famílias de fêmeas dentro de machos e seleção combinada. Em cada alternativa de seleção, foram utilizados os métodos de seleção direta e seleção baseada nos índices de seleção. Os ganhos esperados por seleção na característica número de frutos por planta (NF) foram utilizados para a comparação entre as diferentes estratégias de seleção, pois, de acordo com trabalho de Viana et al. (2004), há grande possibilidade de identificação de genótipos superiores na análise de populações para o caráter, pois essa variável apresenta grande variabilidade genética, além de ser a característica produtiva de maior importância para a cultura, sendo os demais caracteres utilizados como auxiliares no processo. Para o cálculo dos ganhos esperados com a seleção, consideraram-se como unidades de recombinação as próprias progênies avaliadas.

### Seleção direta

a) Seleção direta entre machos

Pratica-se a seleção entre os valores médios obtidos de cada macho que constituíram a unidade de seleção para a qual foram atribuídos valores

e índices. Nesse processo, selecionaram-se as 30% famílias de machos superiores, ou seja, sete e seis famílias, correspondentes a 35 e 30 famílias de fêmeas. O ganho esperado com a seleção direta em número de frutos por planta ( $GS_{DM}$ ), entre médias de machos, foi obtido por meio da expressão:

$$GS_{DM} = DS_M \times h_{MR}^2, \text{ onde:}$$

$DS_M$  = é o diferencial de seleção entre médias de machos para número médio de frutos (NF), ou seja, é a diferença da média dos indivíduos selecionados com a média da população original.

$h_{MR}^2$  = é a herdabilidade da média de machos para NF, no sentido restrito.

#### b) Seleção direta entre fêmeas

Selecionaram-se as famílias de fêmeas (progênes) independentemente do grupo de macho a que pertençam as quais constituíram as unidades de seleção. Nesse processo, selecionaram-se as 30% famílias de fêmeas superiores, ou seja, 35 e 30 famílias de fêmeas selecionadas.

O ganho esperado com a seleção direta em NF ( $GS_{DF}$ ), entre médias de fêmeas, foi obtido por meio da expressão:

$$GS_{DF} = DS_F \times h_{FR}^2, \text{ onde:}$$

$DS_F$  = é o diferencial de seleção entre médias de fêmeas para NF.

$h_{FR}^2$  = é a herdabilidade da média de fêmeas para NF, no sentido restrito.

#### c) Seleção direta entre fêmeas dentro de machos

Nesse caso, selecionaram-se as duas famílias de fêmeas superiores dentro de cada família de macho, de forma que todos os machos contribuirão para a próxima geração, totalizando assim, 46 (41%) e 40 (41%) famílias de fêmeas.

O ganho esperado com a seleção direta em NF ( $GS_{DF/M}$ ), entre médias de fêmeas dentro de machos, foi obtido por meio da expressão:

$$GS_{DF/M} = DS_{F/M} \times h_{F/MR}^2, \text{ onde:}$$

$DS_{F/M}$  = é o diferencial de seleção entre médias de fêmeas dentro de machos para NF.

$h_{F/MR}^2$  = é a herdabilidade da média de fêmeas dentro de machos para NF no sentido restrito.

#### d) Seleção direta pelo índice combinado

A estratégia de seleção combinada foi realizada com a substituição dos valores das características do experimento pelo score do índice combinado para cada uma das mfs. progênieis avaliadas em que se consideram, simultaneamente, o desempenho individual de uma fêmea e o desempenho da família do macho na qual ela está inserida. Assim, selecionaram-se as 30% famílias de fêmeas superiores, ou seja, 35 e 30 famílias. Furtado (1996) e Cruz & Carneiro (2003) definem que o índice combinado para as mfs. famílias avaliadas ( $IC_{mf}$ ) no Delineamento I pode ser gerado por:

$$IC_{mf} = h_{MR}^2 (\bar{Y}_{m..} - \bar{Y}_{...}) + h_{F/MR}^2 (\bar{Y}_{mf.} - \bar{Y}_{m..}), \text{ onde:}$$

$\bar{Y}_{m..}$  = média do m-ésimo macho;

$\bar{Y}_{...}$  = média geral;

$\bar{Y}_{mf.}$  = média da f-ésima fêmea acasalada com o m-ésimo macho;

$h_{MR}^2$  e  $h_{F/MR}^2$  = herdabilidades, no sentido restrito, das médias de machos e de fêmeas dentro de machos para NF respectivamente.

O ganho esperado com a seleção do índice combinado ( $GS_{IC}$ ) foi obtido por:

$$GS_{IC} = DS_{IC}, \text{ onde:}$$

$DS_{IC}$  = é o diferencial de seleção feita por meio do índice combinado que equivale à média do índice combinado dos indivíduos selecionados para NF.

## Índice de seleção

Usou-se para fins de seleção, o índice de seleção baseado na soma de *ranks* proposto por Mulamba & Mock (1978), conforme descrito por Cruz & Regazzi (2001), pois foi o método que apresentou os melhores resultados para os dados avaliados, no qual se utilizou o programa computacional Genes (Cruz, 2001). Esse índice consiste em classificar os genótipos em relação a cada uma das características, em ordem favorável ao melhoramento, assim, as ordens referentes às características são somadas para cada genótipo, obtendo a soma de *ranks*, que, quanto menor for esta, melhor será o desempenho de um genótipo em relação às várias características estudadas. A partir desse ponto, selecionam-se os genótipos que obtiveram menor soma de *ranks* e calculam-se os ganhos de seleção.

Esse índice foi empregado para cada uma das alternativas de seleção avaliadas: entre famílias de machos; entre famílias de fêmeas; entre famílias de fêmeas dentro de machos; e combinada, sendo os números de unidades seletivas selecionadas correspondentes aos da seleção direta.

## Parâmetros genéticos da população

### Estimativas de componentes genéticos

Na Tabela 3, são apresentadas as estimativas dos componentes genéticos da população para a análise conjunta.

Tratando-se da análise conjunta, os valores dos graus médios de dominância (GMD) não diferiram muito em relação aos ambientes nas análises individuais, demonstrando maior importância dos desvios de dominância ( $\hat{\sigma}_D^2$ ) em relação à variância genética aditiva ( $\hat{\sigma}_A^2$ ) para as características

número de frutos por planta, espessura da casca e número de dias até a antese, indicando, assim, a presença de sobredominância.

Para as características peso, comprimento e largura de frutos, encontrou-se GMD inferior à unidade, como nas análises individuais, mostrando que o componente aditivo tem maior expressão nesses caracteres. Pode-se verificar que a característica que apresentou, na análise conjunta, o maior coeficiente de variação genético aditivo ( $C\hat{V}_a$ ) foi também número de frutos por planta, sendo de 27,99%, indicando, realmente, que ganhos mais expressivos podem ser obtidos para essa característica.

Assim, optou-se, neste trabalho, por considerar número de frutos por planta como a principal característica a ser selecionada, tanto pela sua maior possibilidade de ganhos quanto pela sua maior importância entre as características produtivas para a cultura do maracujazeiro-amarelo.

A escolha de um método de melhoramento trabalhado pela seleção recorrente depende, além da característica-objeto de um programa, da finalidade das progênies selecionadas, dos recursos disponíveis e do tipo de ação gênica que o melhorista deseja enfatizar.

Métodos de melhoramento interpopulacionais que enfatizam a exploração da heterose podem ser mais apropriados quando o objetivo é o desenvolvimento de híbridos, já que capitalizam os efeitos genéticos aditivos e os desvios de dominância. Os métodos de seleção recorrente intrapopulacionais são mais utilizados quando o objetivo é melhorar o nível geral de populações, e a ação gênica predominante é aditiva. Os métodos intrapopulacionais são de mais fácil execução e aplicáveis a várias características, sendo mais comumente utilizados do que os interpopulacionais.

**Tabela 3.** Estimativas dos componentes genéticos para seis características avaliadas em genótipos de maracujazeiro-amarelo na análise conjunta.

Características <sup>1/</sup>	Componentes genéticos <sup>2/</sup>							GMD	(%)
	$\hat{\sigma}_M^2$	$\hat{\sigma}_F^2$	$\hat{\sigma}_A^2$	$\hat{\sigma}_D^2$	$\hat{\sigma}_{AE}^2$	$\hat{\sigma}_{DE}^2$			
NF	14,3896	43,9622	57,5584	118,2904	9,4340	46,7086	2,0274	27,99	
PF	150,4461	145,8314	601,7844	0,0000	51,7992	0,0000	0,0000	13,23	
CF	9,2469	11,2747	36,9876	8,1112	2,1558	1,5463	0,6623	7,05	
LF	2,7228	3,2676	10,8912	2,1792	0,5892	0,9074	0,6326	4,38	
EC	0,1221	0,2985	0,4884	0,7056	0,1090	0,0609	1,6998	10,84	
DA	17,5169	29,0295	70,0676	46,0504	9,7521	35,3233	1,1465	6,60	

<sup>1/</sup> NF - número de frutos por planta; PF - peso de frutos em gramas; CF - comprimento de frutos em mm; LF - largura de frutos em mm; EC - espessura da casca em mm; DA - número de dias até a antese.

<sup>2/</sup>  $\hat{\sigma}_M^2$ ,  $\hat{\sigma}_F^2$  = estimativas dos componentes de variância associados aos efeitos de natureza genética: efeito de macho e efeito de fêmea dentro de macho respectivamente.

$\hat{\sigma}_A^2$  e  $\hat{\sigma}_D^2$  = estimativas dos componentes de variância genética entre os indivíduos: variância genética aditiva e variância devida aos desvios da dominância respectivamente.

$\hat{\sigma}_{AE}^2$  e  $\hat{\sigma}_{DE}^2$  = estimativas das variâncias: genética aditiva X ambiente e desvios da dominância X ambiente.

GMD e  $\hat{CV}_a$  = grau médio de dominância e coeficiente de variação genético aditivo respectivamente.

Contudo, apesar de a característica considerada principal - número de frutos por planta - ter apresentado como ação gênica predominante à devida aos desvios da dominância, indicou-se, para essa população, método de seleção recorrente intrapopulacional pela sua maior facilidade de execução e por outras características terem apresentado como ação gênica predominante a aditiva, assim, com o uso de índice de seleção, espera-se que se obtenham ganhos pela seleção para as várias características avaliadas na população. Optou-se, desse modo, pela seleção recorrente intrapopulacional entre famílias de meios-irmãos, por se tratar de um método mais facilmente aplicado ao maracujazeiro, em que as próprias progênies, avaliadas como superiores, serão recombinadas, ganhando-se tempo no trabalho de melhoramento.

## **Estimativas dos coeficientes de herdabilidade**

Estimaram-se, neste trabalho, os coeficientes de herdabilidade, nos sentidos amplo e restrito, para as médias das unidades de seleção entre famílias de machos, entre famílias de fêmeas e entre famílias de fêmeas dentro de machos, para a análise conjunta (Tabela 4).

Em geral, os valores dos coeficientes de herdabilidade mais elevados foram obtidos para famílias de machos, no entanto, isso não significa que as maiores respostas à seleção serão obtidas para esse tipo de família, já que os valores dos diferenciais de seleção também variaram com a unidade de seleção. Então, a eficiência do processo seletivo para cada tipo de família deve ser comparada apenas pelas respostas esperadas à seleção.

A principal característica avaliada, número de frutos por planta (NF), não apresentou as maiores estimativas de herdabilidade, no entanto, não se pode concluir que esta terá pequeno ganho com a seleção, pois estimativas de valores altos de herdabilidade podem ocorrer para caracteres de pequena variância genética aditiva, desde que seja pequena a influência ambiental no caráter, e a característica NF tenha sido possivelmente a mais afetada por esse fator, apresentando os maiores coeficientes de variação experimental. Além de tudo, foi o caráter que apresentou os maiores coeficientes de variação genético-aditivos.

**Tabela 4.** Coeficientes de herdabilidade no sentido amplo e no restrito, considerando, como unidades de seleção, famílias de machos, famílias de fêmea e famílias de fêmeas dentro de machos, para a análise conjunta.

$h^2(\%)^{2/}$	Características <sup>1/</sup>					
	NF	PF	CF	LF	EC	DA
$h^2_{MA}$	80,82	89,56	93,94	88,22	86,90	83,13
$h^2_{MR}$	59,97	89,56	90,49	85,33	69,83	74,82
$h^2_{FA}$	68,85	76,11	86,87	74,42	76,69	67,53
$h^2_{FR}$	33,65	76,11	78,15	67,54	44,19	50,61
$h^2_{F/MA}$	61,77	59,21	75,19	59,52	68,80	55,43
$h^2_{F/MR}$	20,22	59,21	61,67	49,59	28,14	33,45

<sup>1/</sup> NF - número de frutos por planta; PF - peso de frutos em gramas; CF - comprimento de frutos em mm; LF - largura de frutos em mm; EC - espessura de casca em mm; DA - número de dias até a antese.

<sup>2/</sup>  $h^2_{MA}$  e  $h^2_{MR}$  = herdabilidades da média de macho nos sentidos amplo e restrito respectivamente.  $h^2_{FA}$  e  $h^2_{FR}$  = herdabilidades da média de fêmea nos sentidos amplo e restrito respectivamente.  $h^2_{F/MA}$  e  $h^2_{F/MR}$  = herdabilidades da média de fêmea dentro de macho nos sentidos amplo e restrito respectivamente.

Os valores dos coeficientes de herdabilidade, na análise conjunta, para a característica número de frutos por planta (NF) variaram de 20,22% e 61,77%, para famílias de fêmea dentro de macho, de 59,97% e 80,22% para famílias de machos, nos sentidos restrito e amplo respectivamente.

As estimativas de herdabilidade em uma população podem variar de acordo com a característica avaliada, o método de estimação, a diversidade na população, o tamanho da amostra avaliada, o nível de endogamia da população, o número e tipos de ambientes considerados, a precisão na condução do experimento e na coleta de dados e com a unidade experimental considerada, então essas estimativas não devem ser extrapoladas para outras populações ou outros ambientes.

Como a herdabilidade no sentido restrito refere-se à fração das diferenças fenotípicas entre os pais que se espera recuperar entre os descendentes, optou-se por utilizá-la neste trabalho para os cálculos dos ganhos de seleção, pois a herdabilidade no sentido amplo considera a variabilidade genética total que é transmitida apenas em parte aos descendentes.

## **Co-variâncias e coeficientes de correlação genética aditiva**

No estudo da associação entre características, o mais apropriado é o uso dos coeficientes de correlação, pois esses são adimensionais, o que permite a comparação entre diferentes pares de característica, diferentemente das co-variâncias. As correlações fenotípicas encontradas para duas características quaisquer possuem causas genéticas e ambientais, porém, somente as associações de natureza genética são herdáveis, portanto, podem ser utilizadas na orientação de programas de melhoramento. De acordo com Falconer (1987), a principal causa da correlação genética é a pleiotropia, pois as ligações gênicas são causas transitórias.

Assim, neste trabalho, estimaram-se as co-variâncias e os coeficientes de correlação genético-aditiva, pois são os herdáveis, para os ambientes estudados individualmente e para a análise conjunta.

Estão apresentados, na Tabela 5, os valores das estimativas das co-variâncias e das correlações genético-aditivas para a análise conjunta. Analisando esses valores, nota-se que não houve grandes divergências em relação à análise dos ambientes, individualmente, o que era esperado devido à falta de interação entre genótipos e ambientes.

O caráter número de frutos por planta demonstrou estar associado negativamente com peso, comprimento e largura de frutos e positivamente

com espessura de casca, o que pode dificultar o trabalho de melhoramento, já que ganhos em peso, no comprimento e na largura de frutos também são considerados de grande importância para uma população-elite.

**Tabela 5.** Estimativas das co-variâncias genético-aditivas ( $\hat{\sigma}_{A_{xy}}$ ) e dos coeficientes de correlação genético-aditiva ( $r_{GA}$ ) entre seis características de maracujazeiro para a análise conjunta.

Características <sup>1/</sup>	Co-variâncias e correlações					
		PF	CF	LF	EC	DA
NF	$\hat{\sigma}_{A_{xy}}$	-115,8862	-25,2674	-16,8898	2,2501	-67,3155
	$r_{GA}$	-0,6227**	-0,5476**	-0,6746**	0,4244**	—
PF	$\hat{\sigma}_{A_{xy}}$	-	131,7861	68,9829	2,8528	112,0845
	$r_{GA}$	-	0,8833**	0,8521**	0,1664**	0,5458**
CF	$\hat{\sigma}_{A_{xy}}$		-	13,3966	0,2317	28,6592
	$r_{GA}$		-	0,6675**	0,0545	0,5630**
LF	$\hat{\sigma}_{A_{xy}}$			-	0,3443	18,1230
	$r_{GA}$			-	0,1493**	0,6560**
EC	$\hat{\sigma}_{A_{xy}}$				-	-1,9662
	$r_{GA}$				-	-0,3361**

<sup>1/</sup> NF - número de frutos por planta; PF - peso de frutos em gramas; CF - comprimento de frutos em mm; LF - largura de frutos em mm; EC - espessura da casca em mm; DA - número de dias até a antese.

\*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

— = Valores de correlação fora do intervalo de -1,00 a 1,00.

Ao comparar a característica peso de frutos com as demais, nota-se que esta apresentou correlações genético-aditivas positivas com todas as demais, excluindo-se número de frutos por planta, assim, parece estar

constatado que um aumento nas dimensões do fruto pode resultar em diminuição da produção em números de frutos. Assim sendo, no melhoramento, métodos mais elaborados de seleção podem ser necessários para que se atinja uma população de alta produtividade e com boas características comerciais, como tamanho de frutos, por exemplo, podem-se citar os índices de seleção que permitem ganhos simultâneos em várias características, mesmo que correlacionadas negativamente.

## Estimativas de ganhos para as alternativas de seleção

Procurou-se também, neste trabalho, aplicar um ciclo de seleção na população estruturada no Delineamento I. Nesse caso, existem várias opções de seleção possíveis, como: seleção entre famílias de machos, entre famílias de fêmeas, entre famílias de fêmeas dentro de machos e seleção baseada no índice combinado. Para decidir qual é a melhor opção a ser aplicada à população, foram estimados os ganhos esperados com a seleção para cada uma das opções via seleção direta para número de frutos por planta e via índice de seleção, baseado na soma de *ranks*, proposto por Mulamba & Mock (1978), para depois compará-los.

Deve-se lembrar que, na população estruturada no Delineamento I, a seleção deve ocorrer, eventualmente, apenas quando este for estabelecido com o propósito de estimar os parâmetros genéticos de uma população que são importantes na sua avaliação em relação às possibilidades de se obterem ganhos pela seleção e na escolha de métodos de melhoramento mais apropriados e não por vários ciclos como uma técnica de melhoramento (Furtado, 1996).

Nos casos em que não são significativas as interações genótipos X ambientes ou que se deseja maximizar os ganhos para uma série de ambientes, o mais correto é estimar esse ganho pela utilização do componente de variância genética da análise conjunta, mesmo que a unidade de recombinação seja de apenas um dos ambientes avaliados

(Cruz & Regazzi, 2001). Assim, neste trabalho, estimaram-se os ganhos para a análise conjunta.

Apresentam-se, na Tabela 6, as estimativas de ganhos esperados por seleção na análise conjunta, para as diversas alternativas de seleção avaliadas, pela seleção direta em número de frutos por planta e pelo índice de seleção, para todas as características analisadas.

Comparando os ganhos estimados para a característica número de frutos por planta, tanto pela seleção direta quanto pela utilização dos índices de seleção, constata-se que, na estratégia de seleção entre famílias de fêmeas dentro de machos, obtiveram-se os menores valores de ganhos preditos.

Analisando as alternativas de seleção direta em número de frutos por planta (NF), conclui-se que a utilização do índice combinado foi a alternativa que apresentou os maiores ganhos para a característica em questão, sendo os acréscimos nos ganhos com essa alternativa iguais a 10,79%, 35,22% e 254,23% maiores que os ganhos esperados para famílias de machos, famílias de fêmeas e famílias de fêmeas dentro de machos respectivamente. Esses resultados confirmam os de Falconer (1987) que afirma que a seleção baseada nos índices combinados é tão boa ou superior a qualquer um dos outros métodos.

Ao se selecionar genótipos superiores para uma dada característica, mudanças indesejáveis podem ocorrer em outras devido à existência de correlações entre elas. Cruz & Regazzi (2001) relatam que a seleção com base em uma única característica tem-se mostrado inadequada, pois conduz a um produto final superior no que se refere a essa característica, mas pode levar a desempenhos não tão favoráveis para as demais. Uma maneira de se aumentar o êxito seletivo é por meio da seleção simultânea de características, assim, o uso dos índices de seletividade apresentam-se como alternativas eficientes, pois permitem a seleção com base em vários caracteres de interesse.

**Tabela 6.** Estimativas de ganhos esperados para as alternativas de seleção avaliadas, por meio da seleção direta em número médio de frutos e índice de seleção, para a análise conjunta.

Alternativas de seleção		Seleção direta em NF		Índice de seleção	
		GS	GS(%)	GS	GS(%)
Entre machos	NF	4,54	16,75	3,28	12,10
	PF	-8,80	-4,75	2,25	1,21
	CF	-1,07	-1,24	0,06	0,07
	LF	-0,93	-1,23	0,79	1,05
	EC	-0,13	-2,02	0,25	3,88
	DA	-4,41	-3,48	-2,30	-1,81
Entre fêmeas	NF	3,72	13,72	3,28	12,10
	PF	-7,63	-4,11	3,18	1,72
	CF	-1,59	-1,84	0,77	0,89
	LF	-0,55	-0,73	0,66	0,88
	EC	-0,04	-0,62	0,02	0,31
	DA	-2,72	-2,15	-1,90	-1,50
Entre fêmeas/ macho	NF	1,42	5,24	0,80	2,95
	PF	-1,99	-1,07	3,74	2,02
	CF	-0,27	-0,32	0,99	1,15
	LF	-0,12	-0,16	0,55	0,73
	EC	-0,01	-0,13	0,00	0,00
	DA	-0,52	-0,41	-0,01	-0,01
Seleção combinada	NF	5,03	18,55	4,09	15,09
	PF	-10,76	-5,80	1,52	0,82
	CF	-1,54	-1,79	0,30	0,35
	LF	-1,57	-2,08	0,58	0,77
	EC	-0,10	-1,55	0,10	1,55
	DA	-4,07	-3,21	-3,24	-2,55

Pela utilização do índice seletivo, pode-se notar que os ganhos esperados com a seleção para a característica número de frutos por planta diminuíram um pouco, mas, em contrapartida, obtiveram-se ganhos para as outras características estudadas, com interesse em diminuir a média dos caracteres espessura da casca e número de dias até a antese, indicando que o emprego desse índice de seleção foi vantajoso para as alternativas de seleção avaliadas, pois resultou em ganhos para número de frutos por planta sem fornecer grandes perdas de ganho em outras características de interesse.

Analisando os valores de ganhos preditos pela seleção, baseada em índices seletivos, pode-se perceber que novamente os ganhos com a seleção combinada foram maiores, obtendo-se os seguintes valores: 15,09% para número de frutos por planta, 0,82% para peso de frutos, 0,35% para comprimento de frutos, 0,77% para largura de frutos, 1,55% para espessura da casca e de -2,55% para número de dias até a antese.

## Conclusão

Delineamentos experimentais apropriados em estudos de genética quantitativa em maracujazeiro-amarelo são práticas de fácil introdução em programas de melhoramento de maracujazeiro-amarelo. São ferramentas de grande poder de informação no que se refere a práticas e a métodos de melhoramento a serem utilizados em populações de estudo.

Tal abordagem deve ser estimulada em equipes de pesquisadores com essa cultura nas várias regiões do País.

## Referências bibliográficas

Agriannual 2002: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2002. 536 p.

ALBUQUERQUE, A. S. **Seleção de genitores e híbridos em maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims)**. 2001. 90 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

- ALLARD, R. W. **Principles of plant breeding**. 2. ed. New York: J. Wiley, 1999. 254 p.
- BARBIN, D. **Componentes de variância: teoria e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1993. 120 p.
- BRUCKNER, C. H. Perspectivas do melhoramento do maracujazeiro. In: Manica, I. (Ed.). **Maracujá: temas selecionados**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 1997. p. 25-46.
- COMSTOCK, R. E.; ROBINSON, H. F. The components of genetic variance in populations of biparental progenies and their use in estimating the average degree of dominance. **Biometrics**, n. 4, p. 254-266, 1948.
- CRUZ, C. D. **Programa Genes (versão Windows): aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 648 p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2001. 390 p.
- CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa, MG: UFV, 2003. 585 p. v. 2.
- EYHERABIDE, G. H.; HALLAUER, A. R. Reciprocal full-sib recurrent selection in maize: direct and indirect responses. **Crop Science**, n. 31, p. 952-959, 1991.
- FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Viçosa, MG: UFV, 1987. 279 p.
- FURTADO, M. R. **Alternativas de seleção no delineamento I de Comstock e Robinson, em milho**. 1996. 94 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1996.
- GONÇALVES, G. M. **Estimativas de parâmetros genéticos em características produtivas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*), baseado no Delineamento I**. 2005. 87 f. Tese (Mestrado em Produção Vegetal)- Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2005.
- HALLAUER, A. R., MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2. ed. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468 p.
- HANSON, W. D. Heritability. In: HANSON, W. D.; ROBINSON, H. F. (Ed.). **Statistical genetics and plant breeding**. Washington, DC: National Academy of Science, 1963. p. 125-139.
- LEITE, R. S. da S.; BLISKA, F. M. da M.; GARCIA, A. E. B. Aspectos econômicos da produção e mercado. In: INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Maracujá: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos**. Campinas, 1994. 267 p.

MULAMBA, N. N.; MOCK, J. J. Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. **Egypt. J. Gen. Cytol.**, n. 7, p. 40-51, 1978.

OLIVEIRA, J. C. de; FERREIRA, F. R. Melhoramento genético do maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A. R.; FERREIRA, F. R.; VAZ, R. L. (Ed.). **A cultura do maracujá no Brasil**. Jaboticabal: FUNEP, 1991. p. 211-239.

PATERNIANI, E.; CAMPOS, M. S. Melhoramento do milho. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa, MG: UFV, 1999. p. 429-485.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E. (Ed.). **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. Piracicaba: Fundação Cargill, 1978. p. 122-201.

VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JÚNIOR, A. T. do; SOUZA, M. M. de; MALDONADO, J. F. M. Parâmetros genéticos em populações de maracujazeiro amarelo. **Revista Ceres**, v. 51, n. 297, p. 541-551, 2004.



Capítulo

11

Cai a noite escura, e no céu estendidas,  
As estrelas cintilam com pele reluzente.  
E a flor-da-paixão, toda em seda vestida,  
Enfeita a nossa terra da aurora ao poente.

Planta audaciosa e de flor colorida  
Igual que a uma estrela de brilho atraente.  
Filhas de um só céu que gerou, que deu vida,  
Separadas pelo abismo, unidas pela mente.

*Geovane Alves de Andrade*

# Marcadores moleculares aplicados ao melhoramento genético do maracujazeiro

---

Messias Gonzaga Pereira

Telma Nair Santana Pereira

Alexandre Pio Viana

## Introdução

Os marcadores moleculares vêm sendo, cada vez mais, incorporados a programas de melhoramento genético. Têm sido empregados nas diferentes etapas ou procedimentos que constituem os programas de melhoramento. Notadamente, tratando-se das plantas semiperenes, como é o caso do maracujazeiro, a utilização desses marcadores se reveste ainda de maior importância.

No presente capítulo, a abordagem a ser apresentada restringir-se-á à utilização dos marcadores moleculares como ferramenta auxiliar aos procedimentos de melhoramento em uso ou potencialmente utilizados no melhoramento genético do maracujazeiro-amarelo. Para tanto, visando melhor avaliar as potencialidades dos marcadores como ferramenta, os seguintes tópicos serão considerados: (a) aspectos relevantes de um programa de melhoramento de maracujazeiro; (b) características e categorias dos marcadores moleculares; (c) etapas do programa de melhoramento de maracujazeiro, potencialmente beneficiado pelo uso dos marcadores; e (d) emprego atual dos marcadores no melhoramento do maracujazeiro. Finalmente, algumas conclusões sobre o tema serão apresentadas.

## Aspectos relevantes de um programa de melhoramento de maracujazeiro-amarelo

O maracujazeiro, mais especificamente, o maracujá-amarelo, é uma importante fruteira tropical. A principal espécie cultivada, *Passiflora edulis f. flavicarpa* Deg., é uma planta semiperene e alógama. Sua alogamia é assegurada principalmente por se tratar de uma espécie auto-incompatível, com possibilidades de interincompatibilidade. Outro aspecto relevante é a possibilidade de reprodução tanto seminal, via sementes, quanto assexual ou vegetativa.

Como a maioria das demais fruteiras tropicais e semiperenes, muito pouco tem sido feito no melhoramento dessa importante cultura. Isto, em grande parte, em decorrência das particularidades e dificuldades inerentes ao melhoramento de uma planta semiperene. Os procedimentos, em geral, demandam muito tempo, grandes áreas e recursos financeiros. Em consequência, a oferta de material melhorado aos agricultores é muito pequena. Não existem, à semelhança de muitas outras culturas, variedades recomendadas com características agronômicas bem definidas, com suas regiões de adaptação estabelecidas. Como resultado, os problemas agronômicos são os mais diversos, com destaque para a incidência de doenças nas diferentes regiões produtoras, desuniformidade das plantas e conseqüentemente de produção, em especial, de características como número de frutos produzidos por planta.

Atualmente, são recomendadas para cultivo, tanto populações de polinização livre, via seminal, quanto vegetativa. Nas populações seminais, verificam-se lavouras desuniformes, demonstrando ampla segregação genética entre os indivíduos da população. Se por um lado a variabilidade genética entre plantas é desejável do ponto de vista de melhoramento e de fontes de genes, do ponto de vista agronômico a desuniformidade prejudica bastante o padrão produtivo e o manejo das lavouras. As áreas clonais, por sua vez, potencialmente podem ser mais uniformes e de mais fácil manejo. Por outro lado, há que se ter cuidado com o aspecto da auto-incompatibilidade e,

em alguns casos, com a interincompatibilidade, além do estreitamento da base genética, uma vez que um número reduzido de clones é utilizado para se compor a população melhorada.

Portanto, considerando o estágio atual dos programas de melhoramento do maracujazeiro, os desafios são enormes e muito há que se fazer. Assim sendo, é precioso agregar aos procedimentos clássicos de melhoramento genético, uma ferramenta poderosa como os marcadores de DNA para que se possa acelerar a busca de resultados. Como será discutido nos próximos tópicos, os marcadores possuem potencialidades para efetivamente serem utilizados nas diferentes etapas do melhoramento tais como: a quantificação da variabilidade genética disponível; a relação de proximidade genética entre as diferentes espécies relacionadas; o mapeamento e a análise dos genes de interesse para o melhoramento; o melhor entendimento da herança das principais características, inclusive, no nível dos genes ou dos QTLs (*Quantitative trait loci*) que controlam as determinadas características; a previsibilidade de sucesso de cruzamentos em termos de potencialidades para exploração da heterose.

## Características e categorias dos marcadores moleculares

Os marcadores moleculares, em especial, os de DNA, caracterizam-se como diferenças genéticas em nível de DNA, geradas por mutações de ponto ou por aberrações cromossômicas, as quais são repassadas aos seus descendentes, o que constitui, em outras palavras, polimorfismos de DNA que podem ser visualizados por meio de procedimentos laboratoriais específicos. Marcadores de DNA são, portanto, diferenças nas seqüências de nucleotídeos as quais podem ser identificadas e, muitas vezes, suas funções permanecem desconhecidas. Dependendo dos procedimentos, as diferenças de nucleotídeos que constituem os marcadores moleculares podem ser quantificadas, qualificadas e seu comportamento é verificado em acordo com as leis básicas da herança de Mendel, definindo-os, como marcadores genéticos (Ferreira & Grattapaglia, 1995). Como características principais, os

marcadores de DNA possuem as vantagens de serem potencialmente ilimitados, neutros do ponto de vista seletivo, independentes da idade ou do órgão da planta, não deletérios e livres de influência ambiental.

Com os avanços das pesquisas na área da biologia molecular, assim como do desenvolvimento de equipamentos cada vez mais modernos, e da bioinformática, cada vez se torna mais fácil a identificação de um número virtualmente ilimitado de marcadores em determinado organismo, permitindo a cobertura completa do genoma de interesse. Tais avanços vêm potencializar ainda mais a tecnologia dos marcadores moleculares, tornando-a cada vez mais atrativa e viável ela ser incorporada aos procedimentos de genética e de melhoramento de plantas.

Entre os marcadores de DNA, o primeiro a ser utilizado foi o baseado em enzimas de clivagem do DNA (*Restriction fragment length polymorphism – RFLP*). O RFLP, embora bastante trabalhoso, constitui metodologia poderosa, capaz de gerar marcas co-dominantes de grande conteúdo em termos de informação genética. Essa categoria, além de ter sido aplicada em vários estudos de diversidade genética, na construção de mapas genéticos de ligação, no mapeamento e na análise de genes, também, contribuiu, sobremaneira, para os estudos de similaridade genômica, facilitando estudos evolutivos das espécies relacionadas. Com o advento do processo da amplificação em cadeia com o uso da enzima DNAPolimerase (PCR), outras categorias de marcadores foram desenvolvidas. Como exemplos, os mais utilizados, baseados na PCR, são RAPD (Random amplified polymorphic DNA) e AFLP (Amplified fragment Length polymorphism).

O primeiro, RAPD, por ser uma metodologia mais simples e relativamente mais barata, tem sido intensamente usado pelos diversos laboratórios, em diferentes culturas, para as mais variadas finalidades. O RAPD se baseia no uso de iniciadores arbitrários que são utilizados na amplificação de DNA via PCR. Embora sejam bastante empregados, esses marcadores apresentam algumas limitações, sendo as principais: baixa reprodutibilidade

e não-separação dos indivíduos homocigotos dos heterocigotos, ou seja, são dominantes.

Os marcadores AFLP foram estabelecidos na expectativa de se explorar as vantagens do RFLP por se basear, igualmente, em enzimas de clivagem e também nas vantagens do RAPD, uma vez que são da mesma forma baseados na PCR. A grande vantagem dos marcadores AFLP é o elevado potencial de se detectar polimorfismo, permitindo com isto, rápida cobertura genômica. A grande desvantagem é que, à semelhança dos marcadores RAPD, são também co-dominantes.

Outras categorias de marcadores são ainda utilizados, merecendo destaque os minissatélites ou VNTR (*variable number of tandem repeats*), os microssatélites ou SSRs (*Single sequence repeats*) e os SNPs (*Single nucleotide polymorphisms*). Cada uma dessas categorias de marcadores possui suas particularidades, sendo que a utilização de uma ou de outra metodologia depende de alguns fatores, entre eles as condições laboratoriais e os objetivos da investigação. Tanto os marcadores SSRs quanto os SNPs são bastante robustos, com elevado grau de aplicabilidade. Os marcadores SSRs têm a grande vantagem de serem co-dominantes e usualmente multialélicos. São, portanto, bastante efetivos nos diferentes procedimentos de melhoramento incluindo trabalhos de divergência genética, de *fingerprinting*, de mapeamento e análise de genes. A dificuldade associada a esse marcador é que demanda melhores condições laboratoriais, especialmente, quando ainda não se dispõe de uma coleção de *primers* SSR para a cultura de interesse. Os SNPs, por sua vez, seguramente são os mais efetivos na detecção de polimorfismos. Em situações em que o polimorfismo é bastante reduzido, possivelmente, a alternativa seria a aplicação dos SNPs. Estes são capazes, como o próprio nome indica, de identificar polimorfismos em nível de um único nucleotídeo. A dificuldade associada a essa categoria de marcador é a grande dependência de seqüenciamento. Mas, com os avanços que vêm ocorrendo, especialmente, na área genômica, o seqüenciamento em grande escala, de um conjunto de genótipos, vem cada vez mais sendo facilitado e factível de processamento.

Independente de sua categoria, considerando as particularidades dos marcadores de DNA, sobretudo, o fato de serem ilimitados, de atuarem no DNA, de serem independentes da idade da planta e, de não sofrerem influência ambiental, e, ainda, as particularidades do maracujazeiro: semiperene, alógama, auto-incompatível fica bastante evidente a importância da utilização dos marcadores no melhoramento dessa fruteira.

## **Etapas do programa de melhoramento de maracujazeiro-amarelo potencialmente beneficiado pelo uso dos marcadores**

À semelhança das demais culturas de interesse econômico, os principais procedimentos de melhoramento do maracujazeiro são: caracterização e avaliação de germoplasma (silvestre e cultivado); estudo da herança dos principais caracteres agrônômicos; melhoramento intra e interpopulacional e seleção de genitores para hibridação. Além das citadas, o maracujazeiro-amarelo possui algumas particularidades no que diz respeito à auto-incompatibilidade, com implicações não somente nos procedimentos de melhoramento, como também nos de recomendação de cultivares clonal ou seminal e, ainda, na multiplicação e conservação dos genótipos-elite, especialmente, quando via seminal.

No que diz respeito à caracterização e à avaliação de germoplasma, os marcadores de DNA são especialmente aplicáveis. Em geral, o melhorista precisa manipular o germoplasma disponível, a fim de usar a diversidade genética existente nas coleções, buscando genótipos que, por meio de metodologias adequadas, possam gerar material genético superior. Não é adequado o uso direto de germoplasma em programas de melhoramento, já que muito desse material traz consigo genes responsáveis por características indesejáveis e de difícil manejo, o que vai, de alguma forma, prolongar, sobremaneira, o tempo necessário para o desenvolvimento de uma variedade. Há alguns anos, os melhoristas lançavam mão de técnicas de caracterização morfológica para conhecer o material genético existente nas coleções; e, com

base nos dados de caracterização e avaliação, decidiam sobre quais acessos deviam ser incluídos nos programas de melhoramento. Atualmente, com o advento dos marcadores moleculares, os pesquisadores têm uma ferramenta para auxiliá-los na estimativa da diversidade genética existente na coleção, nas relações genéticas entre material para definição de direção de cruzamentos ou seleção de progenitores, além de poder acompanhar a introdução de genes durante o processo de melhoramento. O conhecimento do germoplasma disponível seja ele silvestre, seja cultivado, principalmente, do ponto de vista de variabilidade genética, distância genética entre os distintos acessos, identificação de possíveis duplicatas, é uma etapa fundamental de um programa de melhoramento genético. Considerando o caso do maracujazeiro-amarelo, com suas peculiaridades já descritas, o emprego dos marcadores moleculares propicia um trabalho mais eficiente e eficaz, permitindo ao melhorista, projetar com mais propriedade o uso de germoplasma dessa variedade nos diferentes procedimentos de melhoramento.

Quanto ao estudo da herança dos principais caracteres agrônômicos, estes são fundamentais para tomadas de decisão do ponto de vista do melhoramento. Por exemplo, se a herança de determinada característica é predominantemente aditiva, métodos intrapopulacionais de melhoramento são os mais indicados. Por sua vez, se o caractere possui herança predominantemente dominante ou sobredominante, então as melhores estratégias são baseadas em procedimentos interpopulacionais, visando explorar o vigor híbrido ou o fenômeno da heterose. Não obstante os importantes resultados dos trabalhos clássicos de herança, principalmente, aqueles baseados em delineamentos genéticos apropriados, os marcadores moleculares vêm contribuir, sobremaneira, para o conhecimento da herança. Uma das grandes vantagens do uso dos marcadores de DNA está no mapeamento de genes. Com os marcadores, pode-se mapear tanto os genes associados a caracteres qualitativos quanto aqueles associados a caracteres quantitativos, sendo os últimos denominados QTLs (Quantitative trait loci), ou seja, locos associados a características quantitativas.

No caso de caracteres quantitativos, naturalmente controlados por vários genes, os marcadores constituem ferramenta diferenciada, pois permitem a identificação e a análise de cada um dos genes envolvidos na característica ou pelo menos daqueles de maior importância. Além do mapeamento, é possível o estudo dos efeitos gênicos e da ação dos genes de maneira isolada, interativa e cumulativa. Entende-se como efeito dos genes a determinação de quanto da variação de uma dada característica é explicada por uma região genômica específica ou simplesmente um QTL. Para ação gênica, faz-se uma análise mais qualitativa, classificando a atuação de determinado gene, se ele atua com ação aditiva, dominância parcial, dominância completa ou, ainda, com sobredominância. Os marcadores vão além, permitindo o estudo das epistasias, ou seja, de como esses genes atuam no genoma: se eles agem aditivamente ou se a presença de determinado alelo influencia o efeito e a ação de alelos de outros genes, caracterizando a ocorrência de epistasias. Como se pode perceber, os marcadores de DNA permitem uma abordagem muito mais profunda sobre a herança de determinada característica. Em realidade, enquanto via métodos biométricos clássicos estuda-se a herança de uma característica como um todo, quantificando seu efeito, sua herdabilidade e seu tipo de herança, com os marcadores, fraciona-se a característica em seus componentes primários, os genes, e cada um deles é submetido às determinações qualitativas e quantitativas, além da análise de suas interações no genoma. O mapeamento dos genes constitui informação privilegiada para o melhorista, permitindo tomadas de decisão sobre a maneira de aperfeiçoar determinada característica, com muito mais conhecimento de causa para o estabelecimento dos procedimentos de melhoramento. Por exemplo, sabendo-se *a priori* que um número definido de genes atua em determinada característica, e o mais importante, como eles atuam no genoma em termos quantitativos, qualitativos, individuais e em conjunto, a estratégia de quais alelos ou genes pode ser definida, tendo-se em mente o fenótipo a ser buscado.

Quanto aos procedimentos de melhoramento intra e interpopulacional, com já foi discutido, a tomada de decisão está na dependência,

principalmente, da herança das principais características. Outro fator importante na tomada de decisão é a distância genética existente entre os distintos genótipos disponíveis ao melhoramento. Neste sentido, os marcadores moleculares podem contribuir expressivamente com ambos os aspectos: padrão de herança das características, bem como divergência genética disponível.

Um dos procedimentos clássicos e bastante eficientes no melhoramento populacional é a seleção recorrente. Esta, embora mais utilizada em plantas anuais como o milho, potencialmente, pode ser também utilizada em plantas semiperenes, como é o caso do maracujazeiro-amarelo. Nesse caso em particular, os marcadores, quando utilizados como ferramenta auxiliar (marker assisted selection - MAS), são ainda mais importantes uma vez que podem maximizar os ganhos genéticos, contribuindo para que os resultados ocorram em um tempo menor quando comparados aos procedimentos clássicos sem os marcadores. Os ganhos genéticos na seleção recorrente dependem, em grande parte, dos procedimentos a serem adotados os quais, por sua vez, dependem da variabilidade genética disponível, bem como da natureza da variância genética em determinada população. Nesse sentido, com os marcadores de DNA, pode-se inclusive melhor compor uma população, pela recombinação de indivíduos previamente conhecidos em termos de distância genética entre eles. Uma população composta de indivíduos geneticamente distintos e distantes entre si, seguramente contemplará maior variância genética que, por sua vez, contribuirá com maiores ganhos genéticos nos ciclos de seleção recorrente. Outro exemplo da utilização dos marcadores na seleção recorrente é o usado na condução dos ciclos de seleção. Considerando que cada ciclo envolve três etapas: obtenção de progênies, avaliação das progênies e recombinação dos indivíduos superiores, uma etapa interessante de se utilizar os marcadores é na identificação entre os indivíduos, daqueles com maior divergência genética para serem recombinados. Assim, fazendo-se a combinação gênica de indivíduos sabidamente superiores (pelo teste de avaliação) e sabidamente divergentes (pelos marcadores de DNA), os ganhos genéticos são

assegurados e potencializados em cada ciclo e ao longo dos demais ciclos. A divergência genética entre os indivíduos a serem recombinados garante a manutenção ou até mesmo o crescimento da variância genética na população. Considerando que os ganhos genéticos são diretamente proporcionais à variância genética, conclui-se pelo bem-sucedido uso dos marcadores moleculares nos ciclos de seleção recorrente.

No que diz respeito à potencialidade de seleção de genitores para hibridação, há que considerar primeiro, a viabilidade ou não de se explorar, na cultura, a heterose. Esta é função de dois componentes: a distância genética entre os genitores e ou grau de dominância da característica de interesse, ou seja, quanto maior a distância genética e quanto maior o grau de dominância, maior a heterose. Depois de conceituar a heterose, percebe-se que os marcadores moleculares são potencialmente interessantes para explorá-la uma vez que eles podem auxiliar em ambos os componentes dela. Considerando primeiramente o aspecto da distância genética, os marcadores de DNA são particularmente eficientes, pois atuam no nível de DNA, livre, portanto, das influências ambientais. Considerando que o DNA é que contempla e revela a totalidade das diferenças genéticas, a quantificação das distâncias como base no próprio DNA só pode ser a melhor escolha. Quanto ao segundo componente, o grau de dominância, novamente os marcadores moleculares são bastante efetivos em tais mensurações e determinações. Os marcadores permitem o conhecimento qualitativo e quantitativo da herança não apenas da característica de interesse, mas também no nível das regiões genômicas ou simplesmente dos QTLs associados a tal característica. Portanto, com o uso dos marcadores moleculares, a previsibilidade de sucesso nos trabalhos de hibridação é bem maior. Tratando-se do maracujazeiro-amarelo, uma planta semiperene, os procedimentos para se explorar a hibridação são bastante demorados, consumindo não somente tempo, mas também, grandes áreas e, conseqüentemente, recursos financeiros. Nesse particular, a associação dos marcadores reveste-se ainda de maior importância.

Os marcadores moleculares podem também ser utilizados em etapas conhecidas como pós-melhoramento. Nesse sentido, podem ser empregados para assegurar a paternidade (proteção de cultivar) de determinada cultivar e para monitorar a pureza genética das sementes produzidas. A importância da paternidade de uma variedade refere-se não somente ao aspecto da proteção, mas também a sua utilização em futuras etapas de melhoramento, bem como à correta multiplicação das sementes nos serviços de produção destas, para repasse aos produtores. Com o advento da lei de proteção de cultivares, a paternidade ou a genealogia de uma nova cultivar adquire ainda mais importância. Há que se considerar que uma das condições para se proteger uma cultivar é a distinguibilidade. No que diz respeito a essa condição, com o acúmulo do lançamento e recomendação de um número crescente de cultivares, essa tarefa vai-se tornando cada vez mais difícil. Tradicionalmente, os caracteres morfológicos são descritores capazes de diferenciar uma cultivar, contudo, existe limitação do número de caracteres morfológicos disponíveis.

Outra situação bastante comum acontece com variedades com polinização aberta em espécies alógamas, como é o caso do maracujazeiro-amarelo. Nessas variedades, é previsível a segregação de parte dos caracteres morfológicos, dificultando ainda mais os trabalhos de identificação e de proteção de cultivares, principalmente em espécies semiperenes, é comum o uso de genitores não endogâmicos na geração de híbridos. Esses híbridos, à semelhança das variedades com polinização aberta, apresentam padrões de segregação que, também, impedem a distinguibilidade entre essas combinações híbridas. Diante das dificuldades para a correta identificação de um genótipo, bem como de sua genealogia, baseada nos caracteres morfológicos, verifica-se a potencialidade do uso dos marcadores de DNA. A grande vantagem desses marcadores para essa finalidade é a propriedade que os caracteriza como potencialmente ilimitados, ou seja, diferentemente dos caracteres morfológicos, os marcadores de DNA são abundantes, podendo ser gerados tantos quantos forem necessários para a correta distinguibilidade de determinada cultivar. Outro aspecto importante é que os marcadores morfológicos tradicionais vão-se manifestando, em seus

diferentes estádios, conforme o desenvolvimento da planta. Já os marcadores de DNA permitem concluir sobre a paternidade ou a correta identificação de determinado genótipo ainda em estádios de plântulas, sem que haja a necessidade de longas esperas por estádios de desenvolvimentos específicos.

Finalmente, como é possível perceber, os marcadores moleculares podem ser eficientemente utilizados nas diferentes etapas ou procedimentos de melhoramento do maracujazeiro-amarelo. Em etapas de pré-melhoramento, eles são usados na caracterização e na avaliação de bancos de germoplasma, bem como no mapeamento e na análise de genes de interesse. No melhoramento propriamente dito, os marcadores são empregados tanto no melhoramento populacional quanto nos trabalhos de hibridação, maximizando não só os ganhos genéticos mas também a heterose. E, no pós-melhoramento, podem ser utilizados para assegurar a paternidade de cultivares seminais ou clonais, desenvolvidas, bem como para monitorar a pureza das sementes e ou clones produzidos e repassados aos agricultores.

## **Emprego atual dos marcadores no melhoramento do maracujazeiro-amarelo**

Apesar da importância da cultura para o País, pouco tem sido feito em termos de melhoramento genético. Em parte, isso se deve às dificuldades inerentes à própria cultura. Com o advento da biologia molecular, espera-se que se possa fazer mais nessa cultura; entretanto, mesmo no aspecto molecular os trabalhos ainda são muito poucos.

Um dos principais empregos dos marcadores moleculares é o conhecimento da diversidade existente no germoplasma das diferentes espécies. Assim sendo, marcadores moleculares como isoenzimas, DNA cloroplastídico, RAPD têm sido empregados visando conhecer melhor a diversidade do gênero e as relações genéticas entre as diferentes espécies que compõem o gênero. Como exemplo, tem-se o trabalho desenvolvido por Seguro et al. (2003) que estudaram as relações entre 87 acessos representantes de espécies cultivadas e silvestres do subgênero *Tacsonia* e

*Manicata* via isoenzimas. Esses autores observaram a formação de grupos sendo que os acessos representantes das espécies *P. tarminiana*, *P. tripartita*, *P. mixta* e *P. cumbalensis* constituíram um grupo distinto daquele formado pelas outras espécies.

Viana et al. (2003) avaliaram a diversidade genética entre acessos de espécies do gênero *Passiflora* via RAPD e observaram que há grande variabilidade genética entre as espécies *P. foetida*, *P. alata*, *P. giberti*, *P. suberosa*, *P. cincinnata*, *P. maliformis*, *P. edulis* f. *edulis*, sendo que as espécies *P. edulis* f. *flavicarpa* e a *P. giberti* foram as mais distantes entre as espécies estudadas. *P. cincinnata* e *P. edulis* f. *edulis* formaram um mesmo grupo, sugerindo que elas compartilham uma similaridade genética; o mesmo foi observado entre as espécies *P. foetida* e *P. suberosa*. Neste trabalho, os autores investigaram a diversidade de populações de maracujazeiro-amarelo. Os genótipos dessa espécie seguiram um padrão de divergência consistente com o observado nos trabalhos de campo, mostrando baixa variabilidade existente entre os indivíduos estudados, indicando que, para um programa de melhoramento com bons índices e ganhos satisfatórios, variabilidade adicional deve ser introduzida nas populações de estudo.

Ganga et al. (2004) estudaram a diversidade genética em populações de maracujazeiro-amarelo utilizando marcadores moleculares fAFPL. Foram avaliados 36 acessos provenientes de 18 estados da federação. Verificou-se grande diversidade genética entre os acessos estudados e uma não-estruturação geográfica entre os acessos de um mesmo estado ou região. Os autores concluíram que tais marcadores foram consistentes na avaliação da diversidade e que tais resultados podem auxiliar na definição de estratégias mais eficientes a serem utilizadas em programas de melhoramento de maracujá-amarelo.

Muschner et al. (2003), objetivando estudar a variabilidade genética e as inter-relações entre 61 espécies classificadas em 11 dos 23 subgêneros e utilizando três marcadores moleculares nrITS (nuclear ribossomal Internal Transcribed Spacer), o plastídio *trnL-trmF* (~ 1000bp) e o *rps4* gene (~ 570bp), observaram que independente do marcador e do método de filogenia

utilizados formaram-se três grupos principais (clades): um incluía os subgêneros *Distephana*, *Dysosmia*, *Dysosmioides*, *Passiflora* e *Tacsonoides*, um segundo incluindo os subgêneros *Adopogyne*, *Decaloba*, *Murucuja* e *Pseudomurucuja* e um terceiro com o subgênero *Astrophea*. Os autores concluíram que os diferentes subgêneros por eles estudados deveriam ser agrupados em três grupos maiores (*clade*): *Passiflora*, *Decaloba* e *Astrophana* respectivamente. Mais recentemente, Lorenz-Lemke et al. (2005) realizaram um estudo filogeográfico avaliando a evolução de *P. actinia* e *P. elegans*, duas espécies encontradas na Região Sul brasileira, baseado na variação de nrITS concluíram que a diferenciação de *P. actinia* em grupos geográficos e a origem de *P. elegans* podem ter sido influenciadas pela migração da Mata Atlântica em direção ao sul do País.

Outro uso muito importante dos marcadores moleculares é a construção de mapas genéticos e a determinação de QTLs (Quantitative Trait Loci) e QRL (Quantitative Resistance Loci) que aos poucos vão sendo desenvolvidos para a cultura do maracujazeiro. Carneiro et al. (2002) construíram um dos primeiros mapas em maracujá-amarelo usando marcadores RAPD em uma população de mapeamento constituída por 90 plantas de uma população  $F_1$  oriunda do cruzamento entre os acessos IAPAR-06 e IAPAR-123; os autores empregaram a configuração dupla *pseudo-testcross*. Lopes et al. (2003), utilizando AFLP, construíram outro mapa usando 117 plantas oriundas dessa mesma população. Em ambas as pesquisas, foram encontrados nove grupos de ligação para cada genitor que correspondem aos nove pares de cromossomos da espécie. Em outro trabalho, Lopes (2003) observou, no acesso IAPAR 123, pelo uso da análise de mapeamento por intervalo composto, um QRL na posição 39,57 cM (*LOD score* 4,41) do grupo de ligação 2, entre as marcas de AFLP EM161461r e EM01156a que explica 15,8% da variação fenotípica relacionada à resistência a *X. c. pv. passiflorae*.

Dentro da mesma linha de pesquisa, Moraes (2005) confeccionou mapas de ligação em maracujazeiro-amarelo e realizou o mapeamento de QTL para características ligadas à produção (velocidade de produção, produção total, número total de frutos, peso médio de fruto, comprimento e largura média de fruto, porcentagem de polpa, teor de sólidos solúveis totais e formato médio de frutos). O mapeamento de QTL, utilizando mapeamento por

intervalo composto, identificou várias regiões associadas ao controle desses caracteres nos mapas individuais. Foram mapeados QTLs para todos os caracteres que apresentaram variabilidade genética na população. A proporção da variação fenotípica, explicada pelos QTLs detectados, variou de 4,6% a 21,8%. No caso específico da variável número total de frutos, foi mapeado o total de sete QTLs. A proporção da variação fenotípica explicada por esses QTLs variou de 4,6% a 16,5%, sendo que um dos QTL apresentou maior efeito aditivo entre todos os outros.

## Conclusões

Considerando as características do maracujazeiro-amarelo: cultura alógama, semiperene e auto-incompatível, considerando também a pouca disponibilidade de cultivares seja clonal, seja seminal, aliada aos grandes desafios agrônômicos dessa cultura, conclui-se que há necessidade de programas de melhoramento capazes de associar os procedimentos clássicos às ferramentas biotecnológicas. Nesse particular, conclui-se pela potencialidade dos marcadores moleculares em atuar como ferramenta auxiliar a praticamente todas as etapas dos procedimentos de melhoramento. Em resumo, os marcadores podem contribuir para melhorar o conhecimento do material genético disponível aos melhoristas, caracterizando e quantificando a diversidade e a divergência genética. Podem, também, facilitar e aprofundar o conhecimento da herança dos caracteres de interesse, permitindo com isso, direcionar os procedimentos de melhoramento. Podem atuar como ferramenta na escolha de genitores de forma a explorar a heterose. Os marcadores podem atuar, ainda, no pós-melhoramento, em *fingerprinting* no monitoramento da pureza genética das cultivares desenvolvidas sejam clonais, sejam seminais.

## Referências bibliográficas

CARNEIRO, M. S.; CAMARGO, L. E. A.; COELHO, A. S. G.; VENCOSKY, R.; LEITE, R. P.; STENZEL, N. M. C.; VIEIRA, M. L. C. RAPD-based genetic linkage maps of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.). **Genome**, v. 45, p. 670-678, 2002.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1995. 220 p. (EMBRAPA-CENARGEN. Documentos, 20).

GANGA, M. D. R.; RUGGIERO, C.; LEMOS, E. G. de M.; GRILI, V. G.; GONÇALVES, M. M.; CHAGAS, E. A.; WICKERT, E. Diversidade genética em maracujazeiro-amarelo utilizando marcadores moleculares faflp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, p. 494-498, 2004.

LOPES, R. **Mapas de ligação AFLP e identificação de genes de resistência à *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* em maracujá-amarelo**. 2003. 97 f. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2003.

LOPES, R.; LOPES, M. T. G.; OLIVEIRA, A. V.; CAMARGO, L. E. A.; FUNGARO, M. H. P.; CARNEIRO, M. S.; VIEIRA, M. L. C. Marcadores moleculares dominantes (RAPD e AFLP). **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 29, p. 64-68, 2003.

MORAES, M. C. **Mapas de ligação e mapeamento de QTL ("Quantitative Trait Loci") em maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa* Deg.)**. 2005. 141 f. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2005.

MUSCHNER, V. C.; LORENZ, A. P.; CERVI, A. C.; BONNATO, S. L.; SOUZA-CHIES, T. T.; SALZANO, F. M.; FREITAS, L. B. A first molecular phylogenetic analysis of passiflora (Passifloraceae). **American Journal of Botany**, v. 90, p. 1229-1238, 2003.

LORENZ-LEMKE, A. P.; MUSCHNER, V. C.; BONNATO, S. L.; CERVI, A. C.; SALZANO, F. M.; FREITAS, L. B. Phylogeographic inferences concerning evolution of brazilian *Passiflora actinia* and *P. elegans* (Passifloraceae) based on ITS (nrDNA) variation. **Annals of Botany**, v. 95, n. 5, p. 799-806, 2005.

SEGURO, S. D.; D'EECKENBRUGGE, G. G.; OCAMPO, C. S.; OLLITRAULT, P. Isozyme variation in *Passiflora* subgenera *Tacsonia* and *Manicata*. Relationships between cultivated and wild species. **Genetics Resources and Crop Evolution**, v. 50, p. 417-427, 2003.

VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SOUZA, M. M.; MALDONADO, J. F.; AMARAL JÚNIOR, A. T. Diversidade genética entre genótipos comerciais de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) e entre espécies de *Passiflora* nativas determinada por marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 489-493, 2003.



É muito mais que encanto é saúde é sustento,  
É a mão da natureza aos mortais exibida  
Na condição de flor delicada e inocente.

Por mais fascinação e beleza envolvida  
É tão misteriosa como nosso firmamento  
Que dá tom celestial ao sul do continente.

*Geovane Alves de Andrade*

# Ecofisiologia do maracujazeiro e implicações na exploração diversificada

---

Marco Antonio da Silva Vasconcellos

Aldir Carlos Silva

Andrea Carvalho Silva

Fabrcício de Oliveira Reis

## Introdução

A maioria das 530 espécies de Passifloráceas descrita é originada da América Tropical. Embora sejam encontradas desde a região Amazônica até o Paraguai e o nordeste da Argentina, é o Brasil um dos principais centros de diversidade genética dessa família de plantas, apresentando mais de 150 espécies nativas. Contudo, a falta de um programa de pesquisa específico, voltado para a prospecção, identificação, coleta e manutenção de coleções ativas de germoplasma de plantas da família *Passifloraceae* limita a grande possibilidade de exploração dessa diversidade genética presente em nosso país.

Atualmente, os objetivos gerais mais importantes no melhoramento genético do maracujazeiro estão relacionados à produtividade (seleção de plantas potencialmente produtivas para os diferentes níveis de tecnologia empregados), resistência a pragas e doenças (ênfase para as viroses e bacterioses) e a qualidade dos frutos direcionados para os diferentes mercados (fruta in natura ou industrialização) (Meletti & Bruckner, 2001). Da mesma forma, pesquisas relacionadas à obtenção de princípios fitoterápicos nas diferentes espécies poderão servir de orientação em programas de melhoramento específico para obtenção de plantas que produzam determinado princípio fitoterápico em elevada quantidade.

O uso comercial direto e indireto de espécies de Passifloráceas, em parte, esbarra na falta de informações sobre o comportamento dessas plantas (suas fenofases), nas diferentes condições climáticas de cultivo. Portanto, o conhecimento do crescimento, desenvolvimento e características específicas da produção é fundamental para maior uniformidade na exploração comercial, obtendo-se dessa forma maiores produtividades e conseqüentemente elevação da renda do produtor.

Os estudos da ecofisiologia das fruteiras de clima tropical (as fenofases e a fisiologia das plantas) são escassos, não permitindo compreensão mais definida dos fenômenos relacionados ao crescimento e ao desenvolvimento das plantas, notadamente, da biologia floral, do florescimento, das relações fonte-dreno e da qualidade dos produtos em pós-colheita.

Aspectos relacionados ao comportamento dessas espécies, nas diferentes regiões produtoras, são reportados, em sua grande maioria, sob o ponto de vista de produção e da qualidade de frutos, não sendo dada a devida atenção para uma análise mais detalhada na qual aspectos anatômicos, morfológicos e fisiológicos, que poderiam dar subsídios para uma melhor explicação dos resultados, às vezes contraditórios, observados nos trabalhos de pesquisa, não são considerados.

Vários autores têm demonstrado que a produção do maracujazeiro encontra-se confinada a certas épocas do ano com frutificação afetada por mudanças na temperatura, fotoperíodo, radiação solar e precipitação pluvial (Menzel & Simpson, 1994). Todavia, a maioria desses estudos não se reporta aos modelos de crescimento vegetativo, ao efeito sobre as taxas fotossintéticas e às relações fonte-dreno das plantas, além do florescimento e pegamento de frutos. A falta de um programa de pesquisa específico, voltado para a prospecção, identificação, coleta e manutenção de coleções ativas de germoplasma de plantas da família *Passifloraceae*, limita a grande possibilidade de exploração dessa diversidade genética presente em nosso

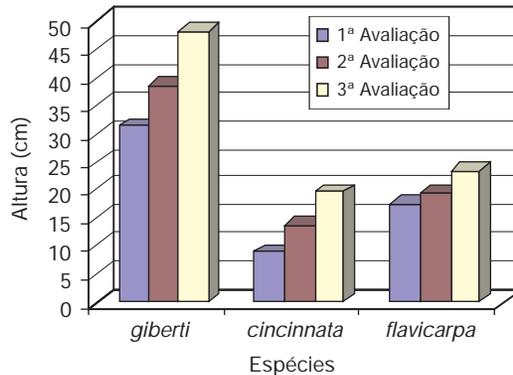
país. Tendo em vista tais considerações, este trabalho teve como objetivo apresentar os dados preliminares das pesquisas em condução, envolvendo a análise dos parâmetros de crescimento e desenvolvimento das plantas, trocas gasosas e exploração da diversidade genética em relação aos princípios fitoterápicos e suas implicações para as fenofases das plantas das diferentes espécies do gênero *Passiflora* presentes na coleção ativa de germoplasma de Passifloráceas instalada na UFRRJ, de forma que estudos futuros, realizados sobre a influência de distintos órgãos da planta ou de um mesmo órgão em estágio de desenvolvimento diferente, possam ser conduzidos com maior precisão.

As Passifloráceas têm seu uso comercial definido não apenas pelos seus frutos para fabricação de bebidas e sucos de frutas, mas também apresentam potencial de exploração da diversidade genética em relação ao comportamento quanto à resistência, tolerância ou suscetibilidade às pragas, doenças e nematóides (exploração como porta-enxerto), além do potencial uso como ornamental e no atendimento às indústrias de fitoterápicos.

Em relação ao uso como porta-enxerto, é necessário que essa espécie tenha facilidade de propagação, principalmente, nos aspectos relacionados à germinação e crescimento das plantas no viveiro, uma vez que a viabilização comercial dessa prática necessita que as plantas tenham crescimento uniforme e sejam vigorosas, atingindo o ponto de enxertia num período de tempo curto. Contudo, a utilização de espécies de Passifloráceas como porta-enxertos esbarra na falta de informações sobre o comportamento delas na fase de viveiro, bem como no sucesso ou não da combinação copa/porta-enxerto, utilizando, principalmente, como copa o maracujazeiro-amarelo.

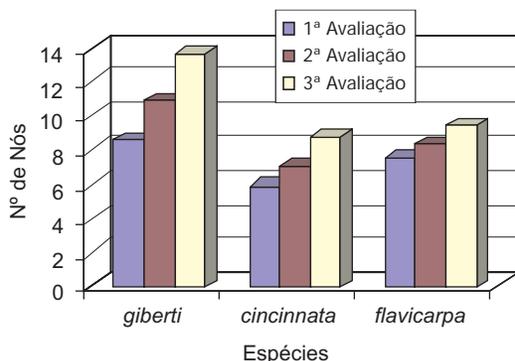
Num estudo comparativo entre *P. giberti*, *P. cincinnata* e *P. edulis f. flavicarpa*, constatou-se que as diferentes espécies de Passifloráceas apresentam grande variabilidade quanto à porcentagem de sementes normais germinadas, uniformidade e velocidade de germinação, fato esse que influencia no manejo das mudas na fase de viveiro. Da mesma forma, depois

da germinação, o crescimento das plantas também é diferenciado na comparação entre as espécies, sendo observado que *P. giberti* apresenta vigor de crescimento superior a *P. cincinnata* e esta a *P. edulis f. flavicarpa*, porém, apresentando menor diâmetro de caule. Essa determinação permite indicar que, em função de a espécie ser utilizada como porta-enxerto, o manejo das plantas no viveiro deverá ser diferenciado, bem como o momento da enxertia e por consequência os métodos de enxertia deverão ser avaliados. Deve ser ressaltado que algumas espécies, como *P. giberti*, emitem gavinhas já a partir do sexto nó, o que também deve ser considerado no manejo de plantas no viveiro.



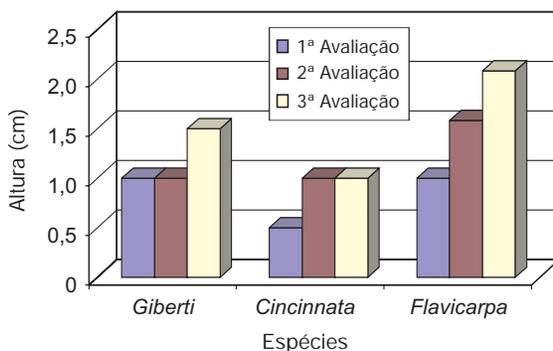
**Figura 1.** Dados médios da altura de plantas (cm) das diferentes espécies de Passifloráceas, nas três avaliações durante o crescimento no viveiro.

Na Figura 2, observa-se que *P. giberti* apresentou maior número médio de nós (e, conseqüentemente, de folhas) que *P. edulis f. flavicarpa* e esta maior que *P. cincinnata*, reflexo do crescimento das plantas em altura. Na análise da razão altura de planta/número de nós (valor que caracteriza o comprimento médio do entrenó), podem ser observadas grandes diferenças entre as espécies em que plantas de *P. edulis f. flavicarpa* apresentavam entrenós com menor comprimento que plantas de *P. giberti* e com comprimentos maiores que *P. cincinnata*.



**Figura 2.** Dados médios do número de nós das diferentes espécies de Passifloráceas, nas três avaliações, durante o crescimento no viveiro.

Observa-se que, para o parâmetro diâmetro do caule (Figura 3), entre as espécies, plantas de *P. edulis* f. *flavicarpa* mantiveram maior vigor ao longo do crescimento no viveiro, diferindo de *P. giberti* e *P. cincinnata* que apresentaram os menores valores médios. Portanto, plantas de *P. cincinnata* levarão mais tempo que plantas de *P. giberti* para atingir diâmetro de enxertia ou, então, para serem utilizadas como porta-enxerto para o maracujazeiro-amarelo, deverão ser utilizados garfos selecionados de ramos com menor diâmetro.



**Figura 3.** Dados médios dos valores de diâmetro de caule (mm) de mudas de diferentes espécies de Passifloráceas em função do período de desenvolvimento no viveiro.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 1, constata-se que *P. giberti* e *P. edulis* f. *flavicarpa* apresentaram valores próximos de área foliar total

com 140,73 cm<sup>2</sup> e 135,70 cm<sup>2</sup>, porém, superiores a *P. cincinnata* que apresentou 80,94 cm<sup>2</sup>. Contudo, na análise da razão entre a área foliar total e o número de folhas presentes (estimativa média da área do limbo foliar), *P. edulis f. flavicarpa* apresentou folhas com maior área foliar que *P. giberti* e *P. cincinnata*, com 19,11 cm<sup>2</sup>/folha, 14,51 cm<sup>2</sup>/folha e 9,09 cm<sup>2</sup>/folha respectivamente. Da mesma forma, as folhas de *P. edulis f. flavicarpa* além de maiores também apresentaram maior peso médio que *P. giberti* (0,06g/folha e 0,04 g/folha respectivamente). A relação entre a massa seca de folha e a massa seca total da planta mostrou que plantas de *P. cincinnata* e *P. edulis f. flavicarpa* apresentaram maior porcentagem de seu peso total em folhas que *P. giberti* que apresentaram maior porcentagem de seu peso na formação do caule + gavinhas. Quanto às raízes, *P. giberti* apresentou maior massa seca e relação massa seca de raiz por massa seca total da planta que *P. edulis f. flavicarpa* e esta em relação a *P. cincinnata*.

**Tabela 1.** Dados médios da análise destrutiva de plantas de três espécies de Passifloráceas na fase de desenvolvimento para o plantio no campo.

Espécie	Altura (cm)	N° de nós**	N° de folhas**	Diâmetro (mm)
<i>giberti</i>	34,08	11,4	9,7	1,8
<i>cincinnata</i>	17,23	9,9	8,9	1,6
<i>flavicarpa</i>	17,12	8,7	7,1	2,0
	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Área foliar (cm <sup>2</sup> )/n° folhas	MS* total da planta (g)	MS* Caule+gavinha (g)
<i>giberti</i>	140,73	14,51	0,885	0,319
<i>cincinnata</i>	80,94	9,09	0,371	0,087
<i>flavicarpa</i>	135,70	19,11	0,640	0,148
	MS* folha (g)	MS folha/n° folhas	MS* raiz (g)	MS* folha (g)/MS total da planta (g)
<i>giberti</i>	0,42	0,04	0,146	0,474
<i>cincinnata</i>	0,26	0,03	0,024	0,700
<i>flavicarpa</i>	0,42	0,06	0,072	0,656

\* MS = massa seca.

\*\* foram considerados todos nós da base até o ápice do caule).

A observação dos dados apresentados na Tabela 1 permite constatar o maior crescimento das plantas de *P. giberti* em relação às de *P. edulis f. flavicarpa* e estas em relação a *P. cincinnata*.

No campo, a avaliação do comportamento de plantas da mesma espécie acima listadas mostrou que a resposta delas às condições ambientais é distinta e que o elevado vigor das plantas de *P. giberti* no viveiro foi mantido nas condições de campo.

Na análise dos dados apresentados na Figura 4, verifica-se que, em relação ao crescimento do ramo principal, as plantas de *P. giberti* apresentaram maior velocidade de crescimento que *P. edulis f. flavicarpa* e *P. cincinnata* atingiu mais rapidamente a altura de desponete (aos 147 DAS) para a formação do espaldar, enquanto as outras duas espécies apresentaram comportamento semelhante, apenas atingindo o ponto de desponete aos 175 DAS (Figura 4 (a)).

Em relação ao comprimento dos entrenós e ao número de nós, pode ser constatado que *P. giberti* apresentou entrenós com maior comprimento e maior número de nós que as demais espécies até os 147 DAS, sendo posteriormente igualado a *P. cincinnata* para número de nós e a *P. edulis flavicarpa* para comprimento do entrenó (Figura 4 (c)). Observa-se que, para o parâmetro diâmetro do caule (Figura 4 (b)), as espécies apresentaram o mesmo padrão de aumento do diâmetro de caule, devendo ser ressaltado que, tanto *P. giberti* como *P. cincinnata*, por possuírem raízes gemíferas, apresentam a formação de brotações vegetativas de raiz, com a formação de grande número de caules oriundos da brotação de gemas vegetativas localizadas próximo ao colo da planta. Essas brotações de raiz surgem em distâncias superiores a dois ou três metros ou mais do caule principal da planta.

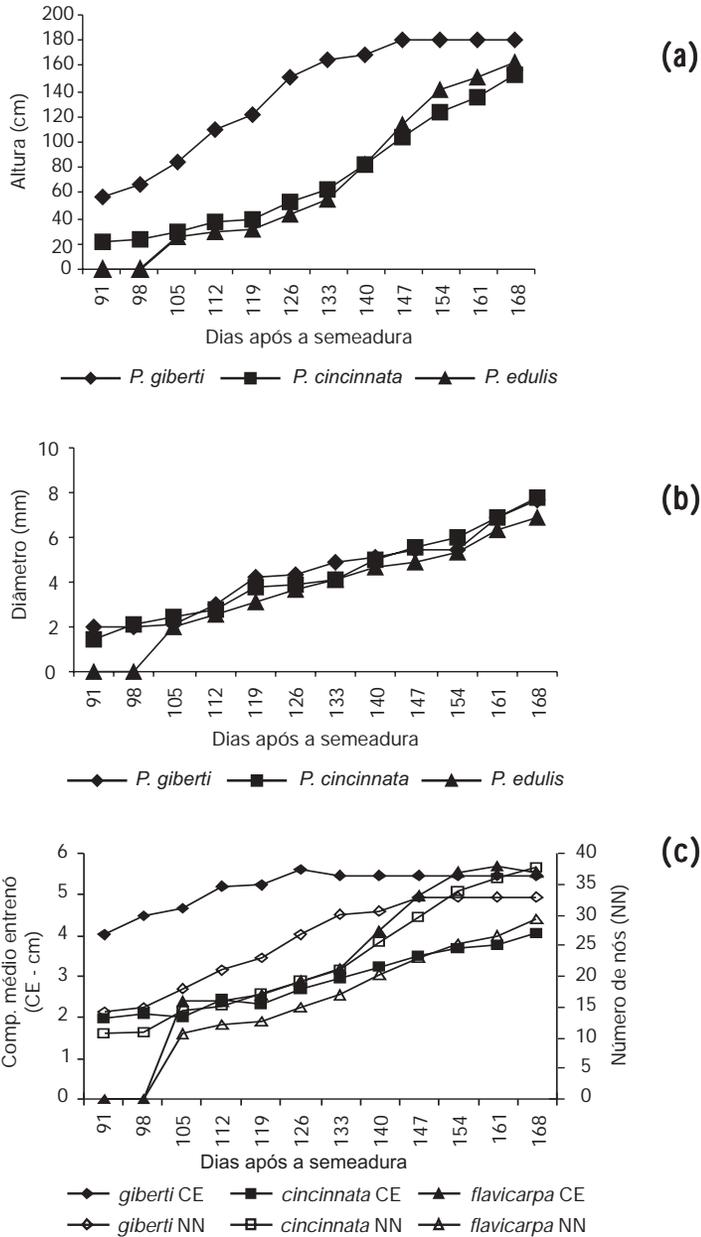
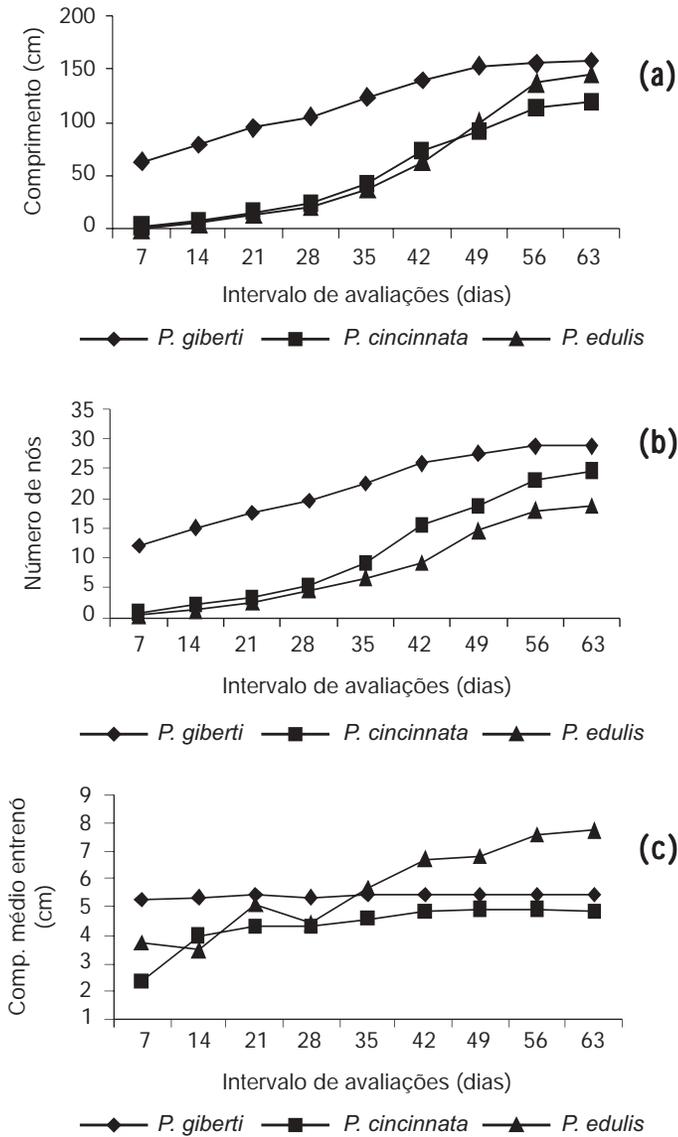


Figura 4. (a) Dados médios da altura (cm); (b) Diâmetro do caule de plantas (mm); (c) Comprimento do entrenó (CE) (cm) e número de nó (NN), de diferentes espécies de Passifloráceas.

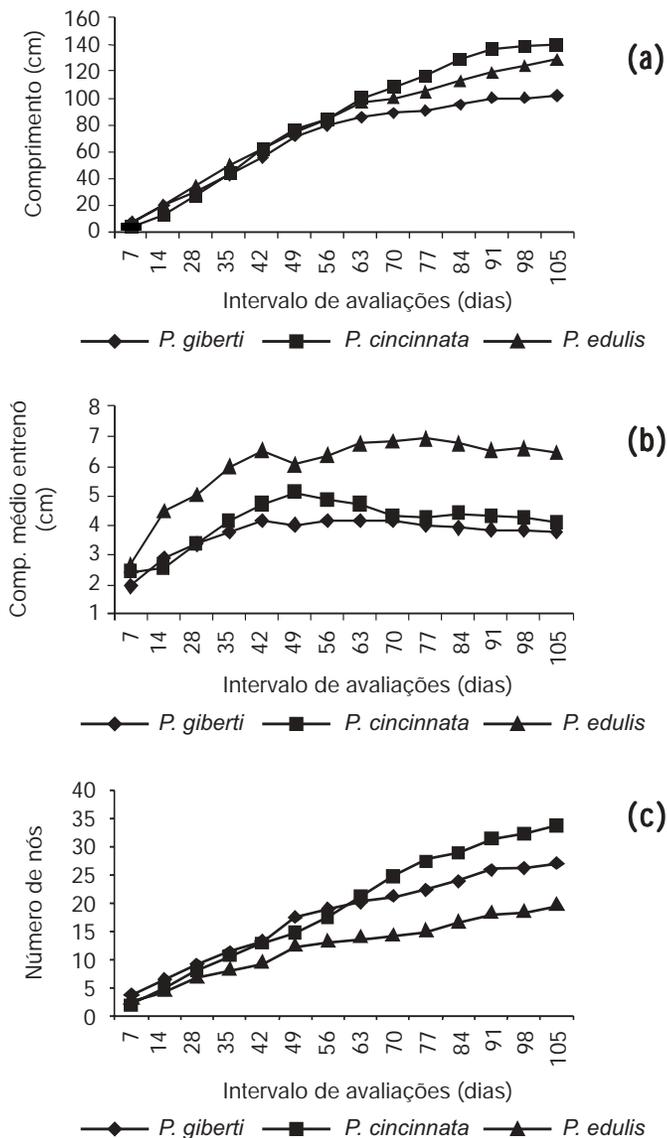
Constata-se, na Figura 5, que a espécie *P. giberti* manteve nos ramos secundários o mesmo comportamento já observado na Figura 1, com maior vigor de crescimento, sendo que essa sua característica permite o surgimento mais precoce dos ramos terciários. Quando se considera, também, o número de nós formados e o comprimento dos entrenós, percebe-se outra característica interessante de *P. giberti*, ou seja, a de potencialmente formar mais ramos terciários por unidade de medida que as outras espécies os quais produzirão as flores e frutos.

Ao observar a Figura 6, verifica-se que, na espécie *P. cincinnata*, houve maior velocidade de crescimento em relação às demais espécies, mantendo o mesmo comportamento para o parâmetro número de nós. Contudo, para o parâmetro comprimento médio dos entrenós *P. cincinnata* e *P. giberti* apresentaram valores semelhantes, porém, inferiores ao de *P. edulis flavicarpa*. Essas características fazem com que *P. cincinnata* apresente, em relação aos ramos terciários, maior potencial de produção, uma vez que numa dada unidade de comprimento de ramo terciário existirão potencialmente maior número de nós com possibilidade de produção de flores e, em consequência, de frutos. Outro aspecto interessante a ser considerado é a quantidade de material propagativo com probabilidade de uso para estaquia e enxertia que, em função do comprimento dos entrenós, será em maior quantidade nas espécies que apresentarem menores comprimentos de entrenó, como *P. cincinnata* e *P. giberti*.

A floração foi verificada apenas em *P. giberti*, aproximadamente, cinco meses depois da sementeira, bem como a frutificação um mês após a floração. A presença de botões florais foi observada já em nós do ramo principal e do ramo secundário, enquanto plantas de *P. cincinnata* e *P. edulis f. flavicarpa* não haviam emitido órgãos reprodutivos.

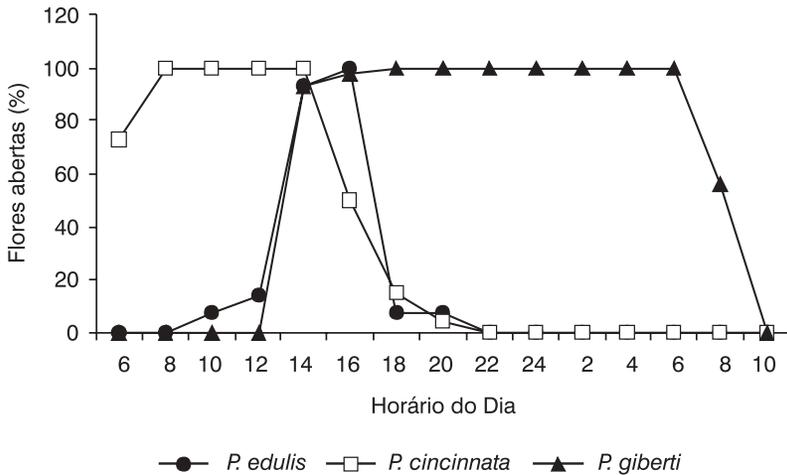


**Figura 5.** (a) Dados médios do comprimento de ramos; (b) número de nós e; (c) comprimento médio do entrenó de ramos secundários de diferentes espécies de Passifloráceas.



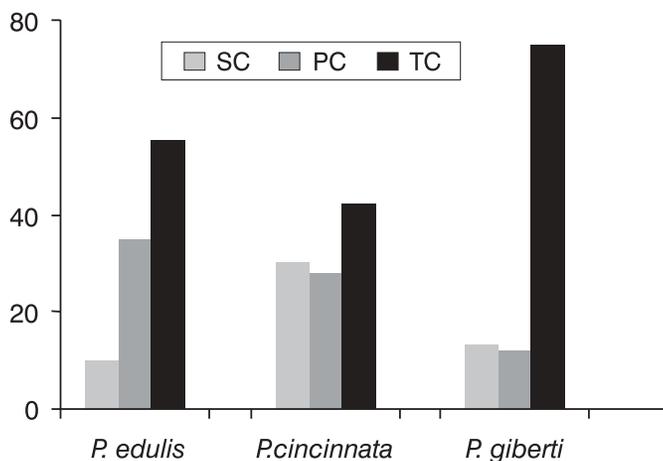
**Figura 6.** (a) Dados médios do comprimento de ramos; (b) comprimento médio do entrenó (b) e; (c) número de nós de ramos terciários de diferentes espécies de Passifloráceas.

Em relação ao florescimento, os dados obtidos mostraram que *P. giberti* apresentou, em relação a *P. edulis f. flavicarpa* e *P. cincinnata*, maior período de florescimento (com emissão de flores durante praticamente todo o ano), demonstrando ter diferenças quanto à exigência fotoperiódica de estímulo à diferenciação floral. Cada espécie apresentou um horário diferente de abertura de flores, sendo que, para a espécie *P. giberti*, a antese se deu às 16h com fechamento às 10h do outro dia, *P. cincinnata* abertura às 6h e fechamento às 20 h e *P. edulis f. flavicarpa* com início de abertura às 11h e fechamento às 18h.



**Figura 7.** Avaliação do horário de abertura das flores das três espécies de Passiflora, *P. edulis flavicarpa*, *P. cincinnata* e *P. giberti*.

A ocorrência de diferentes tipos de flores foi verificada em maracujá-amarelo por (Ruggiero, 1973) no qual se constatou a presença de flores com diferenças no ângulo de curvatura dos estiletos, classificando-as em flores do tipo TC, PC e SC. Como se pode observar na Figura 8, as espécies estudadas apresentaram, também, tipos diferentes de flores e, nas avaliações, constatou-se maior quantidade de flores TC em *P. giberti* quando comparada às outras espécies que apresentaram valores similares de flores TC e PC, mas estas com comportamento igual e já as flores SC tiveram uma quantidade igual em *P. giberti* e *P. edulis flavicarpa*, diferentemente de *P. cincinnata* em que os valores foram quase iguais para flores PC e SC.



**Figura 8.** Porcentagem de ocorrência de diferentes tipos florais em *P. giberti*, *P. cincinnata* e *P. edulis f. flavicarpa*.

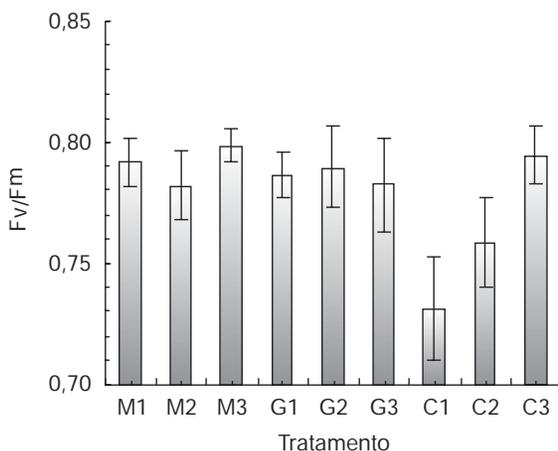
Na avaliação da fotossíntese, realizada pelas plantas das espécies acima testadas, observou-se que *P. giberti* apresentou valores médios da taxa de fotossíntese líquida de  $\pm 15 \mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , enquanto *P. cincinnata* e *P. edulis f. flavicarpa* apresentaram valores médios em torno de  $13,5 \mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  e  $9,5 \mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  respectivamente. A principal constatação foi a redução dos valores da taxa de fotossíntese líquida da ordem de 85% a 95%, nas folhas localizadas nas porções internas do dossel das plantas.

Observa-se que o fluxo de fótons fotossintetizantes é bastante afetado pela localização da folha no dossel, desse modo, interferindo marcadamente na eficiência fotossintética das folhas. Da mesma forma, a condutância estomática e a transpiração são afetadas pela localização das folhas, levando também a um menor valor das taxas fotossintéticas dessas folhas pela não-abertura dos estômatos.

**Figura 9.** Dados das trocas gasosas das folhas de *P. edulis flavicarpa* (M), *P. giberti* (G) e *P. cincinnata* (C), localizadas em diferentes posições no dossel das plantas, em que: (1) folhas totalmente expostas ao sol, parte externa do dossel; (2) folhas localizadas na porção intermediária do interior do dossel e (3) folhas localizadas na parte mais interna do dossel.

Na avaliação da fluorescência, os valores de  $F_v/F_m$  revelam as condições do aparato fotossintético das folhas. Os valores de  $F_v/F_m$  entre 0,75 e 0,85 demonstram eficiente conversão da energia luminosa no PSII. No caso do maracujazeiro, nenhuma das espécies estudadas apresentou problemas em seu aparato fotossintético. Os valores reduzidos observados de taxa fotossintética líquida foram limitados então pelo fluxo de fótons

fotoassintéticos, pois, se as folhas sombreadas (intermediária e sombra) recebessem quantidade maior de irradiância, seria possível acréscimo considerável na taxa fotoassintética líquida. Portanto, com base nessas informações, é possível justificar a poda desses ramos, uma vez que suas folhas não produzem fotoassimilados adequados por ausência total ou parcial de luz, comportando-se, assim, como um órgão-dreno.



**Figura 10.** Dados médios de  $F_v/F_m$  das folhas de *P. edulis flavicarpa* (M), *P. giberti* (G) e *P. cincinnata* (C), localizadas em diferentes posições no dossel das plantas, em que: (1) folhas totalmente expostas ao sol, parte externa do dossel; (2) folhas localizadas na porção intermediária do interior do dossel e (3) folhas localizadas na parte mais interna do dossel.

Em relação à perspectiva de exploração da diversidade genética em Passifloráceas, visando ao mercado de fitoterápicos, ressalta-se que diversas classes de compostos químicos já foram isoladas de diferentes Passifloráceas, com destaque para *P. incarnata*, *P. alata* e *P. edulis* Sims. Entre esses compostos isolados, têm-se os alcalóides, flavonóides, glicosídeos cianogênicos, fração de esteróide, gomas, taninos, resinas e ácidos.

Os flavonóides são compostos importantes para o controle de qualidade de medicamentos fitoterápicos, pois, por meio deles, é possível

identificar muitas espécies do gênero *Passiflora*. Os flavonóides encontrados em *Passiflora* são do tipo C-glicosídeo (há relatos de aproximadamente 50 flavonóides C-glicosídeos presentes nas folhas de plantas do gênero *Passiflora*). Flavonóides C-glicosídeos são pigmentos polifenólicos abundantes em plantas, possuem atividade biológica de interesse quimiotaxonômico. Essas substâncias são também freqüentemente usadas como marcadores na análise de medicamentos fitoterápicos.

De acordo com os estudos iniciados na década de 1980, observou-se que a constituição de flavonóides é complexa, tendo sido verificada a influência de diversos fatores na constituição dos diferentes flavonóides nas plantas, tais como: a metodologia de análise utilizada, a época e o período de colheita das amostras, o local de cultivo, bem como a parte da planta amostrada. Nessa última referência, pode-se exemplificar que, em *P. incarnata*, as folhas e flores apresentam teores de flavonóides totais equivalentes, ao passo que, no caule, esses teores são quatro vezes menores.

Outro tópico importante está relacionado às diferentes épocas do ano em que ocorre a coleta do material vegetal, ou seja, relacionado à fenologia da planta. A concentração de princípios ativos na planta coletada, em função do seu estágio de crescimento, pode ser diferente, dependendo da época em que ocorre essa coleta, sendo, portanto, interessante a realização de testes com material coletado em diferentes épocas do ano, de acordo com as fases fenológicas da planta (vegetativa e/ou reprodutiva), assim como a avaliação de diferentes órgãos.

Portanto, a fase fenológica da planta é ponto fundamental de análise, visto que a produção de princípios ativos e metabólitos secundários, numa planta jovem, em pleno desenvolvimento, pode ser diferente da que ocorre numa planta madura cuja produção de frutos já está estabelecida.

Quanto aos alcalóides, os encontrados em *Passiflora* são do tipo indólico que compreendem o segundo grande grupo de alcalóides

atualmente conhecidos. Destes, muitos têm valor na medicina como tranquilizantes ou no tratamento de hipertensão. *P. incarnata* é também a espécie do gênero *Passiflora* mais estudada quanto aos alcalóides, sendo detectados a harmina, harmol, harmalina, harmalol e harmana.

Diversos autores relatam que a parte do vegetal amostrada tem grande influência no teor do alcalóide analisado, sendo que os maiores teores de alcalóides harmônicos foram detectados nas folhas em relação ao caule, tanto para *P. edulis* e *P. edulis f. flavicarpa*.

Dessa forma, a avaliação do germoplasma de Passifloráceas abre um leque de possibilidades de execução de projetos de pesquisa nas diversas áreas da agronomia e correlatas. A carência de informações sobre as potencialidades de uso direto ou indireto na produção comercial para o atendimento à grande demanda das indústrias farmacêuticas e de cosméticos por metabólitos (flavonóides e alcalóides) presentes nas Passifloráceas dificulta ou limita a exploração comercial da grande diversidade genética dessa família de plantas presentes em nosso país. Nesse sentido, a definição de sistemas de produção, visando ao atendimento de produtos específicos para o mercado de fitoterápicos e de cosméticos, torna-se preponderante, pois, nesses sistemas, o produto final passa a ser as folhas e os entrenós que deverão apresentar alto rendimento nos metabólitos desejados os quais podem ou não ser obtidos de plantas ainda em fase vegetativa ou reprodutiva.

## **Conclusão**

Os dados obtidos demonstram as diferenças existentes entre as espécies de Passifloráceas sob os mais diferentes aspectos de seu crescimento, desenvolvimento e fisiologia, ressaltando que esses aspectos influenciam na tomada de decisão e nas formas de manejo das plantas, nas suas diferentes fases de cultivo, com intuito de atingir os maiores rendimentos de produção quais sejam seus frutos, flores ou folhas.

## Referências bibliográficas

AKAMINE, E. K.; GIROLAMI, G. **Pollination and fruit set in the yellow passion fruit.** Havai: University of Hawaii, 1959. 44 p. (University Hawaii. Technical Bulletin, 39). *Agropecuário*, v. 21, n. 206, p. 18-24, 2000.

BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R.; LONG, S. P.; BAKER, N. R.; ÖQUIST, G.; SCHREIBER, U.; LECHNER, E. G. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. **Functional Ecology**, v. 3, p. 497-514, 1989.

BOTSARIS, A. S.; MACHADO, P. V. Memento Terapêutico – Fitoterápicos. **Flora Medicinal**, v. 1, p. 69, 1999.

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

CARVALHO, A. M. Melhoramento cultural do maracujazeiro. In: SIMPÓSIO DA CULTURA DO MARACUJÁ, 1971, Campinas. **Anais...** Campinas: SBF, 1974. p. 1-9.

CORBERT, S. A.; WILMER, P. G. Pollination of the yellow passion fruit (*P. edulis* f. *flavicarpa*): nectar, pollen and carpenter bees. **J. Agric. Sci.**, v. 95, n. 3, p. 655-666, 1980.

FREITAS, P. C. D. **Estudo farmacognóstico comparativo de espécies brasileiras do gênero Passiflora L.** 1985. 133 f. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1985.

HOWELL, C. W. Edible fruited *Passiflora* adapted to south Florida growing conditions. **Proc. FI. State Hortic. Soc.**, v. 89, p. 236-238, 1976.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal.** São Paulo: Guanabara Koogan, 2004. p. 492.

MACIEL, N.; BAUTISTA, D.; AULAR, J. Crecimiento, desarrollo y arquitectura de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. **Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort.**, n. 38, p. 133-138, 1994.

MELETTI, L. M. M.; BRUCKNER, C. H. Melhoramento genético. IN: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. (Ed.). **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria e mercado.** Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001. p. 345-385.

MENGHINI, A.; MANCINI, L. A. TLC determination of flavonoid accumulation in clonal populations of *Passiflora incarnata* L. **Pharmacological Research Communications**, v. 20, n. 5, p. 113-116, 1988.

MENZEL, C. M.; SIMPSON, D. R. Passionfruit. In: SCHAFFER, B.; ANDERSEN, P. C. (Ed.). **Handbook of environmental physiology crops**: volume II: sub-tropical and tropical crops. Boca Raton: CRC Press, 1994. p. 225-241.

OGA, S.; FREITAS, P. C.; SILVA, A. C. G.; HANADA, S. Pharmacological trials of crude extract of *Passiflora alata*. **Planta Medica**, v. 50, n. 4, p. 303-306, 1984.

PEREIRA, C. A. M.; VILEGAS, J. H. Y. Constituintes químicos e farmacologia do gênero *Passiflora* com ênfase a *P. alata* Dryander., *P. edulis* Sims e *P. incarnata* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 3, n. 1, p. 1-12, 2000.

RUGGIERO, C. **Estudos da floração e polinização do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg)**. 1973. 92 f. Tese (Doutorado)- Faculdade de Medicina Veterinária e Agronomia, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1973.

RUGGIERO, C. Maracujá: do plantio à colheita. SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 5., 1998, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 1998. 388 p.

SÃO JOSÉ, A. R.; SOUZA, I. V. B.; DUARTE FILHO, J.; LEITE, M. J. N. Formação de mudas de maracujazeiros. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.). **Maracujá produção e mercado**. Vitória da Conquista: UESB, 1994. p. 49-57.

ULUBELEN, A.; OKSUS, S.; MABRY, T. J.; DELLAMONICA, G.; CHOPIN, J. C-glycosylflavonoids from *Passiflora pittiere*, *P. alata*, *P. ambigua* e *Adenia mannii*. **Journal of Natural Products**, v. 45, n. 6, p. 783, 1982.

VASCONCELLOS, M. A. S. **Biologia floral do maracujá doce (*Passiflora Alata* Dryand) nas condições de Botucatu-Sp**. 1991. Dissertação (Mestrado)- UNESP, Botucatu, 1991.

VASCONCELLOS, M. A. S.; DUARTE FILHO, J. Ecofisiologia do maracujazeiro. **Informe Agropecuário**, v. 21, n. 206, p. 18-24, 2000.

VASCONCELLOS, M. A. S.; DUCATTI, C.; RODRIGUES, J. D.; BUSQUET, R. N. B. Discriminação isotópica de carbono em plantas de maracujá amarelo e doce. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 16., 2000, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza:SBF, 2000. 1 CD-ROM.





Além da opulência das boas colheitas  
Do gênero passiflora de tudo aproveita.  
Das raízes profundas às folhas derradeiras  
Porque é nutritiva, cosmética e milagreira.

Ninguém sabe contar a origem desta planta  
Milênios se passaram como o vento que canta.  
E o maracujá se espalha em contorcidas rotas  
Sofrendo mutações desde épocas remotas.

*Geovane Alves de Andrade*

# Auto-incompatibilidade do maracujá – implicações no melhoramento genético

---

Claudio Horst Bruckner

Taís de Moraes Falleiro Suassuna

Mailson Monteiro do Rêgo

Endson Santana Nunes

## Introdução

O maracujazeiro é uma planta alógama por excelência. A polinização é importante fator a se considerar na cultura dessa planta, pois a frutificação, a qualidade, o tamanho e o peso dos frutos, além da porcentagem de suco, dependem da eficiência da polinização (Akamine e Girolami, 1959). Hardin (1986) confirmou esses dados determinando correlação significativa e positiva entre número de sementes e peso dos frutos, volume de suco e percentual de açúcar. Os agentes polinizadores mais eficientes são as mamangavas (*Xylocopa* spp.). Insetos menores podem coletar o néctar sem polinizar o estigma. A abelha *Apis mellifera* tem efeito prejudicial à polinização, e a ação do vento como agente polinizador é nula (Akamine & Girolami, 1959; Ruggiero et al., 1976a; Leone, 1990), porque o pólen é pesado e pegajoso.

As flores das plantas do gênero *Passiflora* são grandes, vistosas e protegidas na base por brácteas foliares. O cálice, tubuloso, é herbáceo ou subcarnoso, com cinco sépalas oblongas, membranáceas ou coriáceas. A corola tem cinco pétalas do tamanho das sépalas ou pouco menores que elas, livres ou levemente concrecionadas na base, insertas no bordo do tubo calicinal. A corona é formada por um a cinco verticilos, inserta na base do tubo calicinal e composta de filamentos ou/e figuras diversas, de cores vivas e atraentes (Leitão Filho & Aranha, 1974).

O centro da flor contém o androginóforo colunar bem desenvolvido. O ovário é globoso, unilocular, com placentação parietal e multiovulado. Os estiletes, em número de três, são livres ou conatos na base, com estigmas capitados. O androceu é formado por cinco estames, com filetes livres inseridos abaixo do ovário e anteras dorsifixas e versáteis (Leitão Filho & Aranha, 1974).

O florescimento do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) inicia-se por volta do meio-dia e vai até o final da tarde. O florescimento do maracujá-roxo (*Passiflora edulis* f. *edulis*) pode iniciar-se mais cedo, pela manhã, havendo certa variabilidade no horário de abertura da flor (Akamine & Girolami, 1959; Oliveira, 1980, 1987; Meletti et al., 1992; Bruckner et al., 1995). As plantas necessitam de dias longos para florescer. Nas condições de Jaboticabal, SP, verificou-se que o florescimento não ocorre em dias com duração inferior a 11 horas (Vallini et al., 1976).

Quando a flor se abre, os estiletes encontram-se em posição vertical. Depois de completada a antese, os estiletes curvam-se até os estigmas atingirem o mesmo nível das anteras, quando podem ser tocados pelos insetos polinizadores. Esse tempo de curvatura foi de 71,24 minutos, determinado por Ruggiero et al. (1978), em Jaboticabal. Em Botucatu, Cereda & Urashima (1989) registraram 86,15 minutos e, no Havaí, Akamine & Girolami (1959) marcaram esse tempo como 60 minutos. Essas diferenças podem ser atribuídas às variações climáticas.

Parte das flores pode ter estiletes sem curvaturas que não frutificam mesmo quando polinizadas artificialmente (Akamine & Girolami, 1959). Ruggiero et al. (1976b) encontraram menor porcentagem de células em divisão nos ovários de flores sem curvatura, indicando que a esterilidade desse tipo de flor decorre da inviabilidade dos óvulos. Pereira et al. (1996) observaram que, nas flores sem curvatura, o desenvolvimento do saco embrionário é anormal e não apresenta oosfera. O pólen, entretanto, é viável, independentemente da curvatura do estilete (Ruggiero et al., 1976c).

Akamine & Girolami (1959) encontraram plantas com 0% a 50% de flores com estiletes sem curvatura por planta.

Em diversos artigos, tem sido avaliada a porcentagem de flores com curvatura completa, parcial e sem curvatura. Entretanto, segundo dados apresentados em simpósio por Caglianoni (2005), a porcentagem de flores com curvatura completa aumenta com o horário de avaliação, indicando que as flores poderão ser classificadas como de curvatura parcial ou total, dependendo do horário em que foram avaliadas.

## **Auto-Incompatibilidade em plantas**

A auto-incompatibilidade é um mecanismo importante que determina a alogamia, pois impede que plantas produtoras de gametas masculinos e femininos funcionais produzam sementes quando polinizadas. Autofecundações e algumas hibridações podem ser inviáveis devido à presença de auto-incompatibilidade que é muito freqüente na natureza. Nas espécies cultivadas, ela se torna menos freqüente, em razão da pressão de seleção contrária causada pela domesticação (Mather, 1953; Rowlands, 1964 e Nettancourt, 1977).

### **Sistemas de auto-incompatibilidade**

Os sistemas de auto-incompatibilidade têm sido divididos em heteromórficos, quando há diferenças nas estruturas florais, e homomórficos, quando essas diferenças estão ausentes. O controle genético do fenótipo do grão de pólen pode ser dividido em duas classes: gametofítico, com o gene *S* sendo transcrito e traduzido no gametófito, após a segregação dos genes na meiose; e esporofítico, com o gene sendo transcrito e provavelmente traduzido antes da meiose, no tecido do esporófito (Lewis, 1994). Conseqüentemente, no sistema gametofítico, o fenótipo do grão de pólen corresponde a seu respectivo genótipo, enquanto, no esporofítico, o fenótipo do grão de pólen é o mesmo da planta que o gerou.

Estima-se que mais da metade das espécies de angiospermas apresentem algum tipo de auto-incompatibilidade. O sistema gametofítico foi bem caracterizado em 15 famílias, destacando-se os trabalhos em Solanaceae (Newbigin et al., 1994). Já o sistema esporofítico tem sido descrito em Brassicaceae, principalmente, Asteraceae, Convolvulaceae (Hinata et al., 1993), Compositae (Gerstel, 1950; Hughes & Babcock, 1950, citados por Nettancourt, 1977) e, mais recentemente, Passifloraceae (Bruckner et al., 1995).

As principais características do sistema gametofítico são: (1) controle monogênico (gene-*S*) com alelos múltiplos; (2) controle do fenótipo do pólen é gametofítico; (3) alelos apresentam ação individual no estigma, sem nenhuma interação; (4) tubos polínicos são incapazes de crescer nos estiletes que tenham um alelo *S* em comum. Esse sistema apresenta três tipos principais de polinização: (1) totalmente incompatível, quando ambos os alelos são comuns; (2) parcialmente compatível, em que apenas um alelo é diferente, então metade dos grãos de pólen penetra no estigma e estilete, realizando a fertilização, enquanto o restante é inibido, geralmente no estilete; e (3) plenamente compatível, sendo todos os quatro alelos diferentes. A progênie do segundo tipo de cruzamento apresenta dois grupos compatíveis entre si, ambos compatíveis reciprocamente com o genitor feminino e apenas um deles compatível com o genitor masculino. Já a progênie originada de cruzamento tipo três apresenta quatro grupos compatíveis entre si, todos eles compatíveis com os genitores feminino e masculino (Lewis, 1954).

O sistema esporofítico é similar ao gametofítico por apresentar controle monogênico (gene-*S*) com alelos múltiplos, mas difere no controle do fenótipo da reação de incompatibilidade que é esporofítico. Os alelos podem apresentar dominância, ação individual ou competitividade no pólen e estigma de acordo com a combinação presente. Segundo Lewis (1954), suas principais características são: (1) as diferenças em cruzamentos recíprocos são freqüentes; (2) a incompatibilidade pode ocorrer com genitor feminino; (3) uma família pode apresentar três grupos auto-incompatíveis;

(4) os homocigotos são comuns no sistema; e (5) um grupo auto-incompatível pode conter dois genótipos.

Exemplos de controle por mais de um loco no sistema gametofítico são relatados em Poaceae, Chenopodiaceae e Ranunculaceae (Østerbye, 1986). Já, no sistema esporofítico, uma única espécie em Brassicaceae, *Eruca sativa*, é citada por apresentar controle em que pelo menos três locos estão envolvidos (Verma et al., 1977, citados por Lewis, 1994).

Lewis et al. (1988) e Zuberi & Lewis (1988) verificaram a existência de um segundo gene de ação gametofítica em *Raphanus sativus* e *Brassica campestris*. Esses autores acreditam que isso seja regra em Brassicaceae e no sistema esporofítico em geral. Os autores justificam essa hipótese pela ausência de resultados inexplicáveis no sistema gametofítico e de 2% a 10% de resultados inesperados em todas as espécies estudadas do sistema esporofítico. Por ser utilizada a mesma metodologia para os dois sistemas, os resultados não esperados, encontrados nos trabalhos com o sistema esporofítico, passam a ser significativos, não podendo, portanto, ser atribuídos ao acaso.

## Mecanismos de reação de auto-incompatibilidade

Existem diferenças fundamentais entre os sistemas gametofítico e esporofítico, conforme revisado, entre outros autores, por Elleman & Dickinson (1994). No sistema gametofítico, o pólen é binucleado e a superfície estigmática é úmida. Essa umidade facilita a hidratação do pólen. Além disso, a superfície estigmática se rompe na maturação. Esses fatos favorecem a germinação rápida, de modo que a reação de auto-incompatibilidade ocorre com inibição do crescimento do tubo polínico, já no estilete. Essa inibição ocorre tanto com polinização auto-incompatível quanto com a interespecífica.

Na auto-incompatibilidade esporofítica, por sua vez, o pólen é trinucleado, e a superfície do estigma é seca e sua cutícula permanece intacta. O pólen tem de ser capaz de retirar a água do protoplasto da célula papilar

para sua germinação. A principal função da capa polínica, nesse caso, é absorver água do estigma. Em cruzamentos compatíveis, a capa do pólen e a parede da célula da papila interagem, permitindo que o tubo polínico penetre duas camadas de paredes e, até a passagem dessa barreira, o estigma não distingue entre pólen compatível e incompatível. A reação de auto-incompatibilidade ocorre entre produtos do estigma e componentes do pólen de origem esporofítica.

Conforme revisado por Takayama & Isogai (2005), o loco *S* é um complexo multigênico que segrega como uma unidade. Os variantes desse complexo são chamados haplótipos *S*. O reconhecimento da autopolinização ocorre em nível de interação proteína-proteína dos determinantes feminino e masculino, e a resposta incompatível ocorre quando os dois determinantes se originam do mesmo haplótipo *S*.

Em Brassicaceae, cuja auto-incompatibilidade é do tipo esporofítica, ocorrem glicoproteínas no estigma, chamadas glicoproteínas do loco *S* (SLG) que co-segregam com o haplótipo *S*. Fazem parte do loco o determinante feminino, o gene cinase receptor do loco *S* (SRK) e o determinante masculino, chamado SP11 (*S*-locus protein 11) ou SCR (*S*-locus cysteine rich), todos polimórficos e co-segregantes com o haplótipo *S*. Havendo autopolinização, ocorre inibição da hidratação do pólen ou rápido impedimento do desenvolvimento do tubo polínico. Estudos histoquímicos indicam que as proteínas SP11/SCR são secretadas em células do *tapetum* na antera e translocadas para a superfície do pólen, o que explica sua ação esporofítica.

Na auto-incompatibilidade gametofítica, foram encontrados diferentes mecanismos nas famílias. Em Solanaceae, Rosaceae e Scrophulariaceae, o determinante feminino é uma RNase, a *S*-RNase. As *S*-RNases se expressam exclusivamente no pistilo, sendo as proteínas localizadas principalmente na parte superior do estilete onde ocorre a inibição. As RNases degradam o RNA do tubo polínico do mesmo haplótipo *S*. As hipóteses para explicar os mecanismos de inibição são discutidas por Takayama & Isogai (2005). Em Papaveraceae, a

incompatibilidade envolve mecanismo dependente da concentração de  $\text{Ca}^{+2}$  (Takayama & Isogai, 2005).

## Auto-incompatibilidade em maracujazeiro

A ocorrência de incompatibilidade em cruzamentos em populações de plantas auto-incompatíveis de *Passiflora* já foi relatada por Munro, 1868, citado por Nettancourt (1977). Trabalhos como os de Akamine & Girolami (1959), Knight Jr. & Winters (1962, 1963) e Chang (1974) relatam, também, a ocorrência de auto-incompatibilidade e incompatibilidade em alguns cruzamentos.

Diferenças na frutificação em cruzamentos recíprocos foram encontradas por Akamine & Girolami (1959) (Tabela 1), Knight Jr. & Winters (1962) e Chang (1974). Akamine & Girolami (1959) consideraram a possibilidade da presença de esterilidade masculina, o que é improvável, pois as diferenças podem ser explicadas pela incompatibilidade esporófitica com interação alélica diversa no pólen e no pistilo (Lewis, 1954) ou por gene de ação gametofítica, associado ao sistema esporófitico (Lewis, 1994; Suassuna et al., 2003).

**Tabela 1.** Diferenças em cruzamentos recíprocos encontradas por Akamine & Girolami (1959).

Cruzamento (feminino x masculino)	Frutificação (%)
W-83 x W-88	57,5
W-88 x W-83	0,0
W-94 x W-99	0,0
W-99 x W-94	82,6
W-84 x W-89	0,0
W-89 x W-84	60,0
W-88 x W-89	0,0
W-89 x W-88	82,9

Ho & Shii (1986) estudaram a auto-incompatibilidade no maracujazeiro com flores destacadas, avaliando, *in vitro*, a formação do tubo polínico, a fertilização e a expansão do ovário. Verificaram que o estigma é do tipo seco e que a superfície estigmática é o sítio de reconhecimento ou rejeição do pólen, sugerindo que a incompatibilidade no maracujazeiro é do tipo homomórfica esporofítica.

Bruckner et al. (1995) estudaram a incompatibilidade no maracujazeiro em duas progênies de irmãos completos e uma progênie proveniente de autofecundação. Com os resultados de cruzamentos recíprocos em dialelo, separaram as progênies em grupos de incompatibilidade e, a partir de cruzamentos entre esses grupos, identificaram três alelos  $S$ . autofecundando uma planta de fenótipo  $S_2$ , obtiveram plantas  $S_2$  e  $S_1$  na proporção 3:1, indicando dominância de  $S_2$  sobre  $S_1$ . Do cruzamento entre duas plantas  $S_2$ , originaram plantas  $S_3$ , indicando, da mesma forma, dominância de  $S_2$  sobre  $S_3$ . Também ocorreu incompatibilidade em cruzamentos com o genitor feminino. Com base nesses resultados, os autores determinaram que o sistema de incompatibilidade no maracujazeiro é do tipo homomórfico-esporofítico, provavelmente, controlado por um gene.

Rêgo et al. (1999) continuaram o estudo da auto-incompatibilidade com quatro progênies oriundas dos trabalhos de Bruckner et al. (1995) e uma proveniente de Jaboticabal, SP. Das quatro progênies citadas primeiramente, duas apresentaram resultados compatíveis com herança bifatorial. Na progênie oriunda de Jaboticabal, denominada BJ, houve diferença nos cruzamentos entre dois grupos, com hibridações bem-sucedidas apenas unilateralmente.

Com o objetivo de identificar proteínas que co-segregam com os alelos relacionados à auto-incompatibilidade, Rêgo (1997) verificou que: (1) a expressão das proteínas é tecido-específica, ocorrendo na superfície do estigma e em pequena concentração na parte superior do estilete;

(2) a síntese dessas proteínas é perceptível no gel, a partir de botões com comprimento de 40 mm até a antese; (3) os alelos  $S_2$ ,  $S_3$ ,  $S_4$  e  $S_6$  foram identificados com base nos pesos moleculares das proteínas a eles associados.

Rêgo (2001) verificou que a técnica PCR com oligonucleotídeos, iniciadores específicos, sintetizados a partir da região conservada das SLGs de *Brassica*, foi eficiente na amplificação dos alelos  $S_1$  e  $S_3$  do maracujazeiro e permitiu incluí-los no subgrupo I das SLGs de *Brassica*.

Rêgo et al. (2000) investigaram a interação pólen-pistilo em autofecundações e cruzamentos compatíveis e incompatíveis. Confirmando os trabalhos de Ho & Shii (1986), verificaram que o tubo polínico em autofecundações e em cruzamentos incompatíveis é inibido na superfície estigmática, 30 minutos após a polinização, no interior das células da papila. No caso de cruzamentos compatíveis, a fertilização ocorreu, aproximadamente, 12 horas após a polinização. No caso de diferença em cruzamentos recíprocos entre grupos da progênie BJ, os autores verificaram que a inibição do crescimento do tubo polínico ocorreu no tecido de transmissão do estilete que é uma característica do sistema gametofítico.

Suassuna et al. (2003), estudando progênies obtidas de cruzamento entre plantas de mesmo fenótipo  $S$  ( $S_3S_3$ ), mas cujo cruzamento era viável, dependendo de qual planta fornecia o pólen, sugeriram que há um gene de efeito gametofítico ( $G$ ) associado ao sistema esporofítico. Segundo essa hipótese, as diferenças em cruzamentos recíprocos ocorrem quando o genitor feminino é homocigoto para  $G$  e o masculino heterocigoto, com um dos alelos em comum, dentro de um mesmo genótipo em relação ao gene  $S$  (Tabela 2), sendo a frutificação decorrente de um cruzamento parcialmente compatível, conforme caracterizado no trabalho de Lewis (1988), ou seja, metade do pólen compatível e metade incompatível.

**Tabela 2.** Diferenças em cruzamentos recíprocos segundo a hipótese da auto-incompatibilidade gametofítica-esporofítica.

Grupo de Incompatibilidade		XIII	XIV	Planta Testadora $S_3$
	Genótipo	$S_3S_3 G_1G_2$	$S_3S_3 G_1G_1$	$S_3S_3 G_1G_2$
XIII	$S_3S_3 G_1G_2$	-	-	-
XIV	$S_3S_3 G_1G_1$	+	-	+
Planta Testadora $S_3$	$S_3S_3 G_1G_2$	-	-	-

(-): incompatível; (+): compatível, devido ao alelo  $G_2$ , ausente na planta receptora do pólen; área sombreada: diferença em cruzamentos recíprocos.

Fonte: Suassuna et al. (2003).

Investigando a interação pólen-pistilo dos cruzamentos incompatíveis entre os grupos XIII e XIV, Rêgo et al. (2000) verificaram que a inibição do crescimento do tubo polínico ocorria na parte mediana do estigma, uma característica típica do sistema gametofítico.

Lewis (1994) mencionou a ocorrência da inibição do tubo polínico na região intermediária do estigma em espécies Compositae cujo sistema de auto-incompatibilidade identificado havia sido o esporofítico. O autor identificou-as como reações  $P^*$ , ressaltando que também eram encontradas em cruzamentos parcialmente compatíveis, característicos do sistema gametofítico. Os estudos de Rêgo et al. (2000) e Suassuna et al. (2003) não incluíram avaliação da interação pólen-pistilo para detectar cruzamentos parcialmente compatíveis, porém, a indicação de Lewis (1994) de que reações  $P^*$  segregam associadas a cruzamentos parcialmente compatíveis reforçam a hipótese da existência de um segundo gene, de efeito gametofítico, associado ao sistema esporofítico no maracujazeiro.

A autocompatibilidade tem sido relatada em plantas de maracujazeiro-roxo por vários pesquisadores (Chang, 1974, 1981, 1983; Division..., 1975; Rêgo, 1997). Rêgo (1997) realizou, em Viçosa, MG, autofecundações em

plantas de maracujazeiro-roxo, obtendo 100% de frutificação em alguns casos. Falleiro (2000) prosseguiu com esses estudos e verificou que a maioria das progênes obtidas por autofecundação e todas as plantas das progênes F1 e F2, obtidas das plantas autocompatíveis, eram auto-incompatíveis, indicando que a autocompatibilidade não é condicionada por alelos da série *S* ou de outro loco, devendo ser condicionada, provavelmente, por complexo gênico.

## **Auto-incompatibilidade e melhoramento genético**

O melhoramento do maracujazeiro foi revisado em diversos trabalhos recentes (Bruckner, 1997; Oliveira & Ruggiero, 1998; Meletti & Bruckner, 2001; Bruckner et al., 2002; Bruckner, 2003). O maracujazeiro é uma planta alógama à qual vários métodos de melhoramento são aplicáveis, objetivando o aumento da frequência de alelos favoráveis ou a exploração do vigor híbrido ou heterose. A frequência de genes favoráveis pode ser aumentada pela seleção massal ou pela seleção com teste de progênes. O vigor híbrido é explorado por meio de híbridos, variedades sintéticas ou compostos, como os obtidos por Meletti (1998) e Meletti et al. (2000).

Trabalhos de seleção são largamente empregados em fruteiras. A propagação vegetativa é uma das ferramentas mais importantes no melhoramento de fruteiras, pois abrevia o tempo gasto no melhoramento, uma vez que qualquer genótipo superior encontrado pode ser propagado, constituindo nova cultivar, uniforme do ponto de vista genético, facilidade que os melhoristas de plantas anuais propagadas por sementes normalmente não dispõem. Entre os métodos de propagação vegetativa, os mais utilizados são a estaquia e a enxertia.

A estaquia permite a propagação dos genótipos selecionados e certa redução no período juvenil da planta. A enxertia é realizada com o objetivo de propagar genótipos selecionados, reduzir o período juvenil, reduzir o porte das plantas e promover adaptação a solos específicos ou resistência a patógenos do sistema radicular, utilizando-se de porta-enxertos selecionados para esse fim. No maracujazeiro, a redução do porte e do período juvenil não

é essencial, visto serem estes satisfatórios. Como objetivos da utilização da estaquia e da enxertia em maracujazeiro restam a propagação de genótipos selecionados e a utilização de porta-enxertos resistentes a fatores bióticos ou abióticos. Ainda não se dispõem de porta-enxertos resistentes aos patógenos que causam enfermidades ao sistema radicular, como *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, por falta de programas de melhoramento com esses objetivos. A propagação de genótipos selecionados pode ser feita visando à obtenção de clones para cultivo ou para cumprir etapas dentro de um programa de melhoramento. Cuidados devem ser tomados para que seja mantida suficiente diversidade de alelos de auto-incompatibilidade nas lavouras e para que não haja disseminação de doenças com o material propagado, principalmente, bacterioses e viroses.

A auto-incompatibilidade necessita ser considerada no melhoramento genético do maracujazeiro. Cultivares devem ter suficiente diversidade genética em relação à auto-incompatibilidade para que haja maior eficiência na polinização, com alta frutificação. Em fruteiras auto-incompatíveis, como ameixeira e macieira, são cultivados pelo menos dois clones compatíveis entre si e coincidentes quanto à época de floração, introduzindo-se colméias de abelhas no pomar quando a população natural de insetos polinizadores é baixa na época do florescimento (Petri, 2002). Em café conilon, clones selecionados e compatíveis entre si são misturados, visando ao aumento da frutificação (Ferrão et al., 2004) processo que poderia ser denominado compostos clonais.

Em maracujazeiro, a especificidade do polinizador e a dificuldade de criar as mamangavas ocasionam a necessidade de que a diversidade de genótipos de auto-incompatibilidade seja maior do que em outras espécies. Esse aspecto é importante caso a propagação vegetativa venha a ser empregada. A proporção de cruzamentos compatíveis  $C$  em um pomar com  $n$  clones uniformemente distribuídos e com o mesmo número de plantas pode ser estimada pela expressão  $C = (n-1)n^{-1}$  (Bruckner et al., 1995). Com dois

clones, apenas metade do pólen utilizado na polinização seria útil para a fertilização das flores (Tabela 3), o que é suficiente em algumas espécies, mas não no maracujazeiro uma vez que a população de mamangavas é freqüentemente insuficiente, e a polinização manual (Grisi Jr., 1973) acarreta custos adicionais. Os compostos clonais, com diversos clones selecionados, compatíveis entre si e uniformes quanto à qualidade dos frutos, poderiam ser produzidos e propagados vegetativamente. A quantidade mínima de clones para compor esse conjunto clonal necessita ser objeto de experimentação.

**Tabela 3.** Estimativa de cruzamentos viáveis ( $C$ ) de acordo com o número de clones ( $n$ ), uniformemente distribuídos e em igual proporção.

Número de clones (fenótipos) ( $n$ )	Proporção de cruzamentos viáveis ( $C$ )
1	0,0
2	0,5
3	0,67
4	0,75
...	...
10	0,90
...	...
$N$	$(n-1)/n$

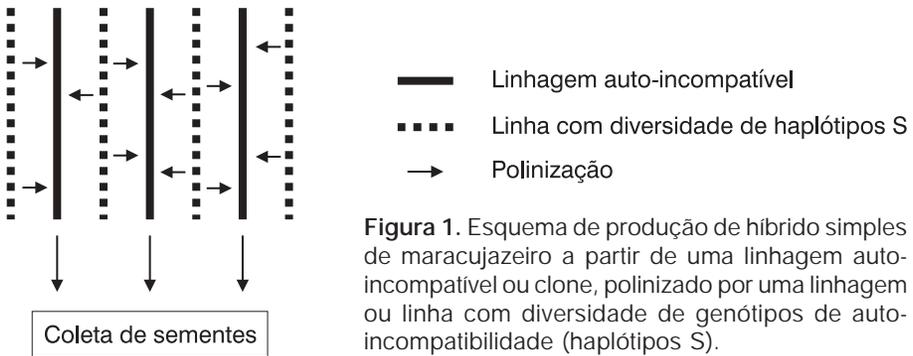
A exploração da heterose é importante estratégia de melhoramento de plantas alógamas. Ela é mais bem explorada em híbridos. As plantas que melhor se adaptam à produção comercial de híbridos são aquelas que possuem flores de sexos distintos na mesma planta (milho) ou em plantas distintas (mamoeiro), esterilidade masculina (beterraba, cebola, cenoura, milho) ou auto-incompatibilidade (*Brassica*, maracujazeiro).

Híbridos são obtidos de linhagens endogâmicas selecionadas, variedades de polinização aberta, clones ou outras populações divergentes (Allard, 1960). Linhagens endogâmicas de maracujazeiro poderão ser obtidas de cruzamento entre plantas-irmãs, retrocruzamentos ou

autofecundações no estágio de botão (Bruckner et al., 1995) ou sucessivas na antese (Fernandes et al., 1996). As autofecundações proporcionam maior endogamia (Falconer, 1972).

Embora as técnicas de hibridação sejam bem simples, conforme descritas por Bruckner & Otoni (1999), a auto-incompatibilidade pode ser útil para viabilizar a produção comercial de semente híbrida de maracujazeiro, tal como é feito em *Brassica*.

Em *Brassica* (repolho, couve-flor), o produto comercial é parte vegetativa da planta, não havendo necessidade de frutificação no híbrido comercial. No maracujazeiro, por sua vez, os híbridos deverão ter suficiente diversidade de genótipos de auto-incompatibilidade para que ocorra a máxima produção de frutos (Bruckner et al., 1995). Para isso, a semente híbrida poderá ser produzida a partir de linha auto-incompatível interplantada com linha de grande diversidade de alelos de auto-incompatibilidade (Figura 1). As sementes serão coletadas apenas na linha auto-incompatível que poderá ser uma linhagem endogâmica, um híbrido simples ou um clone. Os alelos presentes na linha auto-incompatível deverão ter baixo nível de dominância.

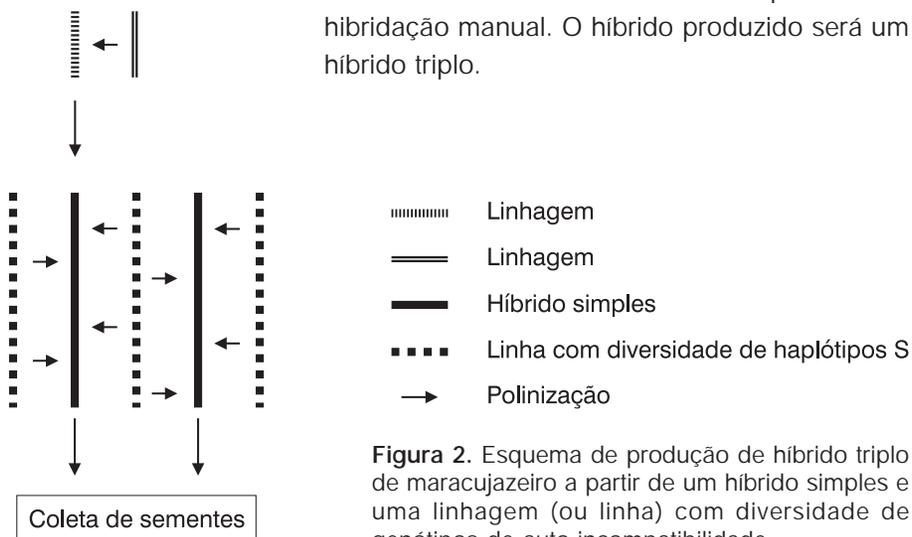


**Figura 1.** Esquema de produção de híbrido simples de maracujazeiro a partir de uma linhagem auto-incompatível ou clone, polinizado por uma linhagem ou linha com diversidade de genótipos de auto-incompatibilidade (haplótipos S).

A linhagem endogâmica poderá ser produzida mediante polinização no estágio de botão. Para autopolinizar nesse estágio, utilizam-se duas flores da mesma planta. Pela manhã, protege-se a flor doadora de pólen, e à tarde,

abre-se o botão da flor a ser polinizada em cujo estigma se deposita o pólen coletado na flor em antese (Bruckner et al., 1995). Rêgo (1997) verificou que as proteínas responsáveis pela incompatibilidade são encontradas no estigma e na parte superior do estilete dois dias antes da antese (botão com 40 mm de comprimento), aumentando gradativamente até o dia da antese. Fernandes et al. (1996) verificaram que a autopolinização pode também ser conseguida realizando-se duas autopolinizações no dia da antese, às 13 e às 17 horas. Provavelmente, a primeira autopolinização anule o efeito das proteínas de auto-incompatibilidade, de maneira que a segunda consiga, em parte, fertilizar os óvulos. As linhagens poderão ser mantidas por autofecundações no estágio de botão ou por meio de propagação vegetativa. Cruzamentos entre plantas incompatíveis entre si podem ser realizados de maneira análoga às autopolinizações acima descritas.

A linhagem endógama poderá ter como problema o baixo vigor, com baixa produção de sementes, tal como ocorre em milho. Para solucionar esse obstáculo, a linha auto-incompatível poderá ser um híbrido simples, vigoroso e produtivo, o que contribuirá para aumentar a produção e reduzir os custos de produção da semente (Figura 2). Esse híbrido simples poderá ser produzido intercalando-se duas linhagens auto-incompatíveis, devidamente isoladas de outras plantas ou hibridação manual. O híbrido produzido será um híbrido triplo.



**Figura 2.** Esquema de produção de híbrido triplo de maracujazeiro a partir de um híbrido simples e uma linhagem (ou linha) com diversidade de genótipos de auto-incompatibilidade.

Existe carência de estudos sobre o isolamento das plantas para que se possa estabelecer distâncias ou condições em que não haverá polinização indesejável ou que pelo menos esta seja desprezível para a produção de híbridos. A hibridação manual também pode ser utilizada na produção de híbridos. O florescimento é abundante e ocorre durante muitos meses no ano. As flores produzem bastante pólen que pode ser coletado com facilidade. A liberação do pólen e a receptividade do estigma ocorrem no mesmo dia. Como a planta é auto-incompatível, não há necessidade de emascações. As flores destinadas a fornecer e a receber o pólen são protegidas pela manhã, antes da antese, com um saquinho de papel, de preferência parafinado. Após a abertura da flor, retira-se o saquinho da flor doadora de pólen e coleta-se o pólen, com o auxílio de cotonete, palito, pincel ou outro instrumento. Esse pólen é, em seguida, levado à flor receptora de onde se retira o saquinho para, posteriormente, realizar a polinização. No próprio saquinho, fazem-se as anotações necessárias para identificar o cruzamento, recolocando-o, em seguida, na flor. Esse saquinho pode permanecer até o amadurecimento do fruto. As anotações devem ser feitas a lápis ou à tinta que não se apague com a incidência de luz solar. Uma semana depois do cruzamento, é possível verificar se houve sucesso na operação. Posteriormente, é conveniente colocar uma rede de náilon envolvendo o fruto, amarrando-a ao ramo, para que o fruto não seja perdido quando amadurecer e cair (Bruckner & Otoni, 1999). O pólen permanece viável, em temperatura ambiente, por 24 horas após a coleta. Se a hibridação não puder ser feita no mesmo dia, é possível coletar o pólen e realizar a polinização no dia seguinte. Temperatura e umidade baixas não são adequadas para o armazenamento de pólen do maracujazeiro (Bruckner et al., 2000). O isolamento das plantas com telados, associado à polinização manual, é alternativa para a produção dos híbridos.

Para que se estabeleça a produção comercial de semente híbrida de maracujazeiro, é necessário que se aprofundem as pesquisas com os processos seletivos intra e interpopulacionais, visando aumentar a eficiência dos processos.

Variedades sintéticas e compostos, também, são boas opções de aproveitamento da heterose. A semente, nesses casos, pode ser multiplicada pelo produtor. Variedades sintéticas são produzidas a partir de cruzamentos, em todas as combinações, entre várias linhas endogâmicas, todas com boa capacidade de combinação. Quando as linhas são variedades ou populações de polinização livre, as populações resultantes têm sido denominadas compostos (Hallauer & Miranda Filho, 1988).

## Conclusões

A auto-incompatibilidade deve ser levada em conta em programas de melhoramento do maracujazeiro, garantindo suficiente diversidade de haplótipos S para proporcionar boa frutificação, enquanto não puderem ser selecionadas plantas autocompatíveis de maracujazeiro.

A auto-incompatibilidade poderá ser útil na produção de híbridos de maracujazeiro.

## Referências bibliográficas

- AKAMINE, E. K.; GIROLAMI, G. **Pollination and fruit set in the yellow passion fruit**. Honolulu: University of Hawaii, 1959. 44 p. (Technical Bulletin, 39).
- ALLARD, R. W. **Principles of plant breeding**. New York: John Wiley, 1960. 485 p.
- BRUCKNER, C. H. Perspectivas do melhoramento do maracujazeiro. In: Manica, I. (Ed). **Maracujá: temas selecionados**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 1997. 70 p.
- BRUCKNER, C. H. Técnicas e perspectivas do melhoramento do maracujazeiro. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 6., 2003, Campos dos Goytacazes. **Resumos...** Campos dos Goytacazes: UENF/UFFFJ, 2003. 1 CD-ROM.
- BRUCKNER, C. H.; CASALI, V. W. D.; MORAES, C. F. de; REGAZZI, A. J.; SILVA, E. A. M. da. Self-incompatibility in passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). **Acta Horticulturae**, n. 370, p. 45-57, 1995.
- BRUCKNER, C. H.; MELETTI, L. M. M.; OTONI, W. C.; ZERBINI JR., F. M. Maracujazeiro. In: BRUCKNER, C. H. (Ed.). **Melhoramento de fruteiras tropicais**. Viçosa, MG: UFV, 2002. p. 373-409.

BRUCKNER, C. H.; OTONI, W. C. Hibridação em maracujá. In: BORÉM, A. (Ed.). **Hibridação artificial de plantas**. Viçosa, MG: UFV, 1999. p. 379-399.

BRUCKNER, C. H.; SILVA, M. M. da; FALLEIRO, T. de M.; ANDRADE, B. B. de; MOREIRA, A. E. Viabilidade do pólen de maracujazeiro (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) sob diferentes condições de armazenamento. **Revista Ceres**, v. 47, n. 273, p. 1-9, 2000.

CAGLIANONI, M. C. An overview of the *Passiflora* projects of the PROBIO. In: The annual meeting of the Association for Tropical Biology and Conservation, 2005, Uberlândia. [Resumos...] Uberlândia: [s.n.], 2005. p. 22.

CEREDA, E.; URASHIMA, A. S. Estudo comparativo do florescimento em ramos podados no maracujazeiro *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 10., 1989, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBF, 1989. p. 379-385.

CHANG, C. C. Breeding of passion fruit. **Plant Breeding Abstracts**, v. 51, n. 6, p. 480, 1981.

CHANG, C. C. Breeding of passion fruit. **Plant Breeding Abstracts**, v. 53, n. 3, p. 236, 1983.

CHANG, C. C. Studies on unfruitfulness of the yellow passion fruits growing in Taiwan. **Taiwan Agriculture Quarterly (Tai-Wan nung-yeh)**, v. 10, n. 2, p. 78-89, 1974.

DIVISION OF HORTICULTURE DEPARTMENT OF AGRICULTURE NEW SOUTH WALES. **Passionfruit growing**. New South Wales, 1975. 20 p. (Bull. H3.1.8).

ELLEMAN, C. J.; DICKINSON, H. G. Pollen-stigma interaction during sporophytic self-incompatibility in *Brassica oleracea*. In: WILLIAMS, E. G.; CLARKE, A. E.; KNOX, R. B. **Advances in cellular and molecular biology of plants: genetic control of self incompatibility and reproductive development in flowering plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994. v. 2, p. 67-87.

FALCONER, D. S. **Introduction to quantitative genetics**. New York: Ronald Press, 1972. 365 p.

FALLEIRO, T. M. **Herança da auto-incompatibilidade no maracujazeiro *Passiflora edulis* Sims**. 2000. 49 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2000.

FERNANDES, A. A.; RÊGO, M. M. do; BRUCKNER, C. H.; PEREIRA, K. J. C.; RANGEL, A. R. P. Comparação entre técnicas de autofecundação em maracujazeiro *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 14., 1996, Curitiba. **Anais...** Londrina: IAPAR, 1996. p. 334.

FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A; FERRÃO, M. A. G.; MUNER, L. H.; VERDIN FILHO, V. P. S.; MARQUES, E. M. G.; ZUCATELI, F. **Café conilon: técnicas de produção com variedades melhoradas**. 2. ed. Vitória: INCAPER, 2004, 60 p. (Incaper. Circular Técnica, 03-I).

GRISI JR., C. Método de polinização artificial do maracujazeiro, *Passiflora edulis*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2., 1973, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: SBF, 1973. v. 2, p. 433-6.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468 p.

HARDIN, L. C. Floral biology and breeding system of the yellow passionfruit, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. **Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, v. 30, p. 35-44, 1986.

HINATA, K.; ISOGAI, A.; ISUZUGAWA, K. Manipulation of sporophytic self-incompatibility in plant breeding. In: WILLIAMS, E. G.; CLARKE, A. E.; KNOX, R. B. **Advances in cellular and molecular biology of plants: genetic control of self incompatibility and reproductive development in flowering plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994. v. 2, p. 102 -115.

HINATA, K.; WATANABE, M.; TORIYAMA, K.; ISOGAI, A. A review of recent studies on homomorphic self-incompatibility. **International Review of Cytology**, v. 143, p. 257-296, 1993.

HO, W. F.; SHII, C. T. Incompatibility system in passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). **Acta Horticulturae**, n. 194, p. 31-38, 1986.

KNIGHT JR., R. J.; WINTERS, H. F. Pollination and fruit set of yellow passion fruit in southern Florida. **Proceedings of Florida State Horticultural Society**, v. 75, p. 412-418, 1962.

KNIGHT JR., R. J.; WINTERS, H. F. Effects of selfing and crossing in the yellow passionfruit. **Proceedings of Florida State Horticultural Society**, v. 76, p. 415-418, 1963.

LEITÃO FILHO, H. F.; ARANHA, C. Botânica do maracujazeiro. In: SIMPÓSIO DA CULTURA DO MARACUJÁ, 1., 1971, Campinas. **Anais...** Campinas: SBF, 1974. 13 p.

LEONE, N. R. F. M. de. **Polinização do maracujazeiro (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) em Araguari-MG**. 1990. 76 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade de Viçosa, Viçosa, MG, 1990.

LEWIS, D. Comparative incompatibility in angiosperms and fungi. **Advances in Genetics**, v. 6, p. 235-285, 1954.

LEWIS, D. Gametophytic-sporophytic incompatibility. In: WILLIAMS, E. G.; CLARKE, A. E.; KNOX, R. B. **Advances in cellular and molecular biology of plants**: genetic control of self incompatibility and reproductive development in flowering plants. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994. v. 2, p. 88-101.

LEWIS, D.; VERMA, S. C.; ZUBERI, M. I. Gametophytic-sporophytic incompatibility in the Cruciferae - *Raphanus sativus*. **Heredity**, v. 61, n. 3, p. 355-366, 1988.

MATHER, K. The genetical structure of population. **Evolution**, v. 7, p. 66-95, 1953.

MELETTI, L. M. M. **Caracterização agrônômica de progênes de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.)**. 1998. 92 f. Tese (Doutorado)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1998.

MELETTI, L. M. M.; BRUCKNER, C. H. Melhoramento genético. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. (Ed.) **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001. p. 345-385.

MELETTI, L. M. M.; SANTOS, R. R. dos; MINAMI, K. Melhoramento do maracujazeiro-amarelo: Obtenção do 'Composto IAC-27'. **Scientia Agrícola**, v. 56, n. 3, p. 491-498, 2000.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; PINTO-MAGLIO, C. A. F; MARTINS, F. P. Caracterização de germoplasma de maracujazeiro (*Passiflora* sp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 14, n. 2, p. 157-162, 1992.

NETTANCOURT, D. **Incompatibility in Angiosperms**. Berlin: Springer-Verlag, 1977. 230 p.

NEWBIGIN, E.; ANDERSON, M. A.; CLARKE, A. E. Gametophytic self-incompatibility in *Nicotiana glauca*. In: WILLIAMS, E. G.; CLARKE, A. E.; KNOX, R. B. **Advances in cellular and molecular biology of plants**: genetic control of self incompatibility and reproductive development in flowering plants. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994. v. 2, p. 5-18.

OLIVEIRA, J. C. de. **Melhoramento genético de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg visando aumento de produtividade**. 1980. 133 f. Tese (Livre-Docência)- Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, 1980.

OLIVEIRA, J. C. de. Melhoramento genético. In: RUGGIERO, C. (Ed.). **Cultura do maracujazeiro**. Ribeirão Preto: L. Summa, 1987. p. 218-46.

OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. Aspectos sobre o melhoramento do maracujazeiro amarelo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJÁ, 5., 1998, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 1998. p. 291-314.

ØSTERBYE, U. Self-incompatibility in *Ranunculus acris* L. III. S-loci numbers and allelic identities. **Hereditas**, v. 104, n. 1, p. 61-73, 1986.

PEREIRA, T.; LOURO, R.; HOFFMANN, M. Análise da biologia reprodutiva de flores sem curvatura de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.). In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 47., 1996, Nova Friburgo. **Resumos...** Nova Friburgo: SBB, 1996. p. 398.

PETRI, J. L. Formação de flores, polinização e fertilização. In: EPAGRI. **Manual da cultura da macieira**. Florianópolis: Epagri, 2002. p. 229-260.

RÊGO, M. M. do. **Genética, interação pólen-pistilo e expressão de proteínas na auto-incompatibilidade do maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims.)**. 1997. 67 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1997.

RÊGO, M. M. do. **Indução *in vitro* de haplóides e de poliplóides e detecção molecular de alelos da auto-incompatibilidade em maracujazeiro (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.)**. 2001. 64 f. Tese (Doutorado)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

RÊGO, M. M.; BRUCKNER, C. H.; SILVA, E. A. M.; FINGER, F. L.; SIQUEIRA, D. L.; FERNANDES, A. A. Self-incompatibility in passionfruit: evidence of two locus genetic control. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 98, p. 564-568, 1999.

RÊGO, M. M. do; RÊGO, E.; BRUCKNER, C. H.; SILVA, E. A. M. da; FINGER, F. L. Pollen tube behavior in yellow passion fruit following compatible and incompatible crosses. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 101, n. 5/6, p. 685-689, 2000.

ROWLANDS, D. G. Self-incompatibility in sexual propagated plants. **Euphytica**, v. 13, p.157-162, 1964.

RUGGIERO, C.; LAM-SANCHEZ, A.; BANZATTO, D. A. Studies on natural and controlled pollination in yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.). **Acta Horticulturae**, n. 57, p. 121-124, 1976a.

RUGGIERO, C.; LAM-SANCHEZ, A.; LIPOLI, A. C. Estudos sobre autopolinização, desenvolvimento do ovário e curvatura dos estiletes em flores de maracujá amarelo *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 4., 1977, Salvador. **Anais...** Cruz das Almas: SBF, 1978. p. 257-264.

RUGGIERO, C.; LAM-SANCHEZ, A.; MIGUEL, S. Estudos da incompatibilidade em flores de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 3, 1975, Rio De Janeiro. **Anais...**, Campinas: SBF, 1976b. v. 2, p. 491-495.

RUGGIERO, C.; LAM-SANCHEZ, A.; MIGUEL, S. Estudos sobre a fertilidade de grãos de pólen de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 3., 1975, Rio De Janeiro. **Anais...** Campinas: SBF, 1976c. v. 2, p. 515-519.

SUASSUNA, T. M. F.; BRUCKNER, C. H.; CARVALHO, C. R.; BORÉM, A. Self-incompatibility in passionfruit: evidence of gametophytic-sporophytic control. **Theoretical and applied genetics**, v. 106, p. 298-302, 2003.

TAKAYAMA, S.; ISOGAI, A. Self-incompatibility in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 56, p. 467-489, 2005.

VALLINI, P. C.; RUGGIERO, C.; LAM-SANCHES, A.; FERREIRA, F. R. Studies on the flowering period of yellow passion fruit *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. in the region of Jaboticabal, São Paulo. **Acta Horticulturae**, n. 57, p. 233-6, 1976.

ZUBERI, M. I.; LEWIS, D. Gametophytic-sporophytic incompatibility in the Cruciferae - *Brassica campestris*. **Heredity**, v. 61, n. 3, p. 367-377, 1988.



Brotou destas florestas entre morros e ribeiras  
Exótico e disperso como a flora brasileira.  
E se a mamangava assanha ao beijar sua flor  
O homem se emociona ao provar seu sabor.

Cobiçada pelos povos como jóia viva  
No berço desta pátria aonde é nativa.  
E a flor que hoje cai murcha e despedaçada  
Amanhã crescerá fruta então ressuscitada.

Geovane Alves de Andrade

# Propagação vegetativa do maracujazeiro-conquista de novas adesões

---

Geraldo Costa Nogueira Filho

Givanildo Roncatto

Carlos Ruggiero

João Carlos de Oliveira

Euclides Braga Malheiros

## Introdução

A cultura do maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) é difundida nas regiões tropicais do mundo, e sua pouca longevidade em cultivo é um grave problema para os produtores, já destacava Delanoë (1991). O maracujazeiro pode ser propagado por sementes, estaquia e enxertia. No Havaí, Brasil, Sri Lanka, Quênia e Nova Zelândia, a produção comercial é baseada em plantas de maracujazeiro-amarelo ou roxo propagadas por sementes. Em contraste, na Austrália, onde a indústria explora híbridos entre os dois tipos de maracujazeiro (amarelo e roxo) e onde características particulares dos porta-enxertos são favorecidas, a enxertia é utilizada como a principal forma de propagação (Menzel et al., 1989). Vale destacar que a enxertia hipocotiledonar abordada neste trabalho possibilita a multiplicação de híbridos pela enxertia (Nogueira Filho, 2003).

No Brasil, a propagação do maracujazeiro-amarelo é feita basicamente por meio de sementes, havendo, portanto, segregação e existência de indivíduos diferentes (Stenzel & Carvalho, 1992). A elevada heterozigose existente nessa espécie determina alta variabilidade, decorrendo, por isso, a desuniformidade de plantas nos pomares. Desse modo, a propagação vegetativa apresenta vantagens na manutenção de material com boas características agrônômicas, favorecendo a multiplicação de plantas produtivas e tolerantes a pragas e a doenças (Lima et al., 1999).

As doenças provocadas por patógenos do solo em maracujazeiro constituem-se em um dos principais problemas para essa cultura no Brasil. A alternativa de controle dessas doenças seria a utilização de porta-enxertos resistentes. Várias espécies de passifloras nativas vêm apresentando resistência a essas doenças, mas a utilização delas como porta-enxertos, oriundos de sementes, tem sido dificultada pelas diferenças de espessura entre o porta-enxerto e o enxerto da espécie comercial (Chaves et al., 2003). Para resolver essa incompatibilidade de diâmetro entre as peças envolvidas na enxertia, Kimura (1994) preconiza o uso da enxertia hipocotiledonar de plântulas de maracujazeiro como um processo viável.

O desenvolvimento desse método, aliado às vantagens advindas do uso de adequados porta-enxertos, abre grande espaço para o desenvolvimento dessa cultura em novas bases.

O que realmente está faltando é a avaliação desse conjunto copa-porta-enxertos em diferentes localidades. É inegável que, para o desenvolvimento desse processo, é imprescindível contar com a colaboração de empresas, associações etc.

Neste capítulo, são discutidos os procedimentos, para ajustes do método, e os possíveis conjuntos copa-porta-enxertos em diferentes localidades.

## Experimentos com enxertia hipocotiledonar

O experimento foi realizado em casa de vegetação e no ripado de fruticultura do Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (UNESP), no período de 30 de outubro de 2001 a 2 de abril de 2002.

A variedade-copa utilizada para todos os tratamentos foi o maracujazeiro-amarelo 'FB 200' (Flora Brasil 200) do viveiro Flora Brasil (Araguari, MG), e os porta-enxertos foram *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*; *P. caerulea*; *P. alata*; *P. giberti*; *P. coccinea*; *P. cincinnata*; *P. setacea* (sete tratamentos). Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 36 repetições por tratamento.

Foram realizadas duas sementeiras para a obtenção de porta-enxertos. Na primeira (30/10/2001), utilizaram-se 100 sementes de cada porta-enxerto sem qualquer tratamento prévio. Na segunda (7/12/2001), foram utilizadas 120 sementes de cada porta-enxerto previamente embebidas em água destilada por cerca de doze horas e, posteriormente, sementeiras em bandejas plásticas com substrato comercial Plantmax para hortaliças. Da mesma forma, foram produzidos os *seedlings* de maracujazeiro-amarelo para fornecimento dos garfos, sementeando-se a cada semana 100 sementes em uma bandeja durante sete semanas.

O método de enxertia utilizado foi o de fenda cheia no topo hipocotiledonar. Quando os porta-enxertos e os enxertos atingiram a fase de enxertia, cerca de 6 a 8 cm de altura e uma a duas folhas definitivas, o que ocorreu, em cerca de 30 dias após a sementeira, para as espécies mais precoces ou vigorosas, e 90 dias para as de crescimento mais lento, realizou-se a enxertia. Umedeceu-se previamente o substrato do porta-enxerto de forma a retirá-lo com o mínimo de danos ao seu sistema radicular, decepando-o abaixo dos cotilédones e abrindo-se uma fenda longitudinal (1,0 cm). Procedeu-se a retirada do garfo, cortando a plântula doadora abaixo dos cotilédones e fez-se uma cunha em bisel duplo com uma lâmina de platina bem afiada do tipo "gilete" de forma a expor os tecidos do câmbio. Em seguida, juntaram-se enxerto e porta-enxerto com cuidado para que coincidissem nos tecidos cambiais e utilizou-se de fita adesiva (crepe) para envolver a região da enxertia, protegendo-a, evitando seu ressecamento, assim como o excesso de umidade e funcionando também como tutor da muda (Figuras 1 a 3).

Imediatamente após a realização da enxertia propriamente dita, a muda já enxertada foi transplantada em copo plástico (200 mL) com o mesmo substrato utilizado anteriormente. Já transplantada, a muda foi tutorada por uma estaca de madeira (18 cm) e coberta com um saco plástico transparente (15 x 20 cm) que foi preso com um elástico de borracha para formar uma câmara úmida (Figura 4). Posteriormente, as mudas foram colocadas em bandeja plástica com uma lâmina de cerca de 1,0 cm de água e deixadas à

sombra, no ripado (Figura 4). Aos dez dias, retirou-se o elástico de borracha e, aos quinze, removeu-se o saco plástico; aos vinte dias, foram levadas para uma zona limitrofe entre a sombra e a meia-sombra; aos vinte e cinco dias foram retiradas das bandejas e aos trinta dias, foram levadas para o ambiente de meia-sombra do ripado.

Enquanto ainda nas bandejas, a água era repostada sempre que necessário. Depois de retiradas das bandejas, as mudas eram regadas diariamente com o sistema de microaspersores colocado junto à cobertura do ripado e a cada quinze dias eram regadas com uma solução de 10 gotas por litro de água do produto comercial ouro-verde (N 6%,  $P_2O_5$  6%,  $K_2O$  8%, Mg 0,5%, S 0,5%, B 0,03%, Zn 0,05%, Fe 0,1%, Mn 0,03%), fertilizante líquido.



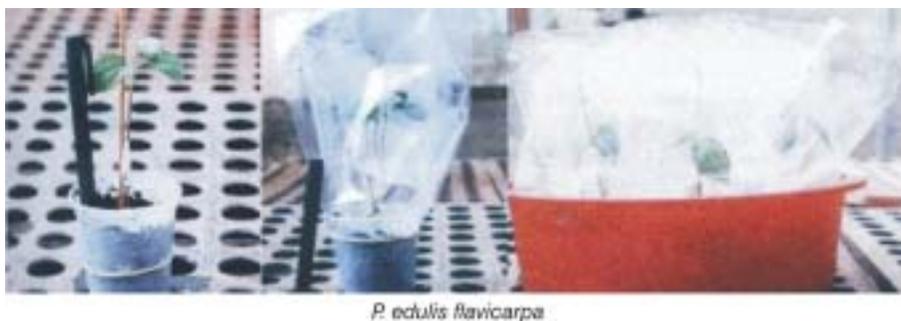
**Figura 1.** Sequência de etapas para a realização da enxertia hipocotiledonar. (A) Corte da plântula na região do colo para a obtenção do garfo. (B) Garfo. (C) Realização dos cortes para a formação da cunha e a exposição dos tecidos vasculares.



**Figura 2.** Sequência de etapas para a realização da enxertia hipocotiledonar. (D) Corte da plântula abaixo dos cotilédones para a obtenção do porta-enxerto. (E) Porta-enxerto. (F) Realização do corte para a formação da fenda do porta-enxerto.



**Figura 3.** Seqüência de etapas para a realização da enxertia hipocotiledonar. (G) Justaposição de enxerto e porta-enxerto. (H) Colocação da fita crepe. (I) Planta já enxertada.



**Figura 4.** Seqüência de etapas para a realização da enxertia hipocotiledonar. (J) Tutoramento da muda. (K) Confeção da câmara úmida individual. (L) Colocação das mudas na bandeja plástica com lâmina de 1 cm de água.

## Características avaliadas

- Percentual de germinação - foi avaliado por contagem semanal das plântulas germinadas. Essa contagem foi iniciada 30 dias depois da primeira sementeira e oito dias após a segunda.
- Sobrevivência - a sobrevivência (%) foi observada mediante contagem nos primeiros 30 dias em intervalos de cinco dias depois da enxertia e aos 45 e 60 dias.
- Altura das plantas - para mensuração foi utilizada régua com 1,0 mm de precisão, medindo-se a planta do colo ao ápice, aos 0; 30; 45 e 60 dias após a realização da enxertia.

- Número de folhas - fez-se a contagem do número de folhas, aos 0; 30; 45 e 60 dias após a realização da enxertia.
- Diâmetro do porta-enxerto - para mensuração do porta-enxerto, foi utilizado paquímetro digital de 0,001 mm de precisão, medido-o aos 0; 30 e 60 dias após a realização da enxertia e a altura de cerca de 1 cm acima do colo da muda.

## Resultados obtidos

Tanto na primeira sementeira quanto na segunda, entre os vários porta-enxertos, *Passiflora giberti* e *P. alata* foram o primeiro e o último, respectivamente. Quando as plântulas começaram a germinar, *P. giberti* iniciou a emergência na primeira sementeira, após 10 dias, e, na segunda, com sete dias. *P. alata* iniciou a emergência na primeira sementeira após 20 dias, e, na segunda, aos 13 dias. Para ambos, o tratamento de pré-embebição em água antecipou a emergência das plântulas. Para as demais espécies de porta-enxertos, na primeira sementeira, não se fez o registro do início da emergência. Já na segunda sementeira, ela foi observada depois de oito dias para *P. flavicarpa*, *P. cincinnata* e *P. coccinea* e depois de 12 dias para *P. setacea*.

As sementes da *P. caerulea* não germinaram na segunda sementeira, embora tivessem sido usadas sementes do mesmo lote em ambas as sementeiras. Isso pode ter ocorrido ou por perda do poder germinativo, ou por entrada em dormência no período de 37 dias entre as duas sementeiras. Espécies silvestres apresentam esse tipo de adaptação e com isso seus descendentes têm maior chance de sobrevivência em um período futuro, em condições edafoclimáticas mais favoráveis, ou, ainda, o tratamento de pré-embebição não foi adequado para essa espécie.

Como pode ser observado na Tabela 1, nas duas sementeiras, as espécies cultivadas (*P. flavicarpa* e *P. alata*) apresentaram, no geral, os maiores percentuais de germinação. A exceção entre as espécies silvestres foi *P. coccinea* que apresentou percentuais de germinação próximos aos das espécies cultivadas, tendo mesmo superado *P. alata* na segunda sementeira.

**Tabela 1.** Porcentagens de germinação das sementes (%) de sete espécies de passifloras silvestres no período de 30/10/2001 a 2/4/2002, Jaboticabal, SP.

(Primeira sementeira <sup>1</sup> )					
Porta-enxerto	Dias após a sementeira				
	30	37	44	51	58
<i>P. flavicarpa</i>	46,00	52,00	68,00	76,00	76,00
<i>P. giberti</i>	24,00	28,00	32,00	32,00	32,00
<i>P. cincinnata</i>	20,00	32,00	32,00	33,00	33,00
<i>P. caerulea</i>	42,00	55,00	55,00	55,00	55,00
<i>P. alata</i>	51,00	60,00	65,00	69,00	69,00
<i>P. coccinea</i>	08,00	49,00	65,00	67,00	67,00
<i>P. setacea</i>	08,00	13,00	14,00	22,00	28,00
(Segunda sementeira) <sup>2</sup>					
Porta-enxerto	Dias após a sementeira				
	8	15	22	29	36
<i>P. flavicarpa</i>	8,33	53,33	58,33	58,33	63,33
<i>P. giberti</i>	15,83	31,67	39,17	39,17	39,17
<i>P. cincinnata</i>	9,17	24,17	26,67	26,67	26,67
<i>P. caerulea</i>	0	0	0	0	0
<i>P. alata</i>	0	2,50	18,33	39,17	45,00
<i>P. coccinea</i>	3,33	47,50	58,33	58,33	58,33
<i>P. setacea</i>	0	9,17	33,33	41,67	41,67

<sup>1</sup>Sementeira efetuada em 30/10/2001 com sementes não pré-embebidas.

<sup>2</sup>Sementeira efetuada em 7/12/2001 com sementes pré-embebidas (12 horas).

Também se pode observar que grande parte das espécies atingiu o maior percentual de germinação entre 44 e 51 dias após a primeira sementeira e entre 22 e 29 dias após a segunda. Assim, pode-se dizer que o tratamento de pré-embebição das sementes reduziu praticamente pela metade o tempo necessário para atingir o maior percentual de germinação.

Como se pode verificar na Tabela 2, a morte de plantas só foi constatada 15 dias após a enxertia. Para cinco (*P. flavicarpa*, *P. giberti*, *P. cincinnata*, *P. caerulea* e *P. alata*) dos sete porta-enxertos, o pegamento foi de cerca de 100%, tendo-se perdido uma muda de *P. caerulea* e duas de *P. alata*, das 36 mudas enxertadas. O pior desempenho do *P. setacea* deveu-se ao fato de que, em virtude do seu lento desenvolvimento inicial, mesmo que se tenha realizado a enxertia nele dois meses após as primeiras, ele ainda se apresentava muito tenro, e várias plantas sequer suportavam o peso da fita crepe. Também de desenvolvimento lento, o *P. coccinea* inicialmente demonstrou bom pegamento, embora esse índice não tenha sido mantido no período seguinte.

Em geral, os resultados obtidos para pegamento da enxertia foram superiores aos encontrados na literatura (Corrêa, 1978; Oliveira et al., 1983; Pace, 1983; Seixas et al., 1987; Baccarin, 1988; Menezes, 1990; Kimura, 1994; Menezes et al., 1994; Lima et al., 1997, 1999; Chaves et al., 2003). Vale ressaltar a variação de métodos, porta-enxerto e mesmo enxertos encontrada nessa literatura. Também se verifica grande variação no pegamento relatado na literatura, mesmo quando utilizados o mesmo método de enxertia e a mesma combinação enxerto/porta-enxerto.

Em relação à altura das plantas, observou-se, como esperado, uma diferença significativa entre as quatro avaliações realizadas (0; 30; 45 e 60 dias) para cada porta-enxerto (Tabela 3). Analisando de forma geral, constata-se um destaque para o *P. caerulea* que, mesmo tendo apresentado a terceira média inicial, superou os demais e mostrou, no final, maior velocidade de crescimento em altura (Figura 5). Também se observou a formação de dois grupos distintos, dentro dos quais as alturas medidas pouco diferiram. No primeiro, estavam *P. caerulea*, *P. giberti*, *P. cincinnata* e *P. flavicarpa* que se pode chamar de porta-enxertos de maior desenvolvimento inicial.

No segundo, encontram-se *P. alata*, *P. setacea* e *P. coccinea*, os porta-enxertos de menor desenvolvimento inicial.

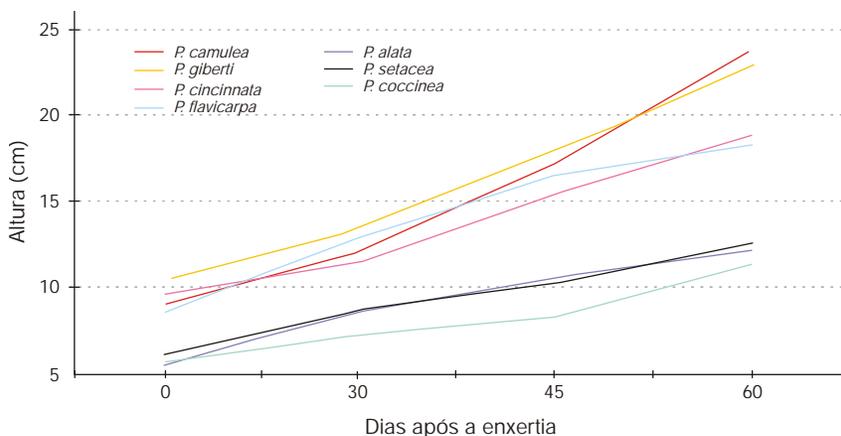
**Tabela 2.** Porcentagens de enxertos pegos por enxertia hipocotiledonar em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) em sete espécies de passifloras silvestres, no período de 30/10/2001 a 2/4/2002, Jaboticabal, SP.

Porta enxerto	Dias após a enxertia							
	05	10	15	20	25	30	45	60
<i>P. flavicarpa</i>	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>P. giberti</i>	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>P. cincinnata</i>	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>P. caerulea</i>	100	100	100	100	100	100	100	97,2
<i>P. alata</i>	100	100	100	97,2	97,2	97,2	97,2	94,4
<i>P. coccinea</i>	100	100	100	97,2	97,2	97,2	77,8	72,2
<i>P. setacea</i>	100	100	44,4	44,4	41,6	41,6	38,8	30,6

**Tabela 3.** Altura (cm) de mudas de maracujazeiro-amarelo produzidas por enxertia hipocotiledonar em plântulas de sete espécies de passifloras silvestres, no período de 30/10/2001 a 2/4/2002, Jaboticabal, SP.

Porta-enxerto	Dias após a enxertia			
	00	30	45	60
<i>P. caerulea</i>	8,96 Dab	11,97 Cab	17,01 Bab	23,62 Aa
<i>P. giberti</i>	10,04 Da	13,12 Ca	17,73 Ba	22,10 Aab
<i>P. cincinnata</i>	9,51 Cab	11,36 Cb	15,32 Bb	18,68 Abc
<i>P. flavicarpa</i>	8,49 Db	12,86 Cab	16,37 Bab	18,10 Ac
<i>P. alata</i>	5,48 Dc	8,41 Cc	10,42 Bc	12,00 Ad
<i>P. setacea</i>	6,06 Cc	8,63 BCc	10,15 Bc	12,45 Ad
<i>P. coccinea</i>	5,52 Cc	7,12 Bc	8,23 Bc	11,18 Ad
Geral	7,72	10,72	14,30	17,95

- Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na horizontal e minúscula na vertical, não diferem, significativamente, pelo teste de Tukey a 5%.



**Figura 5.** Altura (cm) de mudas de maracujazeiro-amarelo produzidas por enxertia hipocotiledonar em plântulas de sete espécies de passifloras silvestres, no período de 30/10/2001 a 2/4/2002, Jaboticabal, SP.

Merece destaque o fato de que, aos 45 dias após a realização da enxertia, as plantas do grupo de maior desenvolvimento inicial já haviam atingido a altura mínima de 15 cm (Ruggiero, 1980; Steinberg, 1988; São José, 1991; Lima, 1999; Lima et al., 1999); portanto, aptas para plantio no campo. Somando-se a esses 45 dias, cerca de 40 dias necessários à germinação e ao desenvolvimento das plântulas para atingirem o estágio fenológico para a execução da enxertia, pode-se dizer que foram necessários 85 dias ou cerca três meses para a obtenção de plantas prontas para o plantio no campo com os porta-enxertos de maior desenvolvimento inicial. Esse resultado mostra uma antecipação da obtenção das mudas em 25 dias, cerca de um mês, em relação aos resultados obtidos por Kimura (1994), trabalhando com os porta-enxertos *P. caerulea*, *P. giberti*, *P. alata* e *P. foetida*, o que, provavelmente, ocorreu por cinco fatores: (1) semeadura realizada em espaçamento suficiente nas bandejas a fim de evitar o estiolamento das plântulas, para elas atingirem o mais rápido possível um diâmetro compatível à realização da enxertia hipocotiledonar; (2) o substrato utilizado com nutrientes, ao invés de areia lavada; (3) antecipação do estágio fisiológico

para a realização da enxertia de duas a três folhas definitivas para apenas uma, totalmente expandida; (4) eliminação do estresse do segundo transplântio, fazendo-se o primeiro logo para recipiente individual, e; (5) embora de forma empírica, a "fertirrigação" realizada nas mudas aos 30 dias após a enxertia.

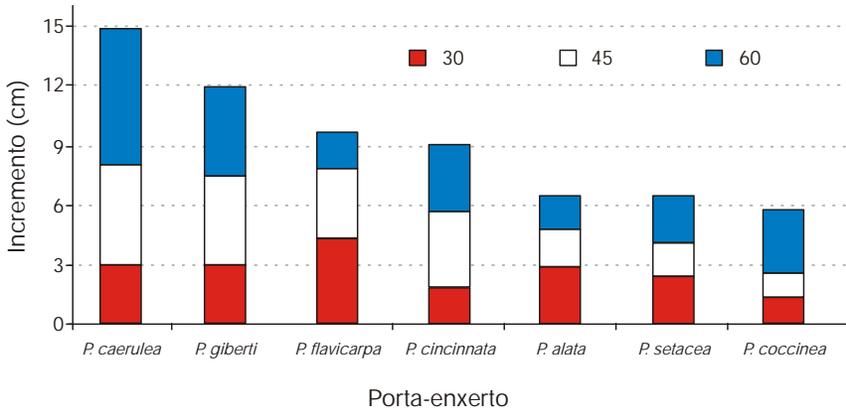
Já com os porta-enxertos *P. setacea* e *P. coccinea*, foram necessários cerca de 90 dias para se obter as primeiras plântulas em condições de serem enxertadas e é provável que *P. setacea* necessitasse de um tempo ainda maior. Estimando-se que esses dois porta-enxertos mais o *P. alata* mantivessem o ritmo de crescimento (Tabela 4 e Figura 6) observado entre 45 e 60 dias no período seguinte, só aos 75 dias atingiriam a altura recomendada para o plantio no campo. Considerando, ainda, que foram necessários cerca de 40 dias da sementeira para a realização da enxertia com o *P. alata*, pode-se dizer que seriam necessários 115 dias ou cerca de quatro meses da sementeira à obtenção de plantas prontas para o plantio no campo com o *P. alata* e pelo menos 165 dias ou cinco meses e meio, para obtê-las com os porta-enxertos *P. setacea* e *P. coccinea*.

Observando as Tabelas 4 e 5 e as Figuras 6 e 7, constata-se que houve diferença significativa para o incremento de altura e diâmetro de cada porta-enxerto em relação ao tempo. Inicialmente, o *P. flavicarpa* apresentou maior velocidade de crescimento, sendo depois alcançado e até superado pelo *P. giberti* e *P. caerulea*. De modo geral, o incremento de altura dobrou no segundo mês. Isso provavelmente ocorreu devido ao fato de, no segundo mês, já terem sido vencidos os eventos que envolvem a formação da união da enxertia (soldadura, formação da ponte de calo entre as partes enxertadas e a conexão dos tecidos vasculares); dessa forma, toda a energia excedente à manutenção dos tecidos da planta estava canalizada para o crescimento vegetativo. Da mesma forma, observou-se que geralmente mais que dobrou o incremento de diâmetro no segundo mês, o que pode ser atribuído às mesmas razões expostas anteriormente. Cabe ainda ressaltar o desempenho de *P. giberti*, *P. caerulea*, *P. alata* e mesmo o *P. setacea*, em relação a essa característica.

**Tabela 4.** Incremento de altura (cm) de mudas de maracujazeiro-amarelo produzidas por enxertia hipocotiledonar em plântulas de sete espécies de passifloras silvestres, no período de 30/10/2001 a 2/4/2002, Jaboticabal, SP.

Porta-enxerto	Dias após a enxertia		
	30	45	60
<i>P. caerulea</i>	3,01 Cb	8,09 Ba	14,84 Aa
<i>P. giberti</i>	3,08 Cb	7,54 Bab	11,88 Aab
<i>P. flavicarpa</i>	4,37 Ca	7,98 Ba	9,71 Abc
<i>P. cincinnata</i>	1,85 Ccd	5,80 Bbc	9,16 Abcd
<i>P. alata</i>	2,92 Cbc	4,91 Bc	6,58 Ade
<i>P. setacea</i>	2,57 Bbcd	4,25 Bcd	6,68 Acde
<i>P. coccinea</i>	1,60 Bd	2,82 Bd	5,95 Ae
Geral	2,81	6,21	9,79

- Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na horizontal e minúscula na vertical, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.



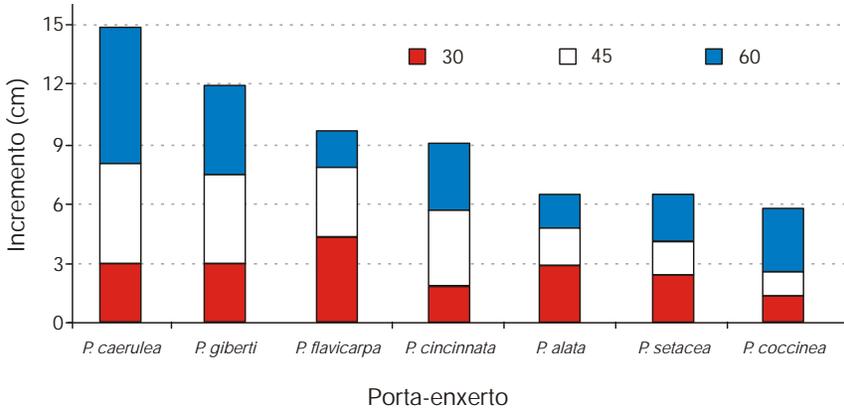
**Figura 6.** Incremento de altura de mudas de maracujazeiro-amarelo produzidas por enxertia hipocotiledonar em plântulas de sete espécies de passifloras silvestres, no período de 30/10/2001 a 2/4/2002, Jaboticabal, SP.

O incremento do número de folhas em relação ao tempo inicial nas avaliações realizadas, de forma geral, só apresentou diferença significativa para o porta-enxerto *P. flavicarpa* (Tabela 6 e Figura 8). No primeiro mês após a enxertia, houve destaque para *P. cincinnata*, seguida por *P. giberti*, *P. edulis*, *P. alata* e *P. caerulea*. Aos 45 dias, houve diferença significativa apenas entre *P. flavicarpa* e *P. coccinea*. Já aos 60 dias, não houve diferença significativa entre nenhum dos porta-enxertos. Vale ressaltar que foi mostrado o maior incremento do número de folhas no primeiro mês em relação ao segundo. Isso se justifica pelo fato de as folhas serem órgãos destacáveis e por senescência ou efeito das toxinas injetadas por percevejos, ocorrendo a queda de parte das folhas mais velhas no segundo mês. Assim, deve-se ponderar que o número de internódios, usado por Staveley & Wolstenholme (1990), é uma característica mais apropriada e menos sujeita a variações, como as relatadas para a avaliação de crescimento dessas plantas.

**Tabela 5.** Incremento de diâmetro (mm) de mudas de maracujazeiro-amarelo produzidas por enxertia hipocotiledonar em plântulas de sete espécies de passifloras silvestres, no período de 30/10/2001 a 2/4/2002, Jaboticabal, SP.

Porta-enxerto	Dias após a enxertia	
	30	60
<i>P. flavicarpa</i>	0,57 Bab	1,31 Aab
<i>P. giberti</i>	0,31 Bab	1,53 Aa
<i>P. alata</i>	0,34 Bab	1,21 Aab
<i>P. caerulea</i>	0,07 Bb	1,40 Aab
<i>P. cincinnata</i>	0,65 Ba	1,26 Aab
<i>P. setacea</i>	0,14 Bc	0,90 Aab
<i>P. coccinea</i>	0,22 Bc	0,80 Ab
Geral	0,15	1,27

- Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na horizontal e minúscula na vertical, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

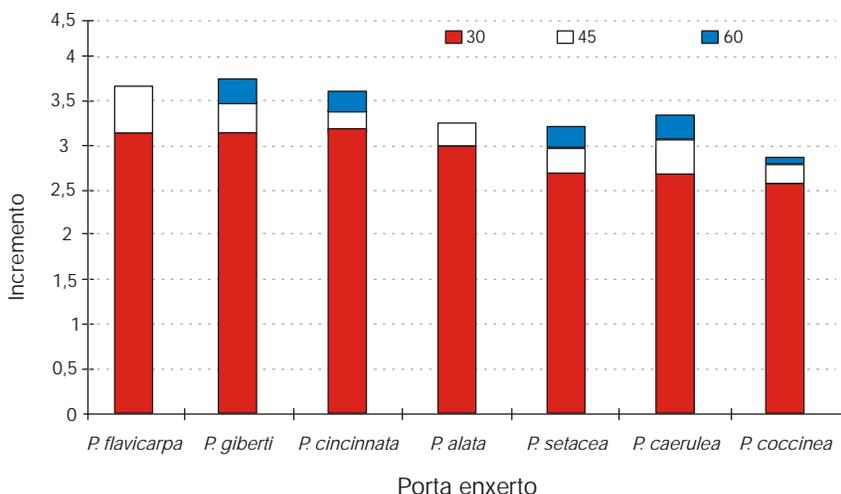


**Figura 7.** Incremento de diâmetro (mm) na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo produzidas por enxertia hipocotiledonar em plântulas de sete espécies de passifloras silvestres, no período de 30/10/2001 a 2/4/2002, Jaboticabal, SP.

**Tabela 6.** Incremento do número de folhas de mudas de maracujazeiro-amarelo produzidas por enxertia hipocotiledonar em plântulas de sete espécies de passifloras silvestres, no período de 30/10/2001 a 2/4/2002, Jaboticabal, SP.

Porta-enxerto	Dias após a enxertia		
	30	45	60
<i>P. flavicarpa</i>	3,58 Bab	4,18Aa	4,20 Aa
<i>P. giberti</i>	3,60Aab	3,72 Aab	4,00 Aa
<i>P. cincinnata</i>	3,65 Aa	3,61 Aab	3,87 Aa
<i>P. alata</i>	3,43 Aab	3,68 Aab	3,76 Aa
<i>P. setacea</i>	3,06 Ac	3,40 Aab	3,68 Aa
<i>P. caerulea</i>	3,41 Ab	3,22 Aab	3 53 Aa
<i>P. coccinea</i>	2,97Ac	3,21Ab	3,26Aa
Geral	3,42	3,75	3,68

- Dados transformados em  $\sqrt{x+8}$
- Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na horizontal e minúscula na vertical, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.



**Figura 8.** Incremento do número de folhas de mudas de maracujazeiro-amarelo produzidas por enxertia hipocotiledonar em plântulas de sete espécies de passifloras silvestres, no período de 30/10/2001 a 2/4/2002, Jaboticabal, SP.

## Conclusões

Nas condições em que o experimento foi realizado:

O método de enxertia hipocotiledonar utilizado foi bem-sucedido para a maioria das espécies utilizadas e é eficiente para a produção de mudas de maracujazeiro-amarelo.

O índice de enxertos pegos aos 60 dias após a enxertia, exceto em *P. setacea*, variou de 72,2% a 100%.

Nessa fase de produção de mudas, destacaram-se como porta-enxertos: as espécies *Passiflora caerulea*, *P. giberti*, *P. cincinnata* e *P. edulis* tanto pelo excelente índice de pegamento quanto pela precocidade na obtenção da muda enxertada pronta para ir ao campo (cerca de três meses).

O número de folhas é uma característica que, no maracujazeiro, pode sofrer muitas variações devido a fatores não inerentes ao crescimento; assim, é melhor a adoção de outro parâmetro como número de intemódio para avaliar o desenvolvimento.

Pretende-se sensibilizar empresas e associações a se inserir no processo em que cada bom produtor venha, na formação de uma lavoura comercial de maracujá-amarelo, propagado por sementes, a plantar em torno de 50 plantas dos vários porta-enxertos já testados, enxertados na espécie comercial e outros dentro da grande família da Passifloraceae, o que inegavelmente, em curto espaço de tempo, permitirá o mapeamento nas diferentes regiões brasileiras, fato que representará inegável ajuda no desenvolvimento da cultura.

## Referências Bibliográficas

BACCARIN, M. N. R. A. **Cultura de tecidos e enxertia em *Passiflora* spp.** 1988. 101 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Área de Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1988.

CHAVES, R. C.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SILVA, A. P. O.; FIALHO, J. F. Enxertia de maracujazeiro-azedo em estacas herbáceas enraizadas de espécies de passifloras nativas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 2003. v. 25, 2003. no prelo.

CORRÊA, L. S. **Contribuição ao estudo da enxertia por garfagem em maracujá (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) durante a fase de viveiro.** 1978. 43 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1978.

DELANOË, O. Étude de la résistance de passiflores de Guyane française vis-à-vis de *Fusarium* pathogènes de la culture des fruits de la Passion (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*). **Fruits**, v. 46, n. 5, p. 593-600, 1991.

KIMURA, A. **Estudo da enxertia hipocotiledonar de plântulas em *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.** 1994. 56 f. Monografia (Trabalho de graduação em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1994.

LIMA, A. A. (Coord.). **O cultivo do maracujá.** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 1999. 130 p. (Circular Técnica, 35).

LIMA, A. A.; CALDAS, R. C.; CUNHA, M. A. P.; SANTOS FILHO, H. P. Avaliação de porta-enxertos e tipos de enxertia para o maracujazeiro-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 21, n. 3, p. 318-321, 1999.

LIMA, A. A.; SANTOS FILHO, H. P.; CALDAS, R. C. **Porta-enxertos e tipos de enxertia para o maracujazeiro-amarelo.** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 1997. 3 p. (Comunicado Técnico, 50).

MENEZES, J. M. T. **Seleção de porta-enxertos tolerantes à morte prematura de plantas para *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. e comportamento de *P. nitida* H.B.K. na região de Jaboticabal.** 1990. 73 f. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético Vegetal) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1990.

MENEZES, J. M. T.; OLIVEIRA, J. C. de; RUGGIERO, C.; BANZATTO, D. A. Avaliação da taxa de pegamento sobre espécies tolerantes à morte prematura de plantas. **Científica**, v. 22, n. 1, p. 95-104, 1994.

MENZEL, C. M.; WINKS, C. W.; SIMPSON, D. R. Passion fruit in Queensland 3. Orchard management. **Queensland Agricultural Journal**, v. 115, n. 3, p. 155-164, 1989.

NOGUEIRA FILHO, G. C. **Enxertia hipocotiledonar de maracujazeiro-amarelo em diferentes espécies de passifloras silvestres.** 2003. 119 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C.; NAKAMURA, K.; BAPTISTA, M. Comportamento de *Passiflora edulis* enxertada sobre *P. giberti* N. E. Brow. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 7., 1983, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1983. p. 989-993.

PACE, C. A. M. Comparação de quatro métodos de enxertia para a 'maracujazeiro-amarelo' *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 7., 1983, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1983. p. 983-988.

RUGGIERO, C. (Ed.). **Cultura do maracujazeiro.** Jaboticabal: FCAVJ-UNESP, 1980. 147 p.

SÃO JOSÉ, A. R. Propagação do maracujazeiro. In: SÃO JOSE, A. R.; FERREIRA, E. R.; VAZ, R. L. (Coord.). **A cultura do maracujá no Brasil.** Jaboticabal: FUNEP, 1991. p. 25-42.

SEIXAS, L. E. Z.; OLIVEIRA, J. C.; TIHOHOD, O.; RUGGIERO, C. Comportamento de *Passiflora macrocarpa* como porta-enxerto para *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg., cultivado em local com histórico de morte prematura de plantas e nematóides do maracujazeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9., 1987, Campinas. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1987. p. 597-601.

STAVELEY, G. W.; WOLSTENHOLME, B. N. Effects of water stress on growth and flowering of *Passiflora edulis* Sims grafted to *P. caerulea* L. **Acta Horticulturae**, n. 275, p. 551-558, 1990.

STEINBERG, E. **Maracujá: guia prático para um manejo equilibrado.** São Paulo: Nobel, 1988. 64 p.

STENZEL, N. M. C.; CARVALHO, S. L. C. Comportamento do maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) enxertado sobre diferentes porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 14, n. 3, p. 183-186, 1992.



## Capítulo 15

Como um astro que nas trevas se apaga e some  
Não creio que o homem a despreze, a abandone.  
E a perseguição por gente que não tem escrúpulos  
Confere a esta planta seus últimos crepúsculos.

Vegetais e humanos! Temos um quê de iguais.  
Comemos, respiramos e outras coisas mais.  
Somos um do outro, riso ou pranto que esvai...  
Como a onda evaporada que condensa e cai.

*Geovane Alves de Andrade*

# Cultura de tecidos aplicada à manutenção de germoplasma *in vitro* e ao melhoramento genético do maracujá (*Passiflora* spp.)

---

Ilene Ribeiro da Silva Passos

Luís Carlos Bernacci

## Introdução

A cultura de tecidos tem auxiliado de maneira consistente o melhoramento genético de diversas espécies cultivadas no mundo todo. Entre elas podem-se citar, sem medo de errar as seguintes: arroz, trigo, videira, girassol, espécies florestais, *Citrus*, batata, tomate, espécies ornamentais e de brássicas. Muitas dessas espécies, domesticadas há séculos, encontram na cultura de tecidos uma ferramenta essencial para a introdução de novas características e para sua propagação e manutenção.

Muitos estudos têm sido feitos sobre vários aspectos da cultura *in vitro* de maracujá, principalmente, para a espécie *P. edulis* (maracujás amarelo e roxo). Esses estudos incluem desenvolvimento de protocolos para o estabelecimento de plantas *in vitro*, clonagem, organogênese *in vitro* e cultura de células em suspensão, visando dar sustentação para que outras técnicas biotecnológicas, como a transformação genética, possam ser aplicadas com sucesso.

A hibridação somática, por meio da fusão de protoplastos, também é uma técnica promissora para o melhoramento genético do maracujá e demanda protocolos de estabelecimento *in vitro*, organogênese adventícia e muitas vezes, cultura de células em suspensão, bem estabelecidos. A

hibridação somática é uma alternativa para a reprodução sexual a fim de combinar (por meio de tratamentos químicos ou por eletrofusão) dois genomas completos, incluindo as organelas citoplasmáticas (Binsfeld, 1999). A hibridação somática abriu inúmeras possibilidades para manipulações do genoma tais como: (1) superação de incompatibilidades sexuais; (2) produção de anfidiplóides; (3) transferência de parte de um genoma de uma espécie para outra; (4) transferência do DNA citoplasmático para a produção de plantas macho-estéreis; (5) produção de plantas resistentes a estresses ambientais ou pragas e doenças (Binsfeld, 1999). Em recente revisão, Davey et al. (2005) apresentam resultados positivos em que a fusão de protoplastos (simétrica ou assimétrica) colaborou no melhoramento genético de diversas culturas economicamente importantes. Os autores enfatizam que os protoplastos fornecem também sistemas para investigar a maioria dos aspectos da genética e da fisiologia celular de plantas, incluindo estudos de genômica e proteômica. Felizmente, como se poderá ver nesta revisão, o maracujá tem revelado totipotência celular a partir de calos provenientes de protoplastos, o que possibilita o uso dessa técnica para obtenção de híbridos somáticos.

Neste capítulo é discutido o estado de arte, com base na literatura, da cultura *in vitro* de *Passiflora* no que concerne ao estabelecimento *in vitro*, regeneração *in vitro* por meio da organogênese e embriogênese somática; isolamento, cultura de protoplastos e regeneração de plantas e hibridação somática para várias espécies de maracujá, tendo em vista sua utilização na manutenção de germoplasma de maracujá *in vitro* e no melhoramento genético da cultura.

## Estabelecimento *in vitro* de plantas de maracujá

O estabelecimento *in vitro* de plantas para diversas espécies de maracujá é essencial quando se deseja fazer a manutenção de germoplasma de *Passiflora* usando procedimentos biotecnológicos. Para tanto, devem estar disponíveis na literatura protocolos de assepsia para explantes obtidos de:

sementes, folhas, gemas, segmentos entrenodais etc., bem como protocolos para germinação de sementes das diversas espécies, protocolos de regeneração *de novo* de plantas a partir de cotilédones, hipocótilos, folhas e de segmentos entrenodais e desenvolvimento de plantas a partir de ápices meristemáticos e gemas. Os diversos protocolos desenvolvidos darão opções ao interessado, de acordo com o objetivo e disponibilidade de infra-estrutura e material vegetal. Por exemplo, alguns pesquisadores só poderão dispor de sementes que lhes serão enviadas pelo correio; outros, só poderão dispor de material vegetal obtido em coletas; outros ainda, e estes se constituem em poucas exceções, dispõem de um banco de germoplasma no campo em sua instituição. Também, a organogênese *de novo* pode ser uma estratégia para se introduzir *in vitro* material vegetal do campo ou de casa de vegetação.

## **Estabelecimento *in vitro* de plantas de maracujá por meio de sementes**

Não são muitos os trabalhos em que se estudou, em profundidade, a germinação *in vitro* de sementes de maracujá. Hall et al. (2000) afirmaram que não obtiveram sucesso com germinação de sementes do híbrido australiano (*Passiflora edulis* x *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) *in vitro* utilizado em suas pesquisas. Isso demonstra a importância desses estudos, pois vários fatores podem levar ao insucesso do estabelecimento de plantas *in vitro* por meio de sementes. Dentre esses, destacam-se como principais, além das contaminações: qualidade da semente, dormência e temperatura de incubação, fatores muitas vezes já estudados na germinação *ex-vitro* (Tsuboi & Nakagawa, 1992; Melo, 1996; Santos et al., 1999; Rossetto et al., 2000; Pereira & Dias, 2000; Osipi, 2000; Catunda, 2001).

A metodologia utilizada na remoção do arilo e as condições de armazenamento influenciam, sobremaneira, a viabilidade das sementes de maracujá. Melo (1996), estudando a germinação de *Passiflora nitida*, uma espécie que apresenta sérios problemas de dormência, verificou que, após as

sementes serem colhidas, o arilo deve ser retirado por processo mecânico (líqüidificador adaptado), em detrimento da fermentação natural, para não prejudicar a viabilidade da semente. Verificou, ainda, que é necessário um período de quatro a seis meses de armazenamento para a superação da dormência, antes de serem colocadas para germinar.

Melo (1999) constatou que as sementes de *Passiflora nitida* apresentam permeabilidade à água e que, portanto, a dormência não está relacionada com a impermeabilidade do tegumento. O período de embebição para essas sementes, que se inicia a partir do momento em que elas entram em contato com a água, foi de aproximadamente duas horas. Esse autor comprovou, ainda, que as sementes imersas em solução de giberelina ( $GA_3$ ) alcançaram a quebra de dormência.

Partindo desses resultados, Passos et al. (2004a) estudaram o efeito do ácido giberélico na quebra de dormência de sementes de *P. nitida* germinadas *in vitro*. Esses autores verificaram o efeito significativamente positivo do tratamento de pré-embebição de sementes de *Passiflora nitida* por seis horas em uma solução de ácido giberélico ( $GA_3$ ), na germinação *in vitro* dessa espécie.

O  $GA_3$  promove a germinação de sementes estimulando o crescimento do embrião e induzindo a produção de hidrolases para enfraquecer as estruturas ao redor do embrião (Hooley, 1994).

O ácido giberélico também incrementou a germinação no escuro (Passos et al., 2004a) (Tabela 1). O tratamento de embebição na ausência de ácido giberélico (testemunha) induziu maior porcentagem (26%) de germinação na luz contra 6,6%, no escuro. Já, aos 28 dias 84% das sementes de *Passiflora nitida* inoculadas, submetidas ao tratamento de imersão em solução de  $1000 \text{ mg.L}^{-1}$  de  $GA_3$ , já haviam germinado na luz enquanto 82,6% germinaram no escuro aos 50 dias. Segundo Yamaguchi & Kamiya (2002), a luz é um sinal ambiental importante na determinação da germinação das sementes. Estudos com sementes de alface, que requerem iluminação para a germinação, têm mostrado que a germinação induzida pela luz vermelha é resultado do aumento no nível da forma biologicamente ativa do hormônio giberelina. Dessa maneira, o fitocromo é capaz de promover a germinação de

sementes pela ativação da degradação de fatores negativos envolvidos na transmissão de sinais para a giberelina (Taiz & Zeiger, 2004), e a aplicação exógena de GA<sub>3</sub> nas sementes pode compensar o efeito da luz.

Embora alguns trabalhos afirmem que espécies como *Passiflora edulis* (Medina et al., 1998) sejam fotoblásticas negativas, em nosso laboratório, as espécies de *Passiflora* estudadas (Figura 1) germinam com vigor sob luz (Figuras 2, 3) (Passos et al., 2002a). Passos et al. (2004a) utilizaram um nível de irradiação por volta de 30  $\mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-2}$  nos experimentos. Rosseto et al. (2000), trabalhando com germinação de sementes de *P. alata ex-vitro*, no escuro, verificaram, também, o efeito positivo da embebição prévia em solução de GA<sub>3</sub>. Kantharajah & Dodd (1990) igualmente executaram trabalhos com germinação sementes de *Passiflora* spp. (maracujá-roxo - *Passiflora edulis*) *in vitro*, sob luz, com uma intensidade luminosa de 35  $\mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-2}$ .

Por sua vez, na germinação *in vitro*, a necessária descontaminação das sementes, para posterior inoculação, pode ser fator de queda da viabilidade das sementes, quando não efetuada de maneira adequada. Uma maneira de evitar a injúria das sementes é descontaminá-las depois de um período de embebição de 4 a 6 horas com água destilada, como foi efetuado para sementes de *P. edulis*, o maracujá-amarelo, por Passos et al. (2002a, 2004a).

**Tabela 1.** Número médio de sementes de *Passiflora nitida* germinadas aos 14, 28 e 50 dias após a sementeira quando tratadas com três dosagens (0; 500; 1000 mg.L<sup>-1</sup>) de GA<sub>3</sub> nos tratamentos sob luz (L) e escuro (E) (média  $\pm$  desvio-padrão). Campinas, SP, 2001.

Tempo	Tratamento (mg.L <sup>-1</sup> GA <sub>3</sub> )	14 dias	28 dias	50 dias
L	0	0,10 $\pm$ 0,31ab	1,30 $\pm$ 1,15ab	2,30 $\pm$ 1,15b
L	500	0,90 $\pm$ 0,73c	2,60 $\pm$ 0,96bc	3,40 $\pm$ 0,96bc
L	1000	1,80 $\pm$ 1,31c	4,20 $\pm$ 0,63d	4,30 $\pm$ 0,67c
E	0	0,00 $\pm$ 0,00a	0,33 $\pm$ 0,50a	0,44 $\pm$ 0,72a
E	500	0,77 $\pm$ 0,83bc	3,00 $\pm$ 0,70c	3,33 $\pm$ 1,00bc
E	1000	1,66 $\pm$ 1,11c	3,66 $\pm$ 1,11d	4,13 $\pm$ 0,83c

\*Médias seguidas pelas mesmas letras dentro das colunas não diferem entre si pelo teste t (5%P).

Fonte: Passos et al. (2004a).

**Figura 1.** Sementes de *P. alata*, *P. edulis* e *P. nitida*.



Foto: Ilene Passos



**Figura 2.** Plântula de *P. alata* germinada *in vitro* sob luz branca ( $\pm 30 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-2}$ ).

Foto: Luciana Rocha Antunes

**Figura 3.** Semente de *P. cincinnata* germinanda *in vitro* sob luz branca ( $\pm 30 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-2}$ ).



Foto: Ilene Passos

## Estabelecimento *in vitro* de plantas de maracujá por meio de explantes vegetativos

O estabelecimento de plantas de maracujá *in vitro* pode ser efetuado por explantes vegetativos obtidos no campo ou em casa de vegetação, como ápices meristemáticos de caule, segmentos nodais, utilizando-se de gemas preexistentes no explante ou de outros explantes do qual será necessário obter a organogênese adventícia ou *de novo*. Esse procedimento é vantajoso para se estabelecer plantas *in vitro* porque com ele é possível escolher genótipos superiores.

Os ápices meristemáticos e os segmentos nodais apresentariam, ainda, a vantagem da estabilidade genética, se não fosse o sério problema de contaminação de explantes que se enfrenta uma vez que, no processo de descontaminação, sempre se agridem os tenros explantes vegetativos, levando-os, com frequência, à oxidação. Bricolti & Chiari (1994) relatam que não utilizaram ápices meristemáticos em seus trabalhos com *P. edulis* f. *edulis*, mas segmentos nodais, pois os ápices eram muito fracos para a esterilização. De qualquer maneira, explantes sadios de plantas jovens, crescidas em casa de vegetação, são sempre mais fáceis de estabelecer *in vitro* do que explantes de campo. Um dos mais antigos trabalhos sobre cultivo *in vitro* de *Passiflora* trata do estabelecimento de *Passiflora caerulea* L. com brotos tenros (Nakayama, 1966). Esse autor relata as dificuldades pelas quais passou no início de seu trabalho com explantes mais velhos que acumulavam microrganismos endofíticos que inevitavelmente se desenvolviam no meio de cultura.

Dornelas & Vieira (1994) lograram sucesso no estabelecimento *in vitro* de plantas de cinco espécies de *Passiflora* (*P. amethystina*, *P. edulis* var. *flavicarpa*, *P. giberti*, *P. maliformis* e *P. mollissima*), por meio de ápices meristemáticos de caule. As plantas, de onde foram extraídos os explantes, estavam com vinte dias após a germinação e foram cultivadas em casa de vegetação. Os explantes foram cultivados em meio MS (Murashige & Skoog, 1962), na metade das concentrações de seus componentes, sem a adição de hormônios ou água de coco.

Para o estabelecimento *in vitro* de plantas de *Passiflora nitida*, tanto por meio de ápices meristemáticos de caule, quanto por meio de gemas axilares, houve necessidade de adicionar a citocinina 6-BA (6- Benzilaminopurina) ao meio de cultura MS/2 (Passos, 1999). Os explantes foram coletados em casa de vegetação a partir de plantas multiplicadas por estaquia. A dose de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de 6-BA foi suficiente para incrementar o número de folhas verdes aos 28 e 56 dias para ápices meristemáticos de caule. Já para gemas axilares, a melhor dose foi a de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de 6-BA. O efeito benéfico da citocinina deve-se ao fato de estas promoverem o movimento de nutrientes para a folha a partir de outras partes da planta, um fenômeno conhecido por mobilização de nutrientes induzida por citocinina. Elas também promovem o desenvolvimento de cloroplastos e retardam a senescência foliar (Taiz & Zeiger, 2004). O efeito positivo da citocinina adicionada ao meio de cultura no estabelecimento de plantas *in vitro* de *P. nitida* a partir de ápices meristemáticos de caule ou de gemas axilares deve-se provavelmente aos baixos níveis endógenos de citocinina nos explantes utilizados. Por sua vez, a adição de citocinina ao meio de cultura não perturbou a estabilidade mitótica das plantas de *Passiflora nitida* estabelecidas *in vitro* (Passos et al., 1998).

Outro fator que pode interferir no desenvolvimento de gemas a partir de segmentos nodais *in vitro* é a concentração de etileno no frasco de cultura (Reis et al., 2003). Os fatores que desencadeiam a produção e o acúmulo de etileno em frascos de cultura são vários, tais como a utilização de auxina no meio de cultura, o tipo de tampa usada, uma vez que alguns tipos não permitem a adequada troca gasosa, os procedimentos de assepsia, como flambar o frasco etc.

## Organogênese adventícia: a principal via de regeneração em espécies de *Passiflora*

A obtenção de um protocolo otimizado de regeneração *de novo* de plantas de maracujá *in vitro* é imprescindível para viabilizar a utilização da transformação genética por meio de *Agrobacterium tumefaciens* ou biobalística (Takahashi, 2002; Monteiro, 2005). Da mesma forma, híbridos

somáticos não poderão ser obtidos sem passar pela fase de regeneração de plantas a partir de calos *in vitro* (Dornelas & Vieira, 1993; Dornelas, 1995; Dornelas et al., 1995; Otoni et al., 1995a, 1995b; Passos et al., 2004b; Matos et al., 2005). A via preferencial de regeneração, para as espécies de *Passiflora* estudadas, tem sido a organogênese adventícia (Moran-Robles, 1979; Dornelas & Vieira, 1994; Faria & Segura, 1997; Passos, 1999; Hall et al., 2000; Monteiro et al., 2000; Becerra et al., 2004) (Figuras de 4 a 7). Entretanto Otoni (1995) observou a regeneração pela via da embriogênese somática para a espécie *Passiflora giberti*.

Quando se fala de regeneração *de novo*, logo se pensa em explantes responsivos e, obviamente, em explantes embrionários como hipocótilos e cotilédones que, por possuírem células menos determinadas são mais responsivos à indução hormonal. Entretanto, nem sempre se pode partir de explantes embrionários. Vários são os motivos: pode-se não se dispor de muitas sementes de uma espécie; pode-se querer estabelecer *in vitro* uma espécie rara que não esteja produzindo sementes no momento da coleta, por exemplo. Dessa forma se faz necessário que seja estudada a regeneração a partir de outros explantes tanto obtidos *in vitro* quanto no campo ou em casa de vegetação.

Já existem muitos estudos publicados sobre a regeneração *in vitro* de diversas espécies de *Passiflora*, mas o assunto está longe de ter sido esgotado. Diversos fatores contribuem para isso e um dos principais é a variação da resposta entre genótipos que tem sido extensivamente descrita na literatura. As variações são mais evidentes quando são feitos experimentos com espécies pouco domesticadas de maracujá, em que a variabilidade genética existente é muito grande. As respostas diferentes se acentuam por conta dos vários explantes utilizados, das diversas condições ambientais de incubação como luz, temperatura e fotoperíodo, tipos de frascos de cultura, meios de cultura e suas variações, somente para citar alguns.

Na literatura, verifica-se que há consenso entre os autores sobre os protocolos para *P. edulis*, principalmente, o do maracujá amarelo, o mais estudado. Um dos procedimentos-consenso é que, para a maioria das

espécies estudadas, não importando o explante, o hormônio 6-BA foi o indutor por excelência da regeneração na faixa de concentração de 0,5 e 2,0 mg. L<sup>-1</sup> de 6-BA tendo sido demonstrado para *P. edulis* (Dornelas & Vieira, 1994; Alexandre, 2002; Passos et al., 2002b), *P. amethystina*, *P. giberti*, *P. molissima*, *P. maliformis* (Dornelas & Vieira, 1994) *P. nitida* (Passos, 1999; Passos et al., 2002b), *P. cincinnata*, *P. setacea* e *P. alata* (Passos et al., 2002b) e *P. cincinnata* (Lombardi, 2003; Lombardi et al., 2003).

Outra condição importante tem sido a regeneração na presença de luz. Muitos trabalhos já demonstraram a importância da luz na morfogênese para diversos explantes de maracujá (Dornelas & Vieira, 1994; Couceiro, 2002). Por sua vez, diferentes níveis de irradiação são utilizados nos diversos trabalhos publicados. Nesse assunto, merece destaque o trabalho de Alexandre (2002). Esse autor estudou a regeneração adventícia *in vitro* de segmentos de hipocótilo de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* e encontrou importante interação entre o nível de irradiância utilizado e a concentração de sacarose no meio de cultura. Via de regra, maior irradiância requer menor concentração de sacarose e vice-versa, para a regeneração adventícia. Por exemplo, o autor observou que a melhor resposta organogênica em segmentos de hipocótilo ocorreu no extremo proximal dos explantes, ou seja, explantes extraídos mais próximos aos nós cotiledonares, cultivados em meio contendo 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP + 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e submetidos a uma concentração de 10 g.L<sup>-1</sup> de sacarose no nível de irradiância de 150 µE.m<sup>2</sup>.s<sup>-2</sup>. Já, as maiores médias de comprimento de brotos foram encontradas no extremo distal dos segmentos de hipocótilo, extraídos mais distantes dos nós cotiledonares, cultivados em meio contendo 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, 20 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e quando expostos à irradiância de 50 µE.m<sup>2</sup>.s<sup>-2</sup>. Em ambos os casos, o melhor nível de irradiância foi o mais alto testado.

O meio MS (Murashige & Skoog, 1962) integral ou contendo metade das concentrações de seus componentes tem sido o mais utilizado nos trabalhos publicados. No entanto, Monteiro et al. (2000) relatam severa deficiência nutricional observada em plantas jovens, regeneradas a partir de discos foliares de *P. edulis* f. *flavicarpa*, quando o meio MS foi utilizado e propõem um meio modificado para reverter essa deficiência (Monteiro et al.,

2000). Igualmente, Ribas (2002), utilizando explantes cotiledonares de *P. edulis* f. *flavicarpa*, encontrou maior quantidade de explantes regenerativos e maior número médio de gemas por explante quando utilizou o meio MS com as vitaminas do meio B5 (Gamborg et al., 1968).

Os fatores que incrementaram a organogênese adventícia em espécies de *Passiflora* foram: a adição de água de coco ao meio de cultura (Dornelas & Vieira 1994) e de inibidores da ação do etileno, como nitrato de prata e tiosulfato de prata (Faria & Segura, 1997; Passos et al., 2002b) Figuras 4, 6 e 7.



**Figura 4.** Organogênese *de novo* em *P. alata* a partir de discos foliares.

Foto: Luciana Rocha Antunes



**Figura 5.** Organogênese *de novo* em *P. cincinnata* a partir de raízes.

Foto: Ilene Passos



**Figura 6.** Organogênese *de novo* em *P. edulis* a partir de discos foliares.

Foto: Ilene Passos



**Figura 7.** Organogênese *de novo* de *P. nitida* a partir de discos foliares.

Foto: Ilene Passos

## Isolamento e cultura de protoplastos de espécies de *Passiflora*

A membrana plasmática das células vegetais está envolvida por uma parede celulósica, e as células adjacentes estão conectadas com uma matriz rica em pectina. A desconexão das células vegetais e a remoção da parede, experimentalmente, tanto por um processo mecânico quanto enzimático resultam na produção de células vegetais “nuas”, únicas, denominadas *protoplastos isolados*. Estes representam de fato a única fonte de células individuais que se pode obter de plantas superiores. Os protoplastos,

formando células individuais em cultura, podem ser manipulados com técnicas microbiológicas (por exemplo: isolamento de mutantes, clonagem celular, fusão celular, transformação genética etc.) e a sua totipotência permite a regeneração de plantas inteiras (Fehér & Dudits, 1994).

Esse sistema pode ser útil para extração de organelas celulares, transferência gênica por meio da técnica de transformação direta por eletroporação, produção de novos genótipos mediante formação de híbridos entre espécies sexualmente incompatíveis e obtenção de citoplasmas híbridos, a fim de combinar organelas de espécies herdadas do progenitor materno ou para se obter recombinação entre organelas de espécies diferentes (Fungaro & Vieira, 1989).

Embora sejam células desprovidas de parede celular, os protoplastos vegetais não podem ser vistos como análogos de células animais, mas como células injuriadas que devem passar por um processo de recuperação antes de serem capazes de sustentar divisões (Fehér & Dudits, 1994). Por isso, o cultivo de protoplastos se faz em meio de cultura rico em componentes orgânicos e inorgânicos, suplementado com fitorreguladores e concentrações adequadas de polissacarídeos que funcionam como estabilizadores osmóticos (Vieira, 1997).

Entre os fatores que influenciam o sucesso da cultura de protoplastos estão: fonte e estágio fisiológico do explante, solução enzimática para a digestão da parede, densidade de cultivo, métodos de cultivo e meios de cultura.

Os explantes mais utilizados para o isolamento de protoplastos de espécies de *Passiflora* têm sido cotilédones (Dornelas & Vieira, 1993; Passos et al., 2004b) e folhas recém-expandidas (D'Utra Vaz et al., 1993; Dornelas, 1995; Otoni, 1995). Verificou-se que, protoplastos isolados do mesófilo têm seu rendimento e sua viabilidade reduzidos de acordo com a idade da planta, principalmente, após a emissão de gavinhas (D'Utra Vaz et al., 1993; Otoni, 1995).

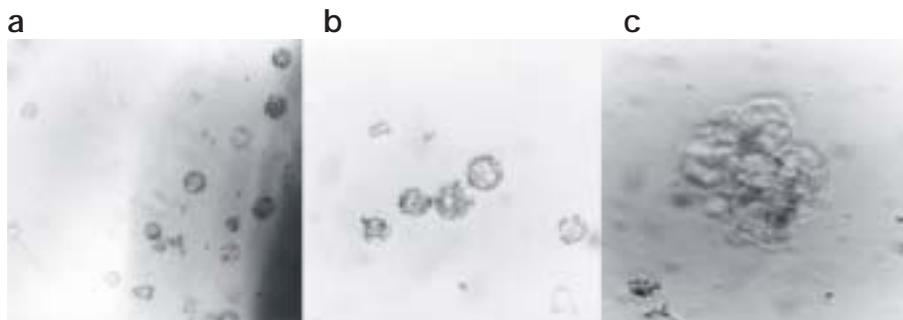
A solução comumente utilizada para pré-plasmólise dos tecidos de *Passiflora*, dissolução de enzimas e lavagem dos protoplastos tem sido CPW-

13 que é composta dos sais do meio CPW (Frearson et al., 1973) e manitol a 13% (Dornelas & Vieira, 1993; D'Utra Vaz, 1993; Dornelas, 1995; Otoni, 1995; Passos et al., 2004b).

Os rendimentos (número de protoplastos isolados/grama de tecido) encontrados em diversos isolamentos de protoplastos em *Passiflora* variaram de acordo com a espécie e o explante utilizados, mas apresentaram amplitude de  $9,2 \cdot 10^6$  -  $1,4 \cdot 10^7$  protoplastos por grama de tecido (Dornelas & Vieira, 1993; D'Utra Vaz et al., 1993; Otoni, 1995; Passos et al., 2004b) (Figura 8). A viabilidade dos protoplastos, após o isolamento, apresentou amplitude de  $78,10 \pm 7,06\%$  para *P. seemannii* (Otoni, 1995) a  $96,4 \pm 0,9\%$  para *P. gibertii* (Dornelas, 1995).

O tamanho médio dos protoplastos depende da espécie analisada e do explante utilizado. Podem variar de 19 a 47  $\mu\text{m}$ , quando isolados de tecidos de folhas ou de 30 a 60  $\mu\text{m}$  quando os protoplastos derivam de tecidos cotiledonares (Vieira & Dornelas, 1996).

As densidades de cultivo, métodos de cultivo e meios de cultura empregados vão influenciar na indução e na manutenção da divisão celular e na obtenção de colônias e microcalos (1mm de diâmetro). As densidades de cultura usadas para *Passiflora* spp. têm variado de 0,5 a  $2,0 \cdot 10^5$  protoplastos por mL de meio de cultura. Usou-se desde cultura em meio líquido, passando por camadas finas, fatias até gotas de agarose. Os meios de cultura mais utilizados foram o de Kao (1977), modificado por Gilmour et al. (1989) e o de Kao & Michayluk (1980).



Fotos: Ilene Passos

**Figura 8.** Isolamento e cultura de protoplastos em *Passiflora* spp.: (a) protoplastos recém-isolados de *P. setacea*; (b) protoplastos em início de cultivo de *P. alata*; e (c) microcolônias de *P. alata*. Fotos obtidas em microscópio de luz invertida: CENA/USP.

A densidade de  $1,0 \cdot 10^5$  protoplastos por mL de meio e o método de cultura em gotas de agarose forneceram as frequências mais altas de divisão celular e de formação de colônias (Otoni, 1995; Vieira & Dornelas, 1996). Em *P. nitida*, o cultivo de protoplastos, na densidade de  $1,0 \cdot 10^5$  protoplastos por mL em meio de cultura, imobilizados em alginato, foi um procedimento adequado para obtenção de microcolônias (Passos et al., 1999; Passos, 1999).

Mourad-Agha & Dexheimer (1979) cultivaram calos de *Passiflora quadrangularis* L. no meio de cultura, descrito por Bourgin & Nitch (1967), com modificações. Esse meio tem sido muito eficiente para o cultivo de calos provenientes de protoplastos de *Passiflora* spp. (Dornelas, 1995; Passos et al., 2004b).

Passos et al. (2004b), em seus experimentos com protoplastos cultivados em gotas de agarose, utilizaram o meio K8 sem 2,4 D, pois foi verificada redução no aparecimento de *budding* nos protoplastos em cultivo. No entanto, a diminuição gradativa da osmolaridade, por meio de trocas de meio de cultura, teve de ser realizada a cada três ou quatro dias para evitar a morte dos protoplastos. Com esse procedimento, as seguintes eficiências de plaqueamento foram obtidas: 45,8% para *P. edulis*; 36,8% para *P. alata* e 24,5% para *P. nitida*.



**Figura 9.** Regeneração de protoplastos de *P. cincinnata* por meio da organogênese *in vitro*.

Fotos: Ilene Passos

Matos et al. (2005) verificaram que a idade dos cotilédones e a exposição ou não destes à luz influenciaram o rendimento do isolamento de protoplastos de *Passiflora edulis*. Explantes mais jovens (6 dias) com cotilédones não expostos à luz isolaram maior quantidade de protoplastos. Por sua vez, o índice de divisão das células, após sete dias das placas em cultivo, foi maior para os explantes mais velhos (21 dias) após a germinação no escuro, tanto no número de células em primeira divisão (15%) quanto no número de células acima da primeira divisão (4,1%).

## Hibridação somática entre espécies de *Passiflora*

A hibridação interespecífica tem sido, para muitas espécies, a melhor alternativa em busca de resistência a doenças. O mesmo é verdadeiro para o gênero *Passiflora*. Esse gênero compreende mais de 400 espécies e em várias delas já foram encontradas características de resistência às principais pragas e doenças que atacam *Passiflora edulis*, umas das espécies mais importantes economicamente para o Brasil. No maracujá (*Passiflora* spp.), devido à baixa fertilidade dos híbridos interespecíficos, a hibridação somática via fusão de protoplastos representa uma alternativa de transferência de genes do germoplasma selvagem para a espécie cultivada (Vieira, 1997). Recursos técnicos, como fusão de protoplastos, visando à obtenção de híbridos somáticos interespecíficos, podem vir a ser de grande utilidade para o melhoramento genético de *Passiflora* (Dornelas, 1995), à semelhança de programas de melhoramento genético importantes como os de citros, girassol, brássicas, trigo, realizados no mundo inteiro (Davey et al., 2005).

Otoni (1995) obteve cinco híbridos somáticos da eletro fusão de protoplastos isolados de mesófilo de *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. incarnata*. Esses híbridos foram utilizados em experimentos na primeira geração de retrocruzamento com *P. edulis* e *P. incarnata*.

Dornelas (1995) obteve híbridos da fusão química de protoplastos de *P. edulis* var. *flavicarpa*, *P. alata*, *P. amethystina*, *P. cincinnata*, *P. coccinea* e *P. gilberti*. Para a fusão química, o autor utilizou soluções de PEG

(polietilenoglicol) em que as melhores concentrações foram as de 20% e 30% para a formação de heterodímeros entre protoplastos de *Passiflora* (Dornelas et al., 1995).

Para que híbridos somáticos possam ter importância significativa dentro de um programa de melhoramento genético de maracujá, eles devem ser obtidos de forma ininterrupta e serem avaliados por uma equipe multidisciplinar para que uma utilidade imediata lhe seja atribuída. A infertilidade do híbrido somático, em *Passiflora*, é um impedimento para que ele possa ter utilização comercial imediata. Em caso de infertilidade parcial, ele poderá ser aproveitado em retrocruzamentos; entretanto, se o híbrido obtido, após ser avaliado, não tiver características desejáveis, ele deverá ser descartado. Em outras culturas, para amenizar o problema da infertilidade dos híbridos somáticos, tem sido usada a técnica da hibridação somática assimétrica.

## Conclusões

A maioria das espécies de *Passiflora* apresenta grande variabilidade genética e, devido a diferentes acessos utilizados, a repetição de protocolos constantes na literatura muitas vezes é dificultada. Portanto, ao se publicar protocolos de estabelecimento *in vitro*, organogênese adventícia, isolamento e cultura de protoplastos, devem-se descrever com detalhes o material e os métodos utilizados. Devem-se descrever, também, a origem dos acessos usados, os processos de obtenção, idade, processo de retirada do arilo e conservação das sementes ou o que couber para material obtido do campo ou de casa de vegetação.

Muito pouco se sabe sobre a germinação das sementes de *Passiflora* tanto *in vitro* como *ex-vitro* e recomenda-se que esses estudos devam ser intensificados para que a cultura *in vitro* possa ser útil para o melhoramento genético e para a conservação de germoplasma.

Finalmente, visando à manutenção de germoplasma de *Passiflora in vitro* muitos estudos, como de meios de cultura, por exemplo, deverão ser

efetuados para que se possa lograr sucesso nessa atividade tendo em vista que a maioria dos trabalhos publicados concentra-se apenas em *Passiflora edulis*, e o gênero *Passiflora* compreende cerca de 400 espécies.

## Agradecimentos

À FAPESP pelo auxílio financeiro (processo nº 00/05780-4).

À Dra. Sigrid Luiza Jung Mendaçolli (IAC), pelo empréstimo do equipamento microscópio estereoscópico, para as fotos de sementes, germinação e regeneração de plantas de *Passiflora* spp.

Ao Prof. Dr. Augusto Tulmann Neto (CENA/USP), pelo empréstimo do equipamento microscópio de luz invertida para fotos de cultura de protoplastos de *Passiflora* spp.

À Dra. Neiva Izabel Pierozzi (IAC), por digitalizar as fotos aqui apresentadas.

À Dra. Vera Maria Quecini (IAC) pela revisão crítica do manuscrito.

## Referências Bibliográficas

ALEXANDRE, R. S. **Germinação in vitro e organogênese em explantes do maracujazeiro (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) influenciada pela irradiância e sacarose**. 2002. 103 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

BECERRA, D. C.; FORERO, A. P.; GÓNGORA, G. A. Age and physiological condition of donor plants affect in vitro morphogenesis in leaf explants of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 79, p. 87-90, 2004.

BIASI, L. A.; FALCO, M. C.; RODRIGUEZ, A. P. M.; MENDES, B. M. J. Organogênese em segmentos internodais de maracujazeiro amarelo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 14., Curitiba, 1996. **Resumos...** Londrina: IAPAR, 1996. p. 323.

BINSFELD, P. C. **Production and characterization of interspecific transgenic plants in the genus *Helianthus* using microprotoplast technique**. Göttingen: Cuvillier Verlag, 1999.

BRICOLTI, S.; CHIARI, A. Meristem culture and micrografting of *Passiflora edulis* f. *edulis*. **Advances Horticultural Science**, v. 8, p. 171-175, 1994.

CATUNDA, P. H. A. **Influência do teor de água, da embalagem e das condições de armazenamento na qualidade de sementes de maracujá amarelo**. 2001. 48 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos de Goytacazes.

COUCEIRO, M. A. **Organogênese *in vitro* em segmentos de hipocótilo de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg)**. 2002. 95 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

DAVEY, M. R.; ANTHONY, P.; POWER, J. B.; LOWE, K. C. Plant protoplasts: status and biotechnological perspectives. **Biotechnology Advances**, v. 23, p. 131-171, 2005.

DORNELAS, M. C. **Cultura e fusão de protoplastos de *Passiflora* spp.** 1995. 182 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

DORNELAS, M. C.; TAVARES, F. C. A.; OLIVEIRA, J. C. de; VIEIRA, M. L. C. Plant regeneration from protoplast fusion in *Passiflora* ssp. **Plant Cell Reports**, v. 15, p. 106-110, 1995.

DORNELAS, M. C.; VIEIRA, M. L. C. Plant regeneration from protoplasts cultures of *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Deg., *P. amethystina* Mikan. and *P. cincinnata* Mast. **Plant Cell Reports**, v. 13, p. 103-106, 1993.

DORNELAS, M. C.; VIEIRA, M. L. C. Tissue culture studies on species of *Passiflora*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 36, p. 211-217, 1994.

D'UTRA VAZ, F. B.; SANTOS, A. V. P.; MANDERS, G.; COCKING, E. C.; DAVEY, M. R.; POWER, J. B. Plant regeneration from leaf mesophyll protoplasts of the tropical woody plant, passionfruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.): the importance of the antibiotic cefotaxime in the culture medium. **Plant Cell Reports**, v. 12, p. 220-225, 1993.

FARIA, J. L. C.; SEGURA, J. ***In vitro* control of adventitious bud differentiation by inorganic medium components and silver thiosulfate in explants of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa***. **In Vitro Cellular & Developmental Biology- Plant**, v. 33, p. 209-212, 1997.

FEHÉR, A.; DUDITS, D. Plant protoplasts for cell fusion and direct DNA uptake: culture and regeneration systems. In: VASIL, I. K.; THORPE, T. A. (Ed.) **Plant Cell and Tissue Culture**. Dordrecht: Kluwer, 1994. p. 71-118.

FREARSON, E. M.; POWER, J. B.; COCKING, E. C. The isolation, culture and regeneration of *Petunia* leaf protoplasts. **Developmental Biology**, v. 33, p. 130-137, 1973.

FUNGARO, M. H. P.; VIEIRA, M. L. C. Protoplastos de plantas: isolamento e regeneração. **Ciência e Cultura**, v. 41, p. 1151-1159, 1989.

GAMBORG, O. L.; MILLER, R. A.; OJIMA, K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean. **Experimental Cell Research**, v. 50, p. 151-158, 1968.

GILMOUR, D. M.; DAVEY, M. R.; COCKING, E. C. Production of somatic hybrid tissues following chemical and electrical fusion from albino cell suspensions of *Medicago sativa* and *M. borealis*. **Plant Cell Reports**, v. 8, p. 29-32, 1989.

HALL, R. M.; DREW, R. A.; HIGGINS, C. M.; DIETZGEN, R. G. Efficient organogenesis of an Australian passionfruit hybrid (*Passiflora edulis* x *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) suitable for gene delivery. **Australian Journal of Botany**, v. 48, p. 673-680, 2000.

HOOLEY, R. Gibberellins: perception, transduction and responses. **Plant Molecular Biology**, v. 26, p. 1529-1555, 1994.

KANTHARAJAH, A. S.; DODD, W. A. *In vitro* micropropagation of *Passiflora edulis* (Purple Passion fruit). **Annals of Botany**, v. 65, p. 337-339, 1990.

KAO, K. N. Chromosomal behaviour in somatic hybrids of soybean – *Nicotiana glauca*. **Molecular and General Genetics**, v. 150, p. 225-230, 1977.

KAO, K. N.; MICHAYLUK, M. Plant regeneration from mesophyll protoplasts of alfafa. **Zeitschrift für Pflanzenphysiologie**, v. 96, p. 135-141, 1980.

LOMBARDI, S. M. **Estudos anatômicos e fisiológicos da organogênese *in vitro* em *Passiflora cincinnata* Mast.** 2003. 59 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

LOMBARDI, S. M.; GLÓRIA, B. A. da; PASSOS, I. R. S. Estudo Anatômico e Fisiológico da organogênese *in vitro* em *Passiflora cincinnata* Mast. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 15, p. 130-130, 2003.

MATOS, G. V. C.; PASSOS, I. R. S.; BINSFELD, P. C.; DORNELAS, M. C.; SCOTT, M. D. S.; SAWASAKI, H. E.; MELETTI, L. M. M.; BERNACCI, L. C. Hibridação somática em *Passiflora* spp. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA**, 51., 2005, Águas de Lindóia. [S.l.: s.n.] , 2005.

MEDINA, P. F.; MAEDA, J. A.; MELETTI, L. M. M. Condições de germinação de semente de maracujá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA**, 15., 1998, Poços de Caldas. **Resumos...** Lavras: UFLA, 1998. p. 566.

MELO, A. L. de. **Efeitos da retirada do arilo e do armazenamento e aspectos morfológicos de sementes do maracujazeiro (*Passiflora* spp).** 1996. 52 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

MELO, A. L. de. **Métodos de quebra de dormência, e de armazenamento de sementes, e aspectos da obtenção de mudas de maracujá suspiro (*Passiflora nitida* H. B. K.)** 1999. 95 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

MONTEIRO, A. C. B.; HIGASHI, E. N.; GONÇALVES, A. N.; RODRIGUEZ, A. P. M. A novel approach for the definition of the inorganic medium components for micropropagation of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* DEG.). **In Vitro Cellular & Developmental Biology- Plant**, v. 36, p. 527-531, 2000.

MONTEIRO, M. **Transformação genética de maracujá amarelo visando resistência à *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae***. 2005. 134 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

MORAN-ROBLES, M. J. Potentiel morphogénétique des entrenoeuds de *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Deg. et *P. mollissima* Bailey en culture *in vitro*. **Turrialba**, v. 29, p. 224-228, 1979.

MOURAD-AGHA, N.; DEXHEIMER, J. Étude ultrastructurale de la différenciation des éléments conducteurs dans une culture de tissu de *Passiflora quadrangularis* L. I. Cals cultivés à l'obscurité. **Cytologia**, v. 44, p. 615-631, 1979.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

NAKAYAMA, F. Cultivo *in vitro* de tejidos de *Passiflora caerulea*. **Revista de la Facultad de Agronomía**, La Plata, v. 42, n. 1, p. 63-74, 1966.

OSIPI, E. A. F. **Efeito da temperatura, da maturação do fruto e do armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de maracujá doce (*Passiflora alata* Dryander)**. 2000. 95 f. Tese (Doutorado em Horticultura) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

OTONI, W. C. **Hibridização e embriogênese somática e transformação genética em espécies de *Passiflora***. 1995. 198 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

OTONI, W. C.; BLACKHALL, N. W.; D'UTRA VAZ, F. B.; CASALI, V. W.; POWER, J. B.; DAVEY, M. R. Somatic hybridization of the *Passiflora* species, *P. edulis* f. *flavicarpa* Degener and *P. incarnata* L. **Journal of Experimental Botany** . v. 46, p. 777-785, 1995a.

OTONI, W. C.; CASALI, V. W. D.; CECON, P. R.; DAVEY, M. R.; POWER, J. B. Regeneração de plantas de maracujazeiro (*Passiflora coccinea* Aubl.) a partir de protoplastos derivados de mesófilo. **Revista Ceres**, v. 42, n. 243, p. 461-468, 1995b.

PASSOS, I. R. S. **Comportamento *in vitro* em *Vitis* ssp, e em *Passiflora nitida* H.B.K.** 1999. 112p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

PASSOS, I. R. S.; MATOS, G. V. C.; BAZZO, M. C. Z.; MELETTI, L. M. M.; SCOTT, M. D. S.; BERNACCI, L. C. Estabelecimento *in vitro*, por meio de sementes, de cinco espécies de maracujá (*Passiflora edulis* Sims, *Passiflora nitida* Kunth, *Passiflora alata* Curtis, *Passiflora cincinnata* Mast e *P. setacea* DC. In: III REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO, 2002, Viçosa. 2002a.

PASSOS, I. R. S.; MATOS, G. V. C.; SCOTT, M. D. S.; MELETTI, L. M. M.; BERNACCI, L. C.; VIEIRA, M. A. R.; Regeneração de plantas via organogênese *in vitro* para cinco espécies de maracujá (*Passiflora* spp.) In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 48., 2002, Águas de Lindóia. 2002b.

PASSOS, I. R. S.; MATOS, G. V. C.; MELETTI, L. M. M.; SCOTT, M. D. S.; BERNACCI, L. C.; VIEIRA, M. A. R. Utilização de ácido giberélico para a quebra de dormência de sementes de *Passiflora nitida* germinadas *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, p. 380-381, 2004a.

PASSOS, I. R. S.; MATOS, G. V. C.; BINSFELD, P. C.; ROSALES, M. B.; SCOTT, M. D. S.; SAWASAKI, H. E.; MELETTI, L. M. M.; BERNACCI, L. C.; SIQUEIRA, W. J. Protoplasts: isolation, culture and plant regeneration in species of the genus *Passiflora*. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOLOGIA CELULAR, 12., CONGRESSO DA SOCIEDADE IBEROAMERICANA DE BIOLOGIA CELULAR, 9., 2004, Campinas. [S.l.: s.n.], 2004b.

PASSOS, I. R. S.; OLIVEIRA, J. C.; VIEIRA, M. L. C. Estabilidade mitótica *in vitro* de *Passiflora nitida* H.B.K. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 44., 1998, Águas de Lindóia, 1998.

PASSOS, I. R. S.; OLIVEIRA, J. C.; VIEIRA, M. L. C. Cultura de células em suspensão, organogênese, isolamento e cultivo de protoplastos de *Passiflora nitida* Kunth. **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, n. 3, p. 683. 1999. Suppl.

PEREIRA, K. J. C.; DIAS, D. C. F. S. Germinação e vigor de sementes de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* DEG.) submetidas a diferentes métodos de remoção da mucilagem. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 1, p. 247-252, 2000.

REIS, L. B.; PAIVA NETO, V. B.; TOLEDO PICOLI, E. A.; COSTA, M. G. C.; REGO, M. M.; CARVALHO, C. R.; FINGER, F. L.; OTONI, W. C. Axillary bud development of passionfruit as affected by ethylene precursor and inhibitors. **In Vitro Cell Development Biology – Plant**, v. 39, p. 618-622, 2003.

RIBAS, A. F.; DENIS, F.; QUOIRIN, M. Vitaminic mixtures on yellow passion fruit regeneration. **Ciência Rural**, v. 32, n. 2, p. 237-241, 2002.

ROSSETO, C. A. V.; CONEGLIAN, R. C. C.; NAKAGAWA, J.; SHIMIZU, M. K.; MARIN, V. A. Germinação de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryand) em função do tratamento pré-germinativo. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 1, p. 247-252, 2000.

SANTOS, C. M.; SOUZA, G. R. L.; SILVA, J. R.; SANTOS, V. L. M. Efeitos da temperatura e do substrato na germinação da semente do maracujá (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 1, p. 1-6, 1999.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TAKAHASHI, E. K. **Transferência do gene da atacina A para plantas de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) por biobalística**. 2002. 137 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

TSUBOI, H.; NAKAGAWA, J. Efeito da escarificação por lixa, ácido sulfúrico e água quente na germinação de sementes de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.). **Científica**, v. 20, n. 1, p. 57-62, 1992.

VIEIRA, M. L. C. Hibridação somática em plantas: A importância das espécies selvagens como fonte de genes. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 3, p. 36-40, 1997.

VIEIRA, M. L. C.; DORNELAS, M. C. Regeneration of plants from protoplasts of *Passiflora* species (passion fruit). In: BAJAJ, Y. P. S. (Ed.). **Biotechnology in agriculture and forestry**. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1996. v. 38, p. 108-119.

YAMAGUCHI, S.; KAMIYA, Y. Gibberellins and Light- Stimulated seed germination. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 20, p. 369-376, 2002.



# Estudos morfológicos, anatômicos, histoquímicos e ultra-estruturais da organogênese in vitro do maracujazeiro

---

Beatriz Appezzato-da-Glória

Juliana Aparecida Fernando

Silvia Rodrigues Machado

Maria Lúcia Carneiro Vieira

## Introdução

A suscetibilidade das espécies comerciais de *Passiflora* a doenças tem limitado a expansão da cultura do maracujá no Brasil, justificando o desenvolvimento de estratégias biotecnológicas de apoio aos programas de melhoramento. A produção de plantas geneticamente transformadas constitui alternativa de transferência de genes de resistência a doenças, principalmente, àquelas causadas por vírus e bactérias. Contudo, o sucesso na obtenção de plantas transgênicas depende de protocolos eficientes para a regeneração de brotos in vitro.

No gênero *Passiflora*, a organogênese in vitro é a via de regeneração predominante podendo ser direta (Kantharajah & Dodd, 1990; Dornelas & Vieira, 1994; Appezzato-Da-Glória et al., 1999; Hall et al., 2000; Becerra et al., 2004) ou indireta (Monteiro et al., 2000; Lombardi et al., 2003) a partir de diferentes fontes de explantes: foliares, cotiledonares, hipocotiledonares, segmentos do entrenó e de raiz.

Em *Passiflora*, é freqüente a formação de estruturas foliares as quais são erroneamente interpretadas como gemas que não se alongam. Outro aspecto

importante é que a eficiência dos sistemas de transformação de plantas depende de que as células transformadas sejam aquelas que coincidentemente tenham envolvimento no processo morfogênico. Por isso, estudos anatômicos e ultra-estruturais são importantes para caracterizar as estruturas e determinar as áreas meristemáticas envolvidas no processo de regeneração de brotos *in vitro*, auxiliando na determinação dos protocolos de transformação. A formação de brotos quiméricos, isto é, com ramos transformados e não-transformados, é outro aspecto que preocupa o pesquisador, pois se pode perder o ramo transformado ao longo do processo de estaquia da planta. Assim sendo, é necessário conhecer a extensão da quimera e entender a sua origem anatômica.

A despeito da importância dos estudos estruturais e ultra-estruturais, pouco tem sido publicado em *Passiflora*. Appezato-da-Glória et al. (1999) realizaram cortes histológicos de discos foliares de *P. edulis* f. *flavicarpa* (genótipo não determinado) os quais apresentaram respostas morfogênicas distintas quando cultivados em meio MS (Murashige & –Skoog, 1962) contendo 1,0 mg L<sup>-1</sup> BA (caulogênese) ou ANA (rizogênese). Lombardi et al. (2003) analisaram a origem indireta das gemas em discos foliares de *P. cincinnata* Mast. e a origem direta e indireta a partir de segmentos de raízes.

Neste capítulo são apresentados os resultados de estudos morfológicos, anatômicos, histoquímicos e ultra-estruturais da organogênese *in vitro* em maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.).

## Como avaliar o processo de regeneração *in vitro* em explantes de maracujá?

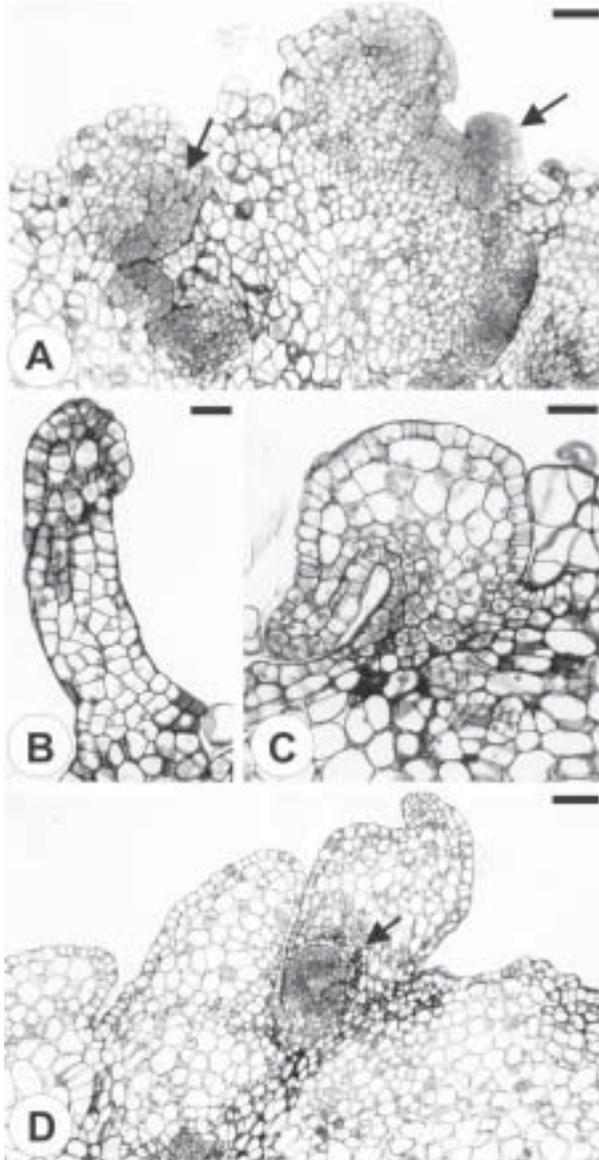
As análises estruturais da organogênese *in vitro* em *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. e em *P. cincinnata* Mast. têm mostrado grande

determinação dos explantes para a formação de primórdios foliares. Esse caminho organogênico compromete o sucesso da cultura in vitro, pois a presença de meristema apical caulinar é essencial para produção de brotos.

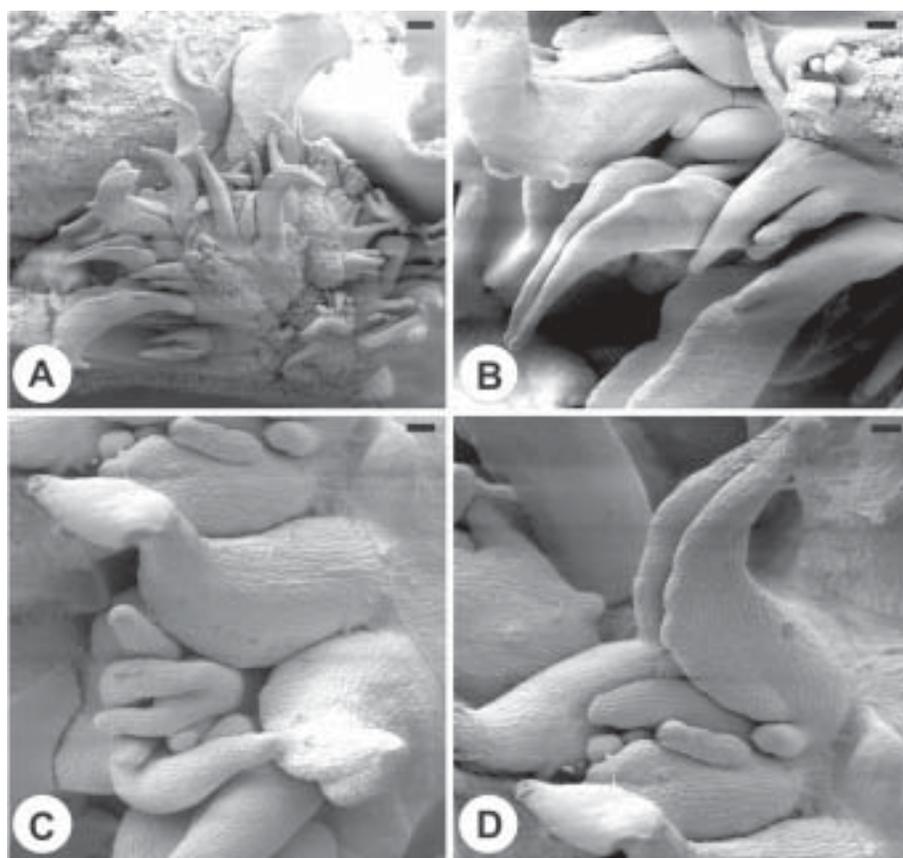
As análises anatômicas dos segmentos de entrenó de *P. edulis* f. *flavicarpa* genótipo Cajuba, cultivados em meio MS contendo 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BA e 5% de água de coco, mostram intensa divisão das células dos parênquimas cortical e medular formando calo. Na periferia dessa região de proliferação celular, verifica-se a formação de áreas meristemáticas (Figura 1A, setas) que, posteriormente, originam primórdios foliares (Figura 1B-C). Na base desses primórdios, também se formam regiões meristemáticas que originam outras estruturas foliares (Figura 1D). Processo similar ocorre nos discos foliares desse mesmo genótipo; as áreas meristemáticas formam-se diretamente a partir das células subepidérmicas do explante, principalmente, na região da nervura central (Figura 2A-B).

Sob as mesmas condições de cultivo in vitro utilizadas para o genótipo Cajuba, os explantes cotiledonares, foliares e hipocotiledonares do genótipo FB-100 produzem gemas e primórdios foliares (Figuras 2C-D e 3A-D).

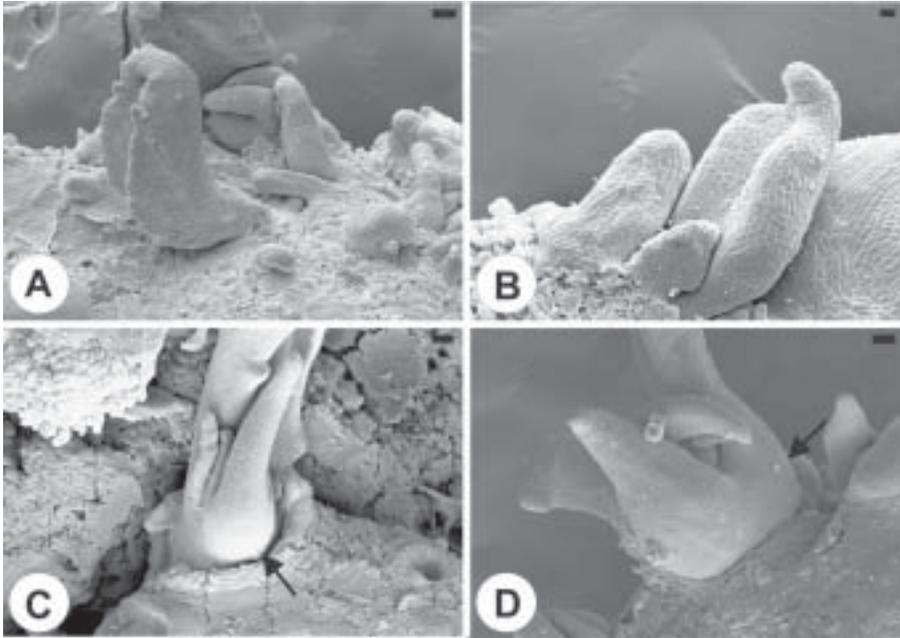
A diferença morfológica entre gemas caulinares e estruturas foliares isoladas baseia-se no fato de que, nestas, a base se insere diretamente no explante (Figuras 2A-C e 3A-B), enquanto nas gemas, os primórdios foliares saem de um eixo comum (Figuras 2D e 3C-D). As observações ao microscópio eletrônico de varredura das estruturas originadas in vitro são fundamentais e constituem maneira rápida de caracterização morfológica permitindo a distinção entre gemas e primórdios foliares.



**Figura 1.** *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* genótipo Cajuba. **A.** Corte longitudinal de segmentos de entrenó mostrando áreas meristemáticas (setas) formadas na periferia da região de proliferação celular. **B, C.** Corte longitudinal de primórdios foliares originados a partir das áreas meristemáticas indicadas em A. **D.** Corte longitudinal de uma região meristemática (seta) formada na base do primórdio foliar. (Barras: A, D = 74  $\mu\text{m}$ , B, C = 37  $\mu\text{m}$ ).



**Figura 2.** *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* genótipo Cajuba (A, B) e FB-100 (C, D). **A, B.** Elétron-micrografias de explantes foliares evidenciando a formação de primórdios foliares com base inserida no explante. **C, D.** Elétron-micrografias de explantes cotiledonares mostrando estruturas foliares (C) e uma gema (D) com os primórdios foliares originando-se a partir de um eixo comum. (Barras: A = 261,3  $\mu\text{m}$ ; B = 89,64  $\mu\text{m}$ ; C = 49,47  $\mu\text{m}$ ; D = 48,48  $\mu\text{m}$ ).



**Figura 3.** *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* genótipo FB-100. Elétron-micrografias de primórdios foliares (A, B) apresentando base estreita inserida no tecido do explante hipocotiledonar e gemas com os primórdios foliares (setas) originando-se de um eixo comum formado do explante foliar (C) e hipocotiledonar (D). (Barras: A, C, D = 100  $\mu\text{m}$ ; B = 30  $\mu\text{m}$ ).

## Organogênese in vitro em *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. população FB-100

As análises anatômicas seqüenciais e periódicas do explante hipocotiledonar de *P. edulis* f. *flavicarpa*, cultivado em meio MS suplementado com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BA e 5% de água de coco, mostram que, a partir do segundo dia de cultura, é possível verificar divisões nas células dos parênquimas cortical e medular próximas à superfície de seccionamento do explante. Esse processo contínuo de divisão celular origina áreas meristemáticas periféricas, apresentando divisões intensas na camada epidérmica e camadas subepidérmicas do explante hipocotiledonar, cerca

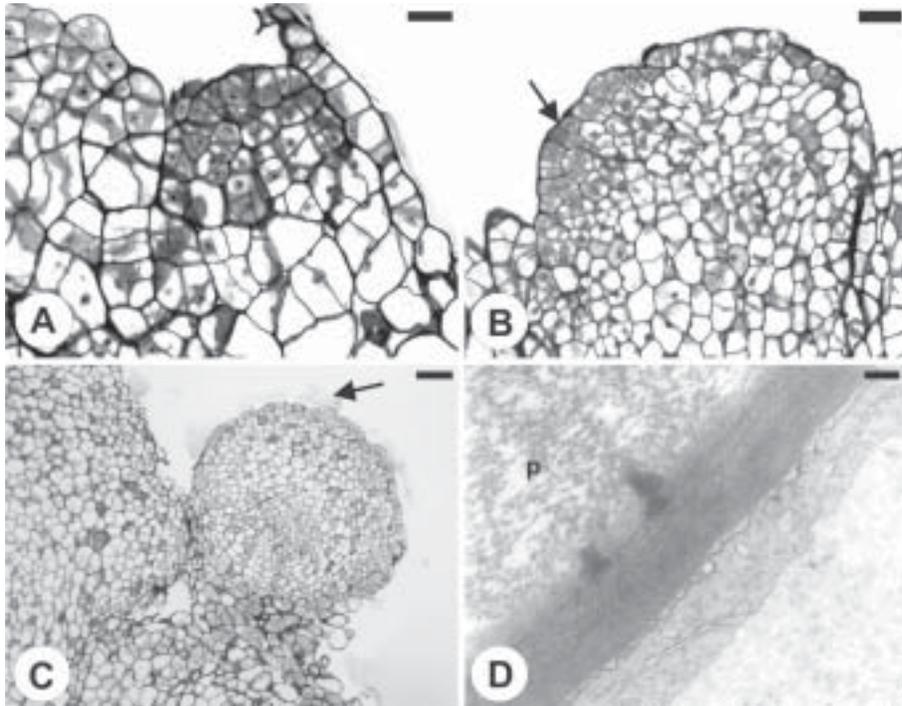
de cinco dias após a inoculação in vitro. Em algumas regiões dessas áreas de mitose, grupos de células meristemáticas tornam-se isoladas das demais, formando meristemóides (Figura 4A).

Alguns desses meristemóides desenvolvem-se em estruturas estreitas e alongadas que originam primórdios foliares; outros meristemóides formam estruturas de maior diâmetro (0,5 a 2,0 mm) as quais foram aqui denominadas “protuberâncias” (Figuras 4B e 5A-D). Eventualmente os meristemóides formam gemas. O processo organogênico é assincrônico: gemas, estruturas foliares e protuberâncias podem ser observadas em diferentes etapas de desenvolvimento em um mesmo explante (Figura 5A) e em explantes com diferentes dias de cultivo in vitro, sendo possível identificar gemas a partir do 13º dia de cultura.

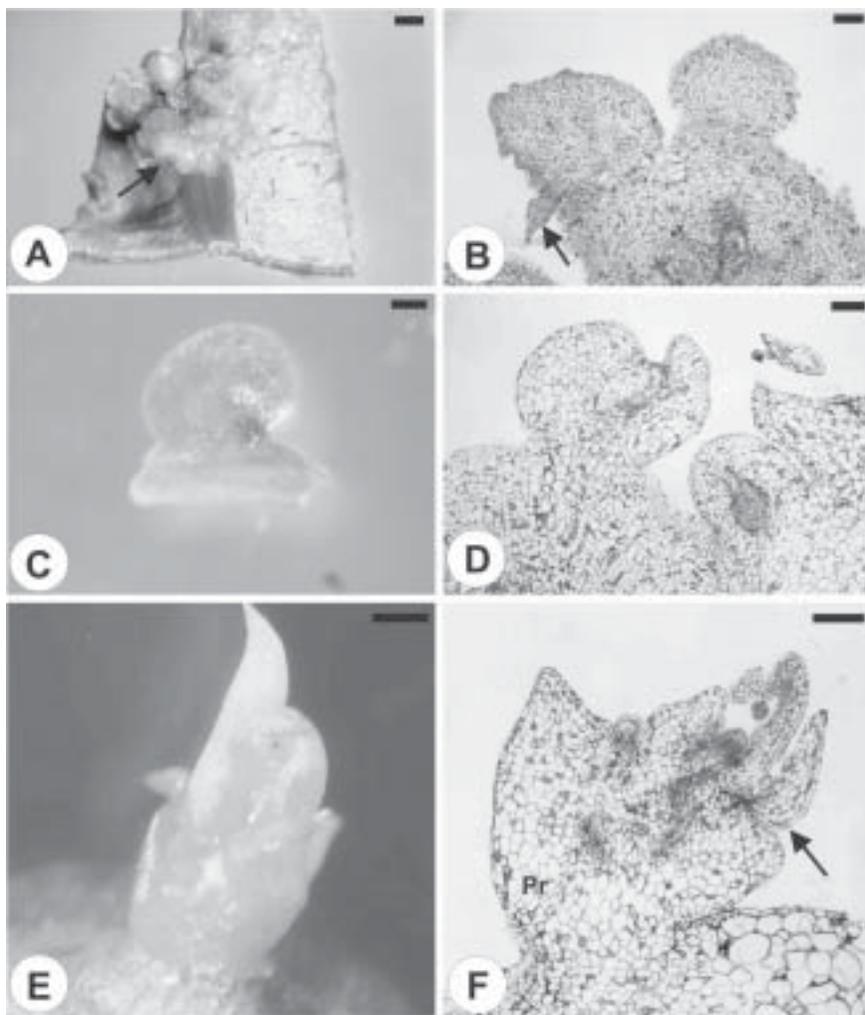
As protuberâncias (Figuras 4C e 5B, 5D) são constituídas por diferentes tipos celulares e recobertas por substância de natureza péctica (Figuras 4C). A análise ao microscópio eletrônico de transmissão confirma a presença dessa matriz extracelular nas células periféricas das protuberâncias (Figura 4D). O revestimento epidérmico unisseriado contínuo, juntamente com as camadas subepidérmicas, constitui as células periféricas da protuberância. Em quase toda a extensão dessas protuberâncias, as células periféricas apresentam aspecto meristemático: tamanho pequeno, citoplasma denso, núcleo e nucléolo evidentes. Somente essas células periféricas formam gemas e/ou primórdios foliares (Figura 5B, 5E e 5F). Além das células periféricas, as protuberâncias possuem células centrais parenquimáticas e elementos traqueais (Figuras 4C e 5D).

Cabe ressaltar que as propriedades hidrofílicas das substâncias pécticas e seu estado geleificante (Morris et al., 1982) sugerem que o material extracelular nas protuberâncias analisadas possa ter papel na hidratação (Machado & Sajo, 1996) das células periféricas e na manutenção da integridade estrutural (Morris et al., 1982) dessas protuberâncias. Em *Papaver somniferum* L., a síntese de mucilagem foi

observada durante a diferenciação do meristemóide no estágio de divisão de suas células periféricas. A presença dessa substância mucilaginosa na superfície dessas células periféricas e a maior espessura das paredes periclinais externas servem como uma separação mecânica entre esses centros meristemáticos (Ovecka & Bobák, 1999).



**Figura 4.** *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* genótipo FB-100. **A.** Meristemóide formado na extremidade do explante hipocotiledonar aos sete dias de cultivo in vitro. **B.** Protuberância originada no explante hipocotiledonar com revestimento epidérmico contínuo. A seta indica região meristemática originada nas camadas periféricas dessa protuberância que, posteriormente, formará gemas ou primórdios foliares. **C.** Protuberância originada do explante foliar sem revestimento epidérmico contínuo. A seta indica a presença de substância de natureza péctica. **D.** Elétron-micrografia da matriz extracelular (p) que envolve as células periféricas das protuberâncias. (Barras: A,B = 30  $\mu\text{m}$ ; C = 74  $\mu\text{m}$ ; D = 0,23  $\mu\text{m}$ ).



**Figura 5.** *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* genótipo FB-100. Explantes foliares (A, B) e hipocotiledonares (C-F) inoculados em meio MS suplementado com  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  de BA e 5% de água de coco. **A.** Protuberâncias (seta) formadas na nervura central do explante foliar aos 25 dias de cultivo in vitro. **B.** Corte longitudinal das estruturas evidenciadas em **A.** A seta indica um primórdio foliar originando-se na periferia da protuberância. **C.** Protuberância originada no explante hipocotiledonar aos 26 dias de cultura. **D-F.** Explantes aos 48 dias de cultivo in vitro. **D.** Corte longitudinal de protuberâncias originadas da camada epidérmica e das subepidérmicas do explante, caracterizando a origem superficial. **E.** Gema formada na superfície da protuberância. **F.** Corte longitudinal da gema mostrado em **E**, confirmando a origem da estrutura na periferia da protuberância. (Barras: A = 870  $\mu\text{m}$ ; B, D, F = 199  $\mu\text{m}$ ; C = 308  $\mu\text{m}$ ; E = 410  $\mu\text{m}$ ).

Considerando as fases da via organogênica in vitro quais sejam: (a) aquisição de competência – habilidade para responder à indução organogênica, (b) indução – as células responsivas ao estímulo tornam-se determinadas para formar um órgão; nessa fase, a composição de fitorregulador do meio de cultura é crítica e, (c) diferenciação morfológica e desenvolvimento – crescimento de gemas ou raízes a partir do explante (Christianson & Warnick 1983, 1985), nas condições analisadas, o período de cultivo dos explantes in vitro pode ter levado à falha na determinação das células dos meristemóides que passaram a desenvolver protuberâncias.

A falha na formação dos meristemóides pode ser em decorrência da desdiferenciação incompleta das células epidérmicas que originam os meristemóides, da competição entre células desdiferenciadas ou, ainda, da inibição da indução das gemas por meristemóides formados em áreas adjacentes (Lo et al., 1997), lembrando que o processo é assíncrono.

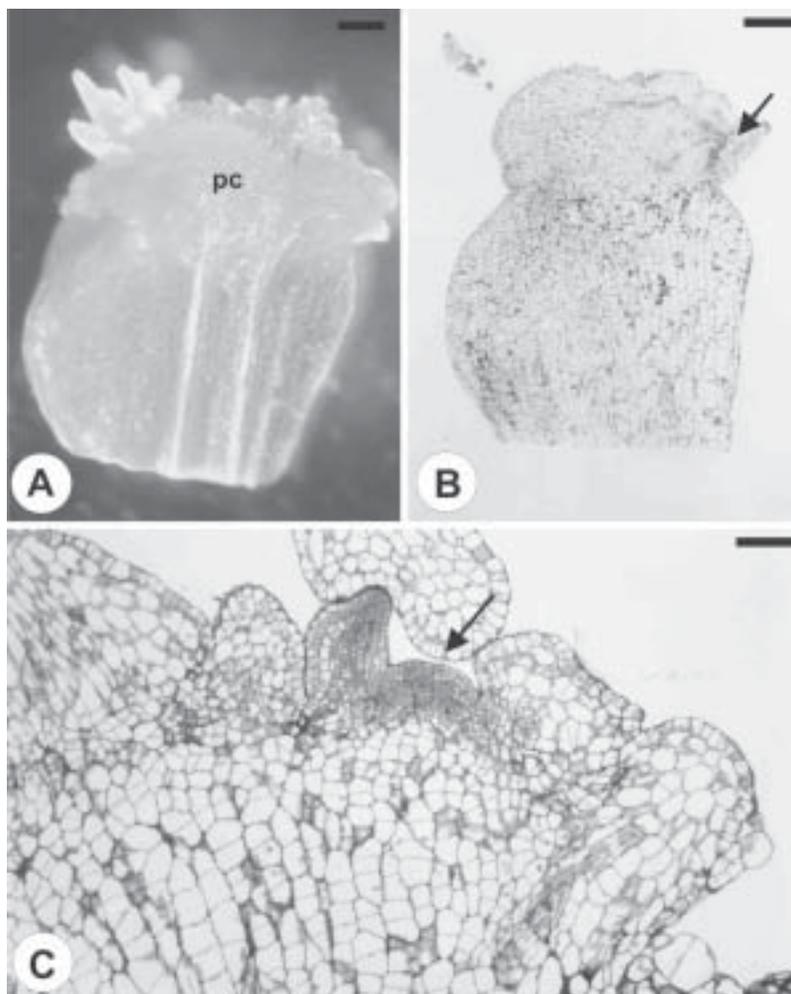
Para Dhaliwal et al. (2003), os meristemóides determinados para produzir gemas seguem seu caminho de desenvolvimento e aqueles ainda não determinados são inibidos ou reverterem a tecido parenquimático. Nas condições analisadas, a reversão a tecido parenquimático não é completa, pois apenas as células centrais da protuberância são parenquimáticas, enquanto as células periféricas dividem-se, formando novos meristemóides os quais dão origem às gemas.

As análises estruturais e ultra-estruturais, realizadas com *P. edulis* f. *flavicarpa*, indicam a necessidade de definir o tempo necessário de indução dos explantes, fato que pode ter contribuído para o desenvolvimento das protuberâncias. Experimentos envolvendo transferência recíproca de explantes entre meio de indução de gemas e meio basal poderiam ser conduzidos com objetivo de avaliar a competência e a determinação dos tecidos durante o processo organogênico in vitro.

As protuberâncias formadas diretamente do explante hipocotiledonar possuem contorno bem delimitado (Figuras 4B e 5D, 5F) e apresentam potencial para formar mais de uma gema adventícia na sua superfície.

Nos explantes hipocotiledonares, também ocorre a formação de um pequeno calo. Cerca de 18 dias após a inoculação, protuberâncias,

primórdios foliares e, esporadicamente, gemas (Figura 6B-C) formam-se a partir desse calo.



**Figura 6.** *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* genótipo FB-100. **A.** Proliferação celular (pc) na extremidade do explante. **B.** Corte longitudinal da amostra documentada em A. A seta indica o meristema apical caulinar formado na região proliferada, caracterizando a via organogênica indireta. **C.** Detalhe do meristema apical caulinar indicado pela seta em C. (Barras: A, B = 410  $\mu$ m; C = 74  $\mu$ m).

Os explantes foliares cultivados *in vitro* formam protuberâncias (Figuras 4C e 5A-B) similares àquelas descritas para o explante hipocotiledonar. Contudo, no decorrer da cultura, as protuberâncias aumentam em diâmetro, deixam de apresentar contorno bem delimitado (Figura 4C) e formam poucas gemas quando comparadas aos explantes hipocotiledonares. Ressalte-se que não há formação de calo a partir desses explantes.

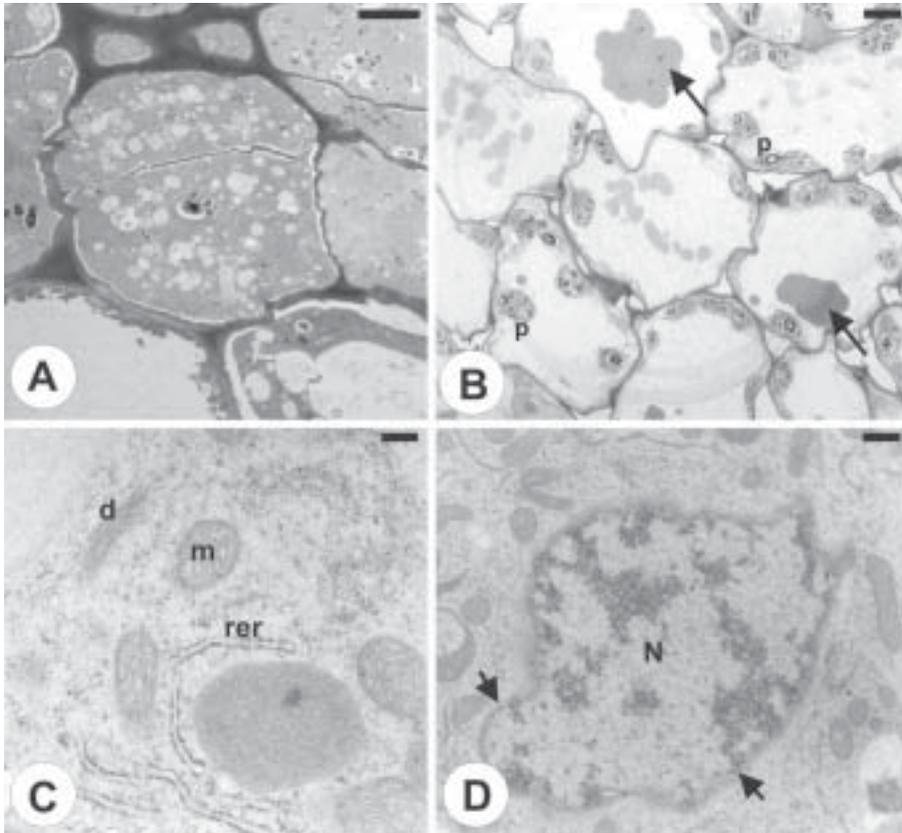
O fator relevante, documentado neste estudo, é a competência dos explantes foliares e hipocotiledonares de *P. edulis* f. *flavicarpa* para a formação de gemas a partir das camadas periféricas das protuberâncias. Processo similar ocorre em explantes foliares, entrenodais e nodais de *Eucalyptus gunnii* Hook. (Hervé et al., 2001).

As protuberâncias apresentam elementos traqueais entre as células centrais de ambos os explantes: hipocotiledonares e foliares. A maioria das análises mostrou que as células centrais se diferenciaram diretamente em elementos traqueais, ou seja, há transdiferenciação (Sugiyama & Komamine, 1990). Entretanto, algumas vezes, é possível verificar a formação de elementos traqueais a partir de divisões das células centrais. A adição de auxina e/ou citocinina ao meio de cultura é indispensável para a transdiferenciação de células parenquimáticas em elementos traqueais (Sugiyama & Komamine, 1990). De acordo com Fukuda & Komamine (1980), a presença de ANA e BA foi essencial para a transdiferenciação de elementos traqueais em cultura de células do mesofilo de *Zinnia elegans*. A formação de elementos traqueais com paredes espessas e lignificadas a partir das células centrais das protuberâncias pode estar associada à retenção de água e ao suporte mecânico, como verificaram Scatena & Nunes (1996) ao analisar a formação de espessamentos helicoidais de lignina nas paredes dos idioblastos do mesofilo de *Pleurothallis rupestris* Lindl.

Os estudos ao microscópio eletrônico de transmissão confirmam diferenças entre as células periféricas e as centrais encontradas nas protuberâncias (Figura 7A-B). Tanto na via organogênica direta como na indireta, as células centrais das protuberâncias apresentam baixa densidade

citoplasmática quando comparadas às células periféricas. As células centrais caracterizam-se pela presença de grande quantidade de plastídios contendo grãos de amido localizados próximos à parede celular e acúmulo de proteína no vacúolo (Figura 7B). As células periféricas recém-divididas das protuberâncias, originadas diretamente dos explantes foliares e hipocotiledonares, apresentam parede celular delgada e plasmodesmos, promovendo a interação entre as células-filhas via simplasto, citoplasma rico em organelas (Figura 7C). São abundantes principalmente mitocôndrias com matriz elétron-densa, o núcleo é esférico com cromatina bem dispersa, há a presença de plastídios com grãos de amido, dictiossomos ativos, retículo endoplasmático rugoso, muitos ribossomos e vacúolos. As células periféricas enquadram-se no padrão ultra-estrutural de células envolvidas com os eventos do processo regenerativo, ou seja, com características indicativas de alta atividade metabólica no citoplasma (Fournier et al., 1991, Appezzato-Da-Glória & Machado, 2004).

As células periféricas da protuberância na via indireta de regeneração são similares às encontradas na via direta quanto à presença de proteína no vacúolo e de organelas. A diferença marcante entre as células nas duas vias de regeneração é encontrada no núcleo. Enquanto na organogênese direta o núcleo apresenta formato circular, na via indireta de regeneração, o núcleo apresenta complexo de poros no envoltório (Figura 7D) e profundas invaginações. Em algumas células, observa-se fragmentação nuclear. O processo amitótico também foi verificado na organogênese indireta em *Bauhinia forficata* por Appezzato-da-Glória & Machado (2004). A presença de constrictões no envoltório nuclear e a modificação de seu formato esférico para irregular em protoplastos de *Solanum lycopersicoides* têm como consequência a divisão amitótica (Tylicki et al., 2002). Similarmente, Wang et al. (1998), investigando mudanças na ultra-estrutura do núcleo durante o desenvolvimento de calo de *Allium sativum* 'Red Six Cloves', verificaram a formação de invaginações, denominadas por esses autores como profundas fissuras, ao longo do envoltório nuclear e, posteriormente, constrictão desse envoltório.



**Figura 7.** *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* genótipo FB-100. **A.** Células periféricas das protuberâncias mostrando alta densidade citoplasmática. **B.** Células centrais das protuberâncias com plastídios (p) e acúmulo de proteína (setas) no vacúolo. **C.** Dictiossomos (d), mitocôndrias (m) e retículo endoplasmático rugoso (RER). **D.** Núcleo (N) de formato irregular observado nas células periféricas de protuberâncias formadas indiretamente no explante hipocotiledonar. As setas indicam a presença de poros nucleares. (Barras: A,B = 4,08  $\mu\text{m}$ ; C = 0,23  $\mu\text{m}$ ; D= 0,58  $\mu\text{m}$ ).

De acordo com Bayliss (1980), a fragmentação do núcleo pode contribuir para a variação cromossômica da cultura resultante. Appezzato-da-Glória & Machado (2004) sugerem que, se a variação cromossômica gerada por processos amitóticos puder gerar variabilidade de natureza genética, a via organogênica direta seria mais indicada para obtenção de plantas transgênicas. Entretanto, Nuti Ronchi et al. (1973) ressaltam que,

sob condições apropriadas de cultura, o estado diplóide e uninucleado das células que passam por processo de fragmentação nuclear pode ser restaurado. Também, Tylicki et al. (2002) observam que, em condições apropriadas de cultura, há um processo de seleção em que protoplastos anucleados e polinucleados (resultantes de processos amitóticos) são eliminados, permitindo a estabilização da cultura e, conseqüentemente, a regeneração de plantas geneticamente estáveis.

Importante ressaltar que a origem das gemas está sempre associada às áreas meristemáticas observadas na periferia das protuberâncias, independente da via de regeneração ser direta ou indireta. Essas regiões meristemáticas são constituídas de células competentes para a transformação genética, ou seja, apresentam características tais como células pequenas, isodiamétricas com paredes delgadas, citoplasma denso e núcleo proeminente (Sangwan et al., 1992), pois o que se pretende nessa técnica é que o DNA exógeno sofra transfecção para as células em divisão.

Numa análise comparativa entre os explantes foliares e hipocotiledonares, observa-se que, no trigésimo dia de cultura, o explante foliar forma mais protuberâncias que o hipocotiledonar, enquanto o número de gemas observado nos discos foliares foi menor. A maior freqüência de gemas verificada no hipocótilo deve-se ao fato de que uma protuberância pode originar mais de uma gema. Apesar de as protuberâncias formadas nos discos foliares apresentarem, também, mais de uma estrutura na sua superfície, essas formações geralmente são folhas. Além disso, o desenvolvimento da maioria das protuberâncias dos explantes foliares difere daquelas observadas no hipocótilo: enquanto no explante hipocotiledonar as protuberâncias apresentam-se individualizadas e com a camada epidérmica e as subepidérmicas definidas, nos explantes foliares, a maioria das protuberâncias apresenta desenvolvimento contínuo em tamanho sem ocorrer a formação de gemas. Possivelmente, a perda de definição da camada epidérmica e das subepidérmicas das protuberâncias dos explantes foliares (Figuras 4C e 5B) interfere no processo de regeneração de gemas uma vez que os novos meristemóides são formados a partir das células periféricas. Outro caráter

morfológico diferencial entre esses explantes é o fato de as gemas originadas nos discos foliares apresentarem características de hiperhidricidade, ou seja, coloração verde-escura e aspecto quebradiço e brilhante. A inferioridade dos explantes foliares já havia sido observada por Hall et al. (2000). Importante ressaltar que a idade e a condição fisiológica das plantas doadoras afetam a morfogênese in vitro em explantes foliares de *P. edulis* f. *flavicarpa* (Becerra et al., 2004).

A superioridade do explante hipocotiledonar em relação ao foliar pode explicar as diferenças nas respostas da população FB-100 que vem sendo usada no Laboratório de Biologia Celular e Molecular de Plantas do Departamento de Genética da ESALQ/USP em ensaios de transformação genética. Dados desses estudos indicam a obtenção de 0,13% de plantas transgênicas a partir de explantes foliares submetidos ao processo de biobalística (8 plantas em 6000 discos bombardeados por micropartículas recobertas com DNA) (Castro, 2005). Por sua vez, os explantes hipocotiledonares transformados via *Agrobacterium tumefaciens* apresentaram 11% de eficiência de transformação, enquanto os discos foliares submetidos a esse mesmo processo produziram 6% de brotos transgênicos (Monteiro, 2005). Essas diferenças se devem ao método usado e também ao explante que recebeu o DNA exógeno.

A despeito da diferença do método de transformação utilizado, o potencial de regeneração dos explantes certamente interfere na porcentagem de plantas transgênicas obtidas, ratificando a necessidade dos estudos histológicos e ultra-estruturais em auxílio aos grupos de pesquisadores que estudam a transformação genética de plantas.

Protocolos para organogênese in vitro de espécies de *Passiflora* podem ou não ser suplementados com água de coco. Kantharajah & Dodd (1990), Dornelas & Vieira (1994) e Hall et al. (2000) relatam que suplementar o meio MS com água de coco auxilia na obtenção de gemas in vitro de espécies de *Passiflora*. Todavia, para outros autores (Manders et al., 1994; Appezzato-Da-Glória et al., 1999; Biasi et al., 2000; Monteiro et al., 2000), esse mesmo meio suplementado somente com fitorreguladores sem adição de

água de coco é suficiente para induzir a resposta *in vitro*. Considerando o fato de o uso dessa solução orgânica algumas vezes gerar controvérsias entre os autores, devido à presença de inúmeros compostos que podem exercer influência sobre a resposta morfogênica *in vitro*, foi realizada uma análise morfológica comparativa utilizando explantes hipocotiledonares. Os resultados confirmam que os segmentos de hipocótilo de *P. edulis* f. *flavicarpa*, inoculados em meio MS, contendo 5% de água de coco, apresentam maior número de gemas e protuberâncias. Contudo, independentemente da adição de água de coco, a organogênese *in vitro*, sob o ponto de vista estrutural, é similar, ou seja, há formação de protuberâncias e gemas em ambas as condições de cultivo. Portanto, a adição da água de coco ao meio de cultura torna-se uma vantagem para protocolos que visam à transformação genética, uma vez que o número de gemas formado é significativamente superior e morfológicamente similar em ambos os tratamentos.

Informações detalhadas sobre os dados apresentados neste capítulo podem ser obtidas em Fernando (2005).

## Conclusões

O maracujá-amarelo tem alta determinação para diferenciar estruturas foliares nos cultivos *in vitro*. Portanto, na avaliação do número de brotos regenerados, é necessário reconhecer a diferença morfológica entre gemas caulinares e estruturas foliares isoladas. Nestas, a base insere-se diretamente no explante, enquanto nas gemas, os primórdios foliares saem de um eixo comum.

Como a resposta nos cultivos *in vitro* varia de acordo com o genótipo, os autores, ao estabelecerem protocolos de regeneração para o maracujá-amarelo, devem levar em conta e indicar o genótipo estudado.

Explantes foliares e hipocotiledonares do maracujá-amarelo, população FB-100 inoculados em meio MS suplementado com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BA e 5% de água de coco (ou na ausência de água de coco) formam meristemóides que

podem originar estruturas foliares, gemas (excepcionalmente) e protuberâncias (mais freqüentemente).

Tanto as protuberâncias originadas de forma direta quanto as de forma indireta apresentam camadas superficiais meristemáticas que, posteriormente, originam gemas.

Nos explantes foliares, somente a via organogênica direta ocorre, sendo que a falta de definição da camada epidérmica e das camadas subepidérmicas das protuberâncias formadas interfere na regeneração de gemas.

Apenas nas células periféricas das protuberâncias formadas no calo dos explantes hipocotiledonares, há ocorrência de fragmentação nuclear.

A superioridade do explante hipocotiledonar em relação ao foliar pode explicar as diferenças na eficiência de transformação da população FB-100 observadas em estudos prévios. Essas diferenças se devem ao método usado e também ao explante que recebeu o DNA exógeno. A despeito da diferença do método de transformação, o potencial de regeneração dos explantes certamente interfere na porcentagem de plantas transgênicas obtidas, ratificando a necessidade dos estudos histológicos e ultra-estruturais em auxílio aos grupos que estudam a transformação genética de plantas.

## **Agradecimentos**

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo auxílio financeiro para a realização deste estudo. À CAPES pela concessão da bolsa de Doutorado à Juliana Aparecida Fernando e ao CNPq pela bolsa de Produtividade em Pesquisa às demais autoras. Ao Prof. Elliot W. Kitajima, responsável pelo laboratório de Microscopia Eletrônica da ESALQ/USP, e ao Centro de Microscopia do Instituto de Biociências da UNESP/Botucatu pelas facilidades nas análises ultra-estruturais. A Sra. Marli K. M. Soares e ao Sr. Carlos Alberto de Oliveira pelo apoio técnico.

## Referências Bibliográficas

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; MACHADO, S. R. Ultrastructural analysis of *in vitro* direct and indirect organogenesis. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, n. 3, p. 429-437, jul/set. 2004.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; VIEIRA, M. L. C.; DORNELAS, M. C. Anatomical studies of *in vitro* organogenesis induced in leaf-derived explants of passionfruit. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 11, p. 2007-2013, nov. 1999.

BAYLISS, M. W. Chromosomal variation in plant tissues in culture. **International Review of Cytology**, p. 113-144, 1980. Supplement 11A.

BECERRA, D. C.; FORERO, A. P.; GÓNGORA, G. A. Age and physiological condition of donor plants affect *in vitro* morphogenesis in leaf explants of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 79, n. 1, p. 87-90, Oct. 2004.

BIASI, L. A.; FALCO, M. C.; RODRIGUES, A. P. M.; MENDES, B. M. J. Organogenesis from internodal segments of yellow passion fruit. **Scientia Agrícola**, v. 57, n. 4, p. 661-665, out/dez. 2000.

CASTRO, A. P. Resistência à bacteriose causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* em maracujá-amarelo via expressão da proteína heteróloga atacina A. 2005. 151 f. Tese (Doutorado em Agronomia)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2005.

CHRISTIANSON, M. L.; WARNICK, D. A. Competence and determination in the process of *in vitro* shoot organogenesis. **Developmental Biology**, v. 95, n. 2, p. 288-293, 1983.

CHRISTIANSON, M. L.; WARNICK, D. A. Temporal requirement for phytohormone balance in the control of organogenesis *in vitro*. **Developmental Biology**, v. 112, n. 2, p. 494-497, 1985.

DHALIWAL, H. S.; RAMESAR-FORTNER, N. S.; YEUNG, E. C.; THORPE, T. A. Competence, determination, and meristemoid plasticity in tobacco organogenesis *in vitro*. **Canadian Journal of Botany**, v. 81, n. 6, p. 611-621, Jun. 2003.

DORNELAS, M. C.; VIEIRA, M. L. C. Tissue culture studies on species of *Passiflora*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 36, n. 2, p. 211-217, Feb. 1994.

FERNANDO, J. A. Estudos anatômicos e ultra-estruturais da organogênese *in vitro* de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. 2005. 98 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal)- Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

FOURNIER, D.; BONNELLE, C.; TOURTE, Y. Ultrastructural features of soybean somatic cells at the beginning of an organogenic process: toward a new concept. **Biology of the Cell**, v. 73, n. 1, p. 99-105, Jan. 1991.

FUKUDA, H.; KOMAMINE, A. Direct evidence for cytodifferentiation to tracheary elements without intervening mitosis in a culture of single cells isolated from the mesophyll of *Zinnia elegans*. **Plant Physiology**, v. 65, n. 1, p. 61-64, Jan. 1980.

HALL, R. M.; DREW, R. A.; HIGGINS, C. M.; DIETZGEN, R. G. Efficient organogenesis of an Australian passionfruit hybrid (*Passiflora edulis* x *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) suitable for gene delivery. **Australian Journal of Botany**, v. 48, n. 5, p. 673-680, 2000.

HERVÉ, P.; JAUNEAU, A.; PÂQUES, M.; MARIEN, J.-N.; BOUDET, A. M.; TEULIÈRES, C. A procedure for shoot organogenesis *in vitro* from leaves and nodes of an elite *Eucalyptus gunnii* clone: comparative histology. **Plant Science**, v. 161, n. 4, p. 645-653, Sep. 2001.

KANTHARAJAH, A. S.; DODD, W. A. *In vitro* micropropagation of *Passiflora edulis* (purple passionfruit). **Annals of Botany**, v. 65, n. 3, p. 337-339, Mar. 1990.

LO, K. H.; GILES, K. L.; SAWHNEY, V. K. Histological changes associated with acquisition of competence for shoot regeneration in leaf discs of *Saintpaulia ionantha* x *confusa* hybrid (African violet) cultured *in vitro*. **Plant Cell Reports**, v. 16, n. 6, p. 421-425, Mar. 1997.

LOMBARDI, S. P.; PASSOS, I. R. S.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Estudo anatômico e fisiológico da organogênese *in vitro* em *Passiflora cincinnata* Mast. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 9., 2003, Atibaia. **Resumos...** Campinas: Vieira Gráfica e Editora, 2003. v. 15, p. 130.

MACHADO, S. R.; SAJO, M. G. Intercellular pectic protuberances in leaves of some *Xyris* species (Xyridaceae). **Canadian Journal of Botany**, v. 74, n. 9, p. 1539-1541, Sep. 1996.

MANDERS, G.; OTONI, W. C.; D'UTRA VAZ, F. B.; BLACKHALL, N. W.; POWER, J. B.; DAVEY, M. R. Transformation of passionfruit (*Passiflora edulis* f.v. *flavicarpa* Degener.) using *Agrobacterium tumefaciens*. **Plant Cell Reports**, v. 13, n. 12, p. 697-702, Sep. 1994.

MONTEIRO, A. C. B. A.; NAKAZAWA, G. T.; MENDES, B. M. J.; RODRIGUES, A. P. M. Regeneração *in vitro* de *Passiflora suberosa* a partir de discos foliares. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 3, p. 571-573, jul/set. 2000.

MONTEIRO, M. **Transformação genética de maracujá-amarelo visando resistência à *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae***. 2005. 134 f. Tese (Doutorado em Agronomia)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2005.

MORRIS, E. R.; POWEL, D. A.; GIDLEY, M. J.; REES, D. A. Conformations and interactions of pectins. I. Polymorphism between gel and solid states of calcium polygalacturonate. **Journal of Molecular Biology**, v. 155, n. 4, p. 507-516, 1982.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

NUTI RONCHI, V.; BENNICI, A.; MARTINI, G. Nuclear fragmentation in dedifferentiating cells of *Nicotiana glauca* pith tissue grown *in vitro*. **Cell Differentiation**, v. 2, p. 77-85, 1973.

OVECKA, M.; BOBÁK, M. Structural diversity of *Papaver somniferum* L. cell surfaces *in vitro* depending on particular steps of plant regeneration and morphogenetic program. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 21, n. 2, p. 117-126, 1999.

SANGWAN, R.S.; BOURGEOIS, Y; BROWN, S; YASSEUR, G; SANGWAN-NORREEL, B. Characterization of competent cells and early events of *Agrobacterium*-mediated genetic transformation in *Arabidopsis thaliana*. **Planta**, v. 188, n. 3, p. 439-456, Oct. 1992.

SCATENA, V. L.; NUNES, A. C. Anatomia de *Pleurothallis rupestris* Lindl. (Orchidaceae) dos campos rupestres do Brasil. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v. 15, p. 35-43, 1996.

SUGIYAMA, M.; KOMAMINE, A. Transdifferentiation of quiescent parenchymatous cells into tracheary elements. **Cell Differentiation and Development**, v. 31, n. 2, p. 77-87, Aug. 1990.

TYLICKI, A., BURZA, W.; MALEPSZY, S.; KULAWIEC, M.; KURAS´, M. Structural and ultrastructural analysis of *Solanum lycopersicoides* protoplasts during diploid plant regeneration. **Annals of Botany**, v. 90, n. 2, p. 269-278, Aug. 2002.

WANG, H.-L.; KANG, Y.; MA, Y.; WANG, T.; ZHANG, C. Changes in nuclear ultrastructure during callus development in tissue culture of *Allium sativum*. **Biologia Plantarum**, v. 41, n. 1, p. 49-55, 1998.





De cuia nas mãos do voraz curumim,  
A néctar pitoresco no distante Japão.  
Embelezei florestas com o azul e o carmim,  
Sou a marca registrada do Brasil sertão.

Há até quem diga que eu sou sagrado  
Patrimônio perpétuo do povo cristão  
E tenho o próprio nome assim modificado  
Sem ser maracujá, viro a flor-da-paixão.

*Geovane Alves de Andrade*

# Métodos biotecnológicos aplicados ao melhoramento genético do maracujá

---

Maria Lucia Carneiro Vieira

Eder Jorge de Oliveira

Frederico de Pina Matta

Juliano Gomes Pádua

Mariza Monteiro

## Introdução

A Biotecnologia, no sentido mais amplo do conceito, tem sido aplicada para melhorar espécies de plantas desde os primórdios da atividade agrícola há 10.000 anos. Esta melhoria não se restringe à produção, qualidade e rusticidade das lavouras (em termos de resistência às pestes), mas se estende ao desenvolvimento de processos, sobretudo, de fermentação, tais como aqueles envolvidos na panificação e na produção de bebidas alcoólicas. A moderna Biotecnologia, desenvolvida no final do século XX, incorpora várias técnicas moleculares e se apresenta como tecnologia revolucionária, ganhando créditos na comunidade científica, no setor produtivo e na mídia.

Neste capítulo, pretende-se listar e discutir as abordagens da nova biotecnologia que vêm sendo usadas ou guardam potencial para assistir o melhoramento genético de espécies frutíferas, em especial, à cultura do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e do maracujá-doce (*Passiflora alata*).

Os objetivos do melhoramento genético das espécies de *Passiflora* são, nomeadamente, (i) maior produtividade e melhor qualidade dos frutos, (ii) resistência a doenças fúngicas que afetam a copa ou o porta-enxerto, quando usado, (iii) resistência à *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* e ao *Passion fruit woodiness virus* (PWV). A caracterização da diversidade genética presente entre e dentro das espécies cultivadas e silvestres de *Passiflora* é essencial

para se atingir tais objetivos e pode-se adiantar que todos esses aspectos podem ser beneficiados pela incorporação de tecnologias moleculares. Para facilitar o entendimento, este capítulo será apresentado em subtítulos.

## Micropropagação

Estudos sobre cultivo *in vitro* têm sido relatados por vários autores e foram revisados por Vieira & Carneiro (2004). A micropropagação, a partir de meristemas preexistentes - brotos axilares ou segmentos nodais - tem sido aplicada para propagação clonal (Drew, 1997), limpeza viral (Huang et al., 1997) e como fonte de células e tecidos (Tabela 1). No que tange à conservação de germoplasma, os protocolos foram estabelecidos (Dornelas & Vieira, 1994, Figura 1), mas a tecnologia não tem sido utilizada em bancos oficiais, embora promissora para compor coleções de acessos silvestres.

Os tecidos de *Passiflora* são bastante responsivos à ação da citocinina BA (*6-benzylaminopurine*) que induz a formação de meristemóides e gemas por organogênese direta ou indireta (Apezzato-da-Gloria et al., 2005) em concentrações  $< 10 \mu\text{M}$ . A formação de raízes nos brotos individualizados é induzida mediante tratamento com auxinas, como o NAA (*1-Naphthaleneacetic acid*) (Tabela 1) e, também, na ausência de fitorreguladores em meio com baixa concentração de sais e compostos orgânicos.

Na Austrália, outras práticas de micropropagação são adotadas: a cultivar E23, um híbrido entre *P. edulis* e *P. edulis f. flavicarpa*, é propagada por microestaquia. Brotos apicais de plantas adultas são enxertados em secções de caule e mantidos, no escuro, em MS basal (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com  $150 \mu\text{M}$  2iP (N6-[2-Isopentenyl]adenine),  $200 \mu\text{M}$  de sulfato de adenina e  $17,1 \mu\text{M}$  IAA (*Indole-3-acetic acid*), desenvolvendo-se em plântulas em MS +  $4,9 \mu\text{M}$  2iP e  $5,7 \mu\text{M}$  IAA. Ápices juvenis de E23 e as espécies *P. edulis f. flavicarpa*, *P. edulis*, *P. alata*, *P. caerulea*, *P. mollissima*, *P. coccinea*, *P. herbertiana* e *P. suberosa* crescem rapidamente em MS +  $10 \mu\text{M}$  de cinetina (*6-Furfurylaminopurine*) +  $5 \mu\text{M}$  IAA. Rápida multiplicação foi igualmente obtida em MS suplementado com  $20 \mu\text{M}$  BA,  $10 \mu\text{M}$  cinetina e  $5 \mu\text{M}$  IAA enquanto o enraizamento se deu em MS +  $5 \mu\text{M}$  IAA (Drew, 1991).

Dornelas & Vieira (1994) relataram a proliferação de brotos a partir de ápices caulinares (5 cm) desinfetados em solução de NaOCl (1% a 2%) de *P. edulis f. flavicarpa*, *P. mollissima*, *P. giberti*, *P. maliformis* e de *P. amethystina* em ½ MS livre de fitorreguladores. *Passiflora mollissima*, que é nativa da região andina, mostrou-se bem adaptada *in vitro*, com o maior número de folhas expandidas. A formação de raízes se deu nas mesmas condições ( $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , 16 h sob  $23 \mu\text{m m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de radiação luminosa), aos 28 dias, quando se procedeu a transferência para a casa de vegetação. Essa prática pode ser usada para a conservação de coleções de germoplasma, procedendo-se subcultivos a cada 45 dias ou sob temperatura mais baixa ( $16^\circ\text{C}$ ) e dois subcultivos anuais. A formação de múltiplos brotos também foi relatada para *P. edulis f. flavicarpa* a partir de ápices excisados de plântulas axênicas e cultivados em MS + BA (Faria & Segura, 1997a). Os benefícios dessa citocinina também foram utilizados para estabelecer culturas de ápices de *Passiflora nitida*, uma espécie típica da Amazônia cujas sementes têm taxas de germinação muito baixas (Passos, 1999).

A microenxertia é uma prática que tem sido usada para a eliminação de viroses de cultivares asiáticas de maracujás (Huang et al., 1997). Em certas regiões do Brasil, entretanto, onde a incidência de PWV é generalizada, a limpeza clonal terá efeito passageiro.



**Figura 1.** Exemplos de passifloras silvestres conservados em ½ MS, na ausência de fitorreguladores.

**Tabela 1.** Estudos sobre cultura *in vitro* de *Passiflora*, divulgados em periódicos científicos de 1990 a 2004, de acordo com a espécie, fonte de explante, tipo e concentração (em  $\mu\text{M}$ ) do fitorregulador usado para induzir a regeneração em meio MS (Murashige e Skoog, 1962)\*.

Espécie	Fonte de explante	Tipo e concentração de fitorregulador	Referência
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Disco foliar	0,0; 2,2; 4,4; 6,6 BA ou 0,0; 1,1; 2,2; 3,4 Thidiazuron	Trevisan e Mendes (2005)
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Disco foliar	4,44 BA + 2,32 cinetina	Becerra et al., (2004)
<i>P. edulis</i> var. <i>edulis</i>	Ápices	22,2 BA	Isutsa (2004)
<i>P. edulis</i> var. <i>flavicarpa</i>	caulinares	22,2 BA + 11,6 GA3	
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Ápices caulinares	Inibidores (STS e AVG) da ação do etileno	Reis et al. (2003)
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Entrenó	4,4-17,7 BA	Biasi et al. (2000)
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Disco foliar	0,0-5,3 BA	Otahola (2000)
<i>P. edulis</i> x <i>P. edulis flavicarpa</i>	Cotilédone	10,0 BA + 10% água de coco; transferência para 10,0 NAA	Hall et al., (2000)
<i>P. suberosa</i>	Disco foliar	0,0; 2,2 ou 4,4 BA	Monteiro et al. (2000a)
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Segmento nodal	MS ou MSM + 13,3 BA	Monteiro et al. (2000b)
<i>P. caerulea</i>	Folha	10,0 BA + 0,1 IAA	Jasrai e Mudgil (1999)
<i>P. mollissima</i>	Segmento nodal	Várias concentrações e combinações de BA e cinetina	Cancino et al. (1998)
<i>P. edulis flavicarpa</i>			
<i>P. giberti</i>			
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Hipocótilo	5,0 BA + 2 IAA	Faria e Segura (1997a)
	Folha		
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Ápices caulinares	2,0 a 20,0 BA + 2,0 IAA	Faria e Segura (1997b)
<i>P. foetida</i>	Endosperma triplóide	8,8 BA	Mohamed et al. (1996)
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Primórdios de brotos	1,0 BA + 1 IBA; transferência para 10,0 BA	Kawata et al., (1995)
<i>P. edulis flavicarpa</i>	Cotilédone	8,88 BA + 10% água de coco	Dornelas e Vieira (1994)
<i>P. mollissima</i>	Hipocótilo		
<i>P. giberti</i>	Folha		
<i>P. maliformis</i>			
<i>P. amethystina</i>			
<i>P. edulis</i> x <i>P. edulis flavicarpa</i>	Ápices adultos e juvenis	10,0 cinetina + 5,0 IAA	Drew (1991)
<i>P. edulis</i>	Segmento nodal	8,8 BA	Kantharajah e Dodd (1990)

\*Fonte: Vieira & Carneiro (2004), modificada.

## Geração de variabilidade genética

### Via hibridação sexual

As estratégias aplicadas para expandir a variabilidade genética a partir da exploração do germoplasma silvestre são: a hibridação sexual (interespecífica), a hibridação somática e a engenharia genética, por meio da tecnologia do DNA recombinante e dos métodos de transformação de plantas.

A hibridação interespecífica tem sido extensivamente utilizada, mas seu sucesso depende do relacionamento filogenético entre as espécies envolvidas no cruzamento. Essa afinidade vai determinar a fertilidade dos híbridos  $F_1$  e, conseqüentemente, seu potencial para utilização em programas de melhoramento. Sucessivas gerações de retrocruzamento com o genitor cultivado são conduzidas com a finalidade de introduzir o(s) gene(s) do genitor silvestre e recuperar o desempenho da espécie comercial. Entretanto, esse método é limitado a certas espécies por barreiras de incompatibilidade: os cruzamentos são incompatíveis ou ocorre a formação do zigoto, porém ele é abortivo. Uma alternativa usada para contornar esse problema implica na excisão do embrião imaturo e o seu posterior desenvolvimento *in vitro*. Esse resgate tem facilitado, por exemplo, a incorporação de genes exóticos na cultura da batata e do tomate.

A síntese de híbridos  $F_1$  entre *Passiflora edulis flavicarpa* e espécies silvestres é uma estratégia importante e deve ser adotada para promover a introgressão de genes. No entanto, representa apenas o primeiro passo, pois o pareamento entre cromossomos homeólogos é essencial para a fertilidade do  $F_1$  e, não menos importante para propiciar a recombinação gênica via *crossing over*. Há relatos em trigo, por exemplo, cujo pareamento entre homeólogos pode ser suprimido pela ação de genes específicos (Jauhar & Chibbar, 1999). Também, as sucessivas gerações de cruzamento com o genitor recorrente devem ser acompanhadas por estudos meióticos e moleculares. Estes, por sua vez, prestam-se para identificar alelos específicos

de cada genitor e, por conseguinte, o número de gerações para a recuperação do genoma recorrente poderá ser abreviado. Cabe lembrar que o número de plantas a ser analisado a cada geração deve ser grande o suficiente para contemplar todas as combinações alélicas favoráveis, possibilitando ao melhorista, a oportunidade de escolha.

## Via hibridação somática

As duas outras estratégias anteriormente mencionadas (transgenia e fusão celular) incluem procedimentos biotecnológicos. Os avanços na pesquisa sobre cultura de tecidos vegetais, especialmente sobre a regeneração de brotos a partir de protoplastos (células isoladas, desprovidas de parede celular), possibilitaram a geração de híbridos por fusão somática (Figura 2), inclusive, de *Passiflora* (Dornelas et al., 1995; Otoni et al., 1995; Vieira & Dornelas, 1996).

Contudo, esse é um procedimento laborioso, e os ganhos em termos de introgressão se restringem a poucos exemplos, como ocorre em *Solanum*. O desenvolvimento da fusão assimétrica de protoplastos (o núcleo da espécie silvestre é fragmentado antes da fusão) representa certo avanço no uso da tecnologia de fusão para fins de introgressão.

A hibridação somática oferece também a oportunidade de se combinar dois citoplasmas, o que não ocorre na hibridação sexual, pois o citoplasma materno é preferencialmente herdado. Associada a essa vantagem, cabe advertir que os produtos de fusão são poliplóides artificiais e por isso, em geral, apresentam bom crescimento vegetativo se prestando como porta-enxertos. No caso de *Passiflora*, esta seria, atualmente, a única justificativa para a produção desses híbridos, visando ao convívio dos pomares enxertados com doenças de solo.

A avaliação da compatibilidade dos híbridos de fusão de protoplastos com o acesso comercial usado como copa, bem como a sua produção, vai delinear seu real potencial de aproveitamento como porta-enxertos. Também, por razões de natureza citológica, os híbridos somáticos tendem a produzir

pólen, mas não frutos, mesmo quando submetidos a cruzamentos artificiais, o que impossibilita sua multiplicação via semente. Como a pesquisa para sua produção não é de custo alto, os híbridos somáticos de *Passiflora* poderão ser usados desde que sejam de fácil propagação, via estaquia, compatíveis com o enxerto, além de se mostrarem resistentes a doenças de solo.



**Figura 2.** Enxertia de *P. edulis flavicarpa* acesso FB-100 no híbrido somático *Passiflora edulis flavicarpa* + *Passiflora cincinnata*.

A instabilidade cromossômica que é peculiar aos poliplóides artificiais, inclusive, aos híbridos somáticos de *Passiflora* (Barbosa & Vieira, 1997; Cuco et al., 2005) restringe a sua utilização prática. Some-se a isto o vasto campo de estudos que se abriu pelo desenvolvimento das técnicas de transformação. Em que pese a restrição ao uso da agricultura transgênica em *Passiflora* devido (i) a alogamia das espécies cultivadas, (ii) ao Brasil ser o centro de diversidade genética do gênero e (iii) a outras considerações relativas à biossegurança, mormente por se tratar de uma fruteira, a pesquisa na área deve fornecer soluções para a cultura do maracujá, principalmente, no que tange à resistência a vírus. Caberá à comunidade interessada decidir sobre a sua liberação ou não.

## Via transformação de plantas

Desde que a primeira planta transgênica foi liberada, em 1996, para consumo humano – o tomate *Flavr Savr*, modificado para reduzir seus níveis de poligalacturonase e, por isso, resistir mais ao “tempo nas prateleiras” – registra-se massiva expansão de culturas transgênicas no campo (Dunwell, 2000, James, 2004).

A agricultura transgênica teve como alvo imediato o produtor agrícola. Os caracteres mais freqüentemente incorporados têm sido aqueles que reduzem o custo da produção de uma cultivar, como a resistência a herbicidas e a pragas. O exemplo mais divulgado (e comercializado em vários países) é a soja transgênica que expressa o gene de resistência ao glifosato, princípio ativo do herbicida *Roundup*, produzida pela empresa Monsanto (Quecini & Vieira, 2001).

Quanto à resistência a pragas, os transgenes foram isolados de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) e codificam endotoxinas (Frutos et al., 1999). Existem variedades comerciais resistentes a insetos, produzidas pela inserção de genes *Bt* no seu genoma, entre elas, o tomate (Fischhoff et al., 1987), algodão (Perlak et al., 1990), tabaco (Willians et al., 1993), milho (Koziel et al., 1993) e canola (Stewart et al., 1996). Genes codificadores de peptídeos que atuam como inibidores de proteinases (IPs) também têm sido usados para induzir resistência a lagartas em plantas transgênicas (Silva-Filho & Falco, 2001).

A área global cultivada com plantas transgênicas em 2005 foi de 81,0 milhões de hectares, sendo os principais países produtores: os Estados Unidos, com 47,6 milhões de hectares; a Argentina, com 16,2 e o Canadá, com 5,4; o Brasil, com 5,0; a China, com 3,7; o Paraguai, com 1,2 milhão de hectare, além da Índia e da África do Sul, cada um com 0,5 milhão de hectare de transgênicos (<http://www.isaaa.org>).

Há vários estudos sobre transformação genética em espécies frutíferas, por exemplo, *Malus pumila* (James et al., 1989; Lambert & Tepfer, 1992); *Vitis vinifera* e *V. rupestris* (Mullins et al., 1990); *Actinidia deliciosa* (Rugini et al., 1991); *Prunus persica* (Smigocki & Hammerschlag, 1991), *P. domestica* (Mante et al., 1991) e *P. armeniaca* (Machado et al., 1992); *Citrus auratifolia* (Moore et

al., 1992; Pérez-Molphe-Balch & Ochoa-Alejo, 1998), *C. sinensis* (Peña et al., 1995a, 1995b) e *C. sinensis* cv. Halmlin (Boscariol, 2004); *Poncirus trifoliata* (Kaneyoshi et al., 1994); *Diospyrus kaki* (Nakamura et al., 1998); *Persea americana* (Cruz-Hernández et al., 1998) e *Passiflora edulis* (Manders et al., 1994; Silva, 1998; Hall et al., 2000; Takahashi, 2002; Alfenas et al., 2005; Castro, 2005; Monteiro, 2005; Trevisan, 2005).

No caso específico de maracujás e de várias outras fruteiras, a transgenia se aplica, mormente, para a produção de plantas resistentes a patógenos. Para resistência a vírus, são utilizados genes que expressam proteínas virais, sendo os mais usados os genes da capa protéica. A presença dessas proteínas na célula hospedeira interrompe a transcrição, replicação ou mesmo a disseminação do vírus (Silva-Filho & Falco, 2001). Em *Passiflora*, o primeiro trabalho de transformação visando à resistência a vírus foi o de Braz (1999) que introduziu, via *Agrobacterium tumefaciens*, uma seqüência que inibe a tradução do RNA do vírus responsável pela doença que causa o endurecimento dos frutos. O autor isolou um fragmento do genoma do vírus contendo a região 3' do gene da replicase e a região 5' da proteína capsidial e inseriu no vetor de clonagem. Apesar de não ter observado amplificação do gene de interesse nas plantas regeneradas, os genes *uidA* e o *npII* foram detectados por reação em cadeia da polimerase (PCR). Recentemente, o mesmo grupo publicou a obtenção de uma planta resistente ao vírus, aqui reconhecido como *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (Alfenas et al., 2005).

Com esse mesmo objetivo, Trevisan (2005) introduziu o gene completo da proteína capsidial, também via *A. tumefaciens*, em maracujá-amarelo. Neste trabalho, o autor transformou discos foliares excisados de plântulas das cultivares IAC-275 e IAC-277, as quais regeneraram 119 e 109 plantas respectivamente. A integração do transgene foi confirmada em 7 das 8 plantas analisadas pela técnica de *Southern blot*, com diferentes números de cópias do transgene. Dessas, três plantas expressaram o RNA viral e uma delas foi imune ao PWV depois de sucessivas inoculações.

Outras abordagens que podem ser usadas para a obtenção de plantas tolerantes a vírus são: (i) pela expressão da replicase viral (Hellwald et al.,

1995), (ii) pela expressão de proteínas envolvidas no movimento do vírus na planta (Lapidot et al., 1993), (iii) uso de RNA anti-senso ("antisense RNA"), que é complementar a uma das fitas do genoma viral (Bejarano & Lichtenstein, 1994), (iv) uso de RNA satélite, que tem a propriedade de reduzir a replicação do vírus e atenuar o sintoma (McGarvey & Kaper, 1993) e (v) uso de RNA defectivo interferente, estratégia freqüentemente associada à diminuição dos sintomas da doença (Stenger, 1994).

A exploração das defesas naturais das plantas também pode ser aplicada e baseia-se na (a) produção de elicitores (Wegener et al., 1996), (b) introdução de genes de origem vegetal, semelhante ao em arroz pela inserção do gene *Xa21* para obter resistência à *Xanthomonas oryza* pv. *oryza* (Wang et al., 1996) ou (c) superexpressão de genes de defesa pela produção de fitoalexinas, como as tioninas (Carmona et al., 1993).

Quanto à geração de plantas transgênicas resistentes a doenças bacterianas, as estratégias aplicadas envolvem, mormente, a introdução de genes que codificam proteínas bactericidas. Os peptídeos antimicrobianos (AMPs) são de ocorrência generalizada nos organismos multicelulares, sendo responsáveis pelas respostas imunes ou de defesa. Como dito, em plantas, os peptídeos líticos, isolados de insetos, como as cecropinas e análogos, as lisozimas e as atacinas têm sido usados para induzir resistência a patógenos. Particularmente, as atacinas têm ação contra bactérias Gram-negativas, interferindo na transcrição de genes *omp* que, por sua vez, estão envolvidos na síntese de porinas, proteínas constituintes dos poros da membrana plasmática. Isto resulta em um desarranjo na membrana externa bacteriana e na drástica redução no seu crescimento (Imler & Bulet, 2005).

Reynoird et al. (1999) transformaram plantas de pêra com o gene da atacina E (*attE*), isolado de *Hyalophora cecropia*, via *A. tumefaciens*, visando controlar *Erwinia amylovora*. A expressão e a presença da proteína foram confirmadas por técnicas moleculares, e a análise de resistência dos transformantes foi conduzida *in vitro*, inoculando-se a estirpe do patógeno. Os transformantes mostraram-se resistentes enquanto os não-transformantes foram suscetíveis.

Em *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, o gene que codifica a atacina A (*attA*), isolado de *Trichoplusia ni* (Kang et al., 1996), foi introduzido via biobalística (Takahashi, 2002; Castro, 2005) e *A. tumefaciens* (Monteiro, 2005) com o objetivo de gerar plantas resistentes à bacteriose causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. As plantas, oriundas da biobalística, foram analisadas quanto à presença do gene exógeno via PCR e *Southern blot*, resistência ao herbicida Finale®, usado como agente seletivo e resistência à bacteriose e oito delas se mostraram resistentes à doença (Tabela 2). As taxas de transformação foram da ordem de 0,13%.

**Tabela 2.** Resposta de plantas transgênicas (T) e de suas matrizes (M) à infecção por *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, avaliada após 18 dias. Dados (em %) da área foliar lesionada.

Código <sup>1</sup>	Área de lesão T <sup>2</sup>	Área de lesão <sup>2</sup> M	M/T
2	3,68	10,60	2,88
11	7,00	22,04	3,15
16	8,85	17,14	1,94
18	2,17	32,86	15,14
20	11,11	19,68	1,77
32	14,33	25,13	1,75
33	1,89	36,44	19,28
43	5,97	25,94	4,34

<sup>1</sup> Códigos designados pelo autor; <sup>2</sup> Média de quatro repetições.

Fonte: Castro, 2005;

Plantas de *Citrus*, também, foram transformadas com o gene *attA* via *A. tumefaciens* para induzir resistência à bacteriose causada por *X. axonopodis* pv. *citri* (Boscariol, 2004). Posteriormente, as plantas transgênicas (*Southern+*) foram infectadas com a bactéria. Os resultados mostraram que a expressão do peptídeo antimicrobiano proveu tolerância à bactéria, em um período de incubação maior e lesões com diâmetros menores do que aquelas das plantas-controle.

A eficiência das plantas transgênicas em manifestar resistência a um patógeno depende do nível de expressão (Florack et al., 1995), da estabilidade e da localização do peptídeo heterólogo na célula hospedeira

(Düring, 1996). Segundo Silva-Filho (2003), a localização específica das proteínas dentro da célula é condição essencial para seu funcionamento, assim como o direcionamento dos peptídeos é um processo bem controlado e eficiente. Grande parte das proteínas endógenas relacionadas à defesa, além das fitoalexinas e ligninas, está localizada no espaço intercelular (apoplasto) onde a bactéria fitopatogênica se multiplica antes de penetrar na célula vegetal (Bogs et al., 1998). Duas seqüências de direcionamento relacionadas ao processo de secreção foram identificadas: os peptídeos sinais (PS), que são aqueles clivados a partir de uma cadeia nascente e as âncoras sinais (AS), que não são clivadas, liberando as proteínas na membrana do retículo endoplasmático. As atacinas nativas encontram-se na hemolinfa dos insetos e possuem um peptídeo sinal que as direciona para uma via secretória. Monteiro (2005) confirmou que a atacina A é direcionada para o meio extracelular em células vegetais. Para isto, o gene *attA* foi fusionado aos genes repórteres *gfp* e *uidA* cuja expressão é facilmente visualizada, e células do bulbo da cebola foram transformadas com essa construção genética. A expressão de ambos os genes repórteres foi detectada no apoplasto, indicando que o produto da fusão foi secretado. Isso explicaria a menor área de lesão observada nas plantas transgênicas de maracujá transformadas com o gene *attA*, comparativamente àquela presente nas plantas matrizes (Tabela 2).

## Melhoramento molecular: a construção de mapas genéticos e suas aplicações

Os marcadores moleculares ou de DNA têm contribuído substancialmente para dar suporte aos estudos de genética de populações de diversas espécies e tendem, pouco a pouco, a ser usados para assistir os procedimentos de seleção e melhoramento. Por intermédio deles, é possível analisar a variabilidade genética, identificar genótipos ou genes específicos e detectar possíveis associações entre os marcadores e características fenotípicas.

Considerando os caracteres qualitativos, a simples ligação entre a marca e a característica já permite ao melhorista proceder à seleção com base no marcador, sem instalar ensaios no campo e esperar o término do

ciclo produtivo para sua confirmação. Esse é o fundamento da estratégia denominada por seleção assistida por marcadores moleculares (SAM), desde que essa ligação seja forte. A estratégia deve ser adotada, sobretudo, nos casos em que a característica de interesse é de avaliação difícil e em espécies perenes de ciclo longo, possibilitando a redução no tempo e no custo do programa de melhoramento.

Levando-se em consideração os caracteres quantitativos, ou seja, aqueles controlados por grande número de genes que, em geral, mostram baixa herdabilidade, o uso de marcadores moleculares para assistir a seleção não é imediato. Há necessidade de se mapear os locos (via construção de mapas genéticos ou não) e daí estimar o efeito desses locos responsáveis pela expressão do fenótipo quantitativo (QTL) na população em estudo. Mais importante ao melhorista é perceber que a associação detectada é própria do cruzamento sob avaliação e que a vantagem da SAM em relação à seleção fenotípica vai depender da herdabilidade do caráter. Ressalte-se que outros alelos de efeito igual ou até maior provavelmente existam podendo se manifestar (ou não) em outros ambientes.

A construção de mapas de ligação, com base em marcadores genéticos, advém da teoria proposta por Sturtevant, em 1913, a qual faz uso da frequência de recombinantes como medida da distância entre dois genes. Assim, as bases teóricas da construção de mapas genéticos foram estabelecidas na primeira metade do século passado, porém, com o advento das técnicas de DNA, novos delineamentos genéticos e um maior número de marcas e de indivíduos passaram a ser usados exigindo novas ferramentas estatísticas para a construção de mapas.

Entre as principais aplicações dos mapas genéticos podem-se destacar: (a) o mapeamento de genes que controlam características agrônômicas, tanto de herança qualitativa como quantitativa, sendo esse atributo a base para a SAM (Tanksley, 1993; Liu, 1998); (b) o mapeamento comparativo (Ahn & Tanksley, 1993; Jones et al., 2002); (c) a clonagem posicional de genes (*positional cloning*), que permite a clonagem sem a necessidade de se conhecer *a priori* o gene e seus produtos, mas apenas sua

posição no genoma (Collins, 1992; Martin et al., 1993); (d) a atribuição de marcas aos cromossomos da espécie por diferentes estratégias, como FISH (*Fluorescent In Situ Hybridization*); (e) a integração com mapas físicos, isto é, mapas derivados das técnicas de seqüenciamento.

A construção de um mapa genético exige a geração de uma população segregante e sua análise com algum tipo de marcador genético, a separação das marcas em grupos de ligação, a determinação da ordem dos locos dentro dos grupos e as estimativas das distâncias entre as marcas (Staub et al., 1996).

Há mapas genéticos desenvolvidos para várias espécies frutíferas, entre elas: abacaxi (Carlier et al., 2004), cacau (Risterucci et al., 2000), kiwi (Testolin et al., 2001), maçã (Kenis & Keulemans, 2005), mamão (Ma et al., 2004), pêra (Oliveira et al., 2004) e uva (Doucleff et al., 2004; Riaz et al., 2004).

Para a cultura do maracujazeiro, já foram desenvolvidos quatro trabalhos visando à construção de mapas genéticos. O primeiro deles foi elaborado por Carneiro et al., (2002), utilizando marcadores do tipo RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Neste trabalho, foi possível revelar, claramente, o potencial das técnicas de mapeamento para o melhoramento da cultura do maracujá-amarelo. Assim, um segundo mapa foi desenvolvido por Lopes (2003), com base em marcadores AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) (Figura 3). No estudo de Lopes (2003), foi identificado o primeiro loco quantitativo no genoma de *Passiflora* associado à resposta da população à infecção por *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.

O terceiro mapa de ligação foi obtido por Matta (2005) em complemento ao estudo anterior, porém, adicionando marcadores de segregação 3:1 e incluindo outras estratégias de análise estatística, possibilitando, assim, a integração dos mapas dos dois genitores usados no cruzamento. Um exemplo desse procedimento é ilustrado na Figura 4. De forma similar, Moraes (2005) utilizou ambos os tipos de marcadores (1:1 e 3:1) para estabelecer um mapa de referência de AFLP para *P. edulis* f. *flavicarpa*. Esse autor realizou um trabalho inédito e respeitável, pois mapeou vários QTL associados à produção e à qualidade de frutos de maracujá. Parâmetros genético-estatísticos foram avaliados na população de mapeamento que mostra potencial para seleção via seleção recorrente (Moraes et al., 2005).

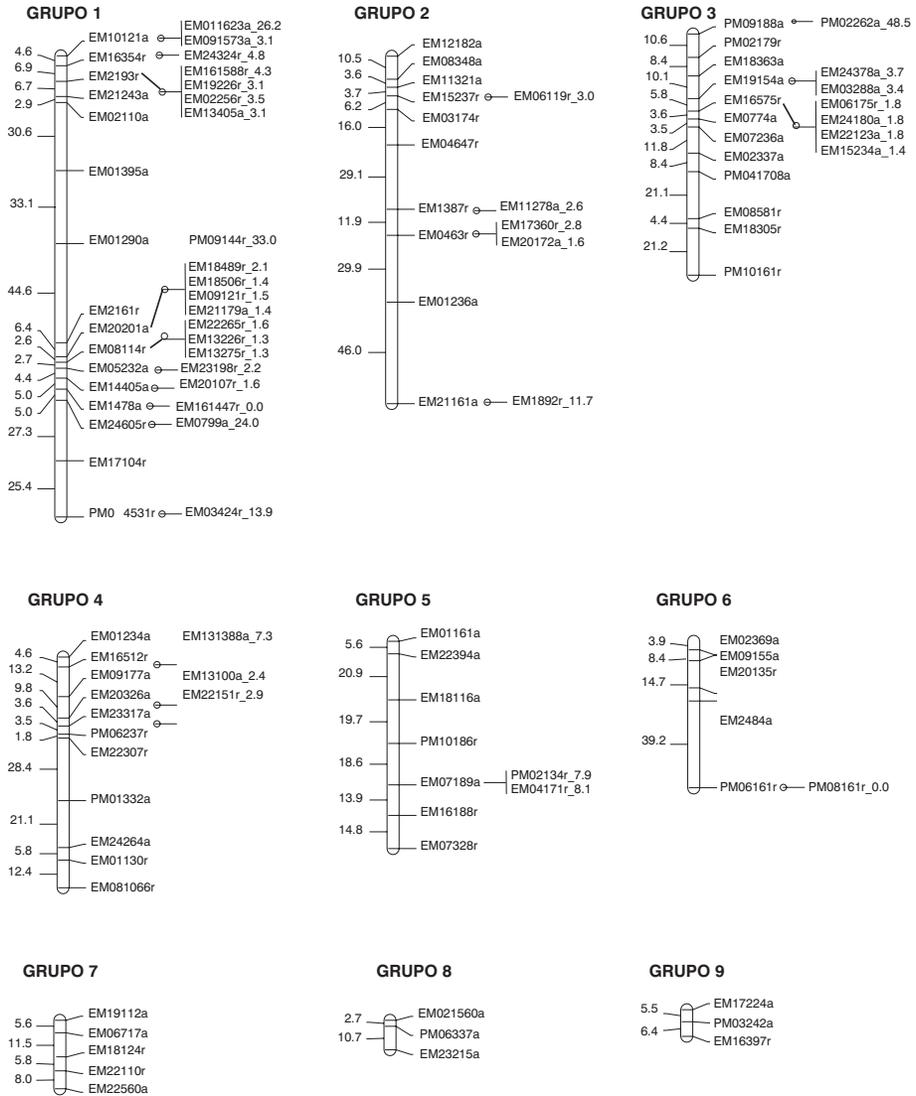
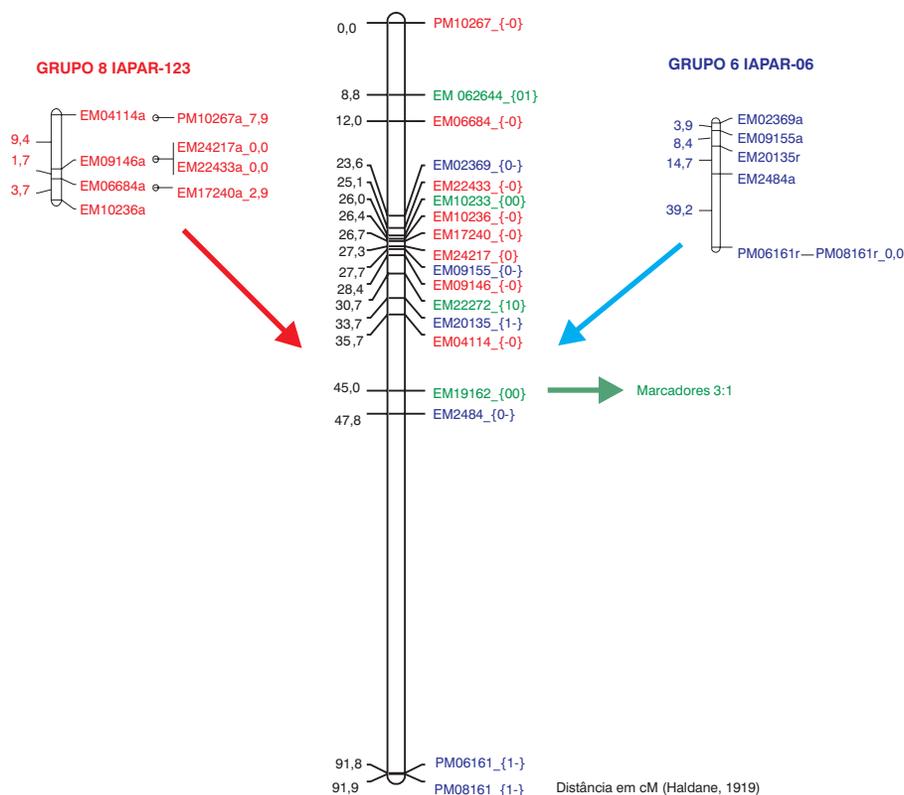


Figura 3. Mapa genético do acesso 'IAPAR-06' de *Passiflora edulis flavicarpa* ( $2n=18$ ) com marcadores AFLP alocados em nove grupos de ligação.



**Figura 4.** Integração dos mapas genéticos dos acessos 'IAPAR-123' (Grupo 8) e 'IAPAR-06' (Grupo 6) de *Passiflora edulis flavicarpa*.

Fonte: Matta, 2005.

A população de mapeamento utilizada nesses quatro trabalhos foi obtida do cruzamento entre duas plantas pertencentes ao Lote de Introdução e Seleção de Materiais do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), Londrina, PR. O acesso 'IAPAR-123' foi usado como genitor feminino e apresenta boas características agrônômicas, além de ser resistente a certos isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. O 'IAPAR-06', que é uma introdução de Marrocos, foi usado como genitor masculino, mostra-se inferior ao acesso 'IAPAR-123' e é tido como suscetível à moléstia.

No caso do maracujazeiro, a auto-incompatibilidade dificulta a obtenção de linhas puras e leva a elevada depressão causada pela endogamia. Sendo assim, os delineamentos genéticos recomendados para a construção de mapas (populações  $F_2$  ou de retrocruzamento, ou *NILs* e *RILs*) não podem ser usados, devendo-se lançar mão de outra estratégia. Uma alternativa para essa situação, usada em *Eucalyptus* (Grattapaglia & Sederoff, 1994), é a *two-way pseudo-testcross*. Nessa estratégia, a fase de ligação não é conhecida *a priori*, mas sim inferida *a posteriori*, pela análise da segregação das marcas em uma população  $F_1$ . Feita a genotipagem de várias dezenas de indivíduos  $F_1$  para marcadores que segreguem 1:1, dois conjuntos de marcas são gerados, sendo um para cada genitor do cruzamento, resultando em dois mapas de ligação, indivíduos-específicos (Ferreira & Grattapaglia, 1996).

Os marcadores já alocados nos mapas de maracujá-amarelo (RAPD e AFLP) são do tipo dominante, pois apenas um alelo é detectado no gel (presença da banda) e todos os demais são tidos como nulos (ausência da banda). Os polimorfismos, portanto, são decorrentes de duas situações: (1) o loco é heterozigótico para a marca em um dos pais e nulo no outro, segregando na proporção 1:1 para a presença e ausência da banda, respectivamente ou (2) o loco é heterozigótico em ambos os genitores, segregando 3:1 (presença: ausência da banda). Quando se usam os polimorfismos com segregação 1:1, dois mapas são gerados, um para cada genitor.

A análise de ligação realizada por Lopes et al. (2006) abrigou 250 marcadores AFLP do tipo 1:1, sendo que 112 e 138 marcas foram alocadas em nove grupos de ligação do genitor 'IAPAR-06' e 'IAPAR-123' respectivamente. Como dito, um QTL responsável pelo controle de 15,8% da variação fenotípica apresentada pela progênie em resposta à inoculação com um isolado de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* foi descrito.

Embora o fato de se gerar mapas individuais (por genitor) não impossibilite o mapeamento de QTL, o melhor é proceder ao mapeamento de locos quantitativos com base em um único mapa, usando uma abordagem biométrica que possa integrar todos os marcadores, inclusive, aqueles

comuns a ambos os genitores. Na verdade, o mapa é do cruzamento e deve representar todos os genótipos da população segregante (Maliepaard et al., 1998). No trabalho realizado por Matta (2005), foram utilizadas 114 (30,9%) marcas informativas no genitor 'IAPAR-06', 139 (37,7%) marcas informativas no genitor 'IAPAR-123' e 116 (31,4%) marcas biparentais que mostraram segregação 3:1. Todos os grupos de ligação foram integrados, ou seja, os homólogos de cada genitor formaram um só grupo. Quanto ao mapeamento de QTL, os resultados obtidos corroboraram os de Lopes (2003), contribuindo para o entendimento do controle genético da resistência à bactéria.

## Genômica

Genômica é o estudo da estrutura, função e evolução de genomas completos e de seqüências expressas (genes) usando tecnologias de alto desempenho para análise de ácidos nucléicos tais como seqüenciamento, mapeamento genético e físico e expressão gênica diferencial (Mir, 2004). Nos últimos anos, com o avanço das plataformas de seqüenciamento, o conhecimento dos genomas de diversos organismos tornou-se uma realidade, gerando imensa quantidade de dados que tem sido utilizada para o entendimento da organização e do funcionamento dos genomas.

O uso de ferramentas computacionais tornou-se imprescindível para o avanço dos *projetos genoma*, criando uma nova área do conhecimento, a *bioinformática*. Tal ferramenta é usada para armazenar, disponibilizar e analisar dados genômicos. A bioinformática também permite a comparação das seqüências disponíveis nos bancos de dados, dando suporte à genômica comparativa. Novas seqüências são depositadas a todo o minuto, literalmente, assim como métodos para a sua análise têm sido propostos, permitindo a formulação de novas teorias e o avanço do conhecimento sobre genômica.

Do ponto de vista aplicado, as informações depositadas nos bancos (*datbank*) permitem especular sobre qual é a porção funcional dos genomas,

gerar mapas físicos, identificar genes envolvidos na expressão de características importantes e desenvolver métodos e tecnologias visando a sua utilização no melhoramento de plantas e animais.

Haverá um momento na história da ciência que várias espécies cultivadas terão seus genomas, ou parte deles, seqüenciados. Contudo, atualmente, os projetos de seqüenciamento de genomas completos restringem-se às espécies-modelo como *Arabidopsis thaliana* e àquelas de grande importância econômica, como o arroz. Para outras espécies, entre elas milho, soja, trigo, alfafa, *Populus*, há grande volume de informações sobre seqüenciamento, completo ou parcial, de cromossomos específicos e grandes bibliotecas de seqüências expressas já estão disponíveis.

A construção de bibliotecas de seqüências expressas (EST), a clonagem de regiões cromossômicas em BAC, isto é, em cromossomos artificiais de bactérias e a manutenção de microarranjos de DNA são tecnologias importantes que têm sido adotadas na genômica vegetal. É de fundamental importância que as descobertas derivadas dos *projetos genoma* sejam integradas aos esforços despendidos para o melhoramento. O desenvolvimento de marcadores moleculares, por exemplo, constitui uma das aplicações da genômica em curtíssimo prazo, contribuindo para a análise da variação genética entre indivíduos e espécies, para estudos sobre a arquitetura genética de caracteres complexos e para os trabalhos de genética de populações e evolução molecular.

Os principais tipos de marcadores moleculares desenvolvidos pelas estratégias de seqüenciamento são os microssatélites, conhecidos como *Simple Sequence Repeats*, e os polimorfismos de um único nucleotídeo ou SNPs (do inglês, *Single Nucleotide Polymorphisms*). Tais marcadores são bastante abundantes em plantas, permitindo a construção de mapas genéticos de alta precisão; também, se prestam como ferramentas para mapear e seqüenciar genes, investigar famílias de genes, identificar elementos transponíveis e rearranjos do genoma.

No caso de *Passiflora*, trabalhos de seqüenciamento são restritos às regiões ITS (*Internal Transcribed Spacer*) dos genes ribossomais e espaçadores

dos genes plastidiais *trnL-trnF* e *psbA-trnH* (Muschner et al., 2003; Lorenz-Lemke et al., 2005; Pádua et al., 2005) que têm sido usados em estudos de filogenia molecular. Recentemente, no Departamento de Genética da Esalq/ Usp bibliotecas genômicas enriquecidas com microssatélites foram construídas e seqüenciadas, constituindo pequeno banco de dados de *P. edulis flavicarpa*, *P. alata* e *P. pohlii*.

A construção de bibliotecas genômicas enriquecidas envolve a fragmentação do DNA em pequenos segmentos que são ligados a adaptadores específicos para promover o aumento do número de seqüências via PCR. Em seguida, é feita uma hibridização seletiva para as seqüências de interesse, com o uso de uma sonda 5' biotinizada que tem afinidade pela estreptavidina, por sua vez, ligada a contas magnéticas (Kijas et al., 1994). Assim, o DNA hibridizado com as repetições do microssatélite pode ser seletivamente removido. Depois da hibridização e muitas etapas de lavagem para remover o DNA não ligado, o DNA é eluído e amplificado por PCR. Em seguida, o DNA enriquecido é clonado em um vetor adequado. Dependendo da eficiência do procedimento, os clones podem ser seqüenciados diretamente ou sofrer um *screening* por *Southern blot* ou por PCR.

Os microssatélites possuem uma série de vantagens em relação a outros marcadores, pois são codominantes, multialélicos, altamente reprodutíveis, além de ser derivados da PCR. Contudo, apresentam uma vantagem especial para a cultura do maracujá, que é prover alelos-ponte para a integração de mapas genéticos construídos até então, separadamente, para cada genitor do cruzamento. Além disso, a amplificação de locos de SSR a partir de diferentes *pedigrees* deve facilitar a comparação dos dados de QTL já identificados em maracujá-amarelo (Moraes, 2005; Lopes et al., 2006). Também, a busca de novos alelos de QTL em populações de maracujá-amarelo ou em espécies afins, deve contribuir para assistir a introgressão de genes importantes.

Apesar das dificuldades, o desenvolvimento de microssatélites tem-se tornado cada vez mais acessível, principalmente, devido às novas estratégias de enriquecimento de bibliotecas genômicas e a tecnologias rápidas de seqüenciamento automático baseadas em fluorescência (Rafalski et al., 1996).

Em maracujá-amarelo, foram construídas duas bibliotecas genômicas enriquecidas com repetições GT e CT gerando 947 seqüências, sendo 501 para o acesso 'IAPAR 06' e 446 para o 'IAPAR 123' (Oliveira et al., 2005b). Do total de seqüências, 134 (14,15%) foram consideradas redundantes por apresentarem similaridade de até 90% no número de bases. Tal redundância pode ser atribuída à presença de clones duplicados durante as etapas de enriquecimento, à existência de diferentes alelos, uma vez que os genitores utilizados na construção da biblioteca são não endogâmicos, e à presença de locos duplicados no genoma de *Passiflora*. Seqüências com mais de 90% de similaridade foram consideradas redundantes, sendo que muitas delas apresentar variações na composição de nucleotídeos. A redundância das seqüências diminui a eficiência da biblioteca, exigindo a construção de novas bibliotecas com número maior de seqüências para, conseqüentemente, prover um número maior de locos de microssatélites.

Nessa experiência pioneira de desenvolvimento de microssatélites em maracujá-amarelo, foram encontradas 127 seqüências contendo microssatélites não redundantes, indicando eficiência de enriquecimento de 13,41%. Para 20 dessas seqüências, não foi possível promover o desenho de *primers*, reduzindo esse valor para 11,30%.

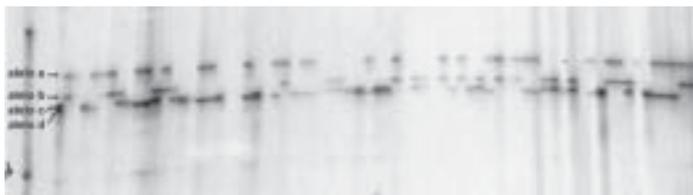
De acordo com Weber (1990), os microssatélites podem ser classificados em: (i) perfeitos, quando a seqüência repetida não é interrompida por qualquer base atípica, por exemplo, TATATATATATATA; (ii) imperfeitos, quando existe entre os motivos um par de bases atípico, tal como em TATATATAcTATATA e (iii) compostos, quando há duas seqüências repetidas distintas adjacentes, tal como em TATATATAGTGTGTGTGTGTGT.

Foram encontrados 66 microssatélites perfeitos, 55 imperfeitos e 6 compostos em *P. edulis flavicarpa*. Do total de microssatélites, 3,94% foram de mononucleotídeos, 78,74% de dinucleotídeos, 3,94% de trinucleotídeos, 7,09% de tetranucleotídeos, 2,36% de pentanucleotídeos, 3,15% de hexanucleotídeos e 0,79% de heptanucleotídeos. Como esperado, a classe de dinucleotídeos foi a mais freqüente em virtude das sondas utilizadas (CT e GT). Nessa classe, microssatélites com repetições AC/GT e CA/TG foram mais freqüentes (52,7%) do que aqueles com repetições AG/CT e GA/TC (25,2%).

Observou-se que, quanto maior o tamanho do motivo, menor é o número de repetições. Os hexa, penta e tetranucleotídeos apresentaram, em média,  $3,75 \pm 0,95$ ;  $5,0 \pm 2,0$  e  $5,88 \pm 2,8$  repetições respectivamente. Já os trinucleotídeos apresentaram, em média,  $6,4 \pm 2,79$  repetições. O número médio de repetições foi de  $14,75 \pm 8,9$ , no caso dos dinucleotídeos, média esta associada a uma elevada variância, já que os valores variaram de 6 a 42. Já para os mononucleotídeos e microssatélites compostos, as médias foram de  $23,6 \pm 7,0$  e  $24,0 \pm 11,3$  repetições, com amplitudes elevadas.

Segundo Wang et al. (1994), a frequência das classes de microssatélites é bastante variável em plantas. Em revisão feita por Powell et al. (1996), os autores relataram que as repetições AG são mais abundantes no genoma de plantas do que as repetições AC, diferentemente do que ocorre no genoma de mamíferos (Weissenbach et al., 1992). Nossos dados apontam para uma maior frequência de repetições GT no genoma de *P. edulis flavicarpa*, embora seja recomendável analisar mais seqüências. É possível afirmar que a presença dos microssatélites em maracujá-amarelo é tão abundante quanto em outras espécies frutíferas, como mamão (Santos et al., 2003), melão (Ritschel et al., 2004) e abacate (Ashworth et al., 2004).

Nossos próximos passos visam à caracterização genética dos locos de microssatélites em um conjunto de acessos de *P. edulis flavicarpa*, o depósito das seqüências no banco de dados, e a completa genotipagem da população segregante 'IAPAR-06' x 'IAPAR-123' para a construção de mapas de ligação altamente saturados (Figura 5). Nosso propósito é identificar, com maior exatidão, regiões genômicas associadas a características agronômicas.



**Figura 5.** Loco de microssatélite com segregação 1: 1: 1: 1 em população de maracujá-amarelo derivado do cruzamento 'IAPAR-06' x 'IAPAR-123'.  
Fonte: Oliveira et al. (2005b).

## Diversidade genética

A classificação taxonômica das passifloras tem sido objeto de estudo e controvérsia, porém a descrição clássica das espécies americanas da família *Passifloraceae*, elaborada por Ellsworth Killip, em 1938, e divulgada em *Publications of the Field Museum of Natural History*, tem sido a principal referência. A classificação de Killip é um tanto complexa, sendo o gênero *Passiflora* dividido em 22 subgêneros e alguns destes em séries e seções.

Outro estudioso importante é John Vanderplank cuja obra *Passion Flowers*, em 3ª edição, foi publicada em 2000. A ampla variação na forma das folhas, frutos e flores, característica marcante das passifloras, é muito bem ilustrada na obra que discute vários aspectos horticulturais.

Mais recentemente, em 2004, o grupo liderado por John MacDougal publicou *PASSIFLORA Passionflowers of the world*, propondo nova estruturação para o gênero *Passiflora* baseada em evidências morfológicas e citológicas e reduzindo-o a apenas quatro subgêneros: *Astrophea* (DC) Mast., com 57 espécies; *Deidamioides* (Harms) Killip, com 13 espécies; *Decaloba* (DC.) Rchb., com 214 espécies e *Passiflora*, com 236 espécies, entre as quais estão várias das passifloras típicas, cultivadas como ornamentais ou para o consumo da fruta ( Killip, 1938; Vanderplank, 1996; Ulmer & MacDougal, 2004).

Na Tabela 3, ilustra-se a correspondência entre as classificações de Killip (1938) e de Feuillet e MacDougal (2004).

**Tabela 3.** Correspondência entre as classificações propostas por Feuillet e MacDougal (2004) e a de Killip (1938) para o gênero *Passiflora*.

Feuillet e Mac Dougal (2004)	Killip (1938)
Decaloba	Apodogyne, Astephia, Plectostemma (exceto seção Mayapathanthus), Chloropathanthus, Murucuja, Pseudomurucuja e Psilanthus
Astrophea Deidamioides	Astrophea Tryphostemmatoides, Deidamioides, Seção Mayapathanthus (subgênero Plectostemma) e Polyanthea
Passiflora	Adenosepala, Tacsoniopsis, Rathea, Tacsonia, Granadillastrum, Distephana, Calopathanthus, Tacsonioides, Granadilla, Dysosmia, Dysosmioides

Melo et al. (2001) realizaram estudos de citogenética que sugerem a reorganização taxonômica da família. Esses autores, mesmo não tendo como objetivo principal apresentar uma nova organização sistemática para o gênero, obtiveram resultados que contribuiram para a elucidação das relações genéticas entre as espécies de *Passiflora*. Os resultados de Melo et al. (2001) apresentam-se bem próximos àqueles que embasam a nova organização taxonômica proposta por Ulmer & MacDougal (2004). Melo & Guerra (2003) sugerem que o número e a localização de sítios de rDNA 5S e 45S rDNA são consistentes com a hipótese de que espécies com  $x = 6$  seriam mais primitivas, enquanto as espécies com  $x = 9$ ,  $x = 10$  e  $x = 12$  teriam origem tetraplóide por disploidia ( $12 \rightarrow 10 \rightarrow 9$ ) e diminuição de sítios redundantes como os de rDNA 5S. Igualmente, Cuco et al. (2005) mapearam sítios de rDNA 45S e 5S em *P. edulis flavicarpa* (E), *P. amethystina* (A) e *P. cincinnata* (C) e nos respectivos híbridos somáticos (E + A) e (E + C). Estabeleceram, também, o cariótipo *standard* para o gênero o qual servirá de base aos programas de melhoramento, mormente, aqueles que usam a hibridação interespecífica como estratégia de introgressão de genes. A definição do cariótipo de *P. edulis flavicarpa* é ainda particularmente importante para a alocação de grupos de ligação em mapas físicos e, obviamente, para estudos de evolução cariotípica.

Em complemento a esses estudos, o gênero tem sido contemplado com trabalhos de filogenia molecular (Muschner et al., 2003; Yockteng & Nadot, 2004; Pádua, 2004) e de morfometria (Plotze et al., 2005). São apresentados, aqui, alguns dados de Pádua (2004) resultantes da análise filogenética baseada na comparação de seqüências dos genes do cloroplasto, *trnT-trnL-trnF* em combinação com dados morfométricos de folhas de *Passiflora*.

O subgênero mais heterogêneo, isto é, o que abriga maior variabilidade é *Astrophea*, com uma distância média de 0,052. Já o grupo de menor distância é o que compõe o subgênero *Deidamioides*, com um valor de 0,0036. Na Tabela 4, mostram-se os demais valores, incluindo as distâncias entre as espécies dentro de subgêneros, apresentadas na diagonal.

Foi possível verificar, de forma clara, o agrupamento das espécies em quatro grandes grupos, com altos valores de *bootstrap*. Num primeiro, foram agrupadas todas as espécies do subgênero *Decaloba*, além de *P. tulae*, do subgênero *Murucuja*. A inclusão do subgênero *Murucuja* dentro do grado *Decaloba* coincide com a reorganização proposta por Feuillet e MacDougal (2004). Algumas características morfológicas são comuns a esses dois subgêneros, conforme descrito por Killip (1938).

O subgênero *Deidamioides* caracteriza-se por ser o único do gênero que apresenta folhas compostas, trifoliadas. A característica que o aproxima de *Decaloba* seria o opérculo plissado. No entanto, a distância entre as espécies *P. microstipula* e *P. deidamioides* comparativamente àquela entre as espécies de *Decaloba* e a característica foliar que lhe é peculiar (folhas compostas, trifoliadas) indicam que este pode constituir um subgênero distinto tal como propõem Feuillet & MacDougal (2004). Em nosso estudo, fica evidente que as distâncias entre os grupos são bem superiores às distâncias dentro dos grupos, dando destaque à homogeneidade intragrupo e a perfeita distinção entre grupos. A distância entre *Decaloba* e *Deidamioides* é praticamente a mesma existente entre *Decaloba* e *Astrophea* que, definitivamente, são subgêneros distintos. Portanto, a disposição de *Deidamioides* como um dos quatro subgêneros propostos por Feuillet & MacDougal recebe suporte do presente trabalho.

**Tabela 4.** Distância patristica entre os subgêneros de *Passiflora* estudados por Pádua (2004)

Táxon	<i>Tacsonioides</i>	<i>Passiflora</i>	<i>Dysosmia</i>	<i>Distephana</i>	<i>Astrophea</i>	<i>Deidamioides</i>	<i>Decaloba</i>
<i>Tacsonioides</i>	0,0158						
<i>Passiflora</i>	0,0224	0,02725					
<i>Dysosmia</i>	0,0180	0,0267	0,01505				
<i>Distephana</i>	0,0113	0,0192	0,0165	0,00717			
<i>Astrophea</i>	0,0563	0,0641	0,0609	0,0707	0,05200		
<i>Deidamioides</i>	0,0508	0,0576	0,0536	0,0456	0,0640	0,00362	
<i>Decaloba</i>	0,0889	0,0892	0,0877	0,0803	0,0910	0,0562	0,04326

Outro grande grupo formado foi o que alocou as espécies do subgênero *Passiflora*. Além destas, foram incluídas espécies dos subgêneros *Dysosmia* (*P. foetida* e *P. palmeri*), *Distephana* (*P. speciosa* e *P. coccinea*),

Granadillatrum (*P. manicata*), Dysosmioides (*P. villosa*, *P. campanulata* e *P. setulosa*) e Tacsonioides (*P. reflexiflora* e *P. mendoncae*). Esse agrupamento, apesar de não acolher qualquer característica morfológica compartilhada por esses subgêneros, também foi estabelecido nas filogenias anteriormente publicadas para *Passiflora*. Agrupando-se ao grado Decaloba, além das espécies que pertencem a este subgênero, estão as espécies: *P. manicata* (Granadillastrum) e *P. tulae* (Murucuja). Assim como no caso do subgênero Decaloba, a reunião desses subgêneros em um único está de acordo com a idéia de Feuillet e MacDougal. Nesse grupo, incluem-se as espécies de Dysosmia que, em outras filogenias, aparecem alocadas em grupo-irmão do subgênero *Passiflora*.

A provável inclusão desses subgêneros junto a *Passiflora* pode ser devida ao fato de a divergência de Decaloba ser mais antiga que a divergência dos demais subgêneros. Por *Passiflora* e os demais subgêneros serem mais recentes, não houve tempo hábil e suficiente para sua completa separação. Tal fato é corroborado, por exemplo, pela dispersão da série Lobatae ao longo de vários subgrupos de *Passiflora*.

A proximidade observada entre *P. edulis* f. *flavicarpa* (maracujá-amarelo) e *P. edulis* (maracujá-roxo) corrobora a hipótese de que a forma amarela deva ter surgido de forma roxa por mutações (Degener, 1933). A facilidade de cruzamento entre essas duas formas também fortalece a teoria de origem por mutação. Todavia, analisando as distâncias patrísticas das várias espécies em relação à forma amarela de *P. edulis*, verifica-se que a menor distância está associada à *P. incarnata*, o que traz dúvidas quanto à hipótese de origem por mutação. Esse resultado é um tanto quanto inesperado, uma vez que essas duas espécies não são simpátricas. Enquanto *P. edulis* é um táxon nativo das regiões do Brasil e da Argentina, *P. incarnata* é restrito aos Estados Unidos (Martin & Nakasone, 1970). No entanto, a proximidade das duas formas de *P. edulis*, detectada tanto por marcadores de cloroplasto (presente trabalho) quanto por marcadores nucleares (Yockteng & Nadot, 2004), mostra que a hipótese de origem de *P. edulis* f. *flavicarpa* por hibridação (Pope, 1935) é menos provável.

O terceiro grupo, com altos valores de *bootstrap* (média de 94) é formado exclusivamente por espécies do subgênero *Astrophea*. Entretanto, o grupo não pode ser considerado monofilético, pois a espécie *P. alliacea* não se agrupou neste clado. Isto também foi observado na filogenia proposta por Yockteng & Nadot (2004) que observaram o agrupamento de *P. candida* (secção *Pseudoastrophea*) com espécies de *Decaloba*. A posição basal de *Decaloba* confirma a hipótese de Benson et al. (1975) de que este grupo seria o ancestral das passifloras.

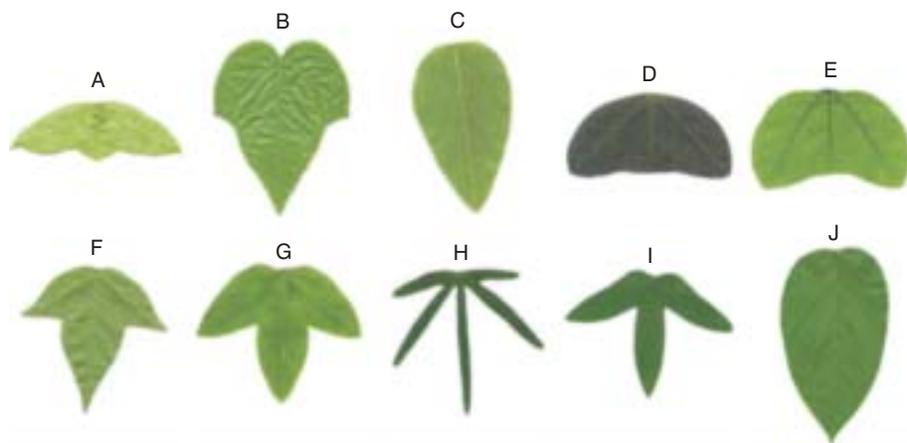
Ressalte-se que os valores de *bootstrap* para os nós situados dentro dos quatro grandes clados são baixos, evidenciando a proximidade genética existente entre as espécies dentro dos subgêneros, corroborando, novamente, a redução do número de subgêneros proposta por Feuillet & MacDougal (2004).

Para a análise morfométrica (Plotze et al., 2005; Figura 6), amostras de folhas de quatro indivíduos de 10 espécies de *Passiflora* foram utilizadas visando englobar a grande variabilidade foliar do gênero. Os caracteres morfométricos foram capazes de distinguir as 10 espécies, enquanto o dendrograma (Figura 7) mostra, claramente, a segregação das espécies em dois grupos, *Passiflora* e *Decaloba* que correspondem aos subgêneros *Passiflora* e *Plectostemma*, respectivamente, segundo a classificação de Killip (1938).

A única exceção foi *P. miersii*, uma espécie que pertence ao subgênero *Passiflora*, mas que foi agrupada juntamente com o grupo que contém as espécies do subgênero *Decaloba*. Esse agrupamento pode ser explicado por aspectos morfológicos que aproximam a série *Kermesinae* (*P. miersii*) do subgênero *Decaloba*, como a presença de opérculo plissado.

*P. foetida* foi agrupada com as espécies do subgênero *Decaloba*, porém esta pertence ao subgênero *Dysosmia*. Além da filogenia aqui apresentada, duas outras recentemente publicadas para *Passiflora* (Muschner et al., 2003; Yockteng & Nadot, 2004) mostraram que esse subgênero parece ser filogeneticamente mais relacionado às espécies do subgênero *Passiflora* que *Decaloba*. Contudo, a presença de flores pequenas salienta a proximidade

da Decaloba. Outro fato que revela essa proximidade é o número cromossômico  $2n = 20$  ou  $18$ , também característico de *P. gracilis*, uma espécie de Decaloba seção Cieca (Bowden, 1945; Soares-Scott, 1998).



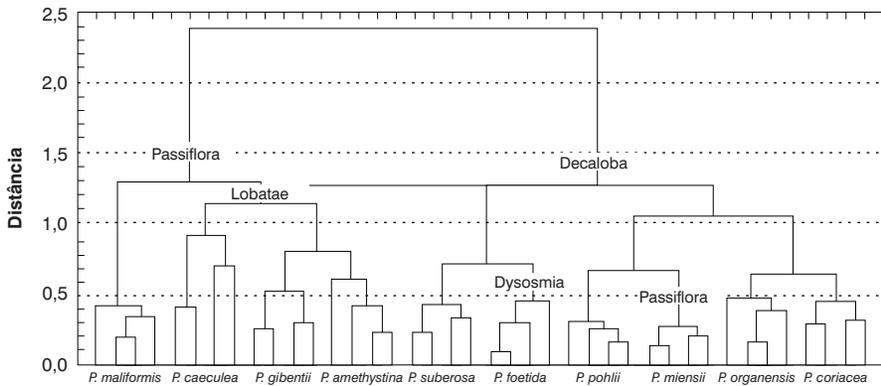
**Figura 6.** Espécies de *Passiflora* utilizadas no ensaio morfométrico: (a) *P. coriacea*, (b) *P. foetida*, (c) *P. miersii*, (d) *P. organensis*, (e) *P. pohlii*, (f) *P. suberosa*, (g) *P. amethystina*, (h) *P. caerulea*, (i) *P. gibertii* e (j) *P. maliformis*.

Fonte: Modificado de Plotze et al. (2005).

Esses resultados mostram que o subgênero *Dysosmia* (*P. foetida*, *P. chlatrata* e *P. palmeri*) parece ser intermediário entre Decaloba e Passiflora, mesmo apresentando um conjunto de características morfológicas únicas (Yockteng & Nadot, 2004) e número cromossômico igual a  $2n = 20$ ,  $18$  ou  $22$  (Melo et al., 2001; Soares-Scott, 1998). Essa posição intermediária é também suportada pelos resultados de Melo & Guerra (2003) que mostram que *P. foetida* ( $2n = 20$ ) apresenta quatro sítios 5S, enquanto em *Passiflora* são detectados apenas 2 desses sítios e em Decaloba 2, 4 ou 6 sítios. Neste mesmo trabalho, os 6 sítios 45S estão posicionados na região proximal dos cromossomos de *P. foetida*. No subgênero *Passiflora*, os sítios 4 ou 6, dependendo da espécie, estão situados em regiões subterminais, enquanto em algumas espécies de Decaloba, esses sítios estão situados na região proximal dos cromossomos.

O segundo grupo foi composto de espécies que pertencem exclusivamente ao subgênero *Passiflora*. É interessante notar que as espécies da série *Lobatae* (*P. amethystina*, *P. caerulea* e *P. gibertii*) formaram um agrupamento consistente dentro do grupo *Passiflora* no qual há grande variabilidade infra-específica, com ênfase para *P. caerulea*.

A despeito da variabilidade presente, as espécies formaram grupos altamente consistentes: as quatro amostras de cada espécie sempre se agruparam entre si, mostrando a eficácia do método em segregá-las corretamente (Figura 7).



**Figura 7.** Agrupamento de 10 espécies de *Passiflora* segundo a sua morfometria foliar. Fonte: Plotze et al. (2005).

O dendrograma gerado dos dados morfométricos apresenta alta similaridade com a classificação botânica atualmente aceita para o gênero *Passiflora*. Esse aspecto mostra a eficácia do método e revela a presença de um conceito cladístico e filogenético, uma vez que a forma das folhas é muito bem descrita pela curva de dimensão fractal multiescala. Como a classificação botânica mostra-se correlacionada à caracterização das espécies por dimensão fractal multiescala, podem-se estimar distâncias genéticas entre as espécies analisadas e conseqüentemente correlacioná-las àquelas obtidas pelas diferenças encontradas entre as seqüências de DNA cloroplastidial. As análises mostraram que a correlação entre as topologias do dendrograma e

das árvores filogenéticas é bastante alta: 0,777 ( $p$ -valor = 0,004). Essa semelhança reflete-se também nas distâncias entre as espécies geradas de diferentes enfoques. Mesmo esta sendo apenas igual a 0,38, mostra-se significativa, com um  $p$ -valor de 0,018.

A eficiência do método pode ser facilmente verificada pela distinção entre duas espécies muito aparentadas e com formato de folha similar: *P. amethystina* e *P. gibertii*. A despeito da distinção, a proximidade filogenética entre elas fica igualmente evidenciada, pois o dendrograma mostra que elas são mais próximas entre si do que, individualmente, em relação à *P. caerulea* que, também, pertence à série Lobatae.

Algumas conclusões acerca do gênero *Passiflora* são destacadas a seguir:

- Os altos níveis de transferibilidade indicam uma distância genética não muito grande entre as espécies, mostrando que a diversificação do gênero ocorreu num passado recente;
- A atual classificação botânica, considerando-se os *taxa* supra-específicos, parece não refletir grupos monofiléticos;
- O subgênero *Dysosmia* abriga um conjunto de espécies com características únicas dentro do gênero, além de características intermediárias entre os dois principais subgêneros de *Passiflora*: *Decaloba* e *Passiflora*;
- A proposta de divisão do gênero em apenas quatro subgêneros é respaldada por observações filogenéticas, com fortes evidências de *Deidamioides* ser um desses subgêneros.

O dendrograma gerado da análise morfométrica revelou forte similaridade com a atual classificação botânica aceita para o gênero, demonstrando a eficiência do método, além de mostrar o apelo cladístico, uma vez que a forma das folhas e seu padrão de nervação foram eficazmente descritos pela curva de dimensão fractal multiescala;

Por refletir o relacionamento filogenético entre as espécies, as características foliares (formato e padrão de nervação) podem ser usadas em

estudos que utilizem informações sobre a ancestralidade de espécies, bem como em sistemática e ecologia.

Finalizando o item, cabe dizer que estudos de variabilidade populacional ou infra-específica são de extrema valia. Em *Passiflora*, do ponto de vista molecular, esse tipo de estudo tem sido realizado utilizando-se RAPD (Fajardo et al., 1998), padrão de sítios de restrição do cpDNA (Sánchez et al., 1999), isoenzimas (Segura et al., 2003) e AFLP (Segura et al., 2002). Marcadores microsatélites foram desenvolvidos por Oliveira et al. (2005) e Pádua et al. (2005) e tendem contribuir na caracterização da variabilidade genética disponível no gênero, pois essa classe de marcadores apresenta características muito favoráveis para estudos de diversidade.

## Conclusões

São incontestes os ganhos na produção agrícola devido à adoção de práticas de seleção e hibridação. A intenção dos autores deste texto foi mostrar um conjunto de dados obtidos mais recentemente com tecnologias moleculares relacionados à geração (via transgenia e fusão celular) e exploração da variabilidade genética, mormente, de *Passiflora*.

A eficiência de um programa de melhoramento de maracujá (amarelo ou doce) será tanto maior quanto mais adequado for o método escolhido, como a seleção recorrente, por exemplo, e vai depender da escolha da população-alvo da seleção. A adoção de técnicas moleculares deverá acelerar o processo. Nós aqui recomendamos investimentos intelectuais (e financeiros) em genética aplicada ao melhoramento, em genômica e mapeamento de genes, pois são estratégias fundamentais no processo de geração de variedades melhoradas, '*em tempos modernos*'.

## Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo e às agências federais, CAPES e CNPq, pelo auxílio financeiro. Ao técnico de laboratório, Carlos Alberto de Oliveira, pelo inestimável apoio.

## Referências bibliográficas

AHN, S. N.; TANKSLEY, S. D. Comparative linkage maps of the rice and maize genomes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 90, p. 7980-7984, 1993.

ALFENAS, P. F.; BRAZ, A. S. K.; TORRES, L. B.; SANTANA, E.; NASCIMENTO, V. S.; CARVALHO, M. G.; OTONI, W. C.; ZERBINI, F. M. Transgenic passion fruit expressing RNA derived from Cowpea aphid-borne mosaic virus is resistant to passion fruit woodiness disease. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 33-38, 2005.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; FERNANDO, J. A.; MACHADO, S. R.; VIEIRA, M. L. C. Estudos morfológicos, anatômicos, histoquímicos e ultra-estruturais da organogênese in vitro do maracujazeiro. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Ed.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 387-407.

ASHWORTH, V. E. T. M.; KOBAYASHI, M. C.; CRUZ, M.; CLEGG, M. T. Microsatellite markers in avocado (*Persea americana* Mill.): development of dinucleotide and trinucleotide markers. **Scientia Horticulturae**, v. 101, p. 255-267, 2004.

BARBOSA, L. V.; VIEIRA, M. L. C. Meiotic behavior of passion fruit somatic hybrids, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener + *P. amethystina* Mikan. **Euphytica**, v. 98, p. 121-127, 1997.

BECERRA, D. C.; FORERO, A. P.; GONGORA, G. A. Age and physiological condition of donor plants affect in vitro morphogenesis in leaf explants of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. **Plant Cell Tissue And Organ Culture**, v. 79, p. 87-90, 2004.

BEJARANO, E. R.; LICHTENSTEIN, C. P. Expression of TGMV antisense RNA in transgenic tobacco inhibits replication of BCTV but not ACMV geminiviruses. **Plant Molecular Biology**, v. 24, p. 241-248, 1994.

BENSON, W. W.; BROWN, K. S.; GILBERT, L. E. Coevolution of plants and herbivores: passion flowers butterflies. **Evolution**, v. 29, p. 659-680, 1975.

BIASI, L. A.; FALCO, M. C.; RODRIGUEZ, A. P. M.; MENDES, B. M. J. Organogenesis from internodal segments of yellow passion fruit. **Scientia Agricola** v. 57, p. 661-665, 2000.

BOGS, J.; BRUCHMÜLLER, I.; ERBAR, C.; GEIDER, K. Colonization of host plants by the fire blight pathogen *Erwinia amylovora* marked with genes for bioluminescence and fluorescence. **Phytopathology**, v. 88, p. 416-421, 1998.

BOSCARIOL, R. L. **Transformação genética de laranja doce (*Citrus sinensis* L. *Obseck*) com o gene *atacina A***. 2004. 137 f. Tese (Doutorado)- Centro de Energia Nuclear Aplicado à Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

BOWDEN, W. M. A list of chromosome numbers in higher plants. II. Menispermaceae to Verbenaceae. **American Journal Botany**, v. 32, p. 191-201, 1945.

BRAZ, A. S. K. **Clonagem e seqüenciamento dos genes da proteína capsidial e da replicase de um Potyvirus causador de endurecimento dos frutos do maracujazeiro, e transformação de maracujá-amarelo com construção derivada desses genes**. 1999. 106 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1999.

CANCINO, G. O.; DAVEY, M. R.; LOWE, K. C.; POWER, J. B. Shoot regeneration from leaf and root explants of *Passiflora mollissima*. **Journal of Experimental Botany**, v. 49 (Suppl.), 65 (Abstract), 1998.

CARLIER, J. D.; REIS, A.; DUVAL, M. F.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; LEITÃO, J. M. Genetic maps of RAPD, AFLP and ISSR markers in *Ananas bracteatus* and *A. comosus* using the pseudo-testcross strategy. **Plant Breeding**, v. 123, p. 186-192, 2004.

CARMONA, M. J.; MOLINA, A.; FERNÁNDEZ, J. A.; LÓPEZ-FANDO, J.; GARCIA-OLMEDO, F. Expression of the  $\beta$ -thionin gene from barley in tobacco confers enhanced resistance to bacterial pathogens. **Plant Journal**, v. 3, p. 457-462, 1993.

CARNEIRO, M. S.; CAMARGO, L. E. A.; COELHO, A. S. G.; VENCOVSKY, R.; LEITE JÚNIOR, R. P.; STENZEL, N. M. C.; VIEIRA, M. L. C. RAPD-based genetic linkage maps of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims *f. flavicarpa* Deg.). **Genome**, v. 45, p. 670-678, 2002.

CASTRO, A. P. **Resistência à bacteriose causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* em maracujá amarelo via expressão da proteína heteróloga *Atacina A***. 2005. 151 f. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2005.

COLLINS, F. S. Positional cloning: let's not call it reverse any more. **Nature Genetics**, v. 1, p. 3-5, 1992.

CRUZ-HERNANDEZ, A.; WITJAKSONO, J.; LITZ, R. E.; GOMEZ-LIM, M. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of embryogenic avocado cultures and regeneration of somatic embryos. **Plant Cell Reports**, v. 17, p. 497-503, 1998.

CUCO, S. M.; VIEIRA, M. L. C.; MONDIN, M.; AGUIAR-PERECIN, M. L. R. Comparative karyotype analysis of three *Passiflora* L. species and cytogenetic characterization of somatic hybrids. **Caryologia**, v. 58, p. 220-228, 2005.

DEGENER, O. **Flora Hawaiiensis: new illustrated flora of the Hawaiian Islands.** Honolulu: University of Hawaii Press, 1933. 400 p.

DORNELAS, M. C.; VIEIRA, M. L. C. Tissue culture studies on species of *Passiflora* L. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 36, p. 211-217, 1994.

DORNELAS, M. C.; TAVARES, F. C. A.; OLIVEIRA, J. C.; VIEIRA, M. L. C. Plant regeneration from protoplast fusion in *Passiflora* spp. **Plant Cell Reports**, v. 15. p.106-110, 1995.

DOUCLEFF, M.; JIN, Y.; GAO, F.; RIAZ, S.; KRIVANEK, A. F.; WALKER, M. A. A genetic linkage map of grape, utilizing *Vitis rupestris* and *Vitis arizonica*. **Theoretical Applied Genetics**, v. 109, p. 1178-1187, 2004.

DREW, R. A. *In vitro* culture of adult and juvenile bud explants of *Passiflora* species. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 26, p. 23-27, 1991.

DREW, R. A. Micropropagation of *Passiflora* species (Passionfruit). In: BAJAJ, Y. P. S. (Ed.) **Biotechnology in agriculture and forestry: high-tech and micropropagation V.** Berlin: Springer Verlag, 1997. p.135-149.

DUNWELL, J. M. Transgenic approaches to crop improvement. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 487-496, 2000.

DÜRING, K. Genetic engineering for resistance to bacteria in transgenic plants by introduction of foreign genes. **Molecular Breeding**, v. 2, p. 297-305, 1996.

FAJARDO, D.; ANGEL, F.; GRUM, M.; THOME, J.; LOBO, M.; ROCA, W.; SÁNCHEZ, I. Genetic variation analysis of the genus *Passiflora* L. using RAPD markers. **Euphytica**, v. 101, p. 341-347, 1998.

FARIA, J. L. C.; SEGURA, J. Micropropagation of yellow passion fruit by axillary bud proliferation. **Hortscience**, v. 32, p. 1276-1277, 1997a.

FARIA, J. L. C.; SEGURA, J. *In vitro* control of adventitious bud differentiation by inorganic medium components and silver thiosulfate in explants of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. **In Vitro Cell Developmental Biology-Plant**, v. 33, p. 209-212, 1997b.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética.** Brasília, DF: Embrapa Cenargen, 1996. 220 p.

FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J. M. A new infrageneric classification of *Passiflora*. **Passiflora**, v. 14, p. 34-38, 2004.

FISCHOFF, D. A.; BOWDISH, K. S.; PERLAK, F. J.; MARRONE, P. G.; McCORMICK, S. M.; NIEDERMEYER, J. G.; DEAN, D. A.; KUSANO-KRETZMER, K.; MAYER, E. J.;

ROCHESTER, D. E.; ROGERS, S. G.; FRALEY, R. T. Insect tolerant transgenic tomato plants. **Bio/Technology**, v. 5, p. 807-813, 1987.

FLORACK, D.; ALLEFS, S.; BOLLEN, R.; BOSCH, D.; VISSER, B.; STIEKEMA, W. Expression of giant silkmoth cecropin B genes in tobacco. **Transgenic Research**, v. 4, p. 132-141, 1995.

FRUTOS, R.; RANG, C.; ROYER, M. Managing insect resistance to plants producing *Bacillus thuringiensis* toxins. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 19, p. 227-276, 1999.

GRATTAPAGLIA, D.; SEDEROFF, R. Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* using a pseudo-testcross mapping strategy and RAPD markers. **Genetics**, v. 137, p. 1121-1137, 1994.

HALDANE, J. B. S. The combination of linkage values, and the calculation of distance between the loci of linked factors. **Journal of Genetics**, v. 8, p. 299-309, 1919.

HALL, R. M.; DREW, R. A.; HIGGIN, C. M.; DIETZGEN, R. G. Efficient organogenesis of an Australian passionfruit hybrid (*Passiflora edulis* x *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) suitable for gene delivery. **Australian Journal of Botany**, v. 48, p. 673-680, 2000.

HELLWALD, K. -H.; PALUKAITIS, P. Viral RNA serves as a potential target for two independent mechanisms of replicase-mediated resistance against cucumber mosaic virus. **Cell**, v. 83, p. 937-946, 1995.

HUANG, B. H.; YANG, Y. S.; WENG, S. W.; CHEN, B. S.; CHANG, C. A.; CHEN, Y. W.; CHANG, L. R. Study on the growth of passion fruit tissue culture plants. **Taichung District Agricultural Improvement Station**, v. 38 (Special Publication), p. 301-311, 1997.

IMLER, J. -L.; BULET, P. Antimicrobial peptides in *Drosophila*: structures, activities and gene regulation. **Chemical Immunology and Allergy**, v. 86, p. 1-21, 2005.

ISUTSA, D. K. Rapid micropropagation of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims.) varieties. **Scientia Horticulturae**, v. 99, p. 395-400, 2004.

JAMES, C. Situação global das lavouras geneticamente modificadas (GM): 2004. **ISAAA Briefs**, v. 32, p. 42, 2004.

JAMES, D. J.; PASSEY, A. J.; BARBARA, D. J.; BEVAN, M. Genetic transformation of apple (*Malus pumila* Mill.) using a disarmed Ti-binary vector. **Plant Cell Reports**, v. 7, p. 658-661, 1989.

JASRAI, Y.T.; MUDGIL, Y. Direct shoot regeneration from cultured leaves of *Passiflora caerulea* L. and field performance of regenerated plants. **Phytomorphology**, v. 49, p. 289-293, 1999.

JONES, E. S.; MAHONEY, N. L.; HAYWARD, M. D.; ARMSTEAD, I. P.; JONES, J. G.; HUMPHREYS, M. O.; KING, I. P.; KISHIDA, T.; YAMADA, T.; BALFOURIER, F.; CHARMET, G.; FORSTER, J. W. An enhanced molecular marker based genetic map of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) reveals comparative relationships with other Poaceae genomes. **Genome**, v. 45, p. 282-295, 2002.

JAUHAR, P. P.; CHIBBAR, R. N. Chromosome-mediated and direct gene transfers in wheat. **Genome**, v. 42, p. 570-583, 1999.

KANEYOSHI, J.; KOBAYASHI, S.; NAKAMURA, Y.; SHIGEMOTO, N.; DOI, Y. A simple and efficient gene-transfer system of trifoliate orange (*Poncirus-trifoliata*). **Plant Cell Reports**, v. 13, p. 541-545, 1994.

KANG, D.; LUNSTROM, A.; STEINER, H. *Trichoplusa ni attacinA*, a differentially displayed insect gene coding for an antimicrobial protein. **Gene**, v. 174, p. 245-249, 1996.

KANTHARAJAH, A. S.; DODD, W. A. *In vitro* micropropagation of *Passiflora edulis* (purple passionfruit). **Annals of Botany**, v. 65, p. 337-339, 1990.

KAWATA, K.; USHIDA, C.; KAWAI, F.; KANAMORI, M.; KURYAMA, A. Micropropagation of passion fruit from subcultured multiple shoot primordia. **Journal of Plant Physiology**, v. 147, p. 281-284, 1995.

KENIS, K.; KEULEMANS, J. Genetic linkage maps of two apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.) based on AFLP and microsatellite markers. **Molecular Breeding**, v. 15, p. 205-219, 2005.

KIJAS, J. M.; FOWLER, J. C.; GARBETT, C. A.; THOMAS, M. R. Enrichment of microsatellites from the *Citrus* genome using biotinylated oligonucleotide sequences bound to streptavidin-coated magnetic particles. **Biotechniques**, v. 16, p. 656-662, 1994.

KILLIP, E. P. The American species of Passifloraceae. **Field Museum of Natural History, Botanical Series**, v. 19, p. 1-613, 1938.

KOZIEL, M. G.; BELAND, G. L.; BOWMAN, C. Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. **Bio/Tecnology**, v. 11, p. 194-200, 1993.

LAMBERT, C.; TEPFER, D. Use of *Agrobacterium rhizogenes* to create transgenic apple trees having an altered organogenic response to hormones. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 85, p. 105-109, 1992.

LAPIDOT, M.; GAFNEY, R.; DING, B.; WOLF, S.; LUCAS, J.; BEACHY, R. A dysfunctional movement protein of tobacco mosaic virus that partially modifies the plasmodesmata and limits virus spread in transgenic plants. **The Plant Journal**, v. 4, p. 959-970, 1993.

LIU, B. H. **Statistical genomics**. New York: CRC Press, 1998, 610 p.

LOPES, R. **Mapas de ligação AFLP e identificação de genes de resistência à *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* em maracujá amarelo**. 2003. 115 f. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2003.

LOPES, R.; LOPES, M. T. G.; CARNEIRO, M. S. C.; MATTA, F. P.; CAMARGO, L. E. A.; VIEIRA, M. L. C. AFLP linkage analysis and mapping of resistance genes to *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* in yellow passion fruit. **Genome**, 2006. In press.

LORENZ-LEMKE, A. P.; MUSCHNER, V. C.; BONATTO, S. L.; CERVI, A. C.; SALZANO, F. M.; FREITAS, L. B. Phylogeographic inferences concerning evolution of Brazilian *Passiflora actinia* and *P. elegans* (*Passifloraceae*) based on ITS (nrDNA) variation. **Annals of Botany**, v. 95, p. 799-806, 2005.

MA, H.; MOORE, P. H.; LIU, Z.; KIM, M. S.; YU, Q.; FITCH, M. M. M.; SEKIOKA, T.; PATERSON, A. H.; MING, R. High-density linkage mapping revealed suppression of recombination at the sex determination locus in papaya. **Genetics**, v. 166, p. 419-436, 2004.

MACHADO, M. L. C.; MACHADO, A. C.; HANZER, V.; WEISS, H.; REGNER, F.; STEINKELLNER, H.; MATTANOVICH, D.; PLAIL, R.; KNAPP, E.; KALTHOFF, B.;

KATINGER, H. Regeneration of transgenic plants of *Prunus armeniaca* containing the coat protein gene of Plum Pox Virus. **Plant Cell Reports**, v. 11, p. 25-29, 1992.

MALIEPAARD, C.; ALSTON, F. H.; VAN ARKEL, G.; BROWN, L. M.; CHEVREAU, E.; DUNEMANN, F.; EVANS, K. M.; GARDINER, D. G. P.; VAN HEUSDEN, A. W.; JANSE, J.; LAURENS, F.; LYNN, J. R.; MANGANARIS, A. G.; DEN NIJS, A. P. M.; PERIAM, N.; RIKKERINK, E.; ROCHE, P.; RYDER, C.; SANSVINI, S.; SCHMIDT, H.; TARTARINI, S.; VERHAEGH, J. J.; VRIELINK-VAN GINKEL, M.; KING, G. J. Aligning male and female linkage maps of apple (*Malus pumila* Mill.) using multi-allelic markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 97, p. 60-73, 1998.

MANDERS, G.; OTONI, W. C.; d'UTRA VAZ, F. B.; BLACKHALL, N. W.; POWER, J. B.; DAVEY, M. R. Transformation of passionfruit (*Passiflora edulis* fv *flavicarpa* Degener) using *Agrobacterium tumefaciens*. **Plant Cell Reports**, v. 13, p. 697-702, 1994.

MANTE, S.; MORGENS, P. H.; SCORZA, R.; CORDTS, J. M.; CALLAHAM, A. M. *Agrobacterium*-mediated transformation of plum (*Prunus domestica* L.) hypocotyl slices and regeneration of transgenic plants. **Bio/Technology**, v. 9, p. 853-857, 1991.

MARTIN, F. W.; NAKASONE, H. Y. The edible species of *Passiflora*. **Economical Botany**, v. 24, p. 333-343, 1970.

MARTIN, G. B.; BROMMONSCHENKEL, S. H.; CHUNNWONGSE, J.; FRARY, A.; GANAL, M. W.; SPIVEY, R.; WU, T.; EARLY, E. D.; TANKSLEY, S. D. Map-based cloning of a

protein kinase gene conferring disease resistance in tomato. **Science**, v. 262, p. 1432-1435, 1993.

MATTA, F. P. Mapeamento de QTL para *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* em maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.). 2005. 230 f. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2005.

MCGARVEY, P. B.; KAPER, J. M. Transgenic plants for conferring virus tolerance: satellite approach. In: KUNG, S. D.; WU, R. **Transgenic Plants**. New York: Academic Press, 1993. p. 277-296.

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**, v. 92, p. 1-8, 2003.

MIR, L. **Genômica**. São Paulo: Atheneu, 2004. 1114 p.

MOHAMED, M. E.; HICKS, R. G. T.; BLAKESLEY, D. Shoot regeneration from mature endosperm of *Passiflora foetida*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 46, p. 161-164, 1996.

MONTEIRO, A. C. B.; HIGASHI, E. N.; GONÇALVES, A. N.; RODRIGUES, A. P. M. A novel approach for the definition of the inorganic medium components for micropropagation of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*). **In Vitro Cellular Developmental Biology-Plant**, v. 36, p. 527-531, 2000b.

MONTEIRO, A. C. B.; NAKASAWA, G. T.; MENDES, B. M. J.; RODRIGUES, A. P. M. Regeneração in vitro de *Passiflora suberosa* a partir de discos foliares. **Scientia Agrícola**, v. 57, p. 571-573, 2000a.

MONTEIRO, M. **Transformação genética de maracujá amarelo visando resistência à *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae***. 2005. 134 f. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2005.

MOORE, G. A.; JACOMO, C. C.; NEIDIGH, J. L.; LAWRENCE, S. D.; CLINE, K. *Agrobacterium*-mediated transformation of *Citrus* stem segments and regeneration of transgenic plants. **Plant Cell Reports**, v. 11, p. 238-242, 1992.

MORAES, M. C. **Mapas de ligação e mapeamento de QTL (*Quantitative Trait Loci*) em maracujá-amarelo**. 2005. 144 f. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2005.

MORAES, M. C.; GERALDI, I. O.; MATTA, F. P.; VIEIRA, M. L. C. Genetic and phenotypic parameter estimates for yield and fruit quality traits from a single wide cross in yellow passion fruit **HortScience**, v. 40, 2005. In press.

MULLINS, M. G.; TANG, F. C. A.; FACCIOTTI, D. *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of grapevines: transgenic plants of *Vitis rupestris* Scheele and buds of *Vitis vinifera* L. **BioTechnology**, v. 8, p. 1041-1045, 1990.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

MUSCHNER, V. C.; LORENZ, A. P.; CERVI, A. C.; BONATTO, S. L.; SOUZA-CHIES, T. T.; SALZANO, F. M.; FREITAS, L. B. A first molecular phylogenetic analysis of *Passiflora* (Passifloraceae). **American Journal of Botany**, v. 90, p. 1229-1238, 2003.

NAKAMURA, Y.; KOBAYASHI, S., NAKAJIMA, I. *Agrobacterium*-mediated transformation and plant regeneration from hypocotyls segments of Japonese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb). **Plant Cell Reports**, v. 17, p. 435-440, 1998.

OLIVEIRA, E. J.; PÁDUA, J. G.; ZUCCHI, M. I.; CAMARGO, L. E. A.; FUNGARO, M. H. P.; VIEIRA, M. L. C. Development and characterization of microsatellite markers from the yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Molecular Ecology Notes**, v. 5, p. 331-333, 2005a.

OLIVEIRA, E. J.; PÁDUA, J. G.; ZUCCHI, M. I.; CONSOLI, L.; MUNHOZ, C. F.; MARGARIDO, G. R. A.; GARCIA, A. A. F.; FUNGARO, M. H. P.; VIEIRA, M. L. C. Desenvolvimento de marcadores microssatélites em maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) com base em uma biblioteca genômica enriquecida. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 51., 2005, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Genética, 2005b. 1 CD ROM.

OLIVEIRA, R. P.; CRISTOFANI, M.; MACHADO, M. A. Genetic linkage maps of 'Pêra' sweet orange and 'Cravo' mandarin with RAPD markers. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 159-165, 2004.

OTAHOLA, V. Regeneración de plantas de parchita (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) a partir del cultivo *in vitro* de discos de hojas. **Bioagro**, v. 12, p. 71-74, 2000.

OTONI, W. C.; BLACKHALL, N. W.; D'UTRA VAZ, F. B.; CASALI, V. W.; POWER, J. B.; DAVEY, M. R. Somatic hybridization of the *Passiflora* species, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener, and *P. incarnata* L. **Journal of Experimental Botany**, v. 46, p. 777-785, 1995.

PÁDUA, J. G. **Análises genéticas de espécies do gênero *Passiflora* L. com base em abordagens filogenéticas, morfométricas e em marcadores microssatélites.** 2004. 112 f. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2004.

PÁDUA, J. G.; OLIVEIRA, E. J.; ZUCCHI, M. I.; OLIVEIRA, G. C. X.; CAMARGO, L. E. A.; VIEIRA, M. L. C. Isolation and characterization of microsatellite markers from the sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis: Passifloraceae). **Molecular Ecology Notes**. Disponível em: < <http://www.blackwell-synergy.com/action/doSearch>>. Acesso em: 2 ago. 2005.

PASSOS, I. R. S. **Comportamento *in vitro* em *Vitis* spp. e em *Passiflora nitida* H.B.K.** Piracicaba, 1999, 112 f. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1999.

PEÑA, L.; CERVERA, M.; JUÁREZ, J.; NAVARRO, A.; PINA, J. A.; DURÁN-VILA, N.; NAVARRO, L. *Agrobacterium*-mediated transformation of sweet orange and regeneration of transgenic plants. **Plant Cell Reports**, v. 14, p. 616-619, 1995a.

PEÑA, L.; CERVERA, M.; JUÁREZ, J.; ORTEGA, C.; PINA, J. A.; DURÁN-VILA, N.; NAVARRO, L. High efficiency *Agrobacterium*-mediated transformation and regeneration of citrus. **Plant Science**, v. 104, p. 183-191, 1995b.

PÉREZ-MOLPHE-BALCH, E.; OCHOA-ALEJO, N. Regeneration of transgenic plants of Mexican lime from *Agrobacterium rhizogenes*-transformed tissues. **Plant Cell Reports**, v. 17, p. 591-596, 1998.

PERLAK, F. J.; DEATON, R. W.; ARMSTRONG, T. O.; FUCHS, R. L.; SIMS, S. R.; GREENPLATE, J. T.; FISCHOFF, D. A. Insect resistant cotton plants. **Bio/Technology**, v. 8, p. 939-943, 1990.

PLOTZE, R. O.; FALVO, M.; PÁDUA, J. G.; BERNACCI, L. C.; VIEIRA, M. L. C.; OLIVEIRA, G. C. X.; BRUNO, O. M. Leaf shape analysis using the multiscale Minkowski fractal dimension, a new morphometric method: a study with *Passiflora* (Passifloraceae). **Canadian Journal of Botany**, v. 83, p. 287-301, 2005.

POPE, W.T. The edible passion fruit in Hawaii. **Hawaii Agricultural Experimental Station Bulletin**, v. 74, p. 1-22, 1935.

POWELL, W.; MACHRAY, G. C.; PROVAN, J. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. **Trends in Plant Science**, v. 1, p. 209-245, 1996.

QUECINI, V. M.; VIEIRA, M. L. C. Plantas transgênicas. In: SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M. de; AZEVEDO, J. L. de. (Coord.). **Biotecnologia na Agricultura e na Agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p. 279-331.

RAFALSKI, J. A.; MORGANTE, M.; VOGEL, J. M.; POWELL, W.; ANDRE, C.; TINGEY, S. V. Generating and using DNA markers in plant. In: BIRREN, B.; LAI, E. (Ed.). **Nonmammalian genomes: a practical guide**. San Diego: Academic Press, 1996. p. 75-134.

REIS, L. B.; PAIVA NETO, V. B.; TOLEDO PICOLI, E. A.; COSTA, M. G. C.; RÊGO, M. M.; CARVALHO, C. R.; FINGER, F. L.; OTONI, W. C. Axillary bud development of passionfruit as affected by ethylene precursor and inhibitors. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 39, p. 618-622, 2003.

REYNOIRD, J. P.; MOURGUES, F.; NORELLI, J.; ALDWINCKLE, H. S.; BRISSET, M. N.; CHEVREAU, E. First evidence for improved resistance to fire blight in transgenic pear expressing the *attacinE* gene from *Hyalophora cecropia*. **Plant Science**, v. 149, p. 23-31, 1999.

RIAZ, S.; DANGL, G. S.; EDWARDS, K. J.; MEREDITH, C. P. A microsatellite marker based framework linkage map of *Vitis vinifera* L. **Theoretical Applied Genetics**, v. 108, p. 864-872, 2004.

RITSCHHEL, P. S.; LINS, T. C. L.; TRISTAN, R. L.; BUSO, G. S. C.; BUSO, J. A.; FERREIRA, M. E. Development of microsatellite markers from an enriched genomic library for genetic analysis of melon (*Cucumis melo* L.) **BMC Plant Biology**, v. 4, p. 9-23, 2004.

RISTERUCCI, A. M.; GRIVET, L.; N'GORAN, J. A. K.; PIERETTI, I.; FLAMENT, M. H.; LANAUD, C. A high-density linkage map of *Theobroma cacao* L. **Theoretical Applied Genetics**, v. 101, p. 948-955, 2000.

RUGINI, E.; MARIOTTI, D.; PELLEGRINESHI, A.; MENCUCCINI, M. Increase of rooting ability in the wood species kiwi (*Actinidia deliciosa* A. Chev.) by transformation with *Agrobacterium rhizogenes* *rol* gene. **Plant Cell Reports**, v. 10, p. 291-295, 1991.

SÁNCHEZ, I.; ANGEL, F.; GRUM, M.; DUQUE, M. C.; LOBO, M.; TOHME, J.; ROCA, W. Variability of chloroplast DNA in the genus *Passiflora* L. **Euphytica**, v. 106, p. 15-26, 1999.

SANTOS, S. C.; RUGGIERO, C.; SILVA, C. L. S. P.; LEMOS, E. G. M. A microsatellite library for *Carica papaya* L. cv. Sunrise Solo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 263-267, 2003.

SEGURA, S. D.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; BOHORQUEZ, A.; OLLITRAULT, P.; TOHME, J. **An AFLP diversity study of the genus Passiflora focusing on subgenus Tacsonia**. Genetic Resources and Crop Evolution, v. 49, p. 111-123, 2002.

SEGURA, S. D.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; OCAMPO, N. C. H.; OLLITRAULT, P. Isozyme variation in *Passiflora* subgenera Tacsonia and Manicata. Relationships between cultivated and wild species. Genetic Resources and Crop Evolution, v. 50, p. 417-427, 2003.

SILVA, M. B. **Transformação genética de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener) mediada por *Agrobacterium tumefaciens***. 1998. 45 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1998.

SILVA-FILHO, M. C. One ticket for multiple destinations: dual targeting of proteins to distinct subcellular locations. **Current opinion in Plant Biology**, v. 6, p. 589-595, 2003.

SILVA-FILHO, M. C.; FALCO, M. C. Plantas transgênicas no melhoramento. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S. de; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 1011-1056.

SMIGOCKI, A. C.; HAMMERSCHLAG, F. A. Regeneration of plants from peach embryo cells infected with a shooty mutant strain of *Agrobacterium*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 116, p. 1092-1097, 1991.

SOARES-SCOTT, M. D. **Caracterização citogenética de algumas espécies e híbrido interespecíficos de *Passiflora***. 1998. Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

STAUB, J. E.; SERQUEN, F. C.; GUPTA, M. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. **HortScience**, v. 31, p. 729-740, 1996.

STENGER, D. C. Strain-specific mobilization and amplification of a transgenic defective-interfering DNA of the geminivirus beet curly top virus. **Virology**, v. 203, p. 397-402, 1994.

STEWART, C. N.; ADANG, M. J.; ALL, J. N.; RAYMER, P. L.; RAMACHANDRAM, S.; PARROTT, W. A. Insect control and dosage effects in transgenic canola containing a synthetic *Bacillus thuringiensis* cryIac gene. **Plant Physiology**, v. 112, p. 115-120, 1996.

TAKAHASHI, E. K. **Transferência do gene atacinaA para plantas de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) por biobalística**. 2002. 137 f. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2002.

TANKSLEY, S. D. Mapping polygenes. **Annual Review of Genetics**, v. 27, p. 205-33, 1993.

TESTOLIN, R.; HUANG, W. G.; LAIN, O.; MESSINA, R.; VECCHIONE, A.; CIPRIANI, G. A kiwifruit (*Actinidia* spp.) linkage map based on microsatellites and integrated with AFLP markers. **Theoretical Applied Genetics**, v. 103, p. 30-36, 2001.

TREVISAN, F. **Resistência ao vírus *Passion fruit woodiness virus* em maracujá transgênico expressando a capa protéica do vírus**. 2005. Dissertação (Mestrado)- Centro de Energia Nuclear Aplicado à Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

TREVISAN, F.; MENDES, B. M. J. Optimization of *in vitro* organogenesis in passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Scientia Agricola**, v. 62, p. 346-350, 2005.

ULMER, T.; MACDOUGAL, J. M. **Passiflora Passionflowers of the World**. Portland: Timber Press, 2004. 432 p.

VANDERPLANK, J. **Passion Flowers**. Cambridge: The MIT Press, 1996. 224 p.

VIEIRA, M. L. C.; DORNELAS, M. C. Regeneration of plants from protoplasts of *Passiflora* species (Passion Fruit). In: Bajaj, Y. P. S. (Ed.). **Biotechnology in agriculture and forestry: plant protoplasts and genetic engineering VII**. Berlin: Springer Verlag, 1996. p. 108-119.

VIEIRA, M. L. C.; CARNEIRO, M. S. Passifloraceae *Passiflora* spp. Passionfruit. In: LITZ, R. (Ed.). **Biotechnology of Fruit and Nut Crops**. Orfordshire: CAB International, 2004. p. 436-453.

WANG, G. L.; SONG, W. Y.; RUAN, D. L.; SIDERIS, S.; RONALD, P. C. The cloned gene, *Xa21*, confers resistance to multiple *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates in transgenic plants **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 9, p. 850-855, 1996.

WANG, Z.; WEBER, J. L.; ZHONG, G.; TANKSLEY, S. D. Survey of plant short tandem DNA repeats. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 88, p. 1-6, 1994.

WEBER, J. L. Informativeness of human (dC-dA)n (dG-dT)n polymorphisms. **Genomics**, v. 7, p. 524-530, 1990.

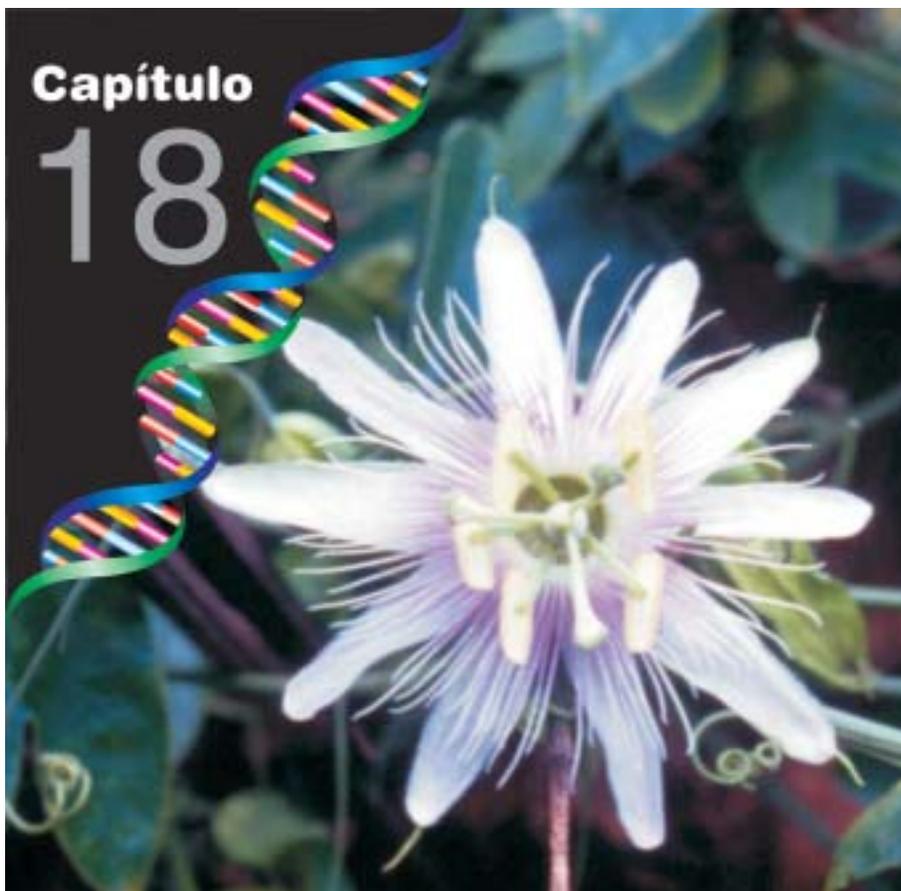
WEGENER, C.; BARTLING, S.; OLSEN, O.; WEBER, J.; VON WETTSTEIN, D. Pectatelyase in transgenic potatoes confers pre-activation of defense against *Erwinia carotovora*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 49, p. 359-376, 1996.

WEISSENBACH, J.; GYAPAY, G.; DIB, C.; VIGNAL, A.; MORISETTE, J.; MILLASEAU, P.; VAYSSEIX, G.; LATHROP, M. A second-generation linkage map of the human genome. **Nature**, v. 359, p. 794-801, 1992.

WILLIAMS, S.; FRIEDRICH, L.; DINCHER, S.; CAROZZI, N.; KESSMAN, E.; RYALS, J. Chemical regulation of *Bacillus thuringiensis* delta endo-toxin expression in transgenic plants. **Bio/Technology**, v. 7, p. 194-200, 1993.

YOCKTENG, R.; NADOT, S. Phylogenetic relationships among *Passiflora* species based on the glutamine synthetase nuclear gene expressed in chloroplast (*ncpGS*). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 31, p. 379-396, 2004.





E assim tão de repente a noite se fez dia.  
A vida acordou muito alegre e humorada  
nesta manhã festiva e tão ensolarada,  
De um maracujá mimosa flor se abria.

No céu espessas nuvens soberbas flutuavam  
Como quem embala a jovem flor mais bela.  
Da terra as palmeiras suas folhas balançavam  
Declarando amor tão fraternal a ela.

*Geovane Alves de Andrade*

# Problemas e perspectivas do maracujá ornamental

---

Mauro Peixoto

## Introdução

O gênero *Passiflora*, apesar de seu imenso potencial ornamental, com dezenas de espécies se prestando a esse fim, é praticamente ignorado pelos nossos paisagistas e também pelo público em geral. Países do Hemisfério Norte, com o clima bem menos favorável que o nosso, perceberam há mais de um século que poderiam fazer dele um elemento de decoração e também de renda para os seus produtores. Hoje em dia, é comum se avistar, nas seções de jardinagem de supermercados europeus e norte-americanos, diversas variedades de maracujá ornamental, tanto espécies, notadamente clones selecionados de *Passiflora caerulea* L. e *P. incarnata* L., quanto numerosos híbridos artificiais.

## Breve histórico do uso do maracujá como planta ornamental

O cultivo como planta ornamental em casas de vegetação remonta ao século XVII, na Europa, por volta de 1625, com as *Passiflora caerulea* L. e *P. incarnata* L. A planta foi enviada para o novo mundo envolvida na aura mística criada pelos jesuítas que a usavam para auxiliar na catequização dos índios como símbolo da Paixão de Cristo. Toda a planta era usada para esse fim, desde as folhas trilobadas que representariam as lanças dos soldados até as cinco anteras que simbolizavam as chagas de Cristo.

Por quase 200 anos, o cultivo ficou restrito às espécies, mas em 1819 Thomas Milne, da Inglaterra, conseguiu o primeiro híbrido artificial: Ele cruzou *P. racemosa*. Brot com *Passiflora caerulea* L. obtendo, assim *Passiflora* ‘Violacea’, ainda hoje em cultivo.

Os dias de glória declinaram com o advento das duas guerras mundiais, principalmente, devido ao alto custo de manutenção das casas de vegetação durante o inverno, e muitas espécies e híbridos foram perdidos, somente sendo reintroduzidos no cultivo, apenas recentemente como o caso da *Passiflora kermesina* Link & Otto que foi perdida na segunda guerra mundial e devolvida ao cultivo no final dos anos 90.

## Situação atual no Brasil e no mundo

Pode-se dizer, com pequena margem de erro, que é virtualmente inexistente o uso, no Brasil, do maracujá com a finalidade exclusiva de ornamentação. O que vemos esporadicamente no Sudeste é o uso misto do maracujá-doce - *Passiflora alata* Dryand. e mais raramente do maracujá-azedo - *Passiflora edulis* Sims em pérgulas ou cercas para aproveitar os frutos e ter como bônus uma bela e perfumada flor.

Na Região Norte, a *Passiflora coccinea* Aubl. substitui a *Passiflora alata*. Dryand e, no Nordeste, usa-se a *Passiflora cincinatta* Mast.

Foto: Mauro Peixoto



*Passiflora coccinea*  
Aubl.

No Hemisfério Norte, a situação se inverte. Lá, o maracujá é ornamental por definição e não existe a preocupação com os frutos que, por sua vez, são raros devido ao cultivo de um único clone de cada espécie ou variedade híbrida.

Desde a *Passiflora* 'Violacea', já se produziram e registraram mais de 400 híbridos com a finalidade de gerar flores para todos os gostos e ambientes. Atualmente, um dos maiores pólos de produção de híbridos fica na Alemanha, e o Dr. Roland Fischer é um dos expoentes, fazendo melhoramento genético e induzindo plantas à tetraploidia, conseguindo, assim, flores maiores e mais vistosas em plantas adaptadas ao cultivo em vasos.



Foto: Dr. Roland Fischer

*Passiflora* 'Jara'

## Perspectivas

Devido ao nosso clima extremamente favorável, grande parte das mais de 500 espécies e 400 híbridos registrados se prestam ao cultivo ornamental, seja como soluções paisagísticas para áreas grandes e médias, seja como plantas para vaso que são usadas em varandas ou dentro de casa.

Em lugares que necessitam de grande massa foliar, como para a cobertura de um barranco exposto ao sol, poder-se-á usar a *P. malacophylla* Mast, P. 'Cordelia' (*P. coccinea* Aubl. x *P. vitifolia* H.B. & K.), P. 'Lady Margret' (*P. coccinea* Albl. x *P. incarnata* Linn). Se o lugar for sombreado, é possível usar *P. amethystina* Mikan para esse fim.



Foto: Mauro Peixoto

*Passiflora* 'Lady Margret'

Para uma pérgula ao sol, as *P. seemannii* Griseb., *P. actinia* Hook, *P. sidaefolia* M. Roem, *P. serrulata* Jacq., *P. triloba*, Ruiz & Pav. Ex DC são ótimas escolhas, pois todas têm flores pendentes, vistosas e perfumadas.



Foto: Mauro Peixoto

*Passiflora seemanni* Griseb



*P. triloba*, Ruiz & Pav. Ex DC

Caso ela esteja situada em lugar à meia-sombra, a *P. racemosa* Brot. é imbatível, com seus lindos cachos de flores que se abrem sucessivamente por um longo período de tempo.



Foto: Mauro Peixoto

*Passiflora racemosa* Brot.

Se a intenção for uma cerca viva separando ambientes, podem-se usar *P. sanguinolenta* Mast & Linden, *P. tulae* Urb., *P. auriculata* H.B. & K. que possuem folhas pequenas e apresentam grande quantidade de flores abertas simultaneamente.



Foto: Mauro Peixoto

*Passiflora sanguinolenta* Mast & Linden.



*P. auriculata* H.B. & K.

Vasos: É perfeitamente possível cultivar praticamente todas as passifloras em vasos grandes ou médios, desde que a planta tenha um suporte adequado e se faça uma poda criteriosa para mantê-la dentro dos limites desejados. Para varandas ou lugares à meia-sombra, pode-se usar *P. racemosa* Brot., ou *P. kermesina* Link & Otto., pois, além de a flor ser ornamental, tem também o verso das folhas avermelhado, o que a torna atrativa mesmo sem as flores.

Aliás, algumas passifloras são cultivadas exatamente por causa das folhas decorativas e variegadas, como *P. coriacea* A. Rich. ou *P. tricuspis* Mast.

Para o cultivo dentro de casa, próximo de uma janela bem iluminada, existem plantas muito compactas, porém, com flores belíssimas como *P. murucuja* Linn. ou com folhas variegadas, como *P. organensis* Gardn.



*Passiflora murucuja*

Autoria da foto



*P. kermesina* Link & Otto

## Problemas

Os problemas são basicamente dois:

1. Cultural: O maracujá é visto, de maneira geral, como fruto e não como flor.

Esse é um paradigma enraizado em nossa cultura e apesar de não ser difícil sua erradicação, é necessário que se faça um trabalho de conscientização sistemática pelas vias competentes.

2. De cultivo: O maior empecilho para o cultivo do maracujá como planta ornamental é sua facilidade para atrair borboletas e, conseqüentemente, suas larvas que podem desfolhar uma planta em pouco tempo. O controle deve ser feito pela retirada manual das larvas ou pulverização com inseticidas no caso de infestações graves.

## Conclusões

O cultivo do maracujá como planta ornamental é viável tanto do ponto de vista econômico como paisagístico, necessitando apenas de divulgação que poderia ser feita por meio de revistas especializadas em jardinagem e paisagismo possibilitando, assim, a quebra do paradigma e constatando que o maracujá pode ser usado “também” para fruto e não “apenas” para fruto.

## Referências bibliográficas

CERVI, A. C. **Passifloraceae do Brasil**: estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. Madrid: Fontqueria XLV, 1977.

FISCHER, R. Hybrids and Hybridization. In: ULMER, T.; MacDOUGAL, J. M. **Passiflora**: passionflowers of the world. Portland: Timberpress, 2004. p. 362-376.

VANDERPLANK, J. **Passionflowers**. 2th ed. London: Cassel, 1996.





Dicen que la planta maracuyá pertenece  
A la grande familia de las granadillas  
Su pulpa aromática a nosotros ofrece  
Nutrimentos comparables a los de las frutillas.

Crece en clima tropical y algo lluvioso  
Tendido a las ramas como verde corbata.  
Así teje un mantel inmenso y armonioso  
Mezclándose a otros vegetales de la mata.

Lleva algo de niacín y betacarotina  
Que ahuyenta el insomnio y la ansiedad.  
Contiene también altas dosis de proteína  
Y mejora la salud de nuestra sociedad.

Además de los frutos dulce y comestibles  
Hay especies de uso muy medicinales.  
Sin decir que sus flores bellas e increíbles  
Embrujan la selva como diosas terrenales.

*Geovane Alves de Andrade*

# Utilização das Passifloraceae na criação de borboletas

---

Fernando Correa Campos Neto

## Introdução

A família Passifloraceae abriga as plantas hospedeiras das borboletas da tribo Heliconiini. Ambos, as Passifloraceae e os Heliconiini, são típicos das Américas, mas também ocorrem na África e na Ásia, são aproximadamente 500 espécies de maracujás e quase uma centena de borboletas dessa tribo. Algumas com distribuição ampla, como a borboleta *Dryas iulia*, sendo uma de suas plantas hospedeiras *Passiflora suberosa*, outras com ocorrência relativamente restrita, como *Heliconius nattereri* e a Passifloraceae *Tetrastyles ovalis*. Essa estreita relação entre plantas e borboletas, mais precisamente entre plantas e lagartas, pois estas se alimentam de suas folhas, criando significativa interface que torna o estudo das Passifloraceae imprescindível para o conhecimento dessas borboletas. Uma nova atividade que envolve a produção de Passifloraceae para a criação de borboletas em fase de expansão são os borboletários considerados como espaço de lazer contemplativo de pesquisa, de conservação e como uma multifuncional ferramenta de Educação Ambiental.

## O borboletário

Trata-se de um espaço voltado para a apresentação do mundo dos Lepidópteros, principalmente, das borboletas de hábitos diurnos e mais coloridas que as mariposas. No borboletário, o visitante, ao contrário do que ocorre na maioria dos recintos, entra no viveiro e divide o espaço com esses insetos. É uma vivência de imersão, o contato é direto e interativo. As borboletas pousam no colorido da roupa do visitante e até mesmo chegam a sugar o suor de sua pele. Esse contato tão íntimo, com esses seres, que são representantes da mais pura beleza, delicadeza, vida, renovação e liberdade, cria uma condição muito especial na qual o público torna-se mais aberto à abordagem de outras questões ambientais.

Os borboletários surgiram na década de 1970 na Europa e, nos anos 80, no Japão; espalharam-se, também, pela América do Norte. No Brasil, apesar da riqueza da fauna da flora e do clima favorável, surgiram mais tarde. No final de 1996, foi inaugurado um borboletário na Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte e alguns outros o seguiram. Nos últimos dois anos, o número tem aumentado mais rapidamente. Ao que parece, finalmente, essa idéia está sendo difundida por todo o País. A efêmera vida das borboletas, em média, um mês na fase adulta, faz do borboletário um criadouro dinâmico e produtivo, longe da maioria dos recintos de um jardim zoológico que, normalmente, mantém animais de grande longevidade. A criação de milhares de lagartas todos os meses demanda uma produção de grande quantidade de plantas hospedeiras, entre elas diversas Passifloraceae. Existe, agora, uma nova ótica para o estudo dos maracujás, voltada para a produção de plantas hospedeiras para lagartas dos Heliconiini que envolve levantamento, identificação, reprodução, cultivo, hibridização e até a produção de dietas artificiais.

## A escolha de borboletas e de plantas

No borboletário, o mundo das borboletas deve ser apresentado com toda a sua diversidade, dessa forma, é importante que se tenham borboletas de tamanhos, cores, formas e comportamentos variados e que representem as principais famílias. O ideal seria criar espécies da região, evitando que a fuga de espécies exóticas viesse a se tornar um problema. No Brasil isto ocorre, pois a riqueza de nossa fauna e flora permite a escolha de grande número de borboletas em todas as regiões do País. Algumas características são especialmente interessantes como: longevidade como adulto, ciclo rápido como lagarta, adaptação ao cativeiro, nível de atividade, beleza, delicadeza e cores vivas e na maioria dos Heliconiini é possível observar essas características, estando entre as mais recomendadas para borboletários, principalmente, as do gênero *Heliconius*, que chegam a viver até seis meses como adulto. Algumas espécies são muito polípagas, como *Agraulis vanillae* e *Dione juno*, outras muito seletivas, como *H. nattereri*, certas espécies são bastante resistentes a doenças, outras são mais suscetíveis a viroses. Estes são critérios que se deve levar em conta na escolha das espécies que devem ser criadas.

Quanto às plantas, o primeiro passo é o levantamento e a identificação das espécies de borboletas e das plantas hospedeiras usadas por elas. Precisa-se de espécies bem-aceitas pelas lagartas cuja reprodução seja fácil e sejam muito produtivas, não em frutos, mas em folhas, que os galhos cortados tenham durabilidade em vasos com água e produzam brotos mais tenros e que produzam menos toxinas e mais nutrientes. Também é interessante cultivar diferentes espécies de plantas de modo a atender às diversas espécies de borboletas, aproveitar as diferentes épocas de brotação e não ficar sujeito à ocorrência de doenças que, afetando uma única espécie, comprometam toda a produção. Conseguir híbridos mais produtivos ou mais bem-aceitos também é um

bom caminho. O desenvolvimento de dietas artificiais com baixa concentração de folhas desidratadas da planta hospedeira pode ser útil para criação de grandes quantidades de lagartas principalmente para regiões mais frias onde é necessário o uso de estufas aclimatadas para a produção das plantas no inverno.

## O cultivo

Podemos nos valer das informações geradas sobre o cultivo de *Passiflora edulis* ou *P. alata*, no entanto, ainda precisamos fazer algumas adaptações tendo em conta que cultivaremos outras espécies e que o objetivo é a produção de folhas e não de frutos. Muitas vezes semearmos um número excessivo de sementes num vaso inadequado ao pleno desenvolvimento de uma única planta, mas, se o objetivo for o fornecimento de brotos tenros para criação de lagartas, é uma opção interessante para a concentração da planta hospedeira em um vaso pequeno e leve. Em alguns casos, em que se cria grande quantidade de lagartas com uma planta hospedeira que dura bem em vaso com água, como *Passiflora misera*, é mais prático plantar diretamente no solo em longos canteiros e oferecer a planta em vasos com ramos cortados. Para a criação de algumas espécies, é mais recomendável que a planta esteja em vaso, especificamente, para a coleta de ovos. O melhor é que seja um vaso bem pequeno, com um volume inferior a meio litro, nesse caso, um substrato mais leve e rico deixaria o vaso ainda mais leve. Este vaso ficará pendurado no interior do viveiro para que as borboletas depositem seus ovos, isto porque algumas borboletas têm como estratégia a postura de ovos fora da planta hospedeira, evitando o encontro entre ovos e lagartas canibais. Tal comportamento torna necessária a instalação de fibras de sisal em volta do vaso onde serão depositados os ovos e o distanciamento do vaso em relação ao solo e a outras plantas, de modo que os ovos, bem como sejam depositados exclusivamente nas fibras, tornando sua coleta mais rápida e eficiente. Conseguir uma seleção de plantas de forma que cada uma delas seja aceita por apenas uma única espécie de borboleta facilitaria a separação de

ovos, que é muito difícil quando temos diversas espécies no viveiro, pois todos eles são depositados numa mesma planta.

## Conservação

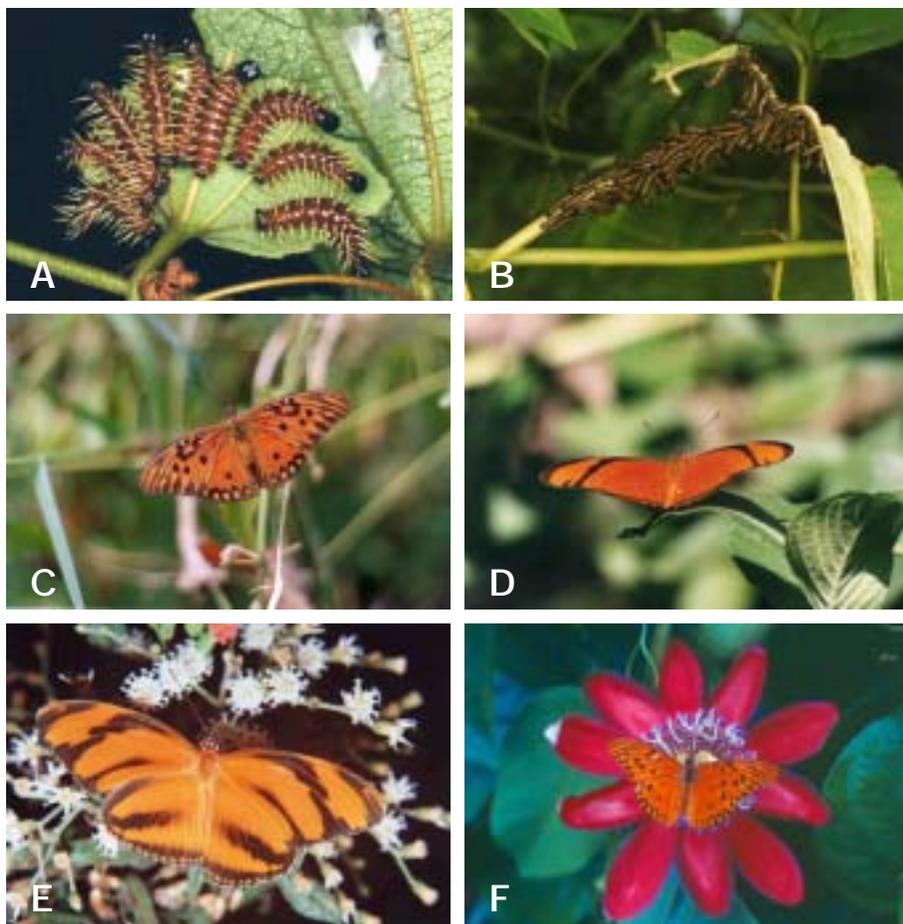
Outro aspecto que demanda pesquisa e valorização é a inclusão das plantas hospedeiras dos Lepidópteros nos planos de recomposição de áreas degradadas. Normalmente, são plantadas árvores de grande porte e são valorizadas as plantas que fornecem frutos para animais de grande e médio portes, raramente os insetos são lembrados. Nesse sentido, as Passifloraceae não fogem à regra, são negligenciadas como fornecedoras de frutos para os animais e como planta hospedeira dos Heliconiini. Há muitas espécies raras de Passifloraceae que precisam ser mantidas e acompanhadas em áreas de preservação e também de borboletas, como *Heliconius nattereri*, que demandam cuidados. Uma das ações nesse sentido seria a produção e o repovoamento de sua planta hospedeira, no caso *Tetrastyles ovalis*, nas áreas em recuperação dentro da sua área de ocorrência. Essas ações demandam trabalhos de levantamento, taxonomia, reprodução e cultivo, estudos conjuntos que não dissociem os Heliconiini das Passifloraceae.

## Conclusão

A produção de Passifloraceae para a criação de borboletas é uma nova demanda que requer pesquisas mais específicas quanto à identificação, distribuição ou ocorrência, às técnicas de reprodução e aos cuidados relativos ao cultivo dos maracujás para os borboletários.

## Referência bibliográfica

BROWN JR., K. S.; MIELKE, O. H. H. The heliconians of Brazil (Lepidoptera: Nymphalidae). Part II. Introduction and general comments, with a supplementary revision of the tribe. **Zoologica**, New York, v. 57, p. 1-40, 1972.



A- Lagartas de *Heliconius Wallacei* em *P. vitifolia*; B- Lagartas de *Dione juno* em *P. serrato-digitata*; C- Adulto de *Agraulis vanillae*; D- Adulto de *Dryas iulia*; E- Adulto Macho de *Dryadula phaetusa*; F- Adulto de *Agraulis vanillae* em flor de *P. alata*.



E o vento entoava a música do tempo  
Sem presa, surpresa ou rima repetida.  
Porque muito tranqüila, a mãe natureza  
Criava passo a passo o milagre da vida.

E o Brasil que outrora era Pindorama,  
O torrão sagrado dos Tupiniquins,  
É o berço desta flor que frutifica, enrama,  
E hoje é encontrada em todos seus confins.

*Geovane Alves de Andrade*

# O maracujá e suas propriedades medicinais - estado da arte

---

Ana Maria Costa

Daiva Domenech Tupinambá

## Introdução

**N**a América tropical, originou a maioria das espécies de maracujá que compõe a família Passifloraceae (Souza & Meletti, 1997), Ordem Violales, Classe Magnoliopsida e Filo Magnoliophyta. Estima-se que somente o gênero *Passiflora* possua em torno de 500 espécies, muitas cultivadas pelas propriedades medicinais, sendo que no Brasil existem cerca de 120 espécies nativas. Apesar do nome popular aplicado a todas as espécies, apenas duas são cultivadas comercialmente para a produção dos frutos: *Passiflora alata* (maracujá-doce) e *Passiflora edulis* (maracujá-azedo). Embora todas as espécies produzam frutos, nem todos podem ser consumidos, havendo até alguns que são tóxicos. Pelo desenho de seus componentes florais, principalmente dos órgãos masculinos (estames) e femininos (carpelos) em forma de cruz, são também denominados de "flor-da-paixão". A beleza de suas flores não está somente na forma de seus componentes florais, mas, principalmente, na variedade de cores (virtualmente todas).

A utilização do maracujá como planta medicinal faz parte da cultura de povos americanos, europeus e asiáticos. Espécies comerciais e silvestres integram o repertório etnofarmacológico que recomenda folhas, flores, raízes e frutos para combater as mais diferentes enfermidades, do controle de verminoses ao tratamento de tumores gástricos. Contudo, a fama do maracujá vem da ação benéfica sobre o sistema nervoso, sendo indicado,

principalmente, no combate à ansiedade, à depressão e à insônia (Matos, 2002; Dhawan et al., 2004).

Apesar de as propriedades medicinais do maracujá serem conhecidas mundialmente, ainda é pequena a informação científica sobre o assunto. Pouco se sabe, ainda, a respeito da composição bioquímica, princípios ativos e efeitos sobre a saúde humana da maioria das espécies usadas como medicinais. Os estudos se concentram basicamente nas espécies comerciais: *Passiflora edulis*, *Passiflora caerulea* e *Passiflora incarnata*.

Em termos nutricionais, os maracujás comerciais apresentam excelentes qualidades nutritivas, são ricos em minerais e vitaminas, principalmente A e C, alcalóides, flavonóides e carotenóides, substâncias que, em geral, atuam na prevenção de doenças. (Suntornsuk et al., 2002; Casimir et al., 1981).

Dhawan et al. (2004) organizaram grande parte das informações apresentadas neste capítulo.

## Etnofarmacologia

A medicina popular atribui ao maracujá várias propriedades benéficas à saúde que variam de acordo com a espécie e cultura local.

O Brasil agrega porção significativa da diversidade genética de maracujás com uso medicinal. Espalhados por grande parte do território, diferentes espécies são utilizadas como sedativos, diuréticos, analgésicos, no controle da ansiedade, combate à insônia, erisipela e doenças inflamatórias da pele, entre outras aplicações (Oga et al., 1984; Matos, 2002; Dhawan et al., 2004). Dentre as nativas mais populares estão a *Passiflora caerulea*, *Passiflora edulis*, *Passiflora foetida* e *Passiflora incarnata*.

No século XVII, a espécie brasileira *Passiflora caerulea* foi introduzida na Inglaterra para ser usada como sedativo e no controle da ansiedade. Hoje é um dos maracujás medicinais mais difundidos na Europa e Ásia juntamente com o espécime peruano de *Passiflora incarnata*. Em geral, o efeito medicinal

calmante é obtido da infusão de folhas e flores e da polpa dos frutos. As raízes da *P. caerulea* também são usadas nos Países Baixos, Índia, América do Sul e México como vermífugo. Na Itália, utiliza-se a planta também como antiespasmódico. Nas Ilhas Maurício, recomendam-se tinturas e extratos desse maracujá para controle da insônia e vários distúrbios do sistema nervoso, enquanto as raízes são empregadas como diurético. Na Argentina, a medicina popular recomenda as partes aéreas de *P. caerulea* como antimicrobiano no tratamento da pneumonia e tosse com catarro (Anesini & Perez, 1993).

Menos difundida, mas também presente na cultura de vários povos está a *Passiflora edulis*. Nas Américas, a planta é utilizada como sedativo, calmante, diurético, anti-helmintico, antidiarréico, tônico e no tratamento da hipertensão, sintomas da menopausa, cólicas infantis e insônia (Matos, 2002; Dhawan et al., 2004). O fruto, na Ilha da Madeira, é considerado estimulante gástrico e é usado como auxiliar no tratamento de carcinomas gástricos (Watt & Breyer-Brandwijk, 1962 revisto em Dhawan et al., 2004). Em Nagalan (Índia), folhas frescas de *P. edulis* são fervidas em um litro de água e o extrato bebido para o tratamento da diarreia e hipertensão (Jamir et al., 1999). Os frutos são ingeridos frescos para constipação.

Infusão de folhas de *Passiflora foetida* controla a histeria e insônia segundo a tradição nigeriana (Nwosu, 1999). Essa planta é muito cultivada na Índia. As folhas são utilizadas para dores de cabeça, distúrbios biliares e asma. Os frutos são utilizados para prevenir vômitos. No Brasil, pomadas e loções contendo extratos da folha são recomendados para erisipela e inflamações (Dhawan et al., 2004).

Um trabalho publicado em latim, no ano de 1787, na “Matéria Médica Americana”, na Alemanha, menciona o uso de *Passiflora incarnata* também para tratamento da erisipela da idade (Dhawan et al., 2004). Trabalhos antigos descrevem o uso dessa espécie no tratamento de espasmos e insônia de crianças e idosos (Bratram, 1995 e CSIR 1965a, b, revisto por Dhawan et al., 2004). Trata-se de uma planta tradicionalmente usada na Europa (Handler, 1962 revisto por Dhawan et al., 2004) e na homeopatia (Rawat, 1987 revisto por Dhawan et al., 2004). Na América do Norte, é recomendada para insônia,

ansiedade e como sedativo (Bergner, 1995 revisto por Dhawan et al., 2004). No Brasil, essa espécie é usada como analgésico, antiespasmódico, no controle da asma, como vermífida e sedativo. No Iraque, como sedativo e narcótico. Na Turquia, no tratamento da dismenorréia, epilepsia, insônia, neuroses e neuralgia. Na Polônia, na cura da histeria e neurastenia. Na América, no tratamento da diarreia, dismenorréia, neuralgia, queimaduras, hemorróidas e insônia (Taylor, 1996 revisto por Dhawan et al., 2004). A espécie também é empregada na Índia sendo usada no tratamento de dependentes de morfina pela medicina tradicional daquele país (Lad 2000 e Vasudev, 1955 revisto em Dhawan et al., 2004).

*Passiflora laurifolia* Linn. é usada em Trinidad para tratamento das palpitações cardíacas, distúrbios nervosos (Rainntree Nutrition, 1999 revisto em Dhawan et al., 2004).

Suco do maracujá *Passiflora maliformis* Linn é usado para controlar febre no Brasil (Dhawan et al., 2004). *Passiflora quadrangularis* Linn (maracujá-gigante) é usado em todo o Caribe como sedativo para dores de cabeça. Chá das folhas é bebido para controle da pressão arterial e diabetes (Seaforth et al., 1983 revisto em Dhawan et al., 2004). Nas Ilhas Maurício e Rodrigues, banhos com folhas cozidas de *Passiflora suberosa* são usados o tratamento de doenças de pele. Raízes cozidas são usadas para induzir a menstruação e controlar histeria (Fakim et al., 1993). Na América Central, brotos de *Passiflora pedunculata* Mast., partes aéreas de *Passiflora sexflora* Juss e *Passiflora vitifolia* HBK vêm sendo usadas contra picadas de cobra (Morton, 1981 revisto em Dhawan et al., 2004).

O uso popular difundido e suas várias aplicações sugerem o potencial desse gênero para a pesquisa de princípios medicamentosos interessantes.

## Fitoconstituintes

A maior parte das informações sobre a constituição bioquímica do gênero *Passiflora* provém das espécies *Passiflora incarnata* e *Passiflora edulis* seguido da *Passiflora alata*. Ainda é pequeno o conhecimento para as demais

espécies (Pereira et al., 2000; Dhawan et al., 2004). Em geral, as espécies estudadas são ricas em alcalóides indólicos (passiflorina, harmina, harmanol, harmalina), flavonóides (vitexina, isovitexina, neohesperidina, saponarina, crisina, BZF), esteróis (stigmasterol, sitosterol), lignanos (ácido caféico e ferrúlico), cianoglicosídeos, entre outros, havendo diferenças quantitativas de espécie para espécie (Pereira et al., 2000).

Em termos de função, atribui-se principalmente aos flavonóides crisina e BZF o efeito contra ansiedade da *Passiflora* e aos cianoglicosídeos, o efeito hipotensor por vasodilatação periférica.

Segue-se o resumo dessas informações para as três espécies mais conhecidas e demais espécies.

## **Fitoconstituintes da *Passiflora incarnata***

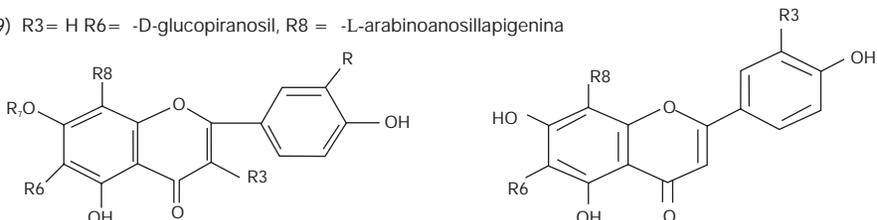
### ***Flavanóides***

Os flavanóides compõem a principal categoria presente na espécie *Passiflora incarnata*. Segundo levantamento realizado por Dhawan et al., 2004, estão presentes na planta: apigenina (1), luteolina (2), quercetina (3), caempferol (4) (Gavasheli et al., 1974a), 6- $\beta$ -d-alopiranosil-8- $\beta$ -xilopiranosil-apigenina (Grandolini et al., 1997); flavonóides C-glucosil vitexina (5) isovitexina (6) (Lutomski et al., 1981), orientina (7), isoorientina (8), escaftosídeo (9), isoscaftosídeo, isovitexina-2''-O-glicopiranosídeo, isoorientina-2''-O-glico-piranosídeo, 2-glicosilapigenina, isoscoparina-2''-O-glucoside, 2''-O-glucosil-6-C-glucosilapigenina, 6- $\beta$ -d-glucopiranosil-8- $\beta$ -d-ribopiranosil apigenina e suertisina (Chimichi et al., 1998; Congora et al., 1986; Geiger & Markham, 1986; Li et al., 1991; Proliac & Raynaud, 1988; Rahman et al., 1997).

Dentre as *Passifloras* estudadas, a *P. incarnata* é a que apresenta maior concentração do flavanóide isovitexina. (Menghini et al., 1993). Esse componente é mais concentrado nas folhas, estando em maior quantidade na época de pré-floração e floração (Menghini et al., 1993).

Flavonide	R8	R7	R6	R3	R
(1) apigenina	H	H	H	H	H
(2) luteolina	H	H	H	H	OH
(3) quercetina	H	H	H	OH	OH
(4) caempferol	H	H	H	OH	H
(5) vitexina	C-glucosil	H	H	H	H
(6) Iso-vitexina	H	H	C-glucosil	H	H
(7) orientina	C-glucosil	H	H	H	OH
(8) Iso-orientina	H	H	C-glucosil	H	OH

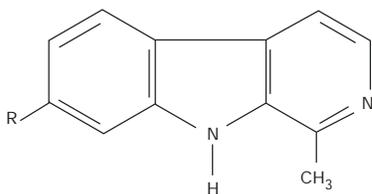
(9) R3 = H R6 = -D-glucopiranosil, R8 = -L-arabinoanosillapigenina



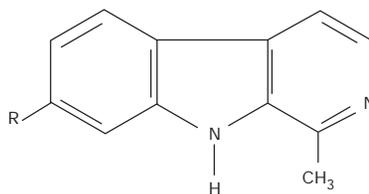
Fórmula geral dos flavanóides.

## Alcalóides

*Passiflora incarnata* contém alcalóides indólicos baseados em anéis de  $\beta$ -carbonila, como a harmana (10), harmol (11) harmalina (12) harmalol (13) e harmalina (14) (Poetheke et al., 1970). O conteúdo de harmana e harmina nos extratos medicinais de *P. incarnata* é de 10 a 20  $\mu\text{g}/100\text{ ml}$  (Bennati, 1971). Tsushiya e colaboradores em 1999 determinaram os teores de todos os alcalóides do tipo  $\beta$ -carbonila por HPLC pela detecção fluorométrica seletiva.



- (10) R = H = Harmana  
 (11) R = OH = Harmol  
 (12) R = OCH<sub>3</sub> = Harmina



- (13) R = OH = Harmalol  
 (14) R = OCH<sub>3</sub> = Harmalina

Fórmula estrutural dos alcalóides encontrados no género *Passiflora*.

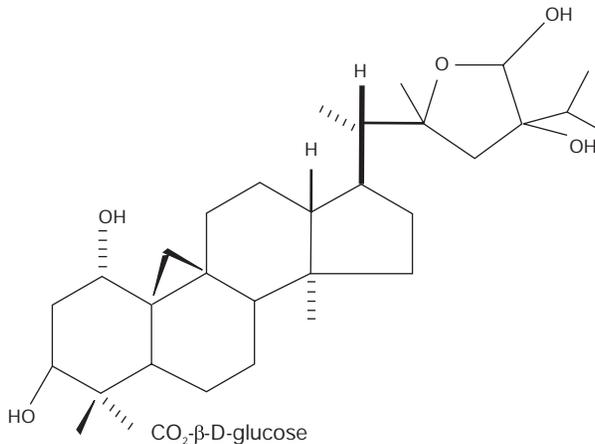
## Fitoconstituintes diversos

Estão presentes em *P. incarnata* também  $\gamma$ -benzo-pirona derivados de maltol (Aoyagi et al., 1974a), carboidratos como a rafinose, sacarose, D-glicose e D-frutose (Gavasheli et al., 1975); óleos essenciais contendo hexanol, álcool benzílico, linalol, álcool 2-feniletil, ácido 2-hidroxibenzóico-metil-éster, carvona, trans-anethol, eugenol, isoeugenol,  $\beta$ -ionona,  $\alpha$ -bergamotol, fitol (Buchbauer et al., 1992), vinte e um aminoácidos (Gavasheli et al., 1974b) e um glicosídeo cianogênico ginocardinina (Spencer & Seigler, 1984).

## Fitoconstituintes da *Passiflora edulis*

### Glicosídeos

A partir de extratos metanólicos de folhas secas ao ar extrai-se um ciclopropano triterpeno glicosídeo denominado de Passiflorina.



Fórmula estrutural da Passiflorina extraída de *Passiflora edulis*.

*P. edulis* é rica em glicosídeos incluindo os flavanóides glicosídeos, luteolina-6-C-chinovosídeo, luteolina-6-C-fucosídeo (Mareck et al., 1991);

ciclopentenóide cianohidrina glicosídeos passicapsina e passibiflorina (Olafsdottir et al., 1989a, b); glicosídeos cianogênicos passicoriacina, epipassicoriacina e epitetrafillina B (Seigler & Spencer, 1989) rutinosídeo- $\beta$ -cianogênico {(R)-mandelonitrile- $\alpha$ -L-rhamnopiranosil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo} (Chassagne & Crouzet, 1998), amigdalina, prunasina, mandelonitrila ramnopiranosil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo, sambunigrina (Chassagne et al., 1996); 6-O- $\alpha$ -L-arabinopiranosil- $\beta$ -D-glicopiranosídeos de linalool, álcool benzílico e 3 metil-but-2-en-1-ol (Chassagne et al., 1996); b-D-glicopiranosídeo e 6-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosil- $\beta$ -D-glicopiranosídeo de metil salicilato e  $\beta$ -D-glicopiranosídeo de eugenol (Chassagne et al., 1997).

## Fenóis

Foram encontrados até o momento os seguintes compostos fenólicos em *P. edulis*:

4-Hidroxi- $\beta$ -ionol, 4-oxo- $\beta$ -ionol, 4-hidroxi-7,8-dihidro- $\beta$ -ionol, 4-oxo-7,8-dihidro- $\beta$ -ionol, 3-oxo- $\alpha$ -ionol, 3-oxo retro- $\alpha$ -ionóis isoméricos, 3-oxo-7,8-dihidro- $\alpha$ -ionol, 3-hidroxi-1,1,6-trimetil-1,2,3,4-tetrahidronaphthalenemifoliol e dehidroiomifoliol (Winterhalter, 1990), álcoois terpênicos linalool e a-terpeneol (Challier et al., 1990), terpeno dióis (E) e (Z)-2,6-dimetil-octa-2,7-dieno-1,6-diol, 2,6-dimetil-octa-3,7-dien-2,6-diol, 2,6-dimetil-1,8-octanediol, 2,6-dimetil-octa-1,7-dieno-3,6-diol e ionol foram identificados derivados oxigenados na posição 3, e 2,5-dimetil-4-hidroxi-3-(2H)-furanona (furaneol) (Chassagne et al., 1999). Foram isoladas duas novas iononas I e II (23, 24) (Naf et al., 1977) pela primeira vez em *P. edulis*.

## Alcalóides

Os alcalóides descritos para *P. edulis* são as harmana (10), harmina (11), harmalina (13) e o harmalol (14). Concentração elevada de harmana está presente nas folhas (0,12 mg %) (Lutomski & Malek, 1975; Lutomski et al., 1975).

## Outros fitoconstituintes

Além dos glicosídeos, fenol e alcalóides estão presentes vários outros compostos na espécie *P. edulis*: **Carotenóides**: fitoeno, fitoflueno,  $\alpha$ -caroteóide, licopeno, prolicopeno, monoepoxi- $\beta$ -caroteno,  $\beta$ -criptoxantina,  $\beta$ -citraurina, anteraxantina, violaxantina, neoxantina (Mercadente et al., 1998),  $\alpha$ -caroteno,  $\gamma$ -caroteno,  $\alpha$ -criptoxantina,  $\beta$ -apocarotenol (Goday & Rodriguez, 1994). **Ácido I-ascórbico** (Wekesa et al., 1996). **Antocianinas**: cianidina-3-O- $\beta$ -glicopiranosídeo e cianidina-3-O- $\beta$ -galactopiranosídeo (Chang & Su, 1998), cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3-6''-malonil glicosídeo, pelargonidina-3-glicosídeo (Kidoey et al., 1997).  **$\gamma$ -Lactonas**:  $\gamma$ -hexa,  $\gamma$ -deca e  $\gamma$ -docecalacetona;  $\gamma$ -hepta,  $\gamma$ -octa e  $\gamma$ -nona lactona (Nitz et al., 1990), quatro alquilados  $\gamma$ -lactonas (Bernreuther et al., 1989). Foram identificados 66 **compostos responsáveis pelo aroma**, dentre eles: ésteres (Yamaguchi et al., 1983 revisto por Dhawan et al., 2004), 3-metil-tiohexano-1-ol, 2-metil-4-propil-1, 3-oxationa enantiômeros (Mosandl & Heusinger, 1983), edulantes I e II (25, 26) (Whitfield et al., 1974 revisto por Dhawan et al., 2004). 3-metil-2 butanona, etil lactato, dietilmalonato e 3-penten-2-ol, estes últimos presentes somente em *P. edulis* (Jordan et al., 2002). **Óleos voláteis**: hexil caproato e butirato e etil caproato e butirato (95%) (Dawes & Paul, 1961), limoneno (Kuhlmann, 1984), 2-tridecanona (62.9%), ácido (9Z)-octadecenóico (16.6%), 2-pentadecanona (6.2%), ácido hexadecanóico (3.2%), 2-tridecanol (2.1%), ácido octadecanóico (2%) e óxido cariofileno (2%) (Arriaza et al., 1997). **Aminoácidos**: prolina, ácido aspártico, ácido glutâmico, serina, alanina (Fang & Ling, 1984 revisto por Dhawan et al., 2004). **Carboidratos**: frutose, glicose, sacarose, maltose, lactose (Fang & Chang, 1981 revisto por Dhawan et al., 2004) e pectina (Simpson et al., 1984). **Minerais**: Na, K, Mg, Ca, Zn, Al, Mn, Fe (Nogueira et al., 1998). **Enzimas citoplásmicas**: piruvato quinase (Guo & Li, 1993). **Outros compostos**: triterpenos cicloartano, ácido ciclopasiflóicos A–D, saponinas, ciclopasiflosídeos I–VI (Yoshikawa et al., 2000a). Verificou-se na purificação por cromatografia em sílica-gel de folhas e brotos de *Passiflora edulis* a presença de ácido ciclopasiflóico E–G, saponinas, ciclopasiflosídeos VII–XI (Yoshikawa et al., 2000b).

## Fitoconstituintes da *Passiflora alata*

Cinco glicosídeos foram isolados das folhas de *P. alata*: 3-O-β-D-glicopiranosil-estigmasterol, o ácido 3-O-β-D-glicopiranosil-oleanólico, o ácido 3-O-β-D-glicopiranosil-(1→3)-β-D-glicopiranosil-oleanólico, o ácido 3-O-β-D-glicopiranosil-(1→2)-β-D-glicopiranosil-oleanólico e o 9,19-ciclolanost-24Z-en-3b-21,26-di-O-gentiobiose (Reginatto et al., 2001).

A partir da *Passiflora alata* Dryand foram identificados: C-glicosil flavonoides 2'-xilosilvitexina e pequenas quantidades de vitexina (5), isovitexina (6) e orientina (7) (Ulubelen et al., 1982a). Contudo, Müller et al., 2005 não conseguiram identificar na *Passiflora alata* coletada em Santa Catarina, Brasil (2001) o flavanóide orientina. Da mesma forma, os autores relatam que não encontraram suiterisina, um flavanóide característico de *P. incarnata*, hiperosídeos, rutina, hesperidina e ácido clorogênico.

## Fitoconstituintes presentes em outras espécies de *Passiflora*

Na Tabela 1, organizada por Dhawan et al. (2004) atualizada, estão relacionados os fitoconstituintes já identificados para as diferentes espécies do gênero.

**Tabela 1.** Fitoconstituintes das várias espécies do gênero *Passiflora*.

Espécie	Fitoconstituente
<i>Passiflora actinia</i> Hooker	Isovitexina (Santos et al., 2003)
<i>Passiflora adenopoda</i> Moc. & Sesse	Glicosídeos cianogênicos linamarina e lotaustraliana (Spencer et al., 1986).
<i>Passiflora ambigua</i> Linn.	Flavanóide saponarina (Ulubelen et al., 1982b).
<i>Passiflora apetala</i> Linn.	Glicosídeo cianogênico passibiflorina (Olafsdottir et al., 1997).
<i>Passiflora biflora</i> Domb.	O- e C-glicosilflavonas; 4'-O-rhamnosilwertisina, luteolina-7- O-neohesperidosídeo juntamente com

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Espécie	Fitoconstituente
<i>Passiflora bryonioides</i> H.B.K	suertisina, suertiajaponina, 4'- <i>O</i> -rhamnosil-suertiajaponina, 2''- <i>O</i> -rhamnosilisoorientina e 2''- <i>O</i> -ramnosilisovitexina (McCormick & Mabry, 1983); glicosídeos cianogênicos passibiflorina e epipassibiflorina (Spencer & Seigler, 1985a).
<i>Passiflora caerulea</i> Linn.	Derivados flavona saponaretina, vitexina, apigenina-7-monoglicosídeo e dois kaempferol-3-biosídeos (Poethke <i>et al.</i> , 1970). Alcalóide harman (Poethke <i>et al.</i> , 1970).
<i>Passiflora calcarata</i> Mast.	Uma flavona chrisina (Speroni <i>et al.</i> , 1996), glicosídeos cianogênico sulfato tetrafillina B-4-sulfato e epitetrafillina B-4-sulfato (Seigler <i>et al.</i> , 1982)
<i>Passiflora capsularis</i> Lam.	Passiflorina (Bombardelli <i>et al.</i> , 1975)
<i>Passiflora coactilis</i> Linn.	Passicapsina; biglicosídeo cianogênico 4-bi-vinosiltetrafillina B (Fischer <i>et al.</i> , 1982)
<i>Passiflora coactilis</i> Linn.	C-glicosil flavonas 4'- <i>O</i> -glicosil-2''- <i>O</i> -rhamnosil orientina, 4'- <i>O</i> -glicosil-2''- <i>O</i> -rhamnosil-vitexina, vitexina, 4'- <i>O</i> -glicosilvitexina, isovitexina, isoorientina, 4'- <i>O</i> -glicosil orientina, 2''- <i>O</i> -rhamnosil orientina, scoparina, 2''- <i>O</i> -rhamnosil scoparina e 8-C-glicosil-diosmetina (Escobar <i>et al.</i> , 1983)
<i>Passiflora coccinea</i> Aubl.	Glicosídeo cianogênico passicoccina (Spencer & Seigler, 1985b)
<i>Passiflora cochinchinensis</i> Spreng.	Flavonóides naringina e apigenina-7- <i>O</i> -glicosídeo; Aminoácidos; carboidratos (Ma <i>et al.</i> , 1982)
<i>Passiflora colinvauxii</i> Linn.	Glicosídeo cianogênico passibiflorina (Adersen <i>et al.</i> , 1993)
<i>Passiflora coriacea</i> Fuss.	Glicosídeo cianogênico barterina (Olafsdottir <i>et al.</i> , 1989 a b)
<i>Passiflora cyanea</i> Mast.	C-glicosil flavonóide 2''-xylosilvitexina e coumarina esculetina (Ulubelen <i>et al.</i> , 1981)
<i>Passiflora foetida</i> Linn.	Flavonóides pachipodol, 7,4'-dimetoxiapigenina, ermanina, 4',7- <i>O</i> -dimetil-naringenina, 3,5-dihidroxi-4,7-

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Espécie	Fitoconstituente
	& Suarez, 1989). C-glicosil flavonóides chrisoeriol, apigenina, isovitexina, vitexina, 2''-xilosilvitexina, luteolina-7- $\beta$ -D-glicosídeo, kaempferol (Ulubelen et al., 1982c); cianohidrina glicosídeos tetrafillina A, tetrafillina B, tetrafillina B sulfato, deidaclina, volkenina (Andersen <i>et al.</i> , 1993); Ácidos graxos ácido linoléico e ácido linolênico (Hasan et al., 1980); alpha-pirones chamadas passifloricinas (Echeverri et al., 2001)
<i>Passiflora hybrida</i> Nees.	Um éster de sulfato de tetrafillina B (Jaroszewski & Fog, 1989)
<i>Passiflora indecora</i> H.B.K	Glicosídeo cianogênico passibiflorina (Olafsdottir et al., 1997)
<i>Passiflora laurifolia</i> Linn.	Ácido Pantotênico, ácido ascórbico (CSIR, 1966b)
<i>Passiflora lechenaultii</i> DC	Vitamina C (Suntornsik et al., 2002)
<i>Passiflora lutea</i> Linn.	Passiflorina (Bombardelli et al., 1975)
<i>Passiflora menispermifolia</i> H.B.K	Glicosídeos cianogênicos linamarina, lotaustralina e passibiflorina (Spencer & Seigler, 1985a)
<i>Passiflora molliseria</i> DC	Flavonóides vitexina, orientina, 6-hidroxi luteolina, 6,7-dimetil éter e luteolina-7- $\beta$ -D-glicosídeo; coumarina esculetina (Ulubelen et al., 1981)
<i>Passiflora mollissima</i> Bayley	Ácido ascórbico (Uzcatogui, 1985)
<i>Passiflora morifolia</i> Mast.	Passiflorina; constituintes voláteis: 30 hidrocarbonetos alcanos, alcenos, aromáticos e terpenos; 4 aldeídos; 11 cetonas; 36 alcóois; 4 lactonas, 5 ácidos graxos; 47 ésters (Froehlich et al., 1989)
<i>Passiflora oerstedii</i> Mast.	Glicosídeo cianohidrina linamarina (Olafsdottir et al., 1992)
<i>Passiflora palmeri</i> Linn.	Flavonóide C-glicosil 2''-xilosilvitexina; Esteróis $\beta$ -sitosterol e seu 3- $\beta$ -D-glicosídeo; açúcares glicose, frutose, galactose (Ulubelen et al., 1981)
	Flavonóides quercetina-7, 3'-dimetil éter, isoscoparina, isovitexina, apigenina-7-glicosídeo, vitexina, chrisoeriol, isoscutellareina-8-metil éter, quercetina, isorhamnetina,

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Espécie	Fitoconstituente
<i>Passiflora pavonis</i> Mast.	dimetoxiflavanona (Echeverri & Suarez, 1985; echeverri luteolina, isoorientina, luteolina-7-glicosídeo, selagina, 6-metoxi kaempferol, vicenina-2, 2''-O-glicosil vitexina, 2''-O-rhamnosil vitexina e uma flavona tricetina 4-metil éter (Ulubelen et al., 1984)
<i>Passiflora pendens</i> Linn.	Flavonas C-glicosil isovitexina, isoorientina, isoorientina-4'-β- D-glicosídeo, luteolina-7-β-D-glicosídeo (McCormick & Mabry, 1981)
<i>Passiflora pittier</i>	Linamarina, lotaustraliana, linustatina e neolinustatina (Spencer et al., 1986)
<i>Passiflora platyloba</i> Fuss.	Flavonóides C-glicosil isovitexina, 2''-xilossil vitexina, uma mistura de vicenina-2, schaftosídeo e isoschaftosídeo, luteolina-7-O-glicosídeo e ácido clorgênico (Ulubelen et al., 1982a)
<i>Passiflora quadrangularis</i> Linn.	C-glicosídeos vitexina, isovitexina, isomollupentina (6-C-arabinosil-apigenina), isovitexina-7-rhamnosilglicosídeo e isomollupentina-7-rhamnosilglicosídeo (Ayanoglu et al., 1982)
<i>Passiflora racemosa</i> Brot.	Passiflorina (Bombardelli et al., 1975); triterpeno glicosídeo quadrangulosídeo (Orsini et al., 1986), ácido oleanólico 3-sophorosídeo (Orsini et al., 1987) Monoterpenóides: (2E)-2,6-dimetil-2,5 ácido heptadienóico, (2E)-2,6 dimetil-2,5 hepta ácido dienóico-β-D-glicopiranosil éster, (5E)-2,6-dimetil-5,7-octadieno-2,3-diol e (3E)-3,7 dimetil-3-octeno-1,2,6,7-tetrol (Osorio et al., 2000)
<i>Passiflora sanguinolenta</i> Mast & Linden	Éster de sulfato de tetrafillina B (Jaroszewski & Fog, 1989)
<i>Passiflora serratifolia</i> Linn.	Flavonóides isovitexina, luteolina-7-O-glicosídeo e 7-O-galactosídeo, xilossil vitexina, apigenina, apigenina-7-O-glicosídeo e luteolina (Ulubelen & Mabry, 1983)
	Flavonóides C-glicosil vitexina, isovitexina, orientina, 2''-xilossil vitexina e 2''-xilossil isovitexina (Ulubelen & Mabry, 1980)

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Espécie	Fitoconstituente
<i>Passiflora serratodigitata</i> Linn.	Serratina I (40) e suas 7- $\alpha$ -glicosídeo; C-glicosilflavona 2''-xilossilvitexina, 2''-xilossilisovitexina, vitexina, isoorientina, vicenina e orientina (Ulubelen et al., 1982b)
<i>Passiflora sexflora</i> Fuss.	Flavonóides 6-di-C-glicosilflavonas, 6-mono-C-glicosilflavonas, luteolina-7-O-glicosídeo, luteolina (McCormick & Mabry, 1982)
<i>Passiflora suberosa</i> Linn.	Glicosídeo cianogênico passisuberosina, epipassisuberosina (Spencer & Seigler, 1987); Antocianinas cyanidina-3-(6''-malonilglicosídeo), 3-glicosídeo de cyanidina, delphinidina, petunidina, pelargonidina e antocianina acetilada com ácido malônico (Kidoey et al., 1997)
<i>Passiflora subpeltata</i> Orteg.	Glicosídeo cianogênico barterina (Olafsdottir et al., 1989 a, b)
<i>Passiflora talamansis</i>	Glicosídeo cianogênico passibiflorina e epipassibiflorina (Spencer & Seigler, 1985a)
<i>Passiflora tetrandra</i> Banks & Soland.	4-Hidroxi-2-ciclopentenona (Perry et al., 1991)
<i>Passiflora trifasciata</i> Lem.	Glicosídeo cianogênico passitri-fasciata (Olafsdottir et al., 1991, Spencer & Seigler, 1985a)
<i>Passiflora trinervia</i> Poir.	Flavonóides vitexina, isovitexina, luteolina-7-O-galactosídeo, esculetina, isoorientina (Ulubelen & Mabry, 1983)
<i>Passiflora vespertilio</i> Ker-Gawl	Glicosídeo cianohidrina passibiflorina (Olafsdottir et al., 1997)
<i>Passiflora violacea</i> Vell.	Glicosídeo cianohidrina linamarina (Olafsdottir et al., 1988)
<i>Passiflora warmingii</i> Mast.	Glicosídeos cianogênico linamarina, linustatina (Fischer et al., 1982, Spencer et al., 1986); glicosídeo cianohidrina barterina (Olafsdottir et al., 1989 a, b)

## Propriedades Farmacológicas

As propriedades farmacológicas das diversas espécies do gênero *Passiflora* ainda são pouco conhecidas, e os estudos enfocam principalmente as espécies comerciais.

Verificou-se o efeito dos extratos de maracujá das espécies *Passiflora alata*, *P. caerulea*, *P. edulis* e *P. incarnata* sobre o Sistema Nervoso Central (SNC), confirmando em grande parte o conhecimento tradicional que indica plantas desse gênero para controle de alterações nervosas. Da mesma forma, constatou-se o efeito antibiótico de *P. edulis*.

Atribui-se principalmente aos flavonóides crisina e BZF o efeito contra ansiedade da *Passiflora*. Muitos trabalhos mostraram que o mecanismo de ação seria por afinidade com os receptores GABA-A. Portanto, o efeito dos princípios ativos do maracujá seria similar ao diazepam, porém dez vezes menor, sem apresentar efeito miorrelaxante. Contudo, existem controvérsias quanto ao mecanismo de ação, já que Soulimani et al. (1997) não conseguiram bloquear o efeito contra ansiedade e sedativo de extratos de *P. incarnata* pelo uso de flumazenil, um conhecido agonista de receptores de benzodiazepínicos, indicando que o efeito poderia não ser mediado por receptores GABA.

A *Passiflora* promove um sono similar ao fisiológico, acompanhado de rápido despertar sem embotamento matinal. A crisina apresentou também atividade anticonvulsivante relacionada com os receptores cerebrais benzodiazepínicos.

### ***Passiflora alata*, *Passiflora caerulea*, *Passiflora edulis* e *Passiflora actinia***

Um grupo de pesquisadores brasileiros realizou estudos com folhas de *Passiflora alata* em camundongos (Oga et al., 1984). O extrato das folhas foi extraído de acordo com o procedimento descrito na Farmacopéia Francesa, VIII edição (Pharmacopée Française, 1965) foi evaporado sob pressão reduzida a 50°C. O extrato seco foi ressuspenso em água para os estudos farmacológicos. Administração intraperitoneal de 150 mg/kg do extrato reduziu a indução espontânea da atividade dos nervos motores, mediada pela anfetamina, prolongou o sono induzido por pentobarbital 150 mg/kg i.p. e aumentou o *on set time* e o tempo de sobrevivência no tratamento com o convulsivo pentilenotetrazol. A dosagem 75 e de 150 mg/kg apresentou

potente efeito analgésico equivalente ao analgésico-padrão indoprofeno. Todos os efeitos farmacológicos observados foram doses dependentes. A LD 50 desse extrato foi de 456 mg/kg. Foi demonstrado, recentemente, o efeito contra a ansiedade de extratos de folha em álcool hidratado de *Passiflora alata* e *Passiflora edulis*, confirmando o conhecimento popular sobre o assunto.

O efeito da crisina um dos monoflavanóides presentes na *Passiflora caerulea* foi examinado em camundongos (Wolfman et al., 1994). Crisina na dosagem de 1 mg/kg reduziu significativamente a ansiedade nos camundongos. Comparada ao diazepam (6 mg/kg), observou-se que a crisina mostra efeito anti-ansiolítico, mas não o de miorrelaxante nas doses de 0,6 a 30 mg/kg. A crisina foi encontrada ligando receptores benzodiazepínicos do Sistema Nervoso Central e Periférico (Medina et al., 1990). Quando administrado na rota cerebrovascular, a crisina previne a expressão da crise induzida pelo convulsivo pentilenetetrazol, confirmando a presença de compostos do tipo benzodiazepínicos no maracujá *P. caerulea*.

Maluf et al. (1991) e Dhawan et al. (2004) demonstraram que algumas amostras de extratos aquosos de *Passiflora edulis* apresentaram efeito de depressão do Sistema Nervoso Central não específico em camundongos, ratos e voluntários humanos saudáveis. Do et al. (1983) notaram que extratos aquosos de *P. edulis* prolongam o efeito de barbitúricos e o sono induzido pela morfina em camundongos, mesmo quando existe bloqueio parcial induzido por estimulantes anfetamínicos.

A *Passiflora actinia*, nativa do Brasil, apresenta composição semelhante à da *Passiflora incarnata* (Santos et al., 2003). Injeções intraperitoniais de extratos hidroalcolico, metanólico e aquoso-metanólico proporcionaram efeito sedativo e cataléptico em camundongos (Santos et al., 2005).

Fora do contexto voltado para o SNC, verificou-se o efeito antifúngico de extratos *P. edulis* contra *Microsporum gypseum*, *Chrysosporium tropicum* e *Trichophyton* terrestre (Qureshi et al., 1997), validando o conhecimento popular.

## Passiflora incarnata

*Passiflora incarnata* é a espécie mais conhecida pela medicina popular por seu efeito sedativo e controlador da ansiedade. Analisando os componentes que possivelmente seriam responsáveis por essas propriedades, verificou-se a presença de maltol, um derivado  $\gamma$ -benzo propriônico e o etil-maltol. Testes realizados com camundongos mostraram que esses compostos, isolados de *P. incarnata*, potencializaram a indução do sono por hexobarbital, apresentaram efeito inibidor da convulsão induzida pelo pentilenetetrazol e também promoveram o decréscimo da hiperatividade induzida por anfetamina (Aoyagi et al., 1974). Etil-maltol foi descrito como sendo um anticonvulsivo mais potente que o maltol. Contudo, em relação ao decréscimo da atividade motora, o maltol apresentou-se mais potente.

O efeito neurofarmacológico de fluidos extraídos de *Passiflora incarnata* foram avaliados em ratos (Speroni & Minghetti, 1988). Para tanto, fez-se a extração etanólica de folhas e brotos de *P. incarnata* em aproximadamente 50% de água. O extrato liofilizado foi ressuspenso em solução salina para as avaliações farmacológicas. Injeções intraperitoneais de 80 a 160 mg/ kg desse extrato prolongaram significativamente o tempo de sono dos camundongos e também protegeu os animais do efeito convulsivo causado pelo pentilenetetrazol, aumentando o *on set time* e a sobrevivência do animal tratado com PTZ. O tratamento com o extrato resultou no decréscimo da atividade locomotora induzida por anfetamina na forma de dose dependente e também aumentou a latência tail-flick nos ratos à dose de 160 mg/kg.

Zanoli et al. (2000) atribuíram o efeito biológico contra ansiedade e o efeito sedativo principalmente ao flavanóide crisina. Entretanto, os autores não descartaram a possibilidade de outros compostos presentes no extrato estarem contribuindo para o efeito observado. No estudo, a administração de crisina nos ratos, na dosagem de 50 mg/kg via intraperitoneal, não influenciou o tempo de sono induzido pelo pentobarbital. Contudo, observou-se decréscimo da atividade motora com a dosagem de 25 mg/kg e também manifestação do efeito

contra ansiedade no teste que avalia o aumento do tempo de latência compartimento claro/escuro quando administrada a dosagem de 1 mg/kg.

De acordo com Dhawan et al. (2004), as discrepâncias dos resultados de trabalhos constantes na literatura, quanto aos efeitos farmacológicos e princípios ativos presentes na espécie *P. incarnata*, poderiam ser consequência da dificuldade de se classificar a espécie corretamente. Segundo esses autores, a grande semelhança entre a *Passiflora incarnata* e a *Passiflora edulis* justificaria a confusão. Estudos realizados por Dhawan et al. (2001b) com espécimes de *P. incarnata* e *P. edulis* certificadas mostraram que somente os extratos de *P. incarnata* induziram os efeitos farmacológicos contra ansiedade em camundongos. Esses autores obtiveram extratos por diferentes protocolos e testaram o efeito anti-ansiolítico nos modelos animais: camundongos, ratos e cobaias. Extrato metanólico de *P. incarnata* mostrou efeito anti-ansiolítico a 125 mg/kg enquanto *P. edulis* não apresentou efeito significativo independente do tipo de extrato ou modelo animal.

Dhawan et al. (2001b) também verificaram que é nas folhas de *P. incarnata* que se concentra maior quantidade dos princípios ativos responsável pelo efeito contra ansiedade. A extração das folhas realizada com metanol apresentou maior atividade anti-ansiolítica em camundongo (100 mg/kg), seguida das preparações de meristema (125 mg/kg), flores (200 mg/kg) e raízes (300 mg/kg). A administração durante sete dias do extrato de folhas preparado com metanol mostrou significativa propriedade antiespasmódica induzida pela acetilcolina clorada em cobaia. Dhawan et al. (2003b) postularam que, por causa da influência que extratos das folhas de *P. incarnata* teriam sobre os receptores  $\beta$ -adrenérgicos, possivelmente, o extrato teria ação antiasmática.

Extratos das folhas de *P. incarnata* obtidos com metanol também apresentaram efeito afrodisíaco em camundongos machos, conforme observado pelo elevado número de monta, na presença de fêmeas, fora do período de reprodução, em relação ao grupo controle (Dhawan et al., 2002a).

Variações no efeito contra ansiedade também foram observados entre os extratos obtidos da parte aérea e diversas tinturas-mãe de *P. incarnata* adquiridas no mercado homeopático indiano (Dhawan et al., 2001a). Os autores atribuíram essas diferenças às variações genéticas das plantas usadas nas preparações e nas metodologias utilizadas para obtenção dos extratos.

O fracionamento de extratos metanólicos de folhas de *P. incarnata* mostrou a presença de benzoflavanóide (BZF) que em camundongos apresentou acentuada atividade contra ansiedade (10 mg/kg) (Dhawan et al., 2001d, e, f; Dhawan, 2002). Esse composto, não descrito anteriormente para *P. incarnata*, apresentou outras propriedades importantes além do efeito ansiolítico. Os autores mostraram que a administração do BZF juntamente com morfina retardou o desenvolvimento de tolerância aos efeitos analgésicos da morfina, (Dhawan et al., 2004). O uso concomitante do BZF em camundongos, submetidos a tratamentos com nicotina, canabinóide, álcool e diazepam, mostrou a não-dependência química dos animais (Dhawan et al., 2002d, Dhawan et al., 2004). O BZF também foi útil para prevenir o declínio da libido, fertilidade e virilidade de ratos machos induzido pelo uso de drogas (Dhawan et al., 2002f; Dhawan et al. 2003a).

A administração de crisina de *P. caerulea* (1 mg/kg) e BZF de *P. incarnata*, (10 mg/kg) proporcionou efeito androgênico e testosterogênico em ratos de dois anos de idade. Observou-se o aumento da libido nos animais, elevação do número de espermatozóides e capacidade de fertilização. Portanto, os flavanóides do maracujá agem como um potente fitoestrógeno apresentando potencial para ser aplicado contra os efeitos negativos da idade (Dhawan et al., 2002b).

## Toxicologia

Maracujás e derivados são, em geral, considerados seguros, apesar da presença de compostos cianogênicos nas espécies de *Passiflora* (Jones, 1998).

A FDA americana, responsável pelo controle de medicamentos nos Estados Unidos, relatou 15 casos de intoxicação decorrente do consumo de medicamentos em que espécies de *Passiflora* figuravam como um dos constituintes (USFDA, 2000 revisto por Dhawan et al., 2004). Nos registros, descrevem-se ocorrência de taquicardias e palpitação, dores de cabeça, embolia pulmonar, hepatite, diarreia, pneumonia, hemorragia intracerebral, hemorragia com dificuldade na fala entre outras alterações. Contudo, não há evidências de que os desconfortos tenham sido causados pela *Passiflora*. Da mesma forma, a passiflora figurou na composição de um medicamento que ocasionou óbito de um paciente automedicado. Gow et al. (2003) relataram que o óbito foi ocasionado pelo componente *Piper methysticum* e não pela *Passiflora incarnata* presente na formulação.

*Passiflora adenopoda* apresenta HCN no pericarpo; arilo, nas frutas verdes; e, no meristema primário, pecíolo, brácteas (Saenz & Nassar, 1972).

Alguns indivíduos que trabalham manuseando frutos de maracujá apresentaram alergia ocupacional induzida por *Passiflora alata*, desenvolvendo quadro de rinite e asma (Giavina et al., 1997).

Maluf et al., 1991 mostraram que *Passiflora edulis* pode gerar distúrbios hepáticos e toxicidade pancreática em animais e humanos.

*P. incarnata* é listada como planta medicinal segura pela FDA americana não existindo informes de toxicidade registrados para essa espécie ou qualquer contra indicação (Dhawan et al., 2004). Contudo, Fischer et al. (2000) relatam o caso de uma paciente de 34 anos que desenvolveu um quadro com severas náuseas, taquicardia ventricular após automedicar-se com *P. incarnata*. A revista American Magazine US Pharmacist desencoraja o uso de *P. incarnata* em lactantes (US Pharmacist, 2001 revisto por Dhawan et al., 2004). Devido à presença dos alcalóides passiflorina e harmina, a planta foi classificada como tóxica pela publicação da *Environmental Toxicological Newsletter* (1983) da Universidade da Califórnia. O consumo prolongado de extratos de *P. incarnata* foi proibido na Austrália em 1998 por causa dos efeitos

colaterais potenciais que alcalóides do tipo harmana apresentariam a longo prazo (Dhawan et al., 2004).

## Propriedades do Maracujá como alimento funcional

Entende-se por alimento funcional aqueles que trazem um benefício a mais para a saúde quando consumidos. Não são considerados medicamentos, pois os princípios responsáveis pelos efeitos benéficos não são extraídos do alimento.

Para que um alimento seja considerado funcional, segundo as Diretrizes Básicas para Avaliação de Risco e Segurança dos Alimentos, é necessário: comprovar as propriedades benéficas em humanos, segurança de uso na dosagem recomendada, rotulagem com a forma de utilização e dosagem de ingestão para obter os efeitos desejados (Araujo & Lopes, 2005).

No Brasil, o fruto fresco e o suco da polpa do maracujá *P. edulis* são consumidos tradicionalmente pelo efeito tranqüilizante, contudo, essa informação carece de comprovação científica. Todavia, estudos com animais de laboratório demonstraram o potencial do maracujá como alimento funcional para outras finalidades. Verificaram-se os benefícios da farinha de casca de maracujá no tratamento complementar da obesidade e diabetes em dietas suplementadas (Araujo & Lopes, 2005). Chau & Huang (2005) mostraram que hamsteres alimentados com fibras obtidas de sementes de *Passiflora edulis* apresentaram redução significativa de triglicerídeos, colesterol total e colesterol no fígado, tiveram aumento de lipídeos e ácidos biliares nas fezes, indicando que as fibras do maracujá podem ser um potencial ingrediente rico em fibras com propriedade hipocolesterolêmicas para a alimentação humana.

As variedades comerciais de maracujá são ricas em alcalóides, flavonóides e carotenóides, minerais e vitaminas A e C, substâncias responsáveis pelo efeito funcional em outros alimentos (Casimir et al., 1981; Suntornsuk et al., 2002; Dhawan et al., 2004). Apesar do grande potencial do maracujá como alimento, ainda são poucos os estudos existentes, o que impede que o fruto seja comercializado como tal.

## Conclusões

Espécies de maracujás são conhecidas no mundo inteiro por diversas propriedades medicinais. Atualmente, os estudos concentram-se na determinação da composição fitoquímica das diferentes espécies e farmacologia voltada para validação do conhecimento popular.

Variações qualitativas e quantitativas nos alcalóides e flavanóides, fenóis, cianoglicosídeos justificam as propriedades medicinais diferenciadas.

Entre as espécies tradicionalmente usadas para controlar alterações do sistema nervoso, a *Passiflora incarnata* mostrou-se a mais eficiente contra a ansiedade. Já a *Passiflora edulis* apresentou efeito antifúngico e a *Passiflora tetrandra* propriedades bactericidas.

Como alimento funcional, as espécies comerciais mostraram-se ricas em vitaminas, principalmente A e C, alcalóides e flavanóides que são princípios funcionais importantes em outros alimentos. As fibras do maracujá apresentam potencial no controle da obesidade, diabetes e controle de taxas de colesterol.

Contudo, a grande maioria das espécies do gênero *Passiflora* ainda não foi estudada quanto às propriedades medicinais e funcionais. Mesmo para as espécies mais conhecidas, faltam estudos que comprovem os efeitos medicinais e funcionais em humanos.

O gênero *Passiflora*, portanto, apresenta imenso potencial para a geração de novos fármacos e produtos benéficos à saúde. A pesquisa nessa área certamente contribuirá para a melhoria da qualidade de vida da população mundial.

## Referências bibliográficas

ADSERSEN, A.; BRIMER, L.; OLSEN, C. E., JAROSZEWSKI, J. W. Cyanogenesis of *Passiflora colinvauxii*, a species endemic to the Galapagos Islands. **Phytochemistry**, v. 33, p. 365-367, 1993.

ANESINI, C.; PEREZ, C. Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 39, p. 119-128, 1993.

AOYAGI, N.; KIMURA, R.; MURATA, T. Studies on *P. incarnata* dry extract. I. Isolation of maltol and pharmacological action of maltol and ethyl maltol. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 22, 1008-1013, 1974.

ARAUJO; LOPES. Sistema brasileiro de resposta técnica CETEC. Brasília, DF: Ministério da Ciência e Tecnologia, 2005. 5 p.

ARRIAZA, A. M. C.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L.; POULIQUEN, Y. B. M. Volatile constituents from fruit shells of *P. edulis* Sims. **Journal of Essential Oil Research**, v. 9, p. 235-236, 1997.

AYANOGLU, E.; ULUBELEN, A.; MABRY, T. J.; DELLAMONICA, G.; CHOPIN, J. O-Glycosylated C-glycosylflavones from *Passiflora platyloba*. **Phytochemistry**, v. 21, p. 799-801, 1982.

BENNATI, E. Quantitative determination of harman and harmine in the extract of *P. incarnata*. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, v. 110, p. 664-669, 1971.

BERNREUTHER, A.; CHRISTOPH, N.; SCHRIER, P. Determination of the enantiomeric composition of gamma-lactones in complex natural matrices using multidimensional capillary gas chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 481, p. 363-367, 1989.

BOMBARDELLI, E.; BONATI, A.; GABETTA, B.; MARTINELLI, E.; MUSTICH, G. Passiflorine, a new glycoside from *Passiflora edulis*. **Phytochemistry**, v. 14, p. 2661-2665, 1975.

BUCHBAUER, G.; JIROVETZ, L.; REMBERG, B.; REMBERG, G.; NINIFOROV, A. Head space analysis of the dried herb of Passion flower (*Herba Passiflorae*) and dried flowers of lime tree (Flores Tiliae). **Flavor Fragrance Journal**, v. 7, p. 329-332, 1992.

CASIMIR, D.; KEFFOR, J.; WHITFIELD, F. Technology and flavor, chemistry of passion fruit juices and concentrates. **Advances in Food Research**, v. 27, p. 243-295, 1981.

CHALLIER, P.; KOULIBALY, A. A.; FONTIVIELLE, M. J.; CROUZET, J. Fruit glycosides as aroma precursors. **Wissenschafts-Technikhistoriker Kommunikations**, v. 21, p. 349-354, 1990.

CHANG, Y. W.; SU, J. D. Antioxidant activity of major anthocyanins from skins of Passion fruit. **Shipin Kexue**, v. 25, p. 651-656, 1998.

CHASSAGNE, D.; BOULANGER, R.; CROUZET, J. Enzymatic hydrolysis of edible *Passiflora* fruit glycosides. **Food Chemistry**, v. 66, p. 281-288, 1999.

CHASSAGNE, D.; CROUZET, J. A cyanogenic glycoside from *Passiflora edulis* fruits. **Phytochemistry**, v. 49, p. 757-759, 1998.

CHASSAGNE, D.; CROUZET, J.; BAYONOVE, C. L.; BRILLOUT, J. N.; BAUMES, R. L. 6-O- $\alpha$ -L-Arabinopyranosyl- $\beta$ -D-glucopyranosides as aroma precursors from passion fruit. **Phytochemistry**, v. 41, p. 1497-1500, 1996.

CHASSAGNE, D.; CROUZET, J.; BAYONOVE, C. L.; BRILLOUT, J. N.; BAUMES, R. L. Glycosidically bound eugenol and methyl salicylate in the fruit of edible *Passiflora* species. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 45, p. 2685-2689, 1997.

CHAU, C. F.; HUANG, Y. L. Effects of the insoluble fiber derived from *Passiflora edulis* seed on plasma and hepatic lipids and fecal output. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 49, Issue 8, p. 786-790, 2005.

CHIMICHI, S.; MERCATI, V.; MONETI, G.; RAFFAELLI, A.; TOJA, E. Isolation and characterization of an unknown flavonoid in dry extracts from *P. incarnata*. **Natural Product Letters**, v. 11, p. 225-232, 1998.

CONGORA, C.; PROLIAC, A.; RAYNAUD, J. Isolation and identification of two mono-C-glucosyl luteolins and of the di-C-substituted 6,8-diglucosyl luteolin from the leafy stalks of *P. incarnata* L. **Helvetica Chimica Acta**, v. 69, p. 251-253, 1986.

CSIR. **The Useful Plants of India**. New Delhi: Publication and Information Directorate, Council of Scientific and Industrial Research, 1966a. p. 433-434.

CSIR. **The Wealth of India, 1966**. New Delhi: Publication and Information Directorate, Council of Scientific and Industrial Research, 1966b. p. 279.

DAWES, N. H.; PAUL, J. S. Volatile constituents of passion fruit juice. **Journal of Food Science**, v. 26, p. 557-563, 1961.

DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; SHARMA, A. *Passiflora* a review update. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, p. 1-23, 2004.

DHAWAN, K. **Phytochemical, Biological and Standardization Studies on *P. incarnata* Linn.** 2002. Thesis (Doctor of Philosophy in Pharmaceutical Sciences)- Panjab University, Chandigarh, India, Chandigarh, 2002.

DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; CHHABRA, S. Attenuation of benzodiazepine dependence in mice by the benzoflavone moiety of *Passiflora incarnata* Linneaus: a non-habit forming anxiolytic. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, p. 215-222, 2003a.

DHAWAN, K.; KUMAR, R.; KUMAR, S.; SHARMA, A. Correct identification of *P. incarnata* Linn.—a promising anxiolytic and sedative of the future. **Journal of Medicinal Food Fall**, v. 4/3, p. 137-144, 2001a.

DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. Antianxiety studies on extracts of *P. incarnata* Linneaus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 78, p. 165-170, 2001d.

DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. Antiasthmatic activity evaluation of the methanol extract of leaves of *P. incarnata*. **Phytotherapy Research**, v. 17, p. 821-822, 2003b.

DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. Aphrodisiac activity of methanol extract of leaves of *P. incarnata* Linn. in mice. **Phytotherapy Research**, v. 17, p. 401-403, 2003a.

DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. Attenuation of drug/substance dependence by a novel tri-substituted benzoflavone moiety from *Passiflora incarnata* Linneaus. In: 43rd ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF PHARMACOGNOSY AND 3RD MONROE WALL SYMPOSIUM, 43., 2002, New Brunswick, New Jersey. **Abstract Book as Oral Presentation**. New Brunswick: [s.n.], 2002f.

DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. Comparative biological activity study on *P. incarnata* and *P. edulis*. **Fitoterapia**, v. 72, p. 698-702, 2001b.

DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A., Beneficial effects of chrysin and benzoflavone on virility in 2-year-old male rats. **Journal of Medicinal Food**, v. 5, p. 43-47, 2002b.

DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. *P. incarnata* Linn.: a promising anxiolytic and sedative-isolation of a benzoflavone moiety as the bioactive agent. Presentation at the 42nd ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF PHARMACOGNOSY, 2001, Mexico. **Oral Presentation-29**. 2001e. p. 14-18.

DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. ***Passiflora incarnata* Linn. A Traditional medicine of the pre-historic era: a promising herbal anxiolytic and sedative of the modern world**. Honolulu: University of Hawaii, 2001f.

DO, V.; NITTON, B.; LEITE, J. R. Psychopharmacological effects of preparations of *Passiflora edulis* (Passion flower). **Cienc. Culture**, v. 35, p. 11-24, 1983.

ECHEVERRI, F.; ARANGO, V.; QUINONES, W.; TORRES, F.; ESCOBAR, G.; ROSERO, Y.; ARCHBOLD, R. Passifloricins, polyketides alpha-pyrone from *Passiflora foetida* resin. **Phytochemistry**, v. 56, p. 881-885, 2001.

ECHEVERRI, F.; SUAREZ, G. E. Flavonoids from *Passiflora foetida* and deterrant activity. **Revista Latinoamericana de Química**, v. 20, p. 6-7, 1989.

ECHEVERRI, F.; SUAREZ, G. E. Flavonoids from the surface of *Passiflora foetida* L. (Passifloraceae). **Actual Biology**, v. 14, p. 58-60, 1985.

ESCOBAR, L. K.; LIUT, Y. L.; MABRY, T. J. C-glycosylflavonoids from *Passiflora coactilis*. **Phytochemistry**, v. 22, p. 796-797, 1983.

- FAKIM, A. G.; SEWRAJ, M.; GUEHO, J.; DULLOO, E. Medicaethnobotany of some weeds of Mauritius and Rodrigues. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 39, p. 175-185, 1993.
- FISCHER, F. C.; FUNG, S. Y.; LANKHORST, P. P. Cyanogenesis in Passifloraceae. II. Cyanogenic compounds from *Passiflora capsularis*, *P. warmingii* and *P. perfoliata*. *Planta Medica*, v. 45, p. 42-45, 1982.
- FISHER, A. A.; PURCELL, P.; Lecouteur, D. G. Toxicity of *Passiflora incarnata* L. **Journal of Toxicology and Clinical Toxicology**, v. 38, p. 63-66, 2000.
- FROEHLICH, O.; DUQUE, C.; SCHREIER, P. Volatile constituents of Curuba (*Passiflora mollissima*) fruit. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 37, p. 421-425, 1989.
- GAVASHELI, N. M.; MONIAVA, I. I.; ERISTAVI, L. I. Aminoacids from *P. incarnata* cultivated in the Georgian SSR. **Khimiya Prirodnykh Soedinenii**, v. 10, p. 266, 1974b.
- GAVASHELI, N. M.; MONIAVA, I. I.; ERISTAVI, L. I. Flavonoids from *P. incarnata*. **Khimiya Prirodnykh Soedinenii**, v. 10, p. 95-96, 1974a.
- GAVASHELI, N. M.; MONIAVA, I. I.; ERISTAVI, L. I. Oligosaccharides of *P. incarnata*. **Khimiya Prirodnykh Soedinenii**, v. 11, p. 84-85, 1975.
- GEIGER, H.; MARKHAM, K. R. The C-glycosylflavone pattern of *P. incarnata*. **Zeitschrift fuer Naturforschung C Biosciences**, v. 41, p. 949-950, 1986.
- GIAVINA, B. P. F.; CASTRO, F. F.; MACHADO, M. L.; DUARTE, A. J. Occupational respiratory allergic disease induced by *Passiflora alata* and *Rhamnus purshiana*. **Annals of Allergy Asthma and Immunology**, v. 79, p. 449-454, 1997.
- GODAY, H. T.; RODRIGUEZ, A. D. B. Occurance of cis isomers of Provitamin A in Brazilian fruits. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 42, p. 1306-1313, 1994.
- GOW, P. J.; CONNELLY, N. J.; HILL, R. L.; CROWLEY, P.; ANGUS, P. W. Fatal fulminant hepatic failure induced by a natural therapy containing kava. **The Medical Journal of Australia**, v. 178, n. 9, p. 442-443, 2003.
- GRANDOLINI, G.; FARDELLA, G.; MERCATI, V.; POLENZANI, P.; TOJA, E. New studies on the constituents of cultivated *P. incarnata* L. In: INTERNATIONAL JOINT SYMPOSIUM: CHEMISTRY, BIOLOGICAL AND PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF MEDICINAL PLANTS FROM THE AMERICAS, 1997, Panama, **Annals...** Republic of Panama: [s.n.], 1997. p. 23-26.
- HASAN, S. Q.; AHMAD, I.; SHERWANI, M. R. K.; ANSARI, A. A.; OSMAN, S. Studies on herbaceous seed oils. **Fette Seifen Anstrichm**, v. 82, p. 204-205, 1980.
- JAMIR, T. T.; SHARMA, H. K.; DOLUI, A. K. Folklore medicinal plants of Nagaland, India. **Fitoterapia**, v. 70, p. 395-401, 1999.

JAROSZEWSKI, J. W.; FOG, E. Cyclopentenoid cyanohydrin glycosides. Part 10. Sulfate esters of cyclopentenoid cyanohydrin glycosides. **Phytochemistry**, v. 28, p. 1527-1528, 1989.

JONES, D. A. Why are so many food plant cyanogenic? **Phytochemistry**, v.47, p. 155-162, 1998.

JORDAN, M. J.; GOODNER, K. L.; SHAW, P. E. Characterization of the aromatic profile in aqueous essence and fruit Juice of Yellow Passion Fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa* degner) by GC-MS and GC/O. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 50, p. 1523-1528, 2002.

KIDOEY, L.; NYGAARD, A. M.; ANDERSEN, O. M.; PEDERSEN, A. T.; AKSNES, D. W.; KIREMIRE, B. T. Anthocyanins in fruits of *Passiflora edulis* and *P. suberosa*. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 10, p. 49-54, 1997.

KUHLMANN, F. Recent analysis of passion fruit juices. **Fluess Obstetrics**, v. 51, p. 59-63, 1984.

LI, Q.; VANDEN, H. H.; DELORENZO, O.; CORTHOUT, J.; PIETERS, L. A. C.; VLIETINCK, A. J.; CLAEYS, M. Mass spectral characterization of C-glucosidic flavonoids isolated from a medicinal plant (*P. incarnata*). **Journal of Chromatography**, v. 562; p. 435-446, 1991.

LUTOMSKI, J.; MALEK, B. Pharmacological investigations on raw materials of the genus *Passiflora*. **Planta Medica**, v. 27, p. 381-384, 1975.

LUTOMSKI, J.; MALEK, B.; RYBAIKA, L. Pharmacochemical investigation of the raw materials from *Passiflora* genus 2. Pharmacochemical estimation of juices from the fruits of *P. edulis* and *P. edulis* forma *flavicarpa*. **Planta Medica**, v. 27, p. 112-121, 1975.

LUTOMSKI, J.; SEGIE, E.; SZPUNAR, K.; GRISSE, K. Die Bedeutung der Passionsblume in der Heilkunde. Importance of Passion flower in the therapeutics. **Pharmazie in Unserer Zeit**, v. 10, p. 45-49, 1981.

MA, Y.; LIANG, B.; HU, B.; WU, X. Isolation and identification of components of the water-soluble fraction of Guangdong [China] snake bite drug. **Zhongcaoyao**, v. 13, p. 1-4, 1982.

MALUF, E.; BARROS, H. M. T.; FROCHTENGARTEN, M. L.; BENTI, R.; LEITE, J. R. Assessment of the hypnotic/sedative effects and toxicity of *Passiflora edulis* aqueous extract in rodents and humans. **Phytotherapy Research**, v. 5, p. 262-266, 1991.

MARECK, U.; HERRMANN, K.; GALENSA, R.; WRAY, V. The 6-C-chinovoside and 6-C-fucoside of luteolin from *Passiflora edulis*. **Phytochemistry**, v. 30, p. 3486-3487, 1991.

- MATOS, F. J. A. **Farmácia Vivas**. 4. ed. Fortaleza: Editora UFC, 2002. 267 p.
- McCORMICK, S.; MABRY, T. J. Flavonoids of *Passiflora pavonis*. **Journal of Natural Products**, v. 44, p. 623-624, 1981.
- McCORMICK, S.; MABRY, T. J. O- & C-Glycosylflavones from *Passiflora biflora*. **Phytochemistry**, v. 22, p. 798-799, 1983.
- McCORMICK, S.; MABRY, T. J. The flavonoids of *Passiflora sexflora*. **Journal of Natural Products**, v. 45, p. 782, 1982.
- MEDINA, J. H.; PALADINI, A. C.; WOLFMAN, C.; LEVIDESTEIN, M.; CALVO, D.; DIAZ, L. E.; PENA, C. Chrysin (5,7-di-OH-flavone) a naturally occurring ligand for benzodiazepine receptors, with anticonvulsant properties. **Biochemistry and Pharmacology**, v. 40, p. 2227-2231, 1990.
- MENGHINI, A.; CAPUCCCELLA, M.; MERCATI, V.; MANCINI, L.; BURATA, M. Flavonoids contents in *Passiflora* spp. **Pharmacology Research Communications** v. 27, p. 13-14, 1993.
- MERCADENTE, A. Z.; BRITTON, G.; RODRIGUEZ, A. D. B. Carotenoids from yellow Passion fruit (*Passiflora*). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 46, p. 4102-4106, 1998.
- MOSANDL, A.; HEUSINGER, G. Stereoisomers of fruit flavor substances-some aspects of synthesis and analysis. *Anal Volatiles: Methods*. **Appl, Proc. Int Workshop**, p. 343-356, 1983.
- MÜLLER, S. D.; VASCONCELOS, S. B.; COELHO, M.; BIAVATTI, M. W. LC and UV determination of flavonoids from *Passiflora alata* medicinal extracts and leaves. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 37, p. 399-403, 2005.
- NAF, F.; DECORZANT, R.; WILLHALM, B.; VELLAZ, A.; WINTER, M. Structure and synthesis of two novel ionones identified in the purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). **Tetrahedron Letters**, v. 16, p. 1413-1416, 1977.
- NITZ, S.; KOLLMANNNSBERGER, H.; DRAWERT, F. Determination of nonnatural flavors in sparkling fruit wines. Part 2. Enantiomeric gammalactones in passion fruit and passion fruit products. **Chemical and Microbial Technology Lebensm**, v. 12, p. 105-110, 1990.
- NOGUEIRA, C. M. D.; LOPES, M. F. G.; MORAIS, N. M. T.; ALMEIDA, M. M. B.; VASCONCELOS, N. M. S.; SA, M. J. H. C. Determination of mineral elements in medicinal plants. **Annales An Assoc. Brasileira de Química**, v. 47, p. 22-24, 1998.
- NWOSU, M. O. Herbs for mental disorders. **Fitoterapia**, v. 70, p. 58-63, 1999.

OGA, S.; FREITAS, P. C. D.; SILVA, A. C. G.; HANADA, S. Pharmacological trials of crude extracts of *Passiflora alata*. **Planta Medica**, v. 51, p. 303-306, 1984.

OLAFSDOTTIR, E. S.; ANDERSEN, J. V.; JAROSZEWSKI, J. W. Cyanohydrin glycosides of Passifloraceae. **Phytochemistry**, v. 28, p. 127-132, 1988.

OLAFSDOTTIR, E. S.; ANDERSEN, J. V.; JAROSZEWSKI, J. W. Cyclopentenoid cyanohydrin glycosides. Part 9. Cyanohydrin glycosides of Passifloraceae. **Phytochemistry**, v. 28, p. 127-132, 1989a.

OLAFSDOTTIR, E. S.; CORNETT, C.; JAROSZEWSKI, J. W. Natural cyclopentenoid cyanohydrin glycosides. Part VIII. Cyclopentenoid cyanohydrin glycosides with unusual sugar residues. **Acta Chemica Scandinavica**, v. 43, p. 51-55, 1989b.

OLAFSDOTTIR, E. S.; JAROSZEWSKI, J. W.; SEIGLER, D. S. Natural cyclopentanoid cyanohydrin glycosides. Part 12. Cyanohydrin glycosides with unusual sugar residues: revised structure of passitrifasciatin. **Phytochemistry**, v. 30, p. 867-869, 1991.

OLAFSDOTTIR, E. S.; JOERGENSEN, L. B.; JAROSZEWSKI, J. W. Natural cyclopentenoid cyanohydrin glycosides. Part 14. Substrate specificity in the biosynthesis of cyclopentenoid cyanohydrin glucosides. **Phytochemistry**, v. 31, p. 4129-4134, 1992.

OLAFSDOTTIR, E. S.; THORGEIRSDOTTIR, E.; JAROSZEWSKI, J. W. Isolation and identification of cyclopentene cyanohydrin bis-glycosides from three *Passiflora* species. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 5, S46, 1997.

ORSINI, F.; PELIZZONI, F.; RICCA, G.; VEROTTA, L. Triterpene glycoside related to quadranguloside from *Passiflora quadrangularis*. **Phytochemistry**, v. 26, p. 1101-1105, 1987.

ORSINI, F.; PELIZZONI, F.; VEROTTA, L. Quadranguloside, a cycloartane triterpene glycoside from *Passiflora quadrangularis*. **Phytochemistry**, v. 25, p. 191-193, 1986.

OSORIO, C.; DUQUE, C.; FUJIMOTO, Y. Oxygenated monoterpenoids from badea (*Passiflora quadrangularis*) fruit pulp. **Phytochemistry**, v. 53, p. 97-101, 2000.

PEREIRA, C. A. M.; VILEGAS, J. H. Y. Constituintes Químicos e Farmacologia do Gênero *Passiflora* com Ênfase a *P. alata* Dryander., *P. edulis* Sims e *P. incarnata* L. **Revista Bras. Pl. Med.** v. 3, n. 1, p. 1-12, 2000.

PERRY, N. B.; ALBERTSON, G. D.; BLUNT, J. W.; COLE, A. L.; MUNRO, M. H.; WALKER, J. R. 4-Hydroxy-2-cyclopentenone: an anti-Pseudomonas and cytotoxic component from *Passiflora tetrandra*. **Planta Medica**, v. 57, p. 129-131, 1991.

POETHKE, V. W.; SCHWARZ, C.; GERLACH, H. Substances of *Passiflora incarnata* L. (Constituents of *Passiflora bryonioides*). Alkaloids. **Planta Medica**, v. 18, p. 303-314, 1970.

PROLIAC, A.; RAYNAUD, J. 2-O-Glucosyl-6-C-glucosylapigenin from *P. incarnata* L. (Passifloraceae). **Pharmaceutica ACTA Helvetica**, v. 63, p. 174-175, 1988.

QURESHI, S., RAI, M. K.; AGRAWAL, S. C. In-vitro evaluation of inhibitory nature of extracts of 18 plant species of Chhindwara against 3 keratinophilic fungi. **Hindustan Antibiotics Bulletin**, v. 39, p. 56-60, 1997.

RAHMAN, K.; KRENN, L.; KOPP, B.; SCHUBERT, Z. M.; MAYER, K. K.; KUBELKA, W. Isoscoparin-2''-O-glucoside from *P. incarnata*. **Phytochemistry**, v. 45, p. 1093-1094, 1997.

REGINATTO, F. H.; KAUFFMANN, C.; SCHRIPEMA, J.; GUILLAUME, D.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Steroidal and triterpenoidal glucosides from *Passiflora alata*. **Journal. Brazilian Chemistry Soc.**, v. 12, n. 1, p. 32-36, 2001.

SAENZ, J. A.; NASSAR, M. Toxic effect of the fruit of *Passiflora adenopoda* D.C. on humans: phytochemical determination. **Rev. Biol. Trop.** v. 20, p. 137-140, 1972.

SANTOS, K. C.; SANTOS, C. A. M.; OLIVEIRA, R. M. W. *Passiflora actinia* Hooker extracts and fractions induce catalepsy in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 306-309, 2005.

SANTOS, K. C.; MÜLLER, S. D.; BIAVATTI, M. W.; DE OLIVEIRA, R. M. W.; SANTOS, C. A. M. Sedative effect of *Pasiuora actinia* Hooker fractions. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 39, (S2), p. 240, 2003.

SEIGLER, D. S.; SPENCER, K. C. Corrected structures of passicoriacin, epipassicoriacin and epitetraphyllin B and their distribution in the Flacourtiaceae and Passifloraceae. **Phytochemistry**, v. 28, p. 931-932, 1989.

SEIGLER, D. S.; SPENCER, K. C.; STATIER, W. S.; CONN, E. E.; DUNN, J. E. Tetraphyllin B and epitetraphyllin B sulphates: novel cyanogenic glucosides from *Passiflora caerulea* and *P. alato-caerulea*. **Phytochemistry**, v. 21, p. 2277-2282, 1982.

SIMPSON, B. K.; EGYANKOR, K. B.; MARTIN, A. M. Extraction, purification and determination of pectin in tropical fruits. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 8, p. 63-72, 1984.

SOULIMANI, R.; YOUNOS, C.; JARMOUNI, S.; BOUSTA, D.; MISLIN, R.; MORTIER, F. Behavioral effects of *P. incarnata* L. and its indole alkaloid and flavonoid derivatives and maltol in the mouse. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 57, p. 11-20, 1997.

SOUZA, J. S. I.; MELETTI, L. M. M. **Maracujá**: espécies, variedades, cultivo. Piracicaba: FEALQ, 1997. 179 p.

SPENCER, K. C.; SEIGLER, D. S. Gynocardin from *Passiflora*. **Planta Medica**, v. 51, p. 356-357, 1984.

SPENCER, K. C.; SEIGLER, D. S. Passibiflorin, eoipassibiflorin and passitrifasciatin: cyclopentenoid cyanogenic glycosides from *Passiflora*. **Phytochemistry**, v. 24, p. 981-986, 1985a.

SPENCER, K. C.; SEIGLER, D. S. Passicoccin: a sulfated cyanogenic glycoside from *Passiflora coccinea*. **Phytochemistry**, v. 24, p. 2615-2617, 1985b.

SPENCER, K. C.; SEIGLER, D. S. Passisuberosin and epipassisuberosin: two cyclopentenoid cyanogenic glycosides from *Passiflora suberosa*. **Phytochemistry**, v. 26, p. 1665-1667, 1987.

SPENCER, K. C.; SEIGLER, D. S.; NAHRSTEDI, A. Linamarin, Lotaustralian, Linustatin and neoLinustatin from *Passiflora* species. **Phytochemistry**, v. 25, p. 645-647, 1986.

SPERONI, E.; BILLI, R.; PERELLINO, N. C.; MINGHETTI, A. Role of chrysin in the sedative effects of *P. incarnata* L. **Phytotherapy Research**, v. 10, p. 98-100, 1996.

SPERONI, E.; MINGHETTI, A. Neuropharmacological activity of extract from *P. incarnata*. **Planta Medica**, v. 54, p. 488-491, 1988.

SUNTORNUSUK, L.; GRITSANAPUN, W.; NILKAMHANK, S.; PAOCHOM, A. Quantitation of vitamin C content in **herbal juice using direct titration**. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 28, p. 849-855, 2002.

TSUCHIYA, H.; HAYASHI, H.; SATO, M.; SHIMIZU, H. LINUMA, M. Quantitative analysis of all types of beta-carboline alkaloids in medicinal plants and dried edible plants by high performance liquid chromatography with selective fluorometric detection. **Phytochemical Analysis**, v. 10, p. 247-253, 1999.

ULUBELEN, A.; AYYILDIZ, H.; MABRY, T. J. C-Glycosylflavonoids and other compounds from *Passiflora cyanea*, *P. oerstedii* and *P. menispermifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 44, p. 368-369, 1981.

ULUBELEN, A.; KERR, R. R.; MABRY, T. J. Two new neoflavonoids and C-glycosylflavones from *Passiflora serratodigitata*. **Phytochemistry**, v. 21, p. 1147, 1982b.

ULUBELEN, A.; MABRY, T. J. C-glycosylflavonoids from *Passiflora serratifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 43, p. 162, 1980.

ULUBELEN, A.; MABRY, T. J. Flavonoids from *Passiflora trinervia* and *P. sanguinolenta*. **Journal of Natural Products**, v. 46, p. 597, 1983.

ULUBELEN, A.; MABRY, T. J.; DELLAMONICA, G.; CHOPIN, J. Flavonoids from *Passiflora palmeri*. **Journal of Natural Products**, v. 47, p. 384-385, 1984.

ULUBELEN, A.; OKSUZ, S.; MABRY, T. J. C-glucosylflavonoids from *Passiflora pittieri*, *P. alata*, *P. ambigua* and *Adenia mannii*. **Journal of Natural Products**, v. 45, p. 783, 1982a.

ULUBELEN, A.; TOPCU, G.; MABRY, T. J.; DELLAMONICA, G.; CHOPIN, J. C-glycosylflavonoids from *Passiflora foetida* var. *hispida* and *P. foetida* var. *hibiscifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 45, p. 103, 1982c.

UZCATEGUI, A. E. Determination of ascorbic acid in some exotic fruits and vegetables from Ecuador by HPLC. **Poietecnica**, v. 10, p. 221-234, 1985.

WEKESA, N. M. N.; CHHABRA, S. C.; THAIRU, H. M. Determination of L-ascorbic acid in Kenyan fresh and processed fruits and vegetables by differential pulse anodic stripping voltammetry. **Bulletin of Chemical Society of Ethiopia**, v. 10, p. 165-169, 1996.

WOLFMAN, C.; VIOLA, H.; PALADINI, A.; DAJAS, F.; MEDINA, J. H. Possible anxiolytic effects of chrysin, a central benzodiazepine receptor ligand isolated from *Passiflora caerulea*. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 47, p. 1-4, 1994.

YOSHIKAWA, K.; KATSUTA, S.; MIZUMORI, J.; ARIHARA, S. Four cycloartane triterpenoids from *Passiflora edulis*. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1229-1234, 2000a.

YOSHIKAWA, K.; KATSUTA, S.; MIZUMORI, J.; ARIHARA, S. New cycloartane triterpenoids from *Passiflora edulis*. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1377-1380, 2000b.

ZANOLI, P.; AVALLONE, R.; BARALDI, M. Behavioral characterisation of the flavonoids apigenin and chrysin. **Fitoterapia**, v. 71, p. 117-123, 2000.



O Maracujá chegou ao rico norte  
E nem foi barrado ao cruzar a fronteira.  
Por que é tão querido em terra estrangeira,  
Apesar de impostor e não ter passaporte.

Quem tenha dinheiro, que a tal luxo banque;  
Uma vez que é cotado em moeda corrente  
Desde o asiático lar do Sol nascente,  
Ao ocidental país do povo lanque.

*Geovane Alves de Andrade*

# Maracujá no contexto do desenvolvimento e conquistas da produção integrada de frutas no Brasil

---

José Rozalvo Andrigueto

Adilson Reinaldo Kososki

Domingos de Azevedo Oliveira

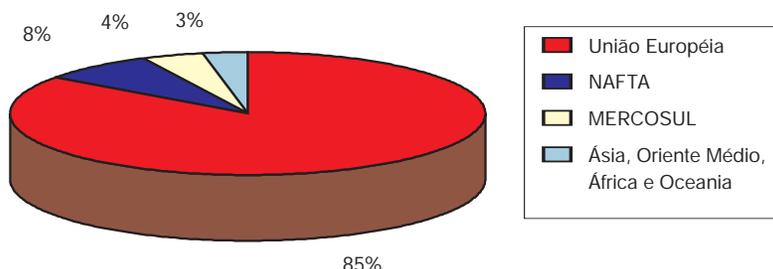
## Introdução

A produção mundial de frutas está em torno de 540,0 milhões de toneladas correspondendo ao montante de US\$162,0 bilhões. O Brasil, depois da China e da Índia (55,6 milhões e 48,1 milhões de toneladas, respectivamente), é o terceiro maior produtor de frutas do mundo (estimado em 38 milhões de toneladas – ano 2003). A exportação de frutas frescas brasileiras, principalmente, maçã, banana, manga, uva, mamão e laranja tem tido crescimento muito lento, ainda em patamares tímidos. As exportações de frutas brasileiras aumentaram em 5,92% em milhões de dólares e 14,69% em mil toneladas, de 2001 para 2002 e 10,17% em milhões de dólares e 2,28% em mil toneladas, do ano de 2002 para 2003, 10,0% em milhões de dólares e 5,0% em mil toneladas, do ano de 2003 para 2004. Essa relação mostra que o País está agregando mais valor ao seu produto. Embora o volume das exportações tenda a aumentar entre 15% e 20%, em 2005, é muito pouco se for considerado o montante produzido (aproximadamente 2,0% do total).

As importações em 2001 totalizaram 172,0 milhões de dólares e 292,0 mil toneladas, aproximadamente 28,0% e 20,0%, respectivamente, a menos que as exportações do mesmo ano. A balança comercial brasileira de frutas frescas alcançou no ano de 2002 o *superavit* de US\$238,6 milhões, contribuindo sensivelmente para a consolidação de uma meta estabelecida de US\$1,0 bilhão em exportações, segundo o Instituto Brasileiro de Frutas-IBRAF, em 2010. A Comunidade Européia é a principal importadora das frutas frescas brasileiras, em torno de 85,0% do total exportado.

## EXPORTAÇÃO BRASILEIRA DE FRUTAS FRESCAS BLOCOS ECONÔMICOS

ANO DE 2004



Fonte: CGSPR/DEPROS/SDC/MAPA

O cenário mercadológico internacional sinaliza que cada vez mais serão valorizados o aspecto qualitativo e o respeito ao meio ambiente na produção de qualquer produto. Os principais países importadores e as principais frutas exportadas pelo Brasil mostram a grande potencialidade de mercado ainda existente nesse setor, tendo em vista, principalmente, o aperfeiçoamento dos mercados, a mudança de hábitos alimentares e a necessidade de alimentos seguros, traduzidos pelas seguintes estratégias: (i) movimento dos consumidores, em especial, europeus, na busca de frutas e hortaliças saudáveis, sem resíduos de agroquímicos perniciosos à saúde humana e (ii) cadeias de distribuidores e de supermercados europeus, representados pelo EUREP GAP, que tem pressionado exportadores de frutas e de hortaliças para o estabelecimento de regras de produção que levem em consideração: resíduos de agroquímicos, meio ambiente e condições de trabalho e higiene. Essa situação indica um estado de alerta e de necessidade de transformação imediata e contundente nos procedimentos de produção e pós-colheita de frutas, para que o terceiro maior produtor de frutas do mundo – o Brasil – possa se manter nos mercados.

## Sistema de Produção Integrada de Frutas-PIF

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA criou o Programa de Desenvolvimento da Fruticultura – PROFRUTA como prioridade estratégica e estabeleceu como objetivo principal elevar os

padrões de qualidade e de competitividade da fruticultura brasileira ao patamar de excelência requerido pelo mercado internacional, em bases voltadas para o sistema integrado de produção, sustentabilidade do processo, expansão da produção, do emprego e da renda. O conceito de produção integrada teve seus primórdios nos anos 70 pela Organização Internacional para Luta Biológica e Integrada (OILB). Em 1976, discutiu-se, na Suíça, as relações entre o manejo das culturas de fruteiras e a proteção integrada das plantas, ocasião em que ficou evidenciada a necessidade de adoção de um sistema que atendesse às peculiaridades do agroecossistema, de forma a utilizar associações harmônicas relacionadas com as práticas de produção, incluindo-se, nesse contexto, o manejo integrado e a proteção das plantas, fatores fundamentais para obtenção de produtos de qualidade e sustentabilidade ambiental. Somente em 1993, foram publicados pela OILB os princípios e as normas técnicas pertinentes que são comumente utilizados e aceitos como base nas diretrizes gerais de composição. Os precursores do sistema PI na Comunidade Européia foram Alemanha, Suíça e Espanha que já tinham iniciado anteriormente esse processo de PI visto a necessidade de substituir as práticas convencionais onerosas por um sistema PI que diminuísse os custos de produção, melhorasse a qualidade e reduzisse os danos ambientais.

A adoção do Sistema de Produção Integrada de Frutas-PIF evoluiu em curto espaço de tempo, tomando conta de muitas áreas existentes em países tradicionais de produção de frutas, conforme quadro demonstrativo de áreas em PIF, a seguir. Na América do Sul, a Argentina foi o primeiro país a implantar o sistema PIF, em 1997, seguindo-se no mesmo ano, o Uruguai e o Chile. Atividades semelhantes deram início nos anos de 1998/1999 com o Brasil.

Uma das ações prioritárias da PIF, no Brasil, consiste num sistema de produção orientada e de livre adesão por parte dos produtores e das empacotadoras e poderá ser utilizada como ferramenta para concorrer nos mercados nacional e internacional. A participação efetiva do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento teve a parceria do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq na viabilização da implementação inicial de 58 projetos em diferentes pólos de produção de frutas, dos quais 28 são de Produção Integrada de Frutas, 25

de matrizeiros e cinco de fitossanidade de suporte a PIF. Em dezembro de 2004, foram incluídos no programa mais 13 projetos de PIF em 12 estados da federação, totalizando 41 projetos.

### PIF NOS PRINCIPAIS PAÍSES DA EUROPA E DA AMÉRICA DO SUL

PAÍS	ÁREA - ha			FRUTAS
	TOTAL	PIF	% PIF	
<b>EUROPA</b>	467.183	120.000	47,9	
1. Alemanha	38.433	30.409	79,1	caroço/uvras viníferas
2. Áustria	7.091	6.030	85,0	caroço/uvras/hortaliças
3. Bélgica	23.444	5.472	23,2	caroço
4. Eslovênia	3.068	1.200	39,1	caroço
5. Espanha	149.074	8.432	5,7	Caroço/uvras/citros/hortaliças
6. Inglaterra	13.473	10.184	75,5	Caroço/frutas finas
7. Holanda	21.000	14.800	70,5	
8. Itália	55.406	32.607	58,9	caroço/uvras/citros/hortaliças
9. Polônia	142.000	5.100	3,6	maçã
10. Portugal	9.100	1.450	1,6	uvras viníferas/olivas
11. Suíça	5.094	4.316	84,7	caroço/frutas finas/uvras viníferas
<b>AMÉRICA SUL</b>	2.342.557	38.294	1,8	
1. Argentina	35.500	600	1,7	maçã/pêra/uva/caroço
2. Uruguai	7.057	2.186	35,0	Maçã, pêra, pêssego, ciruela
3. Brasil	2.300.000	35.508	1,5	15 espécies

Fonte: IRAN/Fundação ArgenINTA. Atualização dos dados do Brasil pelo MAPA. Uruguai – Carlos Colafranceschi

A coordenação geral dos projetos está a cargo do MAPA e envolve: (i) cinco universidades; (ii) sete instituições estaduais de pesquisas e assistência técnica; e (iii) nove centros de pesquisas da Embrapa. Abrange 15 estados da federação e 17 espécies frutíferas (maçã, uva, manga, mamão, citros, caju, coco, banana, melão, pêssego/nectarina, goiaba, caqui,

maracujá, figo, abacaxi, mangaba e morango). Hoje, já existem 200 instituições públicas e privadas envolvidas com a PIF.

Os princípios básicos que regem a PIF estão amparados, principalmente, em normas e orientações elaboradas de comum acordo entre os agentes da pesquisa, ensino e desenvolvimento; extensão rural e assistência técnica; associações de produtores; cadeia produtiva específica; empresários rurais, produtores, técnicos e outros por meio de um processo multidisciplinar, objetivando com isto, assegurar que a fruta produzida esteja em consonância com um sistema que garante que os procedimentos realizados estejam em conformidade com a sistemática definida pelo Modelo de Avaliação da Conformidade adotado.

A PIF tem de ser vista de forma holística, estruturada em seus quatro pilares de sustentação (**organização da base produtiva, sustentabilidade do sistema, monitoramento dos processos e informação**) e os componentes que consolidam o processo a seguir demonstrado.

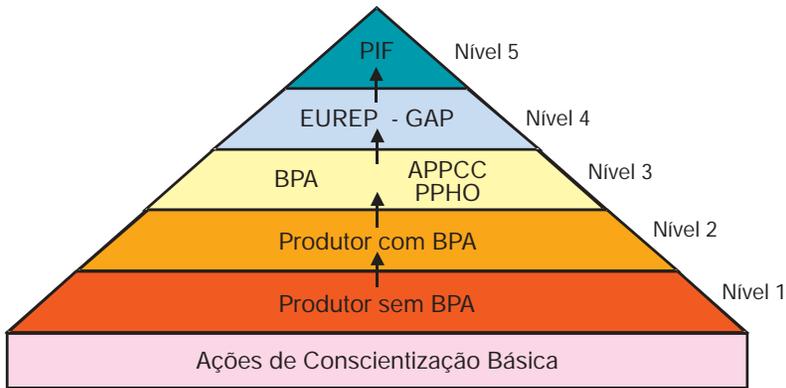
## PRODUÇÃO INTEGRADA: VISÃO HOLÍSTICA



Mudança: "Aprender a trabalhar o sistema como um todo, minimizando efeitos antagônicos entre as práticas efetuadas".

A PIF está colocada no ápice da pirâmide como o nível mais evoluído em organização, tecnologia, manejo e outros componentes, num contexto em que os patamares para inovação e competitividade são estratificados por níveis de desenvolvimento e representa os vários estágios que o produtor está e poderá ser inserido num contexto evolutivo de produção.

### Patamares para a Inovação e Competitividade na Fruticultura Brasileira



Legenda:

- PIF - Produção Integrada de Frutas
- EUREP-GAP - Protocolo Europeu de Boas Práticas Agropecuárias
- APPCC - Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
- PPHO - Procedimentos Padrões de Higiene Operacional
- BPA - Boas Práticas Agropecuárias

Fonte: Senai / Sebrae e Embrapa  
Adaptado por: JRA/ARK - MAPA

As ações preceituadas pela PIF têm de ser vistas com base no rol de exigências dos mercados importadores, principalmente, da Comunidade Européia, rigorosa em requisitos de qualidade e sustentabilidade, enfatizando sempre a proteção do meio ambiente, segurança alimentar, condições de trabalho, saúde humana e viabilidade econômica. Os compradores europeus convencionaram a não-possibilidade de exportação de maçãs para a União Européia, se produzidas em sistema convencional. Atualmente, na Suíça e na Dinamarca, quase já não existem mercados com frutas produzidas pelo sistema convencional.

O Brasil já possui seu Marco Legal de Produção Integrada composto de Diretrizes Gerais e Normas Técnicas Gerais para a Produção Integrada de Frutas regulamentadas pela Instrução Normativa Nº 20, de 20/9/2001, publicada no Diário Oficial da União - DOU, no dia 15 de outubro de 2001, Regulamento de Avaliação da Conformidade-RAC, Definições e Conceitos-PIF, Regimento Interno da Comissão Técnica-CTPIF, Formulários de Cadastro-CNPE e outros componentes de igual importância, documentos estes, resultantes da parceria entre o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (Inmetro) - Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior.

As Normas Técnicas Específicas para as espécies frutíferas de maçã, uva de mesa, manga, mamão, caju, melão, pêssego, citros, coco, banana, figo, maracujá e caqui já foram concluídas e publicadas pelo MAPA no Diário Oficial da União - DOU, tornando-as institucionalizadas e aplicáveis para implantação. Portanto, já se têm 13 espécies frutíferas e pólos PIF institucionalizados (maçã, uva, manga, mamão, caju, melão, pêssego, citros, coco, banana, figo, maracujá e caqui) com seus respectivos selos de conformidade aprovados e em condições de operacionalização de acordo com o quadro Marco Legal PIF a seguir. A goiaba foi institucionalizada e validada e os pólos consolidados em outubro de 2005. Em 2006, será consolidada PI Abacaxi. As Normas Técnicas Específicas para Maçã (PIM) foi publicada pela terceira vez, já com equivalência com o Protocolo EUREP GAP.

Outro aspecto importante do trabalho em desenvolvimento é o documento PIF de equivalência (*benchmarking*) com a EUREP GAP em realização. Depois dos trâmites burocráticos necessários junto a EUREP criar-se-á a condição de aceitação por parte dos importadores associados à avaliação da conformidade da PIF.

**MARCO LEGAL DA PRODUÇÃO INTEGRADA DE FRUTAS  
PUBLICAÇÕES ESPECÍFICAS**

Especificação	IN* N°	Data da IN*	Data da Publicação da IN* no DOU	Observação
Diretrizes Gerais				
Normas Técnicas				
Generais – PIF	20	27/09/2001	15/10/2001	IN MAPA
NTEPI – Maçã	1 <sup>a</sup> 06	22/07/2002	25/07/2002	IN SARC/MAPA
	2 <sup>a</sup> 17	02/12/2003	14/12/2003	IN SARC/MAPA
NTEPI – Manga	1 <sup>a</sup> 02	14/02/2003	24/02/2003	IN SARC/MAPA
	2 <sup>a</sup> 12	18/09/2003	25/09/2003	IN SARC/MAPA
NTEPI – Uva	1 <sup>a</sup> 03	17/02/2003	24/02/2003	IN SARC/MAPA
	2 <sup>a</sup> 11	18/09/2003	24/09/2003	IN SARC/MAPA
NTEPI – Mamão	04	13/03/2003	18/03/2003	IN SARC/MAPA
NTEPI – Caju	10	26/08/2003	01/09/2003	IN SARC/MAPA
NTEPI – Melão	13	01/10/2003	03/10/2003	IN SARC/MAPA
NTEPI - Pêssego	16	01/12/2003	04/12/2003	IN SARC/MAPA
NTEPI - Citros	06	06/09/2004	10/09/2004	IN SARC/MAPA
NTEPI - Coco	16	20/12/2004	31/12/2004	IN SARC/MAPA
Retificação NTE Coco			10/01/2005	Subitens 4.1, 5.2 e 9.1
NTEPI - Banana	01	20/01/2005	04/02/2005	IN SDC/MAPA
NTEPI - Figo	02	22/02/2005	02/03/2005	IN SDC/MAPA
NTEPI – Maracujá	03	15/03/2005	21/03/2005	IN SDC/MAPA
NTEPI - Caqui	04	19/07/2005	21/07/2005	IN SDC/MAPA
NTEPI - Maçã	05	22/09/2005	26/09/2005	IN SDC/MAPA

\* Instrução Normativa

**A Produção Integrada de Frutas – PIF** objetiva, sobretudo, transmitir confiança ao consumidor de que o produto está conforme os requisitos especificados nas Normas Técnicas Específicas de cada espécie frutífera. Conceitualmente, é um sistema de produção de frutas de alta

qualidade, priorizando princípios baseados na sustentabilidade, aplicação de recursos naturais e regulação de mecanismos para substituição de insumos poluentes, utilizando instrumentos adequados de monitoramento dos procedimentos e o rastreamento de todo o processo, tornando-o economicamente viável, ambientalmente correto e socialmente justo. A adoção do sistema PIF traz importantes vantagens para o produtor/empacotadora como também para o consumidor.

O Sistema “Modelo de Avaliação da Conformidade da Produção Integrada de Frutas” foi lançado em primeiro de agosto de 2002 e oficializado pelo Ministro do MAPA, em 11 de setembro de 2002, em conjunto com a Logomarca PIF Brasil, Produção Integrada de Maçã - PIM e o Selo de Conformidade da Maçã. A PIF, até dezembro/2003, apresentou resultados significativos em relação ao número de adoção de produtores, área em PIF e montante da produção.

O arcabouço técnico-operacional de suporte ao sistema é composto de Normas Técnicas Específicas- NTE, para todas as frutas (15 Áreas Temáticas), Grade de Agroquímicos, Cadernos de Campo e Pós-Colheita e Listas de Verificação – Campo e Empacotadora. A implantação do sistema de PIF no Brasil vem apresentando resultados de destaque como: (i) aumento de emprego e renda na ordem de 3,0% (PIF Maçã); (ii) diminuição dos custos de produção na maçã (40,0% em fertilizantes e 25,0% em inseticidas) e, no mamão, em torno de 44,0% da totalidade - campo e pós-colheita; (iii) indicadores de redução em pulverizações; (iv) diminuição de resíduos químicos nas frutas; e (v) melhoria da qualidade do produto consumido, da saúde do trabalhador rural e do consumidor final.

Os indicadores parciais de racionalização do uso de agrotóxicos são relatados a seguir: PIF Maçã (25% em inseticidas, 15% em fungicidas, 67% em acaricidas e em herbicidas) PIF Manga (43,3% em inseticidas e acaricidas, 60,7% em fungicidas e 80,0% em herbicidas); PIF Uva (53,0% em inseticidas e acaricidas, 43,3% em fungicidas e 60,5% em herbicidas); PIF Mamão (35,7% em inseticidas e acaricidas, 30,0% em fungicidas e 78,0% em herbicidas); PIF Caju (25,0% em inseticidas e 30,0% em fungicidas); PIF Melão (20,0% em inseticidas, 10,0% em fungicidas e 20,0%

em acaricidas) e PIF Pêssego (30,0% em inseticidas, 20,0% em fungicidas e 50,0% em herbicidas e acaricidas).

### INDICADORES DE RACIONALIZAÇÃO DO USO DE AGROTÓXICOS

Produtos	Maçã	Manga	Uva	Mamão	Caju	Melão	Pêssego
Inseticidas	25,0	43,3	53,0	35,7	25,0	20,0	30,0
Fungicidas	15,0	60,7	43,3	30,0	30,0	10,0	20,0
Herbicidas	67,0	80,0	60,5	78,0	-	-	50,0
Acaricida	67,0	43,3	53,0	35,7	-	20,0	50,0

O efeito econômico da racionalização das intervenções químicas no sistema PIF pode ser referenciado principalmente no ano de 2002, pela diminuição da frequência na aplicação do ditiocarbamato em 8.660 ha de cultura de maçã, registrando-se a redução do montante de aplicação de 600 toneladas, que ao custo de R\$ 15,00/kg representa a significativa economia de R\$ 9,0 milhões, se forem considerados os efeitos relacionados à preservação de recursos naturais como a água, ar, solo e a biodiversidade.

A Produção Integrada de Maçã – PIM está implantada de acordo com o modelo de Avaliação da Conformidade – PIF instituído, beneficiando, inicialmente, 211 produtores, 13.196 ha (40,0% da área da maçã) em atividades e com produção de aproximadamente 461.860 toneladas, nos Estados de Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Paraná, conforme quadro demonstrativo. A ABPM acredita que até a safra de 2005/06, a terceira colheita a receber o selo PIF Brasil, a participação do sistema chegue a 70% da área total de 31.070 ha. A comercialização de maçã com selos PIF foi iniciada em meados de março/2003, destinando-se aos mercados - interno (12 estados brasileiros e o Distrito Federal) e externo (três países da Comunidade Européia - Inglaterra, Espanha e Holanda). sistema plenamente monitorado, desde o plantio até a comercialização, o manejo oferece um prêmio de US\$2,0 por caixa de 18 kg entregue no exterior.

Enquanto no mercado interno o produtor recebe pela caixa US\$7,0 e US\$9,0; nas exportações, fica com US\$9,0 a US\$10,0. Em 2004, as exportações de maçã cresceram 100% em volume e 91,5% em valor, resultado da melhoria de qualidade e da competitividade nos mercados.

Na Região Nordeste, envolvida muito fortemente na PIF, estão sendo cultivados em torno de 500 mil ha de frutas, correspondendo a 23% da área nacional. As frutas priorizadas na Produção Integrada e que fazem parte da agroeconomia do Nordeste, estão contempladas nos projetos de: melão, (Ceará, Rio Grande do Norte), caju (Ceará), manga (Pernambuco, Bahia e Piauí), uva de mesa (Pernambuco e Bahia), coco (Sergipe) e citros (Bahia, Sergipe, São Paulo e Piauí) – que totalizam o montante de 298 produtores e 15.989 ha de produção integrada dessas frutas. O importante é salientar que praticamente a metade dos estabelecimentos de base familiar existente no País situa-se na Região Nordeste.

O Programa de PIF está desenvolvendo ações direcionadas pontualmente para facilitar a adesão desses envolvidos na PI, buscando com isso, apresentar resultados, não só econômicos, mas também sociais e de geração de emprego e renda, estimulando a organização da base produtora familiar em grupos associativistas e, como consequência, o fortalecimento desses produtores para atuação mais preponderante nos mercados.

Ações de capacitação e treinamento têm sido as ferramentas de aprendizado, transformação e disseminação de tecnologias para melhoria de qualidade do manejo e do produto final originado de agricultores do Semi-Árido. Isto é de fundamental importância para introduzir novos comportamentos relacionados ao processo de transformação dos meios de produção. A Bahia conta com 100 áreas inscritas no projeto de PIF-Citros, totalizando, aproximadamente, 1000 ha e 48 produtores, dos quais 26 são pequenos produtores (agricultura familiar) associados à Central de Associações do Litoral Norte – CEALNOR, enquanto existem cinco assentamentos dos Municípios de Esplanada e Conde (200 famílias) que já estão se integrando cada vez mais a PI Citros.

## PRODUÇÃO INTEGRADA DE FRUTAS – PIF

PIF	Nº Produtores *	Área * (ha)	Produção (t) *
Maçã**	211	13.196	461.860
Manga**	187	7.025	172.221
Uva**	104	3.042	91.263
Mamão**	18	1.200	120.000
Citros**	95	2.038	37.065
Banana**	119	2.678	77.729
Pêssego**	105	520	6.240
Caju**	15	1.500	1.800
Melão**	30	3.560	96.176
Goiaba	27	75	300
Figo **	25	120	1.093
Caqui**	24	84	3.000
Maracujá**	30	56	5.500
Coco **	12	414	20.368
<b>TOTAL</b>	<b>1.002</b>	<b>35.508</b>	<b>1.094.615</b>

(\*) – março/2005

(\*\*) – projetos concluídos e Normas Técnicas Específicas publicadas

O programa PROFRUTA realizou 124 cursos, capacitando 4086 multiplicadores em 2002. Em continuidade, 2003 foram 18 cursos e 731 multiplicadores. Já em 2004, foram realizados 31 cursos e 1172 multiplicadores treinados e em 2005 (até junho) foram realizados 10 cursos e 453 treinandos, com previsão para o segundo semestre da realização de mais 20 cursos e, aproximadamente, 600 treinandos. A formação de multiplicadores enfatiza a importância da inserção da Fruticultura na Agricultura Familiar e a importância da Capacitação no Processo de Transferência na Agricultura Familiar (trabalhadores rurais, comunidades indígenas, líderes de assentamentos, cooperativas e associações, outros). O

trabalho de suporte aos treinamentos que vem sendo desenvolvido pelo SEBRAE junto a PIF, estimula cada vez mais a necessidade de parcerias como, por exemplo, o brilhante trabalho de capacitação em PIF, manga e uva, que está sendo realizado pelo SEBRAE/Petrolina, envolvendo 213 micros e pequenos produtores do Perímetro Irrigado Nilo Coelho. Semelhante iniciativa está sendo desenvolvida com o SEBRAE/BA para atendimento de 80 micros e pequenos produtores de manga - PIF, em Juazeiro/BA.

Portanto, os produtores e as empacotadoras de maçã, uva de mesa, manga, mamão, caju, melão, pêssego, citro, coco, figo, banana, maracujá e caqui que comprovarem ter experiência em Produção Integrada, de no mínimo um ciclo agrícola, poderão aderir ao sistema e passar a ser avaliados por Organismos de Avaliação da Conformidade – OAC (instituições independentes de 3ª parte), credenciados pelo Inmetro, habilitando-se a receber um Selo de Conformidade da fruta, contendo a logomarca PIF Brasil e a chancela do MAPA/Inmetro.

O Acordo de Reconhecimento no Fórum Internacional de Acreditação – IAF reconheceu e credenciou instituições dos mais diversos países do mundo para efetuar a acreditação de Organismos na execução de tarefas relacionadas com a Avaliação da Conformidade e Certificação de Sistemas de Qualidade – no caso do Brasil essa instituição é o Inmetro.

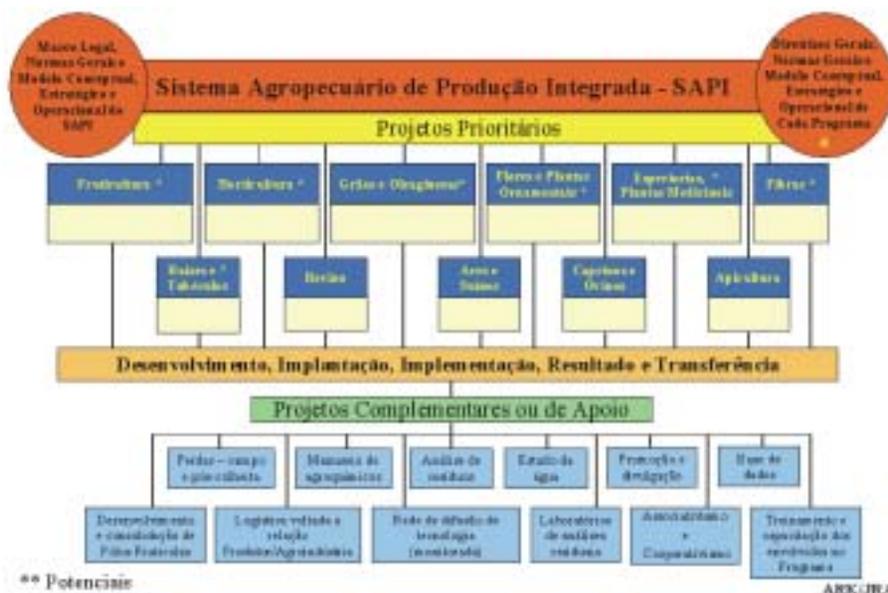
Os Selos de Conformidade, contendo códigos numéricos, além de atestar o produto originário de PIF ao serem aderidos às embalagens das frutas, possibilitam a toda cadeia consumidora obter informações sobre: (i) procedência dos produtos; (ii) procedimentos técnicos operacionais adotados; e (iii) produtos utilizados no processo produtivo, dando transparência ao sistema e confiabilidade ao consumidor. Todo esse sistema executado garante o rastreamento do produto por meio do número identificador estampado no selo, tendo em vista que este contém os registros obrigatórios das atividades de todas as fases envolvendo a produção e as condições em que foram produzidas, transportadas, processadas e

embaladas. As frutas poderão ser identificadas desde a fonte de produção até o seu destino final - a comercialização.

Para a implementação desses projetos, o MAPA/SDC/DEPROS desenvolveu ações específicas para priorização de pólos de produção por meio de parcerias públicas e privadas, objetivando, com isto, a sua estruturação e a implantação do Sistema Agropecuário de Produção Integrada-SAPI, tendo como base a metodologia de trabalho e o modelo da produção integrada de frutas. Para operacionalização do sistema, faz-se mister, o envolvimento direto das instituições de pesquisas, de ensino, extensão rural, cooperativas, associações, empresários rurais, técnicos, produtores, pecuaristas e outros, visando, com isto, ter o apoio das cadeias agrícolas como um instrumento importante para implementar políticas agrícolas. A oferta de alimentos seguros, produzidos de acordo com parâmetros e sistemas de produção sustentáveis (economicamente viável, ambientalmente correto e socialmente justo), é um dos resultados mais importantes da implantação do SAPI, sob a coordenação do MAPA, tendo em vista a necessidade imediata de se oferecer um instrumento importante para os beneficiários do sistema nas cadeias produtivas específicas relacionadas com a organização das bases produtivas, homogeneização dos procedimentos e apoio ao agronegócio brasileiro, por meio de um conjunto de diretrizes e normas técnicas definidas em parcerias com os integrantes das cadeias produtiva, já mencionados.

As premissas básicas para orientação da implantação do SAPI são as seguintes: (i) fomento à produção agropecuária; (ii) atuação na propriedade; (iii) projetos-piloto; (iv) organismos de avaliação da conformidade (terceira parte), credenciada pelo Inmetro; (v) adesão voluntária; (vi) normatização adequada à dinâmica de mercado; (vii) auditorias sistematizadas; (viii) cadastro nacional; (ix) selo de conformidade; (x) acreditação internacional; (xi) atuação por cadeia produtiva; (xii) produção de alimentos seguros; (xiii) processo sustentável (economicamente viável e ambientalmente correto e socialmente justo); (xiv) produto diferenciado e competitivo; e (xv) programa de promoção e *marketing*.

## COMPONENTES ESTRUTURAIS DO SAPI



Com a Produção Integrada de Frutas implantada e os Organismos de Avaliação da Conformidade em funcionamento, o Brasil está em condições de competitividade e igualdade para comercializar em qualquer mercado internacional e disponibilizar, no mercado interno, frutas de qualidade idênticas às exportadas, o que estimulou o MAPA, por meio da Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo-SDC/Departamento de Sistema de Produção e Sustentabilidade-DEPROS, implantar, em 2005, projetos de Produção Integrada de Produtos Agropecuários a seguir listados:

### Projetos em andamento na Produção Integrada da Cadeia Agrícola:

- Dezessete projetos de Produção Integrada de Frutas contemplando as seguintes espécies e respectivos Estados da Federação:
- Banana (Minas Gerais); Morango Semi-hidropônico (Rio Grande do Sul); Morango (dois projetos) Sul e Sudeste (Espírito Santo); Abacaxi (Bahia, Pernambuco, Paraíba); Citros (Minas Gerais, Goiás); Mangaba (Paraíba, Rio Grande do Norte); Coco (Espírito Santo); Uva vinífera (Pernambuco,

Bahia); Melão (Pernambuco, Bahia); Pêssego (São Paulo); Uva (dois projetos) (Paraná, Minas Gerais); Caju (Ceará, Rio Grande do Norte, Piauí); Uva de Mesa (Pernambuco, Bahia); Citros (Bahia); e Maçã (Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná).

- Um Projeto para Cursos de Treinamento para Multiplicadores na Produção Integrada.

#### **Projetos em andamento de Hortícolas, Grãos, Oleaginosas e outras:**

- Cinco projetos de Produção Integrada de: Arroz Irrigado (Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Tocantins); Café Arábica (Minas Gerais); Tomate Indústria (Goiás, Minas Gerais); Batata (Minas Gerais) e Amendoim.

#### **Projetos em andamento da Cadeia Pecuária e outras.**

- Quatro Projetos de Produção Integrada de:
- Projeto de Produção Integrada de Bovinos de Leite (Paraná) Projeto de Produção Integrada de Bovinos de Corte na Integração Lavoura/Pecuária (Goiás), Produção Integrada em Caprinos e Ovinos (Ceará)P e Produção Integrada em Apicultura (Santa Catarina).

## **Produção integrada de maracujá: normas técnicas específicas**

O mercado mundial de frutas, como atualmente qualquer mercado que se preze, apresenta exigências quanto à qualidade do produto apresentado, qualidade esta comprovada por órgãos independentes e reconhecidos nos diferentes países. O programa da produção integrada de frutas, no Brasil, tem por objetivo, levar a produção a ter sua qualidade reconhecida. Observe-se que outros procedimentos existem e, atualmente, são atuantes na Europa, como o Eurepgap. Aliás, alguns organismos já estão atuando aqui, e o MAPA está em negociação para que os procedimentos da PIF sejam oficialmente aceitos pelos importadores de tal modo que não haja necessidade de outras certificações.

No Brasil, a produção integrada de maracujá é regulamentada por meio de portarias do governo federal (Oliveira, 2002) e elaboradas depois de ampla pesquisa no mercado mundial de frutas e de suas indústrias subsidiárias. Tem por objetivo básico evitar a eliminação do produto brasileiro daquele mercado, além de melhorar substancialmente a produção dessa fruta no Brasil. A Produção Integrada, conforme definição da IOBC é (IOBC, 1999): “sistema de produção que gera alimentos e demais produtos de alta qualidade, mediante o uso de recursos naturais e regulação de mecanismos para a substituição de insumos poluentes; objetiva a garantia da sustentabilidade da produção agrícola, enfatiza o enfoque do sistema holístico, envolvendo a totalidade ambiental como unidade básica e o papel central do agroecossistema; o equilíbrio do ciclo de nutrientes; a preservação e a melhoria da fertilidade do solo e a manutenção da diversidade ambiental como componentes essenciais do ecossistema; métodos e técnicas biológico e químico cuidadosamente equilibrados, levando-se em conta a proteção ambiental, o retorno econômico e os requisitos sociais.” O que é isto? *Nada mais que uma agricultura feita com ciência, utilizando todos os conhecimentos existentes na área e exigindo a sua constante evolução.*

#### **As Instruções Normativas e Portarias em vigor são (Andrigueto, 2002):**

- a) A - Instrução Normativa nº 20, de 27/09/2001: Diretrizes Gerais para a Produção Integrada de Frutas – DGPIF e as Normas Técnicas Gerais para a Produção Integrada de Frutas – NTGPIF;
- b) Instrução Normativa nº 12, de 29/11/2001: Aprovar as definições e conceitos de palavras utilizadas nas DGPIF;
- c) Instrução Normativa nº 005, de 02/05/2002: Constituir a Comissão Técnica para a Produção Integrada de Frutas – CTPIF;
- d) Portaria nº 144, de 31/07/2002: Portaria do Presidente do INMETRO relativas à avaliação de conformidade da Produção Integrada de Frutas – SBAC; Regulamento de Avaliação de Conformidade – RAC; Organismos de

Certificação de Produto – OCP; Organismo de Avaliação de Conformidade – OAC.

e) Instrução Normativa nº 03, de 15/03/2005. Instrução baixada pelo MAPA, em que aprova as Normas Técnicas Específicas para a Produção Integrada de Maracujá.

A Produção Integrada de Maracujá, apresentada como já aprovada pelo MAPA, foi desenvolvida dentro dos princípios anteriormente definidos e tomou como base o conhecimento existente, no Brasil, pelos agentes envolvidos nesta cultura. Para isto, os trabalhos desenvolvidos, no âmbito da PIF Maracujá, foram realizados tomando-se por base o citado conhecimento. Por meio de consulta a diferentes técnicos, cientistas, produtores, uma equipe técnica constituída de 58 pessoas foi formada para definir, em última instância, as diferentes questões. A formação dessa equipe teve por base a distribuição da cultura no Brasil. O grupo foi composto de profissionais do Pará, da Bahia, do Rio de Janeiro, de Minas Gerais e de São Paulo.

Os trabalhos realizados pela equipe estão definidos nos diferentes documentos relacionados às Normas Técnicas Específicas para o Maracujá. Eles estão inseridos na página do INMETRO: <http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/organismos/pif.asp#maracuja>

Neste endereço estão os seguintes assuntos:

#### **Instrução Normativa / SARC nº 003 - 15 de março de 2005**

- Grade de Agroquímicos
- Caderneta de Campo
- Caderneta de Pós-Colheita
- Lista de Verificação para Auditoria Inicial
- Lista de Verificação para Auditoria de Campo
- Lista de Verificação para Auditoria de Empacotadoras

Cada documento tem seu interesse específico e é indispensável à aplicação adequada da PIF Maracujá. Completando o endereço do INMETRO, as Normas Técnicas Específicas para Maracujá estão inseridas no portal Toda Fruta cujo endereço é o seguinte:  
[http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra\\_conteudo.asp?conteudo=5909](http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=5909)

Nesse endereço, encontram-se as Normas Técnicas Específicas para maracujá acompanhadas dos mesmos arquivos já definidos no INMETRO e, ainda, quatro arquivos não inseridos nesse endereço. Os quatro arquivos são os de número 1, 3, 10 e 11.

### **Normas Técnicas Específicas**

1. Equipe do programa de Produção Integrada de Maracujá – 07 – 2005
2. NTEPI Maracujá – 07 – 2005
3. Pragas e doenças – 07 – 2005
4. Grade de produtos registrados para maracujá – 07 – 2005
5. Caderneta de Campo para Maracujazeiro – 07 – 2005
6. Caderneta de Pós-Colheita para Maracujazeiro – 07 – 2005
7. Lista de Verificação para Auditoria Inicial – 07 – 2005
8. Lista de Verificação para Auditoria de Acompanhamento – 07 – 2005
9. Lista de Verificação para Auditoria de Empacotadora – 07 – 2005
10. Grade de produtos cujo registro emergencial foi solicitado para maracujazeiro – 07 – 2005
11. Expressões PIF – 07 – 2005

A seguir são apresentados cada arquivo citado:

1. Equipe - Os membros constituintes da equipe têm sua origem em diferentes estados e são cientistas, assistentes técnicos, produtores, dirigentes de entidades, sendo que, em quaisquer das categorias são pessoas diretamente

envolvidas com a cultura do maracujá. Sua participação deu-se pela aceitação de convite formulado pelo Grupo Gestor.

2. NTEPIMaracujá – Apresenta as normas técnicas específicas para a cultura de maracujá, sendo, conforme padronizado, divididas em 15 áreas temáticas. Os diferentes focos das diversas áreas temáticas abrangem, de modo completo, as diferentes exigências da cultura de maracujá visando à produção dentro dos objetivos da produção integrada, conforme já definidos.
3. Pragas e doenças – O conhecimento de pragas {pragas, doenças (bacterianas, de vírus, nematóide)} é fundamental ao produtor. São, por isto, listados os problemas atuais mais marcantes para que, por ocasião da capacitação, mantenha-se, sempre o mesmo foco.
4. Grade de produtos registrados para maracujá – É apresentada a lista dos agrotóxicos registrados para a cultura do maracujá. Embora sejam os permitidos, não são suficientes para que se estabeleça, com eles, uma cultura de maracujá de conformidade com as exigências da produção integrada. Em função disso, solicitou-se registro emergencial ao MAPA, com os produtos listados no arquivo “10 – Grade de produtos cujo registro emergencial foi solicitado para maracujazeiro”. Esse trabalho será desenvolvido tão logo seja autorizado. É fundamental.
5. Caderneta de Campo para Maracujazeiro –É um documento fundamental para que se tenha comprovado o estabelecimento da produção integrada. Nesse documento, serão, diariamente anotadas, todas as atividades realizadas na cultura, bem como quem as realizou, dia e hora, equipamento utilizado, produtos aplicados, colheitas efetuadas. Com base nesse trabalho, o produtor poderá demonstrar o que fez, por meio de um monitoramento reconhecido por possíveis compradores e dotado de fé pública. Esse documento, guardado e com acesso disponível durante todo o período de consumo dos produtos – *in natura* ou industrializados - permitirá ao consumidor ter ciência, em qualquer momento, do que ocorreu na cultura, caso isso se faça necessário. Com isso, o produtor poderá ter mais acesso ao mercado. Portanto, o produto atende às diferentes exigências de rastreabilidade.

6. Caderneta de Pós-Colheita para Maracujazeiro – Com objetivo semelhante à caderneta de campo, e completando-a no que diz respeito à pós-colheita, essa caderneta complementa as informações que o consumidor precisa, levando a ele o que foi feito depois da saída da produção da área agrícola. É documento oficial e deve ser guardado e ficar à disposição dos consumidores. Novamente, o produto atende às exigências da rastreabilidade.
7. Lista de Verificação – Os três documentos seguintes – Lista de Verificação da Auditoria Inicial, Lista de Verificação para Auditoria de Acompanhamento, Lista de Verificação para Auditoria de Empacotadora – são documentos produzidos pela empresa responsável pela validação de todas as informações prestadas pelo produtor ao consumidor, com a finalidade de dizer a ele que aquele produto – maracujá produzido em produção integrada, seja *in natura* ou industrializado – está em condições adequadas de consumo e foi produzido sem destruir o meio ambiente. Esse é um ponto de venda importante. Deve-se observar que esses documentos, produzidos por um Organismo de Avaliação de Conformidade – OAC, comprovam que aquele produto foi obtido seguindo as diferentes exigências para a produção integrada de maracujá.
8. Expressões PIF – Esse arquivo visa levar ao produtor/consumidor a terminologia da produção integrada, com a finalidade de evitar possíveis interpretações dúbias.

## Conclusões

Gostaríamos de enfatizar a importância do sistema em implantação enunciando a seguinte frase: Produção integrada de frutas é um sistema que busca a qualidade com responsabilidade social e ambiental e também uma ferramenta disponibilizada ao setor produtivo para se manter nos mercados e possibilitar abertura de janelas de oportunidade – ark/jra.

## Referências bibliográficas

ABPM. **Informações sobre a situação da PIM e comercialização de maçãs em PIF - com selo de qualidade.** Friburgo, 2003.

ALMANAQUE RURAL, v. 2, n. 5, 2004.

ANDRIGUETO, J. R.; KOSOSKI, A. R. (Org.). **Marco legal da produção integrada de frutas do Brasil.** Brasília, DF: MAPA-SARC, 2002. 60 p.

ANDRIGUETO, J. R.; KOSOSKI, A. R. (Org.). **Artigos e publicações nos mais diversos meios de comunicação escrita e falada.** Brasília, DF: MAPA, 2002.

ANDRIGUETO, J. R.; KOSOSKI, A. R. (Org.). **Documento de estruturação e composição da política de pi e do sistema agropecuário de produção integrada.** Brasília, DF: MAPA, 2004.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA. Porto Alegre: Gazeta, 2004. 136 p.

BALANÇO brasileiro do agronegócio 2004. **Revista AgroBrasil**, n. 1, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 20, de 27 de setembro de 2001. Brasília, DF, 2001.

FACHINELLO, J. C.; TIBOLA, C. S.; VICENZI, M.; PARISOTTO, E.; LUCIANO, P.; MATTOS, M. L. T. Produção integrada de pêssego: três anos de experiência da Região de Pelotas, RS. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, 2003.

GRAZIANO, X. **O novo estatuto da terra:** uma proposta para valorizar a tecnologia e o emprego rural. Brasília, DF: Centro de Documentação e Informação: Coordenação de Publicações, 2001. 43 p. 51ª Legislatura – 2ª Sessão Legislativa (Separatas de Discursos, Pareceres e Projetos nº 192/2000).

HAJI, F. N. P.; COSTA, V. S. O.; LOPES, P. R. C.; MOREIRA, A. N.; SANTOS, V. C.; SANTOS, C. A. P.; ALENCAR, J. A.; BARBOSA, F. R. A produção integrada de uvas finas de mesa, no Submédio do Vale do São Francisco. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PRODUÇÃO INTEGRADA DE FRUTAS, 5., 2003, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p. 103. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos; 39).

IOBC. Integrated Production: Principles and Technical Guidelines. 2nd edition, **IOBC/WPRS Bulletin**, v. 22, n. 4, 1999.

LOPES, P. R. C.; MATTOS, M. A. de A.; HAJI, F. N. P.; COSTA, T. A. S.; LEITE, E. M.; MENEZES, C. A. F. A evolução da Produção Integrada de Manga – PI-Manga no Submédio do Vale do São Francisco. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PRODUÇÃO

INTEGRADA DE FRUTAS, 5., 2003, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p. 109. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos; 39).

MARTINS, D. dos S.; YAMANISHI, O. Y.; TATAGIBA, J. da S. (Ed). **Normas técnicas e documentos de acompanhamento da produção integrada de mamão**. Vitória: Incaper, 2003. 60 p. (INCAPER. Documentos, 120).

OLIVEIRA, D. A.; BRIGNANI NETO, F.; GUILHEM, D. J.; ROLIM, P. R. R.; BARREIRA, C. F. Monitoramento do uso de defensivos agrícolas em culturas de maracujá – Exemplo de aplicação do Indicador de Qualidade DAC. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO, 8., 1999, Londrina. **Anais...** Fruticultura Brasileira, 1999a.

OLIVEIRA, D. A.; BRIGNANI NETO, F.; GUILHEM, D. J. Critérios para a definição do volume de calda aplicado e quantidade de pesticida por ha por parte do produtor. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO, 8., 1999, Londrina. **Anais...** Fruticultura Brasileira, 1999b.

OLIVEIRA, D. A.; GUILHEM, D. J.; BRIGNANI NETO, F. Notas sobre a produtividade de dez culturas monitoradas e o parâmetros gerados pela metodologia DAC. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO, 8., 1999, Londrina. **Anais...** Fruticultura Brasileira, 1999c.

OLIVEIRA, D. A.; BRIGNANI NETO, F.; COSTA, G. M.; GUILHEM, D. J.; BARREIRA, C. F. Estudo da adequação das pulverizações e dos pulverizadores. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO, 8., 1999, Londrina. **Anais...** Fruticultura Brasileira, 1999d.

OLIVEIRA, D. A.; BRIGNANI NETO, F.; ROLIM, P. R. R.; GUILHEM, D. J.; HOJO, H.; BARREIRA, C. F. A qualidade do uso de produtos fitossanitários em cultura de maracujá avaliada pelo Indicador DAC. In: ENCONTRO VIRTUAL SOBRE MEIO AMBIENTE 99, 1., 1999. Disponível em: <<http://www.crossroad.de/realworld/meioambiente99/tema03/oliveira3/text.html>>. Acesso em: 31 dez. 1999e.

OLIVEIRA, D. A.; SANNAZARO, A. M.; ROLIM, P. R. R.; BRIGNANI NETO, F.; GUILHEM, D. J.; HOJO, H.; GOES, J. Avaliação do Uso de Produtos Fitossanitários em uma Propriedade da Região de Sorocaba, SP. In: ENCONTRO VIRTUAL SOBRE MEIO AMBIENTE 99, 1., 1999. Disponível em: <<http://www.crossroad.de/realworld/meioambiente99/tema03/oliveira3/text.html>>. Acesso em: 31 dez. 1999f.

OLIVEIRA, D. A.; PORTO, E. Indicador da Qualidade do uso de Defensivos Agrícolas para o Tomate Irrigado: Aplicação do Indicador DAC – Uma amostragem no Projeto Senador Nilo Coelho. In: ENCONTRO VIRTUAL SOBRE MEIO AMBIENTE 99, 1., 1999. Disponível em: <<http://www.crossroad.de/realworld/meioambiente99/tema03/oliveira3/text.html>>. Acesso em: 31 dez. 1999g.

PROTAS, J. F. S.; SANHUEZA, R. M. V. **Produção integrada de frutas: o caso da maçã no Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. 129 p.

## Anexo

### **INSTRUÇÃO NORMATIVA/SDC Nº 003, DE 15 DE MARÇO DE 2005.**

**O Secretário de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, no uso da atribuição que lhe confere o inciso III, do art. 11, do Decreto nº 4.629, de 21 de março de 2003, tendo em vista o disposto no art. 3º, inciso I, e art. 4º, da Instrução Normativa Ministerial nº 20, de 27 de setembro de 2001, e o que consta do Processo nº 21000.000199/2005-69, resolve:

Art. 1º Aprovar as Normas Técnicas Específicas para a Produção Integrada de Maracujá - NTEPIMaracujá, conforme consta do Anexo.

Art. 2º Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação.

MÁRCIO PORTOCARRERO

## ANEXO 1.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
1. CAPACITAÇÃO				
1.1. Práticas agrícolas	<p>Capacitação técnica e gerencial, com atualização continuada do pessoal de apoio e do produtor e responsável técnico por pomares conduzidos sob sistema de Produção Integrada de Maracujá, nos seguintes temas:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Organização dos produtores, constando da formação de associações, cooperativas ou outra forma de atividade em conjunto.</li> <li>2. Conservação e manejo do solo, da cobertura vegetal, da água e proteção ambiental segundo conceitos da agricultura sustentável.</li> <li>3. Preenchimento dos cadernos de campo e de pós-colheita.</li> </ol>	<p>1.Capacitação de trabalhadores nos preceitos de higiene pessoal, em conformidade com requisitos de Boas Práticas Agrícolas e Produção Integrada de Maracujá – PIMaracujá.</p>		

continua...

## ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
1.1. Práticas agrícolas	<p>4. Formação, poda, condução, polinização e produção.</p> <p>5. Custos das operações inerentes à cultura do maracujá.</p> <p>6. Uso de corretivos do solo, fertilizantes e reconhecimento de sintomas de deficiências nutricionais.</p> <p>7. Questões relativas à pulverização:</p> <p>7.1 - preparo de calda para pulverização;</p> <p>7.2 - tríplex lavagem de embalagens;</p> <p>7.3 - lavagem dos equipamentos utilizados nas pulverizações;</p> <p>7.4 - regulagem e calibração de equipamentos para pulverizações;</p> <p>7.5 - armazenamento de produtos fitossanitários e descarte de embalagens.</p>			

continua...

ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
1.1. Práticas agrícolas	<p>7.6 - formas de aplicação.</p> <p>8. Reconhecimento de pragas (insetos, ácaros, doenças, nematóides, plantas invasoras), fitotoxemias e seus inimigos naturais.</p> <p>9. Conceitos e técnicas do Manejo Integrado de Pragas - MIP.</p> <p>10. Procedimentos de amostragem para análise de resíduos de agrotóxicos.</p> <p>11. Técnicas de irrigação adequadas à cultura do maracujá.</p> <p>12. Processos de colheita do maracujá.</p> <p>13. Tratamentos pós-colheita.</p>			
1.2. Comercialização	<p>Capacitar o produtor em:</p> <p>1. Processos e logística de comercialização de insumos e da produção.</p>			

continua...

## ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
1.3. Processos de empacotadoras e segurança alimentar	Capacitação técnica em: 1. Procedimentos de higiene pessoal e do ambiente. 2. Critérios de logística, segurança alimentar e procedimentos de empacotadoras e processadoras. 3. Processamento e empacotamento.			
1.4. Segurança no trabalho	1. Capacitação técnica em segurança do trabalho, conforme legislação vigente, inclusive em uso de Equipamentos de Proteção Individual – EPI, nas atividades de calibração e, em utilização de equipamentos de aplicação de produtos fitossanitários.			

continua...

ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
1.5. Educação ambiental	<p>1. Capacitação técnica contínua em:</p> <p>1.1. Gestão dos recursos naturais (solo, água, flora e fauna) na área de produção.</p> <p>1.2. Questões relacionadas ao desenvolvimento de agricultura sustentável.</p>			
2. ORGANIZAÇÃO DE PRODUTORES				
2.1 Inserção na cadeia produtiva de maracujá	<p>1. Inserção em sistema de produção no contexto da PIMaracujá e em processos de integração da cadeia produtiva do maracujá.</p> <p>2. Capacitação técnica e continuada do produtor em gerenciamento da PIMaracujá visando inserção em sistema de organização de produtores (associações, cooperativas, núcleos e grupos integrados de produtores).</p>			

continua...

## ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
2.2. Definição de pequeno produtor	1. Considerar pequeno produtor aquele que possuir área de maracujá igual ou inferior a 12 ha.	1. Vinculação do produtor a uma entidade de classe ou a uma associação envolvida em PI Maracujá.		
2.3 Associativismo				
3. RECURSOS NATURAIS				
3.1 Planejamento ambiental	1. Organizar a atividade do sistema produtivo de acordo com a região, respeitando suas funções ecológicas de forma a promover o desenvolvimento sustentável, no contexto da PIMaracujá, mediante a execução, controle e a avaliação de ações dirigidas à prevenção e ou correção de problemas ambientais (solo, água, planta e homem).	1. Manutenção de áreas com cobertura vegetal para abrigo de organismos benéficos, junto à área de Produção Integrada. 2. Realizar o planejamento ambiental da propriedade agrícola. 3. Usar madeira proveniente de área reflorestada ou submetida a manejo sustentável.	1. Usar madeira originada de reserva legal.	

continua...

ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
3.2. Processos de monitoramento ambiental		1. Controle da qualidade da água para irrigação, em relação a metais pesados, sais, nitratos e contaminação biológica. 2. Elaboração de inventário em programas de valorização da fauna e flora auxiliares.		
4. MATERIAL PROPAGATIVO				
4.1. Sementes e mudas	1. Utilizar material sadio e adaptado à região, com registro de procedência credenciada e com certificado fitossanitário, conforme legislação vigente.	1. Utilizar variedades resistentes ou tolerantes às enfermidades de importância econômica.	1. Transitar material propagativo sem a competente autorização, conforme legislação vigente.	
5. IMPLANTAÇÃO DE POMARES				
5.1. Talhões	1. Dividir a cultura em talhões, conforme definição apresentada em "Expressões PIF".			

continua...

## ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
5.2. Localização	<p>1. Observar as condições de aptidão edafo-climática e compatibilidade com os requisitos da cultura de maracujá e do mercado.</p> <p>2. Eliminar todos os restos vegetativos de plantios anteriores de maracujá existentes na área de implantação do pomar.</p>	<p>1. Evitar áreas mal ventiladas.</p> <p>2. Plantio em solo com boa drenagem, não sujeito a. encharcamento</p>	<p>1. Implantar talhão contíguo a talhão com mais de 30 dias de transplantio.</p> <p>2. Manter talhões decadentes.</p>	<p>1. Instalar pomar em áreas que tenham apresentado morte precoce (patógenos de solo).</p>
5.3. Quebra-vento		<p>1. Plantios de quebra-ventos em área de ventos fortes.</p> <p>2. Providenciar o plantio antecipado de quebra-ventos, para que esteja crescido na ocasião de formação e produção da cultura.</p> <p>3. Preferir o plantio de espécies de crescimento rápido, como os capins 'elefante', 'napier', 'camerum' ou que atraíam as abelhas mamangavas.</p>		

continua...

ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
5.4. Sistema de plantio	<p>1. Na definição do espaçamento na rua observar a necessidade de se realizar eliminação das plantas infectadas quando da ocorrência do 'vírus-do-endurecimento do-fruto' (PWV).</p> <p>2. Eliminar todo e qualquer material vegetal de plantios de maracujá anteriores, cujo ciclo produtivo já está devidamente terminado.</p> <p>3. Observar os fatores de densidade de plantio, de compatibilidade com requisitos de controle de pragas e de produtividade e qualidade do maracujá.</p> <p>4. O plantio das mudas deve ser em linhas perpendiculares ao sentido do declive do terreno, tendo o cuidado de se adotar práticas de conservação do solo.</p>	<p>1. Incorporar matéria orgânica devidamente curtida em pré-plantio.</p> <p>2. Adotar o espaçamento de 1 a 5 metros entre plantas e de 2 a 4 metros entre as ruas.</p> <p>3. No caso de plantios em sulcos de 15-25 cm de profundidade, complementando, manualmente, a profundidade no local da cova para 40 cm; no caso de se fazer uso, apenas, de covas, usar as dimensões: 40*40*40 cm.</p>		

continua...

## ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
5.4. Sistema de plantio	5. Manter a cova de plantio ligeiramente elevada, para evitar o afogamento do colo da planta.			
5.5. Sistema de condução	1. Propiciar boa distribuição dos ramos, de modo a facilitar os tratos culturais e permitir melhor insolação dos ramos produtivos.			
6. NUTRIÇÃO DE PLANTAS				
6.1. Fertilização e correção da acidez	1. Realizar a prévia análise química do solo e repeti-la anualmente, a fim de ser efetuada calagem e adubação com base nas necessidades apontadas. 2. Incorporação prévia de corretivos antes do transplantio. 3. Adotar técnicas que minimizem perdas por lixiviação, volatilização, erosão e outras.	1. Estabelecer programa de adubação, conforme requisitos técnicos de produtividade e qualidade associados a indicadores de análises de solo e da planta, mediante receituário agrônomico. 2. Levar em conta a extração de nutrientes e as perdas durante o ciclo agrícola.	1. Proceder à aplicação de fertilizantes e corretivos não registrados, sem indicação agrônômica, conforme legislação vigente. 2. Colocar em risco os lençóis subterrâneos por contaminações química e biológica, especialmente, nitratos e metais pesados.	

continua...

ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEP Maracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
7.MANEJO DO SOLO				
7.1. Manejo da cobertura do solo	<p>1. Controlar processo de erosão e prover a melhoria das condições biológicas do solo.</p> <p>2. Eliminar as espécies hospedeiras de pragas do maracujá ou de vetores de vírus que atacam a cultura.</p>	<p>1.Fazer roçadas ou capinas na linha, respeitando distância de segurança para que o equipamento não atinja a planta; se necessário, com roçadeira, nas entrelinhas.</p> <p>2. Tomar especial cuidado nessas operações, a fim de evitar ferimentos nas plantas de maracujá.</p>	<p>1. Utilizar qualquer equipamento que provoque a desestruturação do solo (ex: enxada rotativa, grade).</p> <p>2. Manter invasoras sem o devido manejo.</p>	<p>1. Usar herbicidas pós-emergentes registrados, com jato dirigido na linha.</p>
7.2. Controle de plantas infestantes	<p>1. Utilizar somente herbicidas registrados e permitidos para PIMaracujá e mediante receituário agrônomo.</p> <p>2. Utilizar estratégias que minimizem sua utilização dentro do ano agrícola.</p> <p>3. Proceder ao registro das aplicações no caderno de campo.</p> <p>4. Respeitar o período de carência para colheita.</p>		<p>1. Aplicar herbicidas em área total, exceto para plantio direto.</p> <p>2. Controlar o mato exclusivamente com equipamentos que revolvam o solo.</p>	<p>1. Utilizar excepcionalmente herbicidas pré-emergentes em áreas localizadas, mediante justificativa técnica.</p>

continua...

## ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEP Maracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
8. IRRIGAÇÃO				
8.1. Cultivo irrigado	<p>1. Assegurar o uso de água de irrigação mediante outorga.</p> <p>2. Controlar a quantidade de água aplicada no solo:</p> <p>2.1. Administrar a quantidade em função do balanço hídrico, capacidade de retenção do solo e da demanda da cultura.</p> <p>2.2. Monitorar o teor de sais e a presença de substâncias poluentes na água de irrigação.</p>	<p>1. Utilizar sistemas de irrigação sub-copa que promovam maior eficiência no uso da água.</p> <p>2. Utilizar fertirrigação conforme requisitos da cultura.</p>	<p>1. Utilizar água para irrigação que não atenda aos padrões técnicos da cultura.</p>	
9. MANEJO DA PARTE AÉREA				
9.1. Técnicas de manejo	<p>1. Proceder a condução da planta para o equilíbrio entre a atividade vegetativa e produção regular.</p>			

continua...

ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
9.1. Técnicas de manejo	2. Propiciar boa distribuição dos ramos, de modo a facilitar os tratamentos culturais e permitir melhor insolação dos ramos produtivos.			
9.2. Poda de formação	1. Conduzir a planta em haste única, desbrotando periodicamente, até que ultrapasse o arame superior de sustentação.			
9.3. Polinização		1. Realizar polinização artificial.		
10. PROTEÇÃO INTEGRADA DA PLANTA				
10.1. Controle de pragas	1. Avaliar e registrar semanalmente a incidência de pragas, através de monitoramento. 2. Utilizar as técnicas preconizadas no MIP. 3. Dar prioridade a métodos culturais e biológicos.	1. Evitar as pulverizações no período de abertura das flores visando preservar os insetos polinizadores. 2. Empregar produtos mais seletivos e de menor toxicidade e persistência, para maior segurança ao ambiente e ao aplicador.		

continua...

## ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
10.1. Controle de pragas	4. Quando necessário o uso de agrotóxicos, utilizar produtos registrados, mediante receituário agrônômico, conforme legislação vigente.	3. Colaborar para a implantação de infraestrutura necessária ao monitoramento das condições agro-climáticas para o manejo das pragas. 4. Para evitar desenvolvimento de resistência de pragas utilizar produtos de diferentes grupos químicos como critério de rotação.		
10.2. Limpeza do pomar	1. Usar ferramentas adequadas nas operações de poda e desbrota.	1. Efetuar a remoção e destruição de órgãos da parte aérea doentes a fim de impedir a disseminação de doença. Todo o material vegetal, ao ser eliminado, deve ser recolhido em um saco e levado para fora do pomar, onde deve ser destruído.	1. Efetuar desbrota com as unhas.	

continua...

ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
10.2. Limpeza do pomar		2. Erradicar plantas com sintomas de doenças de difícil controle, tais como viroses, 'fusariose', 'murcha bacteriana', tomando bastante cuidado, para não provocar, por contato de ferramentas, a disseminação das mesmas.		
10.3. Ferramentas e veículos	1. Assegurar que estes estão sendo utilizados em lavoura sadia. Depois da utilização em cada planta, efetuar a desinfestação da ferramenta com produto comprovadamente eficiente. 2. Diante da incidência de murchas ou podridões de colo e raiz, desinfestar pneus de veículos e calçados das pessoas que transitarem pelo pomar.			
10.4. Produtos fitossanitários	1. Utilizar produtos químicos registrados, mediante receituário agrônomo, conforme legislação vigente.	1. Utilizar informações geradas em Estações de Avisos para orientar os procedimentos sobre tratamentos com agrotóxicos		

continua...

## ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
10.4. Produtos fitossanitários	<p>2. Utilizar sistemas adequados de amostragem e diagnóstico para tomada de decisões em função dos níveis mínimos de intervenção.</p> <p>3. Utilizar os indicadores de monitoramento de pragas para definir a necessidade de aplicação de agrotóxicos.</p>	<p>2. Proceder tratamentos direcionados, especificamente, aos locais onde as pragas provocam danos.</p>		
10.5. Preparo de caldas e aplicação de produtos fitossanitários	<p>1. Efetuar pulverizações baseadas em monitoramentos somente em áreas em níveis críticos de infestação; sob riscos de epidemias ou surto, pulverizar em toda a área como medida preventiva.</p> <p>2. Obedecer às recomendações técnicas sobre manipulação de produtos e operação de equipamentos, conforme legislação vigente.</p>		<p>1. Proceder a manipulação e aplicação de agrotóxicos na presença de crianças, pessoas sem EPI e animais domésticos.</p> <p>2. Descartar restos de agrotóxicos e de calda, bem como, lavar equipamentos em fontes de água, riachos, lagos, etc.</p>	

continua...

ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
10.5. Preparo de caldas e aplicação de produtos fitossanitários	3. Obedecer, rigorosamente, a receita agronômica.		3. Pulverizar durante a ocorrência de ventos fortes.	
10.6. Equipamentos de aplicação de produtos fitossanitários	1. Proceder à manutenção e a calibração periódica, no mínimo anualmente, utilizando métodos e técnicas internacionalmente reconhecidas. 2. Os operadores devem utilizar equipamento de proteção individual, conforme o manual de Prevenção de Acidentes no Trabalho com Agrotóxicos.	1. Ter em mãos aparelhos para calibração de pulverizadores, como manômetros de bico e provetas plásticas.	1. Usar equipamentos descalibrados e/ou com defeitos mecânicos ou que apresentem falhas que comprometam a eficiência dos produtos fitossanitários, a saúde do operador e o meio ambiente.	
10.7. Armazenamento e descarte de embalagens de produtos fitossanitários	1. Armazenar produtos fitossanitários em local adequado. 2. Manter registro do estoque, para fins de rastreabilidade. 3. Fazer a tríplex lavagem, conforme o tipo de embalagem e, após a inutilização, encaminhar a centros de destruição e reciclagem, de acordo com a legislação vigente.	1. Colaborar na organização de centros regionais de recolhimento de embalagens para o seu devido tratamento, em conjunto com prefeituras, secretarias de agricultura e associações de produtores e distribuidores.	1. Manter estoque de agrotóxicos sem obedecer às normas de segurança. 2. Abandonar embalagens e restos de materiais e produtos agrotóxicos em qualquer tipo de áreas.	

continua...

## ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
11. COLHEITA E PÓS-COLHEITA				
11.1. Técnicas de colheita	<p>1. Para a produção destinada ao mercado de frutas frescas, colher antes de cair, de acordo com as normas de classificação da PIMaracujá.</p> <p>2. Considerar o período de carência dos produtos fitossanitários ao colher os Frutos.</p> <p>3. Proteger os frutos colhidos das intempéries e da incidência da luz solar.</p> <p>4. Tomar cuidados especiais para não provocar fermentos na casca, no caso de frutas destinadas ao consumo “in natura”.</p> <p>5. Frutos colhidos para consumo “in natura” devem ser colocados, de imediato, em contentores que permitam higienização e que os protejam de danos e do contato com o solo.</p>	<p>1. Transportar os frutos colhidos e entregá-los na empacotadora em, no máximo, 12 horas após a colheita.</p> <p>2. Frutos destinados à industrialização podem ser recolhidos do chão, no mínimo uma vez por semana.</p> <p>3. Retirar do pomar e descartar os frutos verdes caídos e os podres.</p>	<p>1. Aplicar produtos químicos sem o devido registro, conforme legislação vigente.</p> <p>2. Misturar nas caixas, frutos obtidos da áreas com produção integrada de maracujá com frutos de áreas com outros sistemas de produção.</p>	<p>1. Manter frutos de produção integrada em conjunto com os de outros sistemas de produção ou mesmo outros produtos, desde que devidamente identificados, separadas e assegurados os procedimentos contra riscos de contaminação.</p>

continua...

ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
11.1. Técnicas de colheita	6. Proceder a higienização de equipamentos e caixas, conforme normas vigentes. 7. Os colhedores deverão estar em boas condições de saúde e observar cuidados de higiene pessoal.			
11.2. Identificação dos lotes de colheita	1. Identificar cada lote de acordo com a produção integrada, constando: data de colheita, variedade, nome da propriedade, número da parcela, responsável pela colheita, de modo a assegurar a rastreabilidade do produto.			
12. ANÁLISES DE RESÍDUOS				
12.1. Amostragem para análise	1. Permitir a coleta de amostras de frutos para análise em laboratórios credenciados pelo Ministério da Agricultura.	1. Realizar a amostragem através de grupos de produtores visando a redução dos custos laboratoriais.		

continua...

## ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
12.1. Amostragem para análise	2. As coletas de amostras serão feitas ao acaso, abrangendo o mínimo de 10% do total das parcelas de cada produtor ou de grupos de pequenos produtores.			
13. PROCESSOS DE EMPACOTADORAS				
13.1. Técnicas de pós-colheita (empacotadora; indústria).	1. Identificar cada lote quanto à procedência, peso, data e hora de chegada, para subsidiar a ordem de manuseio e assegurar a rastreabilidade do produto. 2. No caso de empacotadoras, classificar as frutas de acordo com as normas de classificação da PIMaracujá.		1. Proceder a execução simultânea dos processos de empacotamento de frutos da PIMaracujá com os de outros sistemas de produção.	
13.2. Estocagem, expedição e transporte	1. Obedecer às normas técnicas de transporte e armazenamento, com vistas à preservação dos fatores de qualidade do maracujá.	1. Realizar o transporte em veículos e equipamentos apropriados, conforme requisitos do maracujá.		1. Armazenar frutos provenientes do sistema PIMaracujá com frutos de outros sistemas de produção devidamente separados e identificados

continua...

ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
13.2. Estocagem, expedição e transporte	<p>2. Armazenar na câmara fria apenas frutos obtidos dentro do sistema de PIMaracujá.</p> <p>3. Proceder a limpeza e sanitização dos equipamentos de transporte.</p>	<p>2. Coletar amostras para monitoramento da qualidade.</p>		<p>2. Armazenar, na mesma câmara fria, sucos provenientes de outros sistemas de produção devidamente separados e identificados.</p> <p>3. Transportar e estocar frutos provenientes do sistema PIMaracujá com frutos de outros sistemas de produção devidamente separados e identificados, assegurando procedimentos contra riscos de contaminação.</p>
13.3. Instalações, equipamentos e local de embalagem (empacotadora/ indústria)	<p>1. Proceder a limpeza e sanitização das instalações, equipamentos e local de trabalho.</p> <p>2. Os trabalhadores deverão estar em boas condições de saúde e observar cuidados de higiene pessoal.</p>	<p>1. No caso de empacotadoras, a sanitização das instalações e dos equipamentos, utilizar preferencialmente produtos a base de amônia quaternária.</p>	<p>1. Utilizar produtos químicos não autorizados pela legislação.</p>	

continua...

## ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPI Maracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
13.3. Instalações, equipamentos e local de embalagem (empacotadora/ indústria)	3. As indústrias deverão implantar os sistemas de Boas Práticas de Fabricação - BPF e/ou Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC.			
13.4. Tratamentos	1. Utilizar os métodos, técnicas e processos indicados em regulamentos técnicos de PIMaracujá.	1. Obedecer os procedimentos técnicos da APPCC.	1. Aplicação de produtos químicos sem o devido registro, conforme legislação vigente. 2. Depositar restos de produtos químicos e lavar equipamentos em fontes de água, riachos, lagos, etc. 3. Utilizar desinfetantes que possam formar cloraminas ou outros compostos tóxicos na água de lavagem das frutas.	1. Nos casos de tratamentos químicos realizá-los somente mediante receituário agrônomo, justificando a necessidade e assegurada a comprovação da degradação de resíduos antes da época de comercialização das frutas.
13.5. Embalagem e etiquetagem	1. Proceder a identificação da natureza, origem, variedade, classe e peso líquido do produto, data da embalagem, nome do produtor, conforme normas técnicas legais, e o destaque ao sistema de PIMaracujá.	1. Utilizar embalagem conforme os requisitos e recomendações da PIMaracujá. 2. Proceder adaptação ao processo de paletização.		

continua...

ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
13.5. Embalagem e etiquetagem	2. Armazenar embalagens novas em locais protegidos contra a entrada de qualquer tipo de animal. 3. Toda e qualquer embalagem utilizada deve ser compatível com procedimentos para a adequada higienização.			
13.6. Logística	1. Utilizar o sistema de identificação que assegure a rastreabilidade de processos adotados na geração do produto.	1. Utilizar métodos, técnicas e processos de logística que assegurem a qualidade do produto.		
14. SISTEMA DE RASTREABILIDADE				
14.1. Caderno de campo	1. Manter cadernos de campo para o registro de dados da cultura necessários à adequada gestão da Produção Integrada de Maracujá.			
14.2. Caderno de pós-colheita	1. Manter cadernos de pós-colheita para o registro de dados da cultura necessários à adequada gestão da Produção Integrada de Maracujá.			

continua...

## ANEXO 1. continuação.

Áreas temáticas	NORMAS TÉCNICAS ESPECÍFICAS PARA A PRODUÇÃO INTEGRADA DE MARACUJÁ - NTEPIMaracujá			
	Obrigatórias	Recomendadas	Proibidas	Permitidas com restrições
14.3. Rastreabilidade	1. Manter os registros atualizados e com fidelidade, para fins de rastreabilidade de todas as etapas dos processos de produção e de empacotadoras.			
14.4. Auditorias de campo e pós-colheita	1. Implantar as normas da PIMaracujá pelo menos um ciclo agrícola antes de solicitar a adesão e a avaliação da conformidade. 2. Permitir auditorias nos pomares e empacotadoras a qualquer época. É obrigatória pelo menos uma auditoria anual no campo e uma na empacotadora, para os que aderiram a PIMaracujá e foram credenciados pelo organismo avaliador da conformidade.	1. Realizar visitas no campo, preferencialmente nas épocas de floração, desenvolvimento e colheita das frutas.		
15. ASSISTÊNCIA TÉCNICA				
15.1. Assistência técnica	1. Manter responsabilidade e assistência técnica permanente através de engenheiro agrônomo capacitado na cultura e em PIMaracujá.	1. Organizar grupos de produtores quando a área de cada um for pequena. 2. No caso de pequenos produtores manter, através de equipe de assistência técnica coordenada por engenheiro agrônomo com especialidade em cultura de maracujá e em PIMaracujá, assistência técnica permanente		



Bela planta esguia que decora os telados  
Que além do atributo de ser bela flor,  
Vai buscando dólares no exterior  
Para o fazendeiro e seus empregados.

Com cores, aromas e sabores variados,  
Já caiu no gosto do povo europeu.  
Conquista clientes e forma mercados  
E traz esperanças aos que a mereceu.

E se for benéfica a globalização,  
Tanto faz; gente ou planta em paz viverá.  
Pode ser eletricista ou maracujá  
Que não será caçado dentro de estação.

*Geovane Alves de Andrade*

# Espécies de maracujá: caracterização e conservação da biodiversidade

---

Luis Carlos Bernacci

Laura Maria Molina Meletti

Marta Dias Soares-Scott

Ilene Ribeiro da Silva Passos

Nilton Tadeu Vilela Junqueira

## Introdução

O Brasil e a Colômbia, grandes produtores de maracujá (Meletti, 1998), são os países que têm maior diversidade de *Passifloraceae* (Killip, 1938), entretanto, *P. edulis* Sims (maracujá-amarelo, maracujá-azedo, maracujá-roxo, entre outros nomes populares) ocupa 95% dos pomares brasileiros (Meletti, 1998). Além de *P. edulis*, apenas *P. alata* Curtis (maracujá-doce, maracujá-açu) atinge escala de mercado, como frutífera (Meletti & Maia, 1999). Pesquisas conduzidas na UNESP (Jaboticabal-SP), levaram à seleção de material de *P. nitida* Kunth (maracujá-suspiro, maracujá-do-cerrado) com características possíveis para ser lançado no mercado (Oliveira & Ruggiero 2005). Algumas outras espécies são exploradas localmente<sup>1</sup> (*P. cincinnata* Mast., maracujá-do-mato) ou cultivadas em escala doméstica<sup>2</sup> (*P. quadrangularis* L., maracujá-de-quilo, maracujá-gigante, badea).

Embora *P. edulis* seja nativa do Brasil (Killip, 1938), seu cultivo só adquiriu expressão econômica na década de 1980, com o incentivo da agroindústria de sucos e, principalmente, devido à crescente demanda no mercado de fruta fresca (Meletti, 1998). Por ser cultivado em escala,

---

<sup>1</sup> Observação pessoal do primeiro autor em 1999.

<sup>2</sup> Observação pessoal do primeiro autor em 1997.

relativamente há pouco tempo, a espécie passou por melhoramento incipiente e é suscetível a uma série de doenças, tais como: viroses, bacterioses, fusariose entre outras, que são fatores limitantes ao crescimento ainda maior da cultura (Meletti, 1998). Além da utilização como alimento, as Passifloraceae têm importância econômica como medicinais, sendo utilizadas, mais uma vez, *P. edulis* e *P. alata*, e ornamentais, utilizando-se, essencialmente, *P. coccinea* Aubl., em escala muito reduzida<sup>3</sup>.

Somado ao interesse econômico, a família *Passifloraceae* tem fundamental importância ecológica, e a diversidade de espécies ganha destaque. Vários estudos têm focado as relações das *Passifloraceae* com seus polinizadores (abelhas, vespas, beija-flores e morcegos) e a existência ou não de compatibilidade nas plantas (Semir & Brown Jr., 1975; Sazima & Sazima, 1978; Buzato & Franco, 1992; Varassin, 1996; Koschinitzke & Sazima, 1997; Sazima & Sazima, 1987; Sazima et al., 1999) ou com seus predadores, especialmente, borboletas *Heliconidae* (Benson et al., 1978, Plotze et al., 2005), evidenciando relações evolutivamente complexas entre as plantas e os animais.

Entretanto, as altas taxas de desmatamento ocorrido nas regiões tropicais transformaram fortemente a paisagem com a redução das florestas a fragmentos de tamanho e qualidade diversos (Whitmore, 1997). A Mata Atlântica, que se estende pela Região Leste do Brasil, constitui um bioma ímpar e apresenta um dos mais altos níveis de diversidade e de endemismo no mundo (Mori et al., 1981; Fonseca, 1985). Todavia, é um dos biomas mais ameaçados (Dean, 1996; Vianna & Tabanez, 1996). A maioria dos fragmentos florestais da Mata Atlântica é de domínio privado (Fonseca, 1985; Ranta et al., 1998) submetidos a diferentes pressões. O Cerrado é vegetação menos protegida no Brasil, sendo que o Código Florestal não tem sido suficiente para garantir a preservação desta vegetação. A cobertura florestal original em São Paulo foi drasticamente reduzida ao longo do tempo, cobrindo atualmente menos de 5% da área territorial do Estado (Viana e Tabanez, 1996) e este processo ocorre em outros estados brasileiros.

---

<sup>3</sup> Observação pessoal do primeiro autor em 2004.

No processo de destruição do ambiente natural, a fragmentação de ecossistemas torna-se cada vez mais acentuada, afetando de forma negativa a biodiversidade existente. Ambientes fragmentados comportam menor número de espécies mantendo, por sua vez, menor diversidade genética, trocas gênicas entre populações restritas, invasão de espécies agressivas no ambiente, o que pode levar à exclusão competitiva (Zuidema et al., 1986). Um dos grandes desafios que a ciência tem hoje em dia é a conservação da biodiversidade existente em um cenário de ambientes naturais sujeitos a fortes pressões antrópicas.

Diante desse quadro, pretende-se avaliar a diversidade das *Passifloraceae* brasileiras e a sua conservação.

## Distribuição e biodiversidade

A família *Passifloraceae* é largamente distribuída nos trópicos e regiões temperadas quentes, em especial, da América e da África (Cronquist, 1981). Não existe consenso entre os autores sobre o número de gêneros na família. Escobar (1988) listou 20 gêneros, no que foi seguida por Cervi (1997), enquanto Brummitt (1992) considerou apenas 17 gêneros na família. Escobar (1988) aceitou os gêneros *Basananthe* que teriam 25 espécies e *Tryphostemma* com 10 espécies. Entretanto, Wilde (1974) considerou *Tryphostemma* circunscrito em *Basananthe* que teria 25 espécies. Até 1988, foram publicados 28 nomes de espécies em *Basananthe*, incluindo novas combinações a partir de *Tryphostemma*, dos quais três deles foram publicados depois de 1974 (Royal Botanic Gardens, 1997). Assim, ao menos aparentemente, é possível que Escobar (1988) possa ter-se equivocado ao aceitar *Tryphostemma*. Brummit (1992) não aceitou os gêneros *Tetrapathea* e *Tetrastylis*. Wilde (1974) apresentou argumentação para a aceitação de *Tetrapathea*. *Tetrastylis* foi reconhecido como gênero monotípico por vários autores americanos (Buzato & Franco, 1992; Sazima et al., 1999; Bakker & Bernacci, 1998; Vitta et al., 2003). Bernacci et al. (2003) aceitou 19 gêneros para a família.

O número de espécies também é incerto. Escobar (1988) considerou que a família teria pouco menos de 600 espécies, enquanto Cronquist (1981) sugeriu 650, ficando Holm-Nielsen et al. (1988) em um número intermediário: 630 espécies. Bernacci et al. (2003) consideraram um número mais

conservador, 530 espécies. É importante observar que entre as espécies descritas, embora novos nomes tenham sido propostos há pouco tempo, muitos sinônimos foram indicados. Assim, é possível que existam mais espécies do que as indicadas por Bernacci et al. (2003), mas elas não foram ainda descritas e existem dúvidas sobre a identidade de muitas já descritas. O número de espécies que ainda pode ser descrito é absolutamente especulativo. Mesmo no caso daquelas mais bem conhecidas, podem existir dúvidas ou problemas taxonômicos, tal como em relação ao maracujá-doce (*P. alata*), para a qual somente há pouco tempo (Bernacci et al., 2003) foram resolvidas as dúvidas sobre autoria, data e obra da descrição original da espécie.

Grande parte das espécies, cerca de 400, é do gênero *Passiflora* que se distribuiu principalmente na América (apenas 20 ocorrem na Índia, China, Sudeste Asiático, Austrália, ilhas da Oceania e regiões vizinhas). O segundo maior gênero, *Adenia*, apresenta cerca de 100 espécies (Cronquist, 1981), com ocorrência na África, Ásia e Oceania. Entre os outros gêneros, apenas *Basananthe* apresenta mais do que 20 espécies e sete gêneros são monotípicos (Escobar, 1988). No Neotrópico, ocorrem cinco gêneros e quase 400 espécies e, no Brasil, ocorrem cerca de 130 (Bernacci et al., 2003).

## Histórico da classificação

Embora espécies do gênero e da família ocorram no Velho Mundo (África e Ásia), apenas com a descoberta da América, a ciência veio a tomar contato com o grupo. A primeira menção a representantes da família deve-se a Cieza de León (1553) citado por Kugler & King, 2004, fazendo referência a frutos comestíveis denominados com o nome espanhol de *granadillas*. Tal nome faz referência à romã (*Punica granatum* L.), espécie asiática conhecida de longa data no Velho Mundo. Entretanto, existiam, também, nomes de origem indígena, como maracujá, derivado de múrucuya (tupi) ou mburucuya (guarani) (Kugler & King, 2004).

Pouco tempo depois, houve referência a detalhes das plantas da família e associação à crucificação (paixão) de Cristo (Monardes, 1569 citado por Kugler & King, 2004). O nome *Passiflora* foi utilizado pela primeira vez por Cesi (1651) citado por Kugler & King, 2004), mas a efetiva publicação do nome é

creditada a Lineu (1753), quando foram definidas as regras básicas dos sistemas de classificação, sendo publicadas 22 espécies para o gênero, entre as quais sete ocorrentes no Brasil.

Roemer (1846) é um botânico cuja obra é pouco conhecida, entretanto, que trabalhou intensamente com a família *Passifloraceae*. O britânico Masters (1872), através da Flora Brasiliensis, foi responsável pelo grande avanço inicial para a taxonomia dessa família tendo publicado 82 espécies brasileiras. Outra grande contribuição à taxonomia dessa família é devida a Harms (1925), entretanto, a maior contribuição para a taxonomia para a América ainda é devida a Killip (1938) que, além de descrever várias espécies, estudou todas as conhecidas até a ocasião e propôs um sistema de classificação largamente utilizado até hoje.

Entre os botânicos brasileiros, destacam-se Vellozo (1881), Barbosa-Rodrigues (1898), Hoehne (1915), Sacco (1980), Pessoa (1994) e Cervi (1997), além das contribuições mais recentes de Bernacci & Vitta (1999), Nunes & Queiroz (2001), Bernacci et al. (2003) e Milward-de-Azevedo & Baumgratz (2004).

A descrição de novas espécies, com frequência, leva à necessidade de alterações nos sistemas de classificação para acomodar adequadamente essas novas descobertas. Assim, Escobar (1988) descreveu um novo subgênero, aditivo aos de Killip (1938). MacDougal (1994) propôs um rearranjo na seção *Pseudodysomia*. De forma mais radical, MacDougal & Feuillet (2004) sugeriram severas alterações no sistema proposto por Killip (1938). Embora algumas análises iniciais, baseadas em evidências das novas técnicas filogenéticas que utilizam macromoléculas (Muschner et al., 2003), suportem, em linhas gerais, a proposta de apenas três subgêneros, tal como proposto no sistema de MacDougal & Feuillet (2004), outras análises colocam em dúvida o próprio monofiletismo do gênero *Passiflora* (Muschner et al., 2003). Análises com mais espécies (Yockteng & Nadot, 2003) indicaram a possibilidade de reconhecer mais subgênero entre aqueles propostos por Killip (1938).

## Identificação e caracterização

Com o prosseguimento das pesquisas, novos registros de ocorrência têm acontecido e novas espécies têm sido descritas. Por sua vez, a

devastação da vegetação nativa tem-se acelerado, e a preocupação com a conservação da biodiversidade nativa torna-se crescente.

Considerando-se o caso de São Paulo, Killip (1938) citou 25 espécies de *Passiflora* para a família, para o Estado. Posteriormente, apenas quatro espécies (Cervi, 1997; Vitta 1997; Bernacci & Vitta, 1999) foram acrescentadas àquela lista. Com a realização da Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo, foram descritos dois gêneros (*Passiflora* e *Tetrastylis*) e 38 espécies de Passifloraceae, embora uma espécie próxima à *Passiflora elegans* ainda possa ser distinta e a delimitação de espécies no subgênero *Astrophea*, do gênero *Passiflora* necessita de estudos posteriores (Bernacci et al., 2003). Ou seja, o número de espécies reconhecidas e caracterizadas representou aumento de 35% no número de espécies da família citadas para o Estado.

Merece destaque especial a identificação e a caracterização, a partir de material herborizado de *P. ischnoclada* Harms, uma espécie endêmica de São Paulo, conhecida, anteriormente, apenas pelo seu material-tipo que foi coletado há quase 100 anos e que se julgava destruído (Bernacci, 2001). Dado o pequeno conhecimento sobre a espécie, esta chegou a ser considerada sinônimo de outra (*P. jilekii* Wawra, Série *Simplicifoliae*) – (Cervi, 1997), no entanto, é claramente distinta, pertencendo a um grupo diferente (Série *Laurifoliae*). Mais recentemente, por meio de uma expedição de coletas, patrocinada pelo Instituto Plantarum, foi possível observar a espécie na natureza e constatar diferenças ainda mais marcantes e conspícuas, entre *P. ischnoclada* (Figura 1) e *P. jilekii* (Figura 2), tais como a coloração das flores (Bernacci et al., 2002).

Além das novas ocorrências indicadas por Bernacci et al. (2003), foram apresentadas descrições (caracterizações) atualizadas e baseadas no material coletado no Estado de São Paulo, chave dicotômica para a identificação das espécies e ilustrações de algumas delas, para facilitar sua identificação, incluindo quatro espécies pela primeira vez ilustradas: *P. deidamioides* Harms (Figura 3 A-C), *P. ischnoclada* Harms (Figura 3 D-F), *P. lepidota* Mast. (Figura 3 G-K) e *P. marginata* Mast. (Figura 3 L).

Foto: Harri Lorenzi

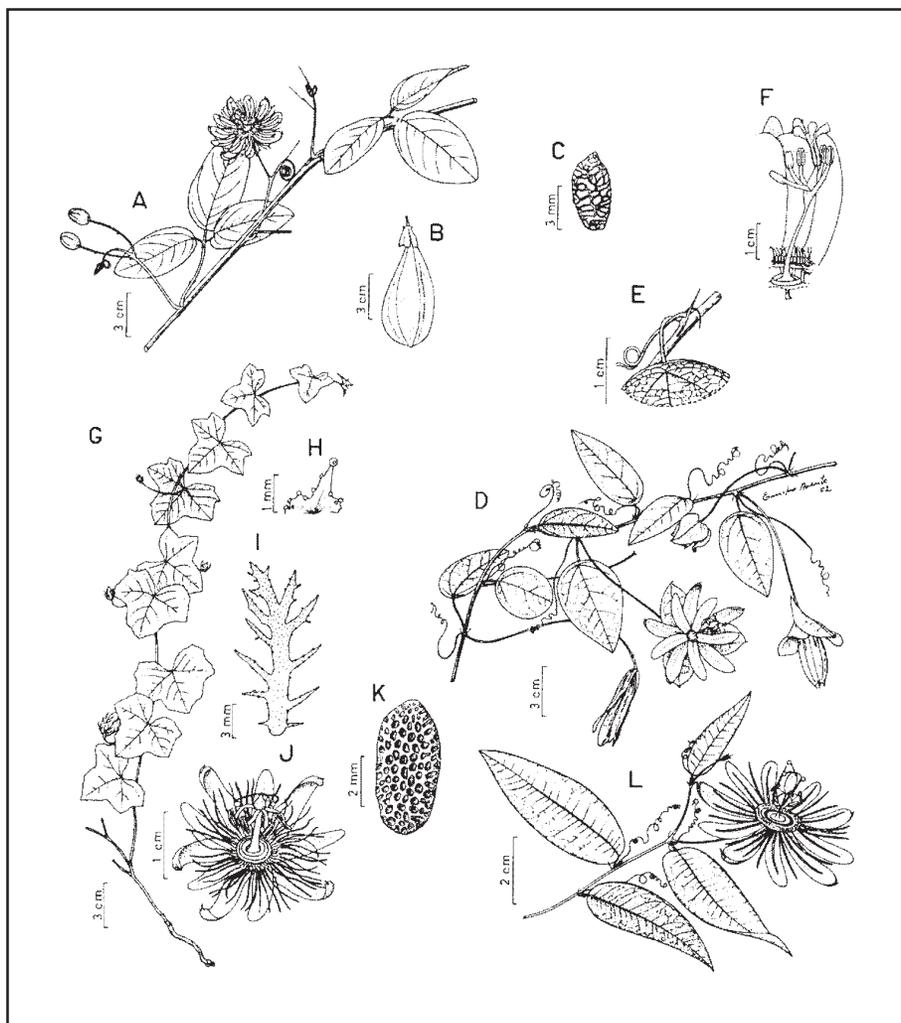


**Figura 1.** *Passiflora ischnoclada* Harms, espécie endêmica do Estado de São Paulo, em floração.

Foto: Harri Lorenzi



**Figura 2.** *Passiflora jilekii* Wawra em floração.



**Figura 3.** A-C *Passiflora deidamioides* Harms: A- hábito, B- fruto, C- semente; D-F *P. ischnoclada* Harms: D- hábito, E- base da folha, evidenciando estípula, nectário e nervação, F- corte longitudinal da flor em início de antese; G-K *P. lepidota* Mast.: G- hábito, H- estípula, I- bráctea, J- flor, K- semente; L *P. marginata* Mast.: hábito. A Hoehne s.n. (SP 4692), B-C Pabst s.n. (HB 11075), D-F. Jouy 975, G-H Handro 725, I-J Souza 4677, K Hoehne s.n. (SP 36728), L Brade 7391. Fonte: Modificado de Bernacci et al. (2003).

Apesar desse aumento de espécies citadas para São Paulo, cerca de 60% do total de espécies ocorrentes nesse Estado chegou a ser indicado para a lista de espécies ameaçadas de extinção (São Paulo, 1998; Bernacci et al., 2003), representando uma situação dramática em relação à conservação da família na natureza.

Entretanto, com recentes esforços de coleta, novos registros ocorreram e, atualmente, apenas quatro (10% do total de espécies) espécies (*Passiflora campanulata* Mast., *P. malacophylla* Mast., *P. racemosa* Brot. e *P. setulosa* Killip) foram incluídas na Resolução SMA 48 (São Paulo, 2004), na lista de espécies ameaçadas, sendo que estão sendo consideradas como extintas no território paulista, ao menos em estado natural. Como um alento, pode-se considerar, contudo, que, apesar do grande desmatamento ocorrido em São Paulo, o Estado ainda apresenta grande biodiversidade de *Passifloraceae*. É possível, ainda, que, ampliando-se o esforço de coletas e o conhecimento sobre a família ou tomando-se medidas para reintroduzi-la na natureza, o número de espécies da família incluída na lista de espécies ameaçadas de extinção possa ser ainda mais reduzido.

Vitta & Bernacci (2004), além de apresentar a descrição de uma nova espécie de *Passifloraceae*, preocuparam-se em suprir informações sobre a caracterização e área de distribuição de duas outras espécies, descritas há muito tempo, mas ainda muito pouco conhecidas: *P. hypoglauca* Harms e *P. luetzelburgii* Harms.

Mais recentemente, em uma colaboração junto a Fundação Biodiversitas<sup>4</sup> para elaborar a **Revisão da Lista da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção** (<http://www.biodiversitas.org.br/florabr/index.asp>), constatou-se que, para várias espécies de *Passifloraceae* (Tabela 1), não existe registro de coletas há bastante tempo (mais de 30 ou 50 anos) e que essas espécies poderiam ser consideradas extintas. Entretanto, tal como aconteceu com as *Passifloraceae* de São Paulo, ao menos a maioria dessas espécies não deve estar sofrendo ameaça iminente de extinção, mas simplesmente não foram coletadas ou são mal conhecidas. Logo, isso só poderá ser confirmado com a realização de expedições de coleta e visita a áreas de possível ocorrência dessas espécies.

<sup>4</sup> Observação pessoal do primeiro autor em 2005.

**Tabela 1.** Lista de *Passifloraceae* do Brasil pouco conhecidas e indicadas para análise como candidatas à Lista da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção, informando-se o estado brasileiro de ocorrência e outros países onde a espécie ocorre, caso isso aconteça.

Espécie	Estados brasileiros de ocorrência	Outros países de ocorrência
<i>Ancistrothyrus hirtellus</i> A.Gentry	Amazonas	Peru, Venezuela
<i>Dilkea acuminata</i> Mast.	Amazonas	
<i>Dilkea retusa</i> Mast.	Amazonas	Peru
<i>Dilkea wallisii</i> Mast.	Pará	Peru, Venezuela
<i>Mitostemma brevifilis</i> Gontsch.	Rio Grande do Sul	
<i>Mitostemma glaziovii</i> Mast.	Rio de Janeiro	
<i>Passiflora amalocarpa</i> Barb.Rodr.	Amazonas	Peru
<i>Passiflora chlorina</i> L.K.Escobar	Minas Gerais	
<i>Passiflora cordistipula</i> Cervi	Amazonas	
<i>Passiflora filamentosa</i> Cav.	Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro	
<i>Passiflora hatschbachii</i> Cervi	Minas Gerais	
<i>Passiflora holtii</i> Killip	Amazonas	
<i>Passiflora hypoglauca</i> Harms	Minas Gerais	
<i>Passiflora ichthyura</i> Mast.	Goiás	Bolívia
<i>Passiflora imbeana</i> Sacco	Rio de Janeiro	
<i>Passiflora ischnoclada</i> Harms	São Paulo	
<i>Passiflora malacophylla</i> Mast.	Bahia, Minas Gerais, Santa Catarina	
<i>Passiflora margaritae</i> Sacco	Espírito Santo	
<i>Passiflora mucugensis</i> T.N.Senna	Bahia	
<i>Passiflora nephrodes</i> Mast.	Amazonas	Bolívia, Peru
<i>Passiflora oerstedii</i> Mast.	Mato Grosso	Colômbia, Costa Rica, Equador, México, Paraguai, Peru, Venezuela
<i>Passiflora phaeocaula</i> Killip	Amazonas	
<i>Passiflora quadrifaria</i> Vanderpl.	Pará	
<i>Passiflora retipetala</i> Mast.	Amazonas	Guiana
<i>Passiflora saccoi</i> Cervi	Minas Gerais	
<i>Passiflora saxicola</i> Gontsch.	Bahia	
<i>Passiflora setulosa</i> Killip	Paraná	
<i>Passiflora spicata</i> Mast.	Amazonas	
<i>Passiflora tuberosa</i> Jacq.	Acre	Guiana, Santo Thomas, Trindade-Tobago, Venezuela
<i>Passiflora urubiciensis</i> Cervi	Santa Catarina	

## Definições de espécies e entidades infra-específicas

A taxonomia é a disciplina que classifica os seres vivos. Classificar é uma atividade intrínseca ao raciocínio humano, mas a classificação biológica tomou as feições atuais apenas a partir do sistema hierárquico-binomial por Lineu (1753). Dentro de um sistema padronizado de classificação e nomenclatura, passou a ser possível armazenar, resgatar e relacionar informações acumuladas em diversas épocas e diferentes partes do mundo. Desde sua criação, o sistema de Lineu tem sofrido diversas modificações, estando, atualmente, composto de um conjunto de princípios e regras organizado por uma comissão e publicado na forma de códigos (Rapini, 2004).

Existem várias definições para espécie, sustentadas por diversas opiniões filosóficas acerca da maneira pela qual essa importante entidade taxonômica deveria ser definida (Raven et al., 1978). Contudo, a definição mais amplamente aceita é o “conceito biológico de espécie”, ou seja, espécies são grupos de populações naturais intercruzantes que são isolados reprodutivamente de outros grupos (Watanabe, 1987).

Qualquer espécie está representada por um sistema gênico integrado, selecionado através de gerações, de modo a estabelecer-se em um ambiente apropriado. Sua unidade é assegurada e controlada por processos que impedem ou dificultam o cruzamento com outras espécies, denominados de mecanismos de isolamento reprodutivo. Esses mecanismos são entendidos como propriedades biológicas de natureza intrínseca, inerentes aos indivíduos real ou potencialmente reprodutivos que constituem as populações pertencentes a cada espécie (Bezerra & Fernandes, 1984).

Nas plantas, esses mecanismos podem ser:

- a) isolamento ecológico: espécies ocorrentes em uma mesma área diferem em relação ao *habitat* que ocupam, em função de diferenças quanto ao solo, luz, temperatura, umidade;
- b) isolamento etológico: espécies diferentes apresentam diversas afinidades em relação aos polinizadores;

- c) isolamento estacional: quando existe defasagem quanto ao período reprodutivo (floração) entre as espécies;
- d) isolamento fisiológico: em que a inviabilidade reprodutiva é motivada por processo fisiológico, como no caso de antagonismo quimiotrópico entre os gametas;
- e) isolamento estrutural: determinado pela existência de particularidades anatômicas ou morfológicas que impedem a polinização ou a fertilização.
- f) isolamento genético *stricto sensu*: relacionado com a inviabilidade ou a esterilidade dos híbridos, em virtude do comportamento dos cromossomos, em geral, ou da incompatibilidade entre os respectivos genes, em particular.

Embora os organismos estejam constantemente evoluindo e o relacionamento entre eles também esteja mudando, esse conceito de espécie pode ser aplicado com relativa facilidade para os animais superiores, mas não pode, normalmente, ser aplicado, por exemplo, a bactérias e ao protista *Euglena*, nos quais a recombinação gênica, virtualmente, não ocorre. Em relação às plantas, existem inúmeras dificuldades para a aplicação desse conceito de espécie (Raven et al., 1978).

Mesmo existindo casos em que os cruzamentos entre plantas de espécies diferentes podem originar híbridos estéreis, em maior ou menor grau, existem muitos casos em que isso não ocorre. É o caso dos carvalhos (*Quercus* - Fagaceae) nos quais, aparentemente, qualquer espécie pode ser cruzada com quase todas as outras, produzindo híbridos férteis. Por sua vez, entre ervas, tal como em *Clarkia rhomboidea* Douglas ex Hook. (Onagraceae), diferentes populações da espécie cruzam-se livremente entre si, enquanto outras produzem descendentes estéreis (Raven et al., 1978).

Em orquídeas (*Orchidaceae*), é possível promover o cruzamento entre plantas de vários gêneros (*Laelia*, *Brassavola*, *Cattleya*) diferentes, produzindo-se descendentes férteis. Em *Passiflora* a hibridização ocorre em diferentes graus, sendo mais fácil entre algumas espécies, mas não possível entre outras<sup>5</sup>.

---

<sup>5</sup> Observação pessoal do primeiro autor em 2004-2005.

Em um grupo particular, é razoável dizer que, quanto maiores as diferenças entre os indivíduos que se cruzam, maior a probabilidade de que seus híbridos sejam menos férteis, mas no caso de grupo para grupo é difícil estabelecer a correlação entre a capacidade de formação de híbridos e uma dada posição taxonômica (Raven et al., 1978).

Como os organismos vivos seguiram caminhos evolutivos diversificados, não se deveria esperar que as unidades denominadas espécies nas bactérias ou em *Euglena* correspondessem ao mesmo tipo de unidade que nos carvalhos (*Quercus*). Entretanto, o termo espécie é útil, representando uma possibilidade de referir-se aos organismos e de catalogá-los.

Outro princípio que é levado em conta é que organismos mais próximos são, igualmente, mais semelhantes entre si. Organismos bastante semelhantes entre si, representariam então a espécie.

De acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Botânica (Código Internacional..., 2003), o nome de um táxon, tal como a espécie, está associado a um tipo. A publicação de um nome funciona como um documento legal, estando diretamente associado à classificação dos tipos e, segundo o princípio de prioridade, o nome mais antigo, validamente publicado, prevalece (Rapini, 2004).

Assim, na prática, os organismos de uma mesma espécie são aqueles semelhantes ao material-tipo, conforme reconhecidos pelo taxonomista.

Atualmente, análises filogenéticas, com o uso de macromoléculas, têm sido utilizadas como ferramenta para distinguir espécies. Existe, até mesmo, a sugestão de que a seqüência de DNA passaria a ser o instrumento-padrão na descrição e na identificação de espécies, eliminando a subjetividade associada ao uso do tipo na classificação e funcionando como código de barras (Herbert et al., 2003 citado por Rapini, 2004).

Todavia, há alguns problemas evidentes na aplicação de seqüências de DNA para a descrição de espécies. Cada espécie inclui a variação morfológica e de outras naturezas adotada pela hipótese de circunscrição do táxon em

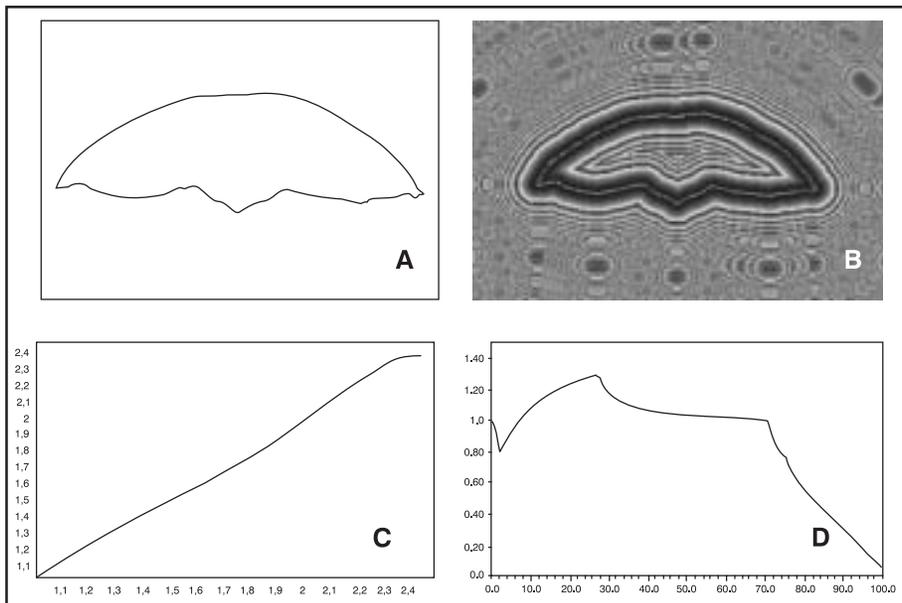
questão, podendo variar conforme o grau de conhecimento ou as premissas assumidas, enquanto a associação tipo-nome é técnica, estando o nome associado a um material ou conjunto de material selecionado. Assim, tais como características diferentes podem ser usadas para definir uma espécie, diferentes genes também poderiam ser utilizados, mantendo-se o grau de instabilidade nomenclatural característico da taxonomia. O polimorfismo genético é amplamente conhecido, e o uso de seqüências poderia levar à descrição de indivíduos e não de espécies. Poderia haver um gene ideal para ser utilizado na descrição das espécies? Ou deveriam ser utilizados mais do que um gene? Quantos seriam o ideal? Assim, ao menos aparentemente, não existe uma razão clara para que o DNA seja considerado um caráter mais apropriado na definição de uma espécie (Rapini, 2004).

De qualquer forma, nenhuma ferramenta, a princípio, pode contribuir para a definição de uma espécie e sempre se deve incentivar o uso de novas ferramentas, embora a subjetividade presente no reconhecimento de uma espécie parece ser a dificuldade em organizar ou expressar os princípios ou os mecanismos utilizados nesse reconhecimento.

Com a evolução da tecnologia computacional, novas ferramentas têm sido desenvolvidas, ao menos em caráter experimental, utilizando-se a visão computacional por meio de técnicas de distância exata e dimensão fractal multiescala (Plotze et al., 2005). Por meio dessa técnica, é possível que sejam geradas, pela imagem de uma folha (Figura 4 a), novas linhas ou imagens que representam distâncias progressivas do contorno dessa folha (Figura 4 b). É possível, então, dispor em gráfico a área de influência do objeto e a área efetivamente ocupada por ele (folha). Com a utilização desses valores em escala logarítmica (Figura 4 c), obtém-se uma regressão linear cujo coeficiente angular representa o valor da dimensão fractal de Minkowsky. Com o método multiescala (Figura 4 d), calcula-se a derivada numérica de cada ponto da regressão, e a sua representação gráfica possibilita a obtenção de vários pontos, tais como: pico de fractalidade, escala de máxima fractalidade e largura de alta fractalidade, em vez de um único valor, como no caso do coeficiente angular (Plotze et al., 2005).

Esses valores da dimensão fractal multiescala podem ser analisados por meio de análises multivariadas de classificação (Figura 5) ou ordenação, podendo-se investigar as afinidades entre as espécies em uma abordagem filogenética, sendo que as possibilidades nesse sentido são promissoras (Plotze et al., 2005).

Nas *Passifloraceae*, a morfologia, tanto reprodutiva, sobretudo, flores e brácteas, quanto vegetativa, especialmente folhas e estípulas, é muito variável, sendo que a variação na morfologia foliar representa a maior variação descrita em angiospermas (MacDougal, 1994). Em alguns casos, é possível distinguir as espécies apenas pela morfologia foliar, como é o caso de *Passiflora cirrhiflora* Juss., da região Amazônica (Ribeiro et al., 1999). Todavia, em outras espécies (crípticas) a semelhança, inclusive molecular (Pádua, 2004), é muito acentuada, de forma que a correta identificação torna-se uma tarefa difícil.

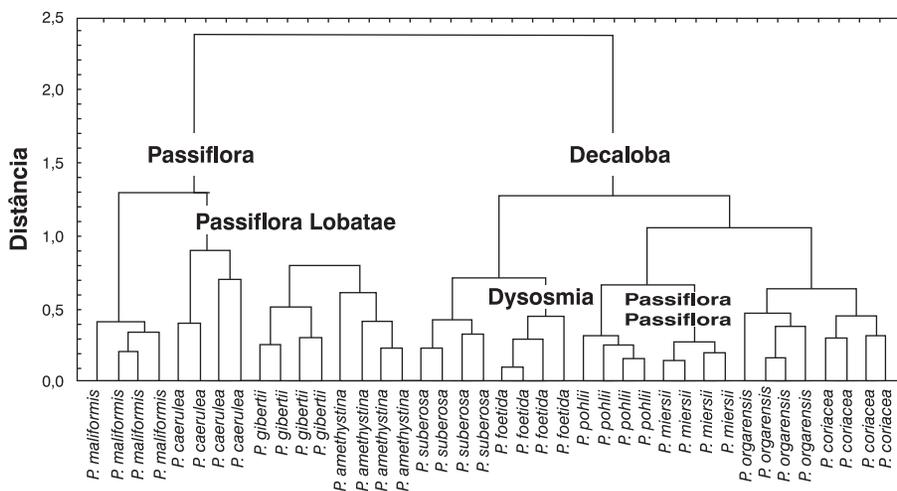


**Figura 4.** (a) Contorno da imagem de uma folha; (b) Transformada da distância exata; (c) Gráfico do  $\text{Log}(\text{distância}) \times \text{Log}(\text{área})$  em que a inclinação determina os valores da dimensão fractal; (d) Respectivas assinaturas da dimensão fractal multiescala.

Fonte: modificado de Plotze et al.(2005).

Abaixo do nível de espécies, podem ser reconhecidos outros níveis hierárquicos, ou seja, as variações dentro da espécie podem constituir padrões identificáveis. Esses padrões representam diferenças em relação à normalidade da espécie, mas são considerados insuficientes para o reconhecimento como espécies diferentes da espécie em questão. Normalmente, é considerada a variação em mais de um caráter que deve variar associadamente e não apenas a variação em um único caráter para se reconhecer e definir essas entidades infra-específicas.

Entre essas categorias, está a subespécie que representa um padrão de variação associado à distribuição geográfica. Outra categoria infra-específica é a variedade que representa um padrão de variação natural relativamente evidente não associada à distribuição geográfica. Por fim, a forma é aplicável a padrões de variação natural, igualmente, não associados à distribuição geográfica, em caracteres de menor importância relativa, sendo de uso pouco freqüente na taxonomia em geral. Cultivar também é uma entidade taxonômica, infra-específica, entretanto, aplicado às plantas originadas através de cultivo, mesmo que exclusivamente por seleção na natureza.



**Figura 5.** Dendrograma utilizando os valores da dimensão fractal multiescala e distância mínima para 10 espécies do gênero *Passiflora*, considerando-se o formato e a nervação foliares, sendo possível reconhecer os subgêneros *Passiflora*, *Decaloba* e *Dysosmia* e as séries *Lobatae* e *Passiflora* do subgênero *Passiflora*.

Fonte: Modificado de Plotze et al. (2005).

Para *Passiflora*, justamente para a espécie de maior importância econômica, *P. edulis* Sims, a distinção de formas chegou a ser utilizada (Degener, 1932). Embora frutos de casca amarela fossem conhecidos de longa data no Brasil (Masters, 1872), Degener (1932) surpreendeu-se com o surgimento de frutos com essa característica em uma plantação de maracujá-roxo no Havaí, acreditando ser provenientes de mutação. Observou, ainda, que além da coloração diferencial dos frutos, as plantas em questão apresentavam nectários nas sépalas, o que não ocorreria nos outros indivíduos da plantação, descreveu então *P. edulis* forma *flavicarpa* O. Deg. (Degener, 1932) distinguindo-a, então, do maracujá-roxo, *P. edulis* Sims forma *edulis*.

Killip (1938) não chegou a conhecer o estudo de Degener (1932) e considerou que tanto variedades como formas descritas para *P. edulis* eram inconsistentes já que diferentes caracteres não variavam associadamente, tratando a espécie sem a distinção de variedades ou formas. Mesmo posteriormente, Killip (1960) não fez referência ao estudo de Degener (1932) e Bernacci et al. (2003) contribuíram com argumentos que fortaleceram a posição de Killip (1938) e sugeriram a utilização de categorias de cultivares para esse caso.

Em vários grupos taxonômicos, muitas formas e variedades, descritas no passado, são tratadas atualmente como cultivares. A denominação das cultivares é regida pelo Código Internacional de Nomenclatura das Plantas Cultivadas (Trehane et al., 1995), existindo a categoria grupos de cultivares que indicam conjuntos de cultivares com características em comum. Assim, seria possível utilizar a denominação *Passiflora edulis* grupo *edulis* para os maracujás-roxos e *Passiflora edulis* grupo *flavicarpa* para os maracujás-amarelos, com a finalidade de manter uma denominação que ficou tradicional na área agrícola, embora a origem de frutos com casca amarela certamente não tenha ocorrido primeiramente no Havaí. Existem, ainda, frutos com outras colorações em *P. edulis*, tais como: avermelhados, esverdeados e rosados<sup>6</sup>, para os quais seria necessária a definição de grupos ou seria, então,

---

<sup>6</sup> Observação pessoal do autor em 1999-2005.

recomendável, definir os grupos anteriores com amplitude suficiente para incluir essas outras colorações ou matizes de cor da casca. O próprio maracujá-roxo do comércio tem cor e matizes entre o roxo, lilás e rosado que são bastante diferentes daqueles das plantas nativas cujos frutos são roxo-escuros, quase negros. Ainda, outra opção é denominar todo o material, com todas as variações de casca, apenas, até o nível de espécie, o que tem a vantagem de ser mais simples. As cultivares podem ser definidas em função de suas qualidades agronômicas, e cada cor ou variação, pode ser apresentada sem a definição de categorias taxonômicas, apenas para fins de registro e fins comerciais.

Adicionalmente às qualidades agronômicas, diferenças morfológicas, entre outras, podem e têm sido utilizadas para a distinção de cultivares e na seleção de material em *Passiflora*. Para *P. alata* Curtis (maracujá-doce), foram observadas, entre outras, diferenças significativas em relação ao comprimento e largura das folhas, à largura da estípula ou comprimento do pecíolo entre diferentes acessos (Meletti et al., 2003). Diferenças significativas foram, também, observadas em relação à largura foliar, comprimento foliar e do pecíolo, largura do lobo central e comprimento e largura dos lobos laterais, espessura dos ramos e comprimento das estípulas (Meletti et al., 2005) entre três diferentes seleções de maracujá-roxo (*P. edulis* Sims).

## Bancos de germoplasma

Como o Brasil é um dos centros de diversidade da família *Passifloraceae* e como muitas das espécies da família têm flores vistosas, a diversidade nativa das *Passifloraceae* do País desperta grande interesse, motivando coletas e a formação de coleções. Entretanto, com a diversidade de *Passifloraceae*, igualmente, aqui existe imensa diversidade de pragas e patógenos associados às plantas que apresentam resistência diferenciada a esses organismos. Visando selecionar material com resistência a doenças, diferentes espécies têm sido mantidas em bancos de germoplasma, embora, para o melhoramento, genótipos das espécies tradicionalmente usadas em cultivo têm sido as preferidas.

O Banco Ativo de Germoplasma (BaG-IAC), iniciado em 1991, foi instalado em Jundiá (SP), proveniente de doações de sementes da UNESP-Jaboticabal e Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e coletas de algumas espécies nativas.

Em 1993, foi feita uma duplicata em Pindorama (SP), localidade mais quente, para manutenção dos acessos de clima tropical. Por falta de infraestrutura, de recursos financeiros e de mão-de-obra qualificada, o BaG foi reunificado em 1996, em Monte Alegre do Sul (SP), na tentativa de condução e manutenção do acervo genético em localidade com baixa fonte de inóculo e maior proximidade para a realização de caracterização (Meletti et al., 1992, 1994, 1997, 1999). Paralelamente, foi instituído um programa de melhoramento genético para seleção de cultivares de maracujá-amarelo de alta produtividade e qualidade de fruto que resultou no lançamento das três primeiras cultivares nacionais da espécie, em 1999 (Meletti et al., 2000). Além das espécies em cultivo em Monte Alegre do Sul (SP), algumas espécies mais delicadas, tais como: *P. truncata* Regel, *P. coriacea* Juss. e *P. tenuifila* Killip têm sido mantidas em estufa, em Campinas (SP), embora, também, existam dificuldades para manutenção de muitas espécies de *Passifloraceae* em cultivo protegido, tendo ocorrido insucesso para a manutenção de algumas delas. No conjunto, apesar da relativamente grande diversidade presente nesse banco de germoplasma, pode-se constatar que, praticamente, não existem representantes das espécies ameaçadas de extinção mantidas no banco.

Algumas espécies de *Passifloraceae* apresentam exigências muito particulares para se desenvolver, sendo extremamente difíceis de serem mantidas em cultivo. Algumas vezes, as dificuldades iniciam-se na germinação, sendo raro que ela ocorra em condições usuais de laboratório. Uma alternativa é a germinação in vitro que mostrou ótimos resultados para *P. nitida* (Passos et al., 2004). O cultivo in vitro pode ser uma alternativa para a conservação das espécies de *Passifloraceae*. Entretanto, da mesma forma que para o cultivo no campo ou estufa ou conservação das espécies na natureza, apresenta dificuldades, e os resultados são ainda mais incipientes. Até o momento, está sendo possível manter plantas de *P. alata*, *P. cincinnata* e *P. nitida* e foram iniciados testes com *P. kermesina* Link & Otto, *P. quadrangularis* L. e *P. suberosa* L.. *Passiflora cincinnata* e *P. setacea*

apresentaram sintomas de deficiência nutricional e testes complementares têm sido desenvolvidos. Todas as espécies têm apresentado degeneração ao longo das repicagens e novos testes são necessários. Melhores resultados foram indicados por Vieira & Carneiro (2004) que estariam mantendo 20 espécies in vitro, entretanto, a referência a esse cultivo, no texto, é extremamente pontual e sequer as espécies mantidas são indicadas. Por ser uma área de desenvolvimento recente, a pesquisa e a publicação de resultados também deveriam ser incentivadas.

A seguir, estão relacionadas as espécies que, atualmente, compõem o Banco Ativo de Germoplasma de *Passifloraceae* (maracujazeiros) do IAC, no campo, em Monte Alegre do Sul (SP).

## Espécie

*Passiflora actinia* Hook.

*Passiflora alata* Curtis

*Passiflora ambigua* Hemsl.

*Passiflora auriculata* Kunth

*Passiflora caerulea* L.

*Passiflora cincinnata* Mast.

*Passiflora coccinea* Aubl.

*Passiflora edulis* Sims

*Passiflora foetida* L. var. *foetida*

*Passiflora foetida* var. *fluminensis* (M. Roem.) Killip

*Passiflora gibertii* N.E.Br.

*Passiflora laurifolia* L.

*Passiflora ligularis* Juss.

*Passiflora loefgrenii* Vitta

*Passiflora malacophylla* Mast.

*Passiflora micropetala* Mart. ex Mast.

*Passiflora misera* Kunth

*Passiflora morifolia* Mast.

*Passiflora mucronata* Lam.

*Passiflora nitida* Bonpl. ex Kunth

*Passiflora setacea* DC.

*Passiflora sidifolia* M.Roem.

*Passiflora suberosa* L. '

*Passiflora subrotunda* Mast.

*Passiflora tricuspis* Mast.

*Passiflora triloba* Ruiz & Pav. ex DC.

Existem, ainda, coleções de *Passifloraceae* estabelecidas com finalidade ornamental, para as quais é interessante observar que a maior parte localiza-se no exterior e em empresas comerciais não no Brasil ou centros de pesquisa. Tal fato se deve às dificuldades de cultivo das *Passifloraceae*, no Brasil, que são bastante consideráveis, o que parece ser devido, em grande parte, à enorme quantidade de pragas e patógenos existentes em razão da, igualmente, grande diversidade de espécies de maracujá. Além disso, existem dificuldades de cultivo, por serem trepadeiras e demandarem maior área para o desenvolvimento da cultura. Algumas espécies brasileiras que existem em cultivo no exterior, não são encontradas em cultivo no Brasil.

Apenas recentemente, a Embrapa Cerrados tem dedicado pesquisas à seleção de plantas ornamentais (Junqueira et al., 2005), estando prestes a lançar uma cultivar híbrida no mercado<sup>7</sup>. Como ornamental, os híbridos são bastante desejáveis para promover a ampliação e variações em cores e formatos de estruturas florais. Mas, do mesmo modo que em relação ao cultivo como frutíferas, algumas espécies acabam sendo preferidas para a produção desses híbridos e outras menos vistosas, no caso, são relegadas a segundo plano, comprometendo, assim sendo, a manutenção da biodiversidade. Outro aspecto que denota elementos negativos é que, com a produção de híbridos, podem ocorrer retrocruzamentos que interferirão na manutenção da constituição genética das espécies nativas. Portanto, é necessário tomar o cuidado de promover a propagação sexuada das diferentes espécies de um banco de germoplasma apenas através de sementes advindas de polinizações controladas, entre os indivíduos da mesma espécie.

Ademais, seja no Brasil, seja no exterior, assim como ocorre em relação aos bancos de germoplasma para seleção de materiais para melhoramento em fruticultura, praticamente, não existem representantes das espécies ameaçadas mantidas em cultivo.

Mesmo considerando a utilização como ornamentais, o número de espécies de *Passifloraceae* brasileiras mantido em cultivo, mesmo que no

---

<sup>7</sup> Observação pessoal do autor em 2005.

exterior, é relativamente baixo, em relação ao número total de espécies da família mantido em cultivo. Tal fato se deve às dificuldades enfrentadas pelos bancos e coleções brasileiras, tanto para a realização de expedições de coleta quanto para a manutenção das plantas em cultivo, mas se deve também à própria dimensão territorial do País e, mais recentemente, às dificuldades crescentes impostas pela legislação e burocracia que limitam ou trazem dificuldades ou empecilhos à realização de coletas, objetivando coibir a biopirataria, por parte de estrangeiros (que muitas vezes não são atingidos, em função da ineficácia da fiscalização), mas que atingem, em especial, pesquisadores responsáveis e ciosos de seus deveres, notadamente, de instituições governamentais. Pelo menos, algumas dessas espécies ameaçadas de extinção não estão em cultivo porque ainda não foram localizadas, na natureza, nos dias atuais.

## Conclusões

As *Passifloraceae* representam uma família com grande diversidade natural, sendo que o Brasil é um dos centros de diversidade na família, concentrando grande número de espécies (130 espécies). Com o avanço das pesquisas, novas espécies têm sido descritas e novas ocorrências, registradas, mas a devastação da vegetação nativa caminha em passo mais acelerado, e a preocupação com a conservação da biodiversidade nativa torna-se crescente. A correta identificação e caracterização torna possível conhecer melhor as espécies, inclusive, quanto a sua distribuição. Relativamente, poucas espécies de *Passifloraceae* nativas do Brasil são mantidas em cultivo, e existem espécies ameaçadas de extinção que são muito pouco conhecidas e não têm sido encontradas recentemente, em cultivo ou até mesmo na sua área de ocorrência natural. Entretanto, essas lacunas são, ao menos em parte, devidas às dimensões territoriais do País e ao pouco investimento em bancos de germoplasma, sobretudo, em relação a coletas de espécies nativas. Com o progresso das pesquisas, objetiva-se superar as dificuldades enfrentadas atualmente no cultivo das espécies em campo, estufa, in vitro ou ainda na conservação das espécies na natureza.

## Agradecimentos

Ao Instituto Plantarum, especialmente, na pessoa do Dr. Harri Lorenzi pela autorização para uso de fotografias suas de *Passiflora ischnoclada* e *P. jilekii* e por tornar possível a realização de viagens de coleta para a localização de espécies ainda não cultivadas da família *Passifloraceae*.

## Referências Bibliográficas

BAKKER, Y. V.; BERNACCI, L. C. O gênero *Tetrastylis* B.Rodr. (Passifloraceae) no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BOTÂNICA DE SÃO PAULO, 12., 1998, Piracicaba. **Resumos...** Piracicaba: SBSP, 1998. p. 69-70.

BARBOSA-RODRIGUES, J. Passiflorae. In: BARBOSA-RODRIGUES, J. **Plantae Mattogrosses**. Rio de Janeiro: Thypographia Leuxinger, 1898, p. 25-28. Tábula IX-X.

BENSON, W. W.; BROWN, K. S.; GILBERT, L. E. Coevolution of plants and herbivores: passion flower butterflies. **Evolution**, v. 29, p. 659-680, 1978.

BERNACCI, L. C. Notas sobre *Passiflora ischnoclada* Harms (Passifloraceae). **Acta bot. bras.**, v. 15, n. 2, p. 197-199, 2001.

BERNACCI, L. C. (Coord.) Passifloraceae. In: WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD, G. J.; GIULIETTI, A. M.; MELHEM, T. S. (Ed.) **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: RiMa/FAPESP, 2003. v. 3, p. 247-274.

BERNACCI, L. C.; MELETTI, M. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; AZEVEDO FILHO, J. A.; LORENZI, H.; PEIXOTO, M. *Passiflora ischnoclada* Harms (Passifloraceae), uma espécie endêmica de São Paulo e em perigo de extinção. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE EDUCAÇÃO AMBIENTAL NA AGRICULTURA, 4., 2002, Campinas. **Anais...** Campinas: IAC, 2002. p. 29-30.

BERNACCI, L. C.; MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D. Maracujá-doce: o autor, a obra e a data da publicação de *Passiflora alata* (Passifloraceae). **Rev. Bras. Frutic.**, v. 25, n. 2, p. 355-356, 2003.

BERNACCI, L. C.; VITTA, F. A. Flora Fanerogâmica da Reserva do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (São Paulo, Brasil). **Hoehnea**, v. 26, n. 2, p. 135-147, 1999.

BEZERRA, P.; FERNANDES, A. **Fundamentos de taxonomia vegetal**. Fortaleza: UFC, 1984. 100 p.

BRUMMITT, R. K. **Vascular plant families and genera**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1992. 804 p.

BUZATO, S.; FRANCO, A. L. M. *Tetrastylis ovalis*: a second case of bat-pollinated passionflower (Passifloraceae). **Pl. Syst. Evol.**, v. 181, p. 261-267, 1992.

CERVI, A. C. Passifloraceae do Brasil: estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. **FontQuerria**, v. 45, p. 1-92, 1997.

CÓDIGO internacional de nomenclatura botânica (Código de Saint Louis, 2000). São Paulo: IBT:IAPT: SBSP, 2003. 162 p.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University, 1981. 1262 p.

DEAN, W. **A ferro e fogo**: a história e a devastação da Mata Atlântica Brasileira. São Paulo: Companhia das Letras, 1996. 484 p.

DEGENER, O. *Passiflora edulis*. In: DEGENER, O. **Flora Hawaiiensis**. Honolulu: [s.n.], 1932. p.fam. 250.

ESCOBAR, L. K. A new subgenus and five new species in *Passiflora* (Passifloraceae) from South America. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 76, p. 877-885, 1988.

FONSECA, G. A. B. The vanishing Brazilian Atlantic forest. **Biological Conservation**, v. 34, p. 17-34, 1985.

HARMS, H. Passifloraceae. In: ENGLER, A.; PRANTL, K. **Die Natürlichen Pflanzenfamilien**. 2. ed. Leipzig: Wilhelm Engelmann, 1925. p. 470-507.

HOEHNE, F. C. Passifloraceae. In: HOEHNE, F. C. **Com. Linh. Telegr. MattoGrosso. Amaz. Anexo 5, Bot. 5**. Rio de Janeiro, 1915. p. 72-80, fig. 111-112.

HOLM-NIELSEN, L. B.; JØRGENSEN, P. M.; LAWESSON, J. E. **Passifloraceae (Flora of Ecuador: 126)**. Copenhagen: University Göteborg: Riksmuseum: Universidad Católica del Ecuador, 1988. 131 p.

JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.; FALEIRO, F.G.; PEIXOTO, J.R.; BERNACCI, L.C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Ed.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. p. 81-108.

KILLIP, E. P. The American species of Passifloraceae. **Botanical Series (Field Museum of Natural History)**, v. 49, p. 1-613, 1938.

KILLIP, E. P. Supplemental notes on the American species of Passifloraceae, with descriptions of new species. **Contr. U.S. Nat. Herbarium**, v. 35, p. 1-23, 11 plates, 1960.

KOSCHINITZKE, C.; SAZIMA, M. Biologia floral de cinco espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) em mata semidecídua. **Revista Brasil. Bot.**, v. 20, n. 2, p. 119-126, 1997.

KUGLER, E. E.; KING, L. A. A brief history of the passionflower. In: ULMER, T.; MacDOUGAL, J. M. **Passiflora: passionflowers of the World**. Portland: Timber, 2004. p. 15-26.

LINEU, C. **Passiflora**. [S.l]: [s.n.], 1753. v. 2, p. 955-960.

MacDOUGAL, J. M.; FEUILLET, C. Systematics. In: ULMER, T.; MacDOUGAL, J. M. **Passiflora: passionflowers of the World**. Portland: Timber, 2004. p. 27-31.

MacDOUGAL, J. M. Revision of *Passiflora* subgenus *Decaloba* section *Pseudodysosmia* (Passifloraceae). **Systematic Botany Monographs**, v. 41, p. 1-146, 1994.

MASTERS, M. T. Passifloraceae. In: MARTIUS, C. F. P.; EICHLER, A. G.; URBAN, I. (Ed.). **Flora Brasiliensis**, v. 13, n. 1., p. 527-628, 1872.

MELETTI, L. M. M. **Caracterização agrônômica de progênies de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* fo. *flavicarpa* O.Deg.)** 1998. 92 f. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiros", Piracicaba, 1998.

MELETTI, L. M. M.; BERNACCI, L. C.; SOARES-SCOTT, M. D.; AZEVEDO FILHO, J. A.; MARTINS, A. L. M. Variabilidade genética em caracteres morfológicos, agrônômicos e citogenéticos de populações de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis). **Rev. Bras. Frutic.**, v. 25, n. 2, p. 275-278, 2003.

MELETTI, L. M. M.; MAIA, M. L. Maracujá: produção e comercialização. **Boletim Técnico Instituto Agrônômico**, v. 181, p. 1-64, 1999.

MELETTI, L. M. M.; SANTOS, R. R. dos; MINAMI, K. Melhoramento do maracujazeiro-amarelo: Obtenção do 'Composto IAC-27'. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 3, p. 491-498, 2000.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C. Caracterização fenotípica de três seleções de maracujazeiro-roxo (*Passiflora edulis* Sims). **Rev. Bras. Frutic.**, 2005. no prelo.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; AZEVEDO FILHO, J. A. Caracterização de germoplasma de *Passiflora*. II: *P. serrato-digitata* e *P. mucronata*. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO, 1., 1999, Londrina. **Anais...** Londrina: SBF/IAPAR, 1999. p. 85-86.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; MARTINS, F. P. Caracterização de germoplasma de *Passiflora* I: *Passiflora amethystina* e *Passiflora cincinnata*. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS, 1., 1997, Campinas. **Resumos...** Campinas: IAC, 1997. p. 73-74.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; PINTO-MAGLIO, C. A. F.; MARTINS, F. P. Caracterização agrônômica e seleção de germoplasma de maracujá (*Passiflora* spp). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13., 1994, Cruz das Almas. **Anais...** Cruz das Almas: UFB, 1994. p. 821-822.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; PINTO-MAGLIO, C. A. F.; MARTINS, F. P. Caracterização de germoplasma de maracujazeiro (*Passiflora* sp). **Rev. Bras. Frutic.**, v. 14, n. 2, p. 157-162, 1992.

MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; BAUMGRATZ, J. F. A. *Passiflora* L. subgênero *Decaloba* (DC.) Rchb. (Passifloraceae) na região sudeste do Brasil. **Rodriguésia**, v. 55, n. 85, p. 17-54, 2004.

MORI, S. A.; BOOM, B. M.; PRANCE, G. T. Distribution patterns and conservation of eastern Brazilian coastal forest tree species. **Brittonia**, v. 33, p. 233-245, 1981.

MUSCHNER, V. C.; LORENZ, A. P.; CERVI, A. C.; BONATTO, S. L., SOUZA-CHIES, T. T.; SALZANO, F. M.; FREITAS, L. B. A first molecular phylogenetic analysis in *Passiflora* (Passifloraceae). **American Journal of Botany**, v. 90, n. 8, p. 1229-1238, 2003.

NUNES, T. S.; QUEIROZ, L. P. A família Passifloraceae na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. **Sitientibus**, v. 1, n. 1, p. 33-46, 2001.

OLIVEIRA, J.C.; RUGGIERO, C. Espécies de maracujá com potencial agrônômico. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Ed.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. p. 143-158.

PÁDUA, J. G. **Análises genéticas de espécies do gênero *Passiflora* L. com base em abordagens filogenéticas, morfométricas e em marcadores microssatélites**. 2004. 112 f. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2004.

PASSOS, I. R. S.; MATOS, G. V. C.; MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; VIEIRA, M. A. R. Utilização do ácido giberélico para quebra de dormência de sementes de *Passiflora nitida* Kunth germinadas in vitro. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 26, n. 2, p. 380-381, 2004.

PESSOA, S. V. A. Passifloraceae. In: LIMA, M. P. M.; GUEDES-BRUNI, R. R. (Org.). **Reserva Ecológica de Macaé de Cima, Nova Friburgo - RJ: aspectos florísticos das espécies vasculares**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 1994. v. 1, p. 315-322.

PLOTZE, R. O.; FALVO, M.; PÁDUA, J. G.; BERNACCI, L. C.; VIEIRA, M. L. C.; OLIVEIRA, G. C.; BRUNO, O. M. Leaf shape analysis using the multiscale Minkowski fractal dimension,

a new morphometric method: a study with *Passiflora* (Passifloraceae). **Can. J. Bot.**, v. 83, p. 287-301, 2005.

RANTA, P.; BLOM, T.; NIEMELA, J.; JOENSUU, E.; SIITONEM, M. The fragmented Atlantic rain forest of Brazil: size, shape and distribution of forest fragments. **Biodiversity and Conservation**, v. 7, p. 385-403, 1998.

RAPINI, A. Modernizando a taxonomia. **Biota Neotropica**, v. 4, n. 1, p. 1-4, 2004.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; CURTIS, H. **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1978. 724 p.

RIBEIRO, J. E. L. S.; HOPKINS, M. J. G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C. A.; COSTA, M. A. S.; BRITO, J. M.; SOUZA, M. A. D.; MARTINS, L. H. P.; LOHMANN, L. G.; ASSUNÇÃO, P. A. C. L.; PEREIRA, E. C.; SILVA, C. F.; MESQUITA, M. R.; PROCÓPIO, L. C. **Flora da Reserva Ducke**: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. Manaus: INPA, 1999. 816 p.

ROEMER, M. J. Passifloraceae. In: ROEMER, M. J. **Fam. Nat. Syn. Monogr. Vimaríae**: Landes, 1846. v. 2. p. 125-207.

ROYAL BOTANIC GARDENS. **Index Kewensis**: version 2.0. Oxford: Oxford University, 1997. 1 CD-ROM.

SACCO, J. C. Passifloráceas. In: REITZ, R. **Flora ilustrada catarinense, v. Passi**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1980. p.1-130.

SAZIMA, M.; SAZIMA, I. Bat pollination of the passion flower, *Passiflora mucronata*, in Southeastern Brazil. **Biotropica**, v. 10, n. 2, p. 100-109, 1978.

SAZIMA, M.; SAZIMA, I. Additional observations on *Passiflora mucronata*, the bat-pollinated passionflower. **Ciência e Cultura**, v. 39, p. 310-312, 1987.

SAZIMA, M.; BUZATO, S.; SAZIMA, I. Bat-pollinated flower assemblages and bat visitors at two Atlantic forest sites in Brazil. **Annals of Botany**, v. 83, n. 6, p. 705-712, 1999.

SÃO PAULO. Secretaria Do Meio Ambiente. Resolução SMA 20, de 9 de março de 1998. **Diário Oficial do Estado**, v. 10, mar., p. 23-25, 1998. Espécies da flora ameaçadas de extinção no Estado de São Paulo.

SÃO PAULO. Secretaria Do Meio Ambiente. Resolução SMA 48, de 21 de setembro de 2004. **Diário Oficial do Estado**, v. 22, set., 2004. Disponível em: <[http://www.ibot.sp.gov.br/resolucao\\_sma48/resolucao48.htm](http://www.ibot.sp.gov.br/resolucao_sma48/resolucao48.htm)>. Acesso em 26 out. 2004.

SEMIR, J.; BROWN JR., K. S. Maracujá: a flor da paixão. **Revista Geográfica Universal**, v. 5, n. 2, p. 40-47, 1975.

TREHANE, P.; BRICKELL, C. D.; BAUM, B. R.; HETTERSCHIED, W. L. A.; LESLIE, A. C.; McNEILL, J.; SPONGBERG, S. A.; VRUGTMAN, F. (Ed.). **International Code of**

**Nomenclature for Cultivated Plants – 1995** (ICNCP or Cultivated Plant Code).  
Wimborne: Quaterjack, 1995. 175 p.

VANDERPLANK, J. **Passion Flowers**. 3. ed. Cambridge: MIT, 2000.

VARASSIN, I. G. **Néctar e voláteis na polinização de quatro espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae)**. 1996. 76 f. Dissertação (Mestrado)- UNICAMP, Campinas, 1996.

VELLOZO, J. M. C. Flora Fluminensis: *Passiflora*. **Arch. Mus. Nac. R.J.** v. 5, p. 376-381, 1881.

VIANA, V. M.; TABANEZ, A. A. J. Biology and conservation of forest fragments in the Brazilian Atlantic moist forest. In: SCHELHAS, J.; GREENBERG, R. **Forest patches in tropical landscapes**. Washington, DC: Island Press, 1996. p. 151-167.

VIEIRA, M. L. C.; CARNEIRO, M. C. *Passiflora* spp.: passionfruit. In: LITZ, R. (Ed). **Biotechnology of fruit and nut crops**. Oxford: CABI, 2004. p. 436-453.

VITTA, F. A. *Passiflora loefgrenii* (Passifloraceae), a new species in subgenus *Passiflora* from the Brazilian Atlantic Rainforest. **Novon**, v. 7, p. 210-212, 1997.

VITTA, F. A.; BAKKER, Y. V.; BERNACCI, L. C. *Tetrastylis* In: WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD, G. J.; GIULIETTI, A. M.; MELHEM, T. S. (Coord.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: RiMa/FAPESP, 2003. v. 3. p. 271.

VITTA, F. A.; BERNACCI, L. C. A new species of *Passiflora* in section *Tetrastylis* (Passifloraceae) and two overlooked species of *Passiflora* from Brazil. **Brittonia**, v. 56, n. 1, p. 89-95, 2004.

WATANABE, S. **Glossário de ecologia**. São Paulo: ACIESP, 1987. 271 p.

WHITMORE, T. C. Tropical forest disturbance, disappearance, and species loss. In: LAWRENCE, W. F.; BIERREGAARD, R. O. (Ed.). **Tropical forest remnants: ecology, management and conservation of fragmented communities**. Chicago: University of Chicago, 1997. p. 3-12.

WILDE, W. J. J. O. The genera of Tribe Passifloreae (Passifloraceae), with special reference to flower morphology. **Blumea**, v. 22, p. 37-50, 1974.

YOCKTENG, R.; NADOT, S. Phylogenetic relationships among *Passiflora* species based on the glutamine synthetase nuclear gene expressed in chloroplast (ncpGS). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 31, p. 379-396, 2003.

ZUIDEMA, P. A.; SAYER, J. A.; DIJKMAN, W. Forest fragmentation and biodiversity: the case for intermediate-sized conservation áreas. **Environmental Conservation**, v. 23, n. 4, p. 290-297, 1996.



Tentarei mostrar ao leitor mais atento  
As mil utilidades do maracujá  
Nem Catulo ou Varela, doutos de talento,  
Ousaram descrever tudo que nele há.

As folhas vistosas é o dileto alimento  
Da sagaz lagarta ou mandarová  
Para gente enferma é medicamento  
Uma vez tomadas em um quente chá.

*Geovane Alves de Andrade*

# Transformação genética do maracujazeiro para resistência a doenças

---

Francisco Murilo Zerbini  
Ana Verônica Silva do Nascimento  
Poliane F. Alfnas  
Leonardo Bolzane Torres  
Antonio Sérgio Kimus Braz  
Enilton Nascimento de Santana  
Wagner Campos Otoni  
Murilo Geraldo de Carvalho

## Introdução

O maracujazeiro pertence ao gênero *Passiflora*, constituído por mais de 580 espécies, sendo mais de 150 nativas do Brasil (Bruckner et al., 2002). O endurecimento dos frutos, que pode ser causado por duas espécies de vírus (*Passionfruit woodiness virus*, PWV e *Cowpea aphid-borne mosaic virus*, CABMV), é a principal virose e uma das mais importantes doenças dessa cultura. O primeiro relato do endurecimento dos frutos do maracujazeiro foi feito na Austrália há mais de cem anos (Cobb, 1901). O agente causal da doença, *Passionfruit woodiness virus* (PWV), até pouco tempo era considerado o único vírus capaz de induzir esse tipo de sintoma. Brand et al. (1993) clonaram e seqüenciaram o gene da proteína capsidial de uma estirpe de PWV da África do Sul vírus e, ao compará-la com a seqüência de estirpes de PWV da Austrália, concluíram que se tratava de uma nova espécie viral, por eles denominada South African *Passiflora virus* (SAPV). Essa denominação não foi aceita pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV), uma vez que o SAPV apresentava alta identidade na seqüência de sua proteína capsidial com isolados de CABMV (Mckern et al., 1994). Assim, o ICTV reclassificou-o como pertencente à espécie CABMV (Van Regenmortel et al., 2000).

Plantas de maracujazeiro infectadas pelo PWV ou CABMV apresentam mosaico e deformação foliar e produzem frutos pequenos, deformados e com

endurecimento do pericarpo. A produtividade e o ciclo da cultura são reduzidos. Tanto o PWV quanto o CABMV são transmitidos de maneira não-circulatória por várias espécies de afídeos, além de serem facilmente transmitidos via extrato foliar tamponado e por enxertia. Esses vírus infectam naturalmente espécies de *Passiflora* e de leguminosas, além de infectarem artificialmente alguns membros das famílias *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae*, *Solanaceae* e *Cucurbitaceae* (Taylor & Greber, 1973; Mckern et al., 1994).

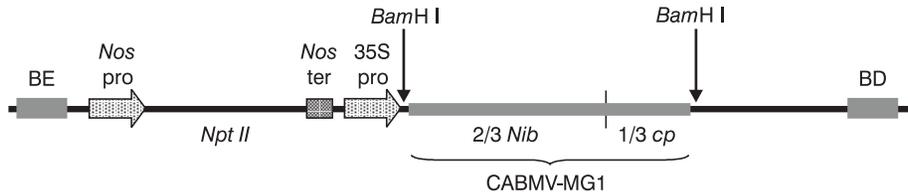
No Brasil, o endurecimento dos frutos já foi relatado nos principais estados produtores de maracujá, incluindo Bahia, Ceará, Minas Gerais, Pará, Rio de Janeiro e São Paulo (Chagas et al., 1981; Lima et al., 1985; Chagas et al., 1992; Bezerra et al., 1995). Em todos os casos, o PWV foi identificado como agente etiológico da doença, com base em características biológicas e sorológicas. Entretanto, a análise da seqüência de aminoácidos da proteína capsidial de isolados procedentes de diversos estados brasileiros indicou que todos eles pertencem à espécie CABMV (Santana et al., 1999; Nascimento et al., 2004). Até o presente, todos os isolados brasileiros seqüenciados pertencem a essa espécie, e a detecção molecular do PWV no Brasil ainda aguarda confirmação.

Uma vez que medidas tradicionais de controle de viroses não têm tido sucesso no caso do endurecimento dos frutos do maracujazeiro, a alternativa para o controle dessa virose é a obtenção de plantas de maracujazeiro transgênicas expressando porções do genoma viral, a fim de obter resistência pelo mecanismo de silenciamento gênico pós-transcricional (*post-transcriptional gene silencing*, PTGS).

## Transformação genética

A fim de obter plantas transgênicas de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) resistentes ao endurecimento dos frutos, um fragmento não-traduzível do genoma do isolado CABMV-MG1, contendo dois terços da região codificadora da polimerase viral (NIb) e um terço da região codificadora da proteína capsidial (CP), foi inserido no sítio de *Bam*H I do vetor binário pBI121 (Figura 1). Plasmídeos recombinantes foram transformados em

*Agrobacterium tumefaciens* LBA4404. A transformação genética de maracujá-amarelo foi realizada por meio de co-cultivo de culturas de *A. tumefaciens* e explantes (hipocótilos estiolados) de maracujá. Depois do co-cultivo, os explantes foram transferidos para meio MS contendo 1,0 mg/L de benzilaminopurina (BAP), 150 mg/L de canamicina e 250 mg/L de cefatoxima. As plantas foram regeneradas, e os transformantes selecionados, levando-se em conta sua capacidade de crescer em meio contendo canamicina.



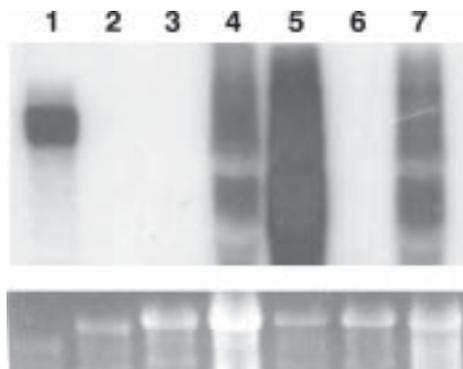
**Figura 1.** Construção utilizada para a transformação genética de maracujá-amarelo. BE, borda esquerda do T-DNA presente no vetor pBI121; BD: borda direita do T-DNA; *Nos pro*: promotor do gene *Nos* que regula a expressão do gene *npt II*; *Nos ter*: sinal de terminação da transcrição; *35S pro*: promotor CaMV 35S que regula a expressão do transgene. O fragmento viral inclui dois terços do gene *Nib* e um terço do gene *cp*. do isolado CABMV-MG1.

## Resistência das plantas F1

A presença do transgene foi confirmada via PCR em 15 das 16 plantas regeneradas. As 15 plantas transformadas, contendo o transgene em hemizigose, foram propagadas via estaquia, e as plantas resultantes foram inoculadas com os isolados MG1 e PE1 do CABMV. Plantas provenientes do transformante TE5-10 não apresentaram sintomas quando inoculadas com o isolado MG1, mas os desenvolveram quando inoculadas com o isolado PE1. A ausência de vírus nessas plantas foi confirmada por ELISA indireta. As plantas provenientes dos demais transformantes foram suscetíveis a ambos os isolados. Análise de *Northern* demonstrou que em plantas derivadas do transformante TE5-10 não ocorre acúmulo de mRNA transgênico mesmo antes da inoculação com o vírus. Depois da inoculação com ambos os isolados, apenas em plantas inoculadas com o isolado PE1 foi detectado RNA viral (Figura 2). Esses resultados comprovam que as plantas provenientes do transformante TE5-10 são resistentes ao isolado CABMV-MG1, que o

mecanismo de resistência envolvido é o silenciamento gênico pós-transcricional e que esse mecanismo já está ativado nas plantas transgênicas antes da inoculação com o vírus (Alfenas et al., 2005). Entretanto, a planta é resistente apenas ao isolado utilizado para a transformação (MG1) e suscetível ao outro isolado testado (PE1). A especificidade observada na resistência pode ser explicada pelo modo de ação do mecanismo de PTGS que exige identidade elevada entre a seqüência-alvo e a seqüência utilizada para a transformação (Prins, 2003). A identidade das seqüências de nucleotídeos das proteínas capsidiais dos isolados MG1 e PE1 é de 93% (Santana et al., 1999).

As plantas transgênicas analisadas encontravam-se em hemizigose, ou seja, possuíam apenas uma cópia do transgene. Trabalhos realizados com plantas transgênicas de mamoeiro, expressando uma construção não-traduzível correspondente à proteína capsidial do *Papaya ringspot virus* (PRSV), determinaram o mesmo tipo de especificidade da resistência nas plantas F1 (hemizigotas) (Tennant et al., 2001). Depois da autofecundação e da obtenção de linhagens F2 em homozigose, a resistência foi efetiva contra várias estirpes do vírus. Dessa forma, o estudo da herança da resistência das plantas transgênicas de maracujá-amarelo e a avaliação de plantas F2 contendo o transgene em homozigose podem revelar alterações no espectro da resistência.



**Figura 2.** Análise da expressão do transgene em transformantes resistentes ou suscetíveis ao endurecimento dos frutos. RNA total foi extraído de plantas inoculadas ou não-inoculadas derivadas dos transformantes TE5-4 (susceptível) e TE5-10 (resistente) e hibridizado com uma sonda específica para os genes *NIb* e *cp* do CABMV. **1**, TE5-4, não-inoculada.

**2**, TE5-10, não-inoculada. **3**, Planta não-transformada, não-inoculada. **4, 5**, Plantas não-transformadas inoculadas com CABMV-MG1 e CABMV-PE1 respectivamente. **6, 7**, TE5-10 inoculado com CABMV-MG1 e CABMV-PE1 respectivamente. O gel de agarose corado com brometo de etídeo, correspondendo ao rRNA 25S, é mostrado abaixo para comparação das quantidades de RNA carregadas no gel.

## Resistência das plantas F2

A fim de determinar se a resistência é transmitida de forma estável e se a presença do transgene em homocigose aumenta o espectro da resistência, foram realizados cruzamentos entre o transformante resistente TE5-10, um transformante suscetível (T2-5) e uma planta não-transformada (Tabela 1). Para determinar se a resistência se comporta da mesma forma em estado de homocigose, foram realizadas autofecundações do transformante TE5-10 (Tabela 1).

**Tabela 1.** Frutos obtidos dos cruzamentos realizados entre plantas transgênicas de maracujá-amarelo resistentes e suscetíveis ao CABMV-MG1 e entre planta não-transformada.

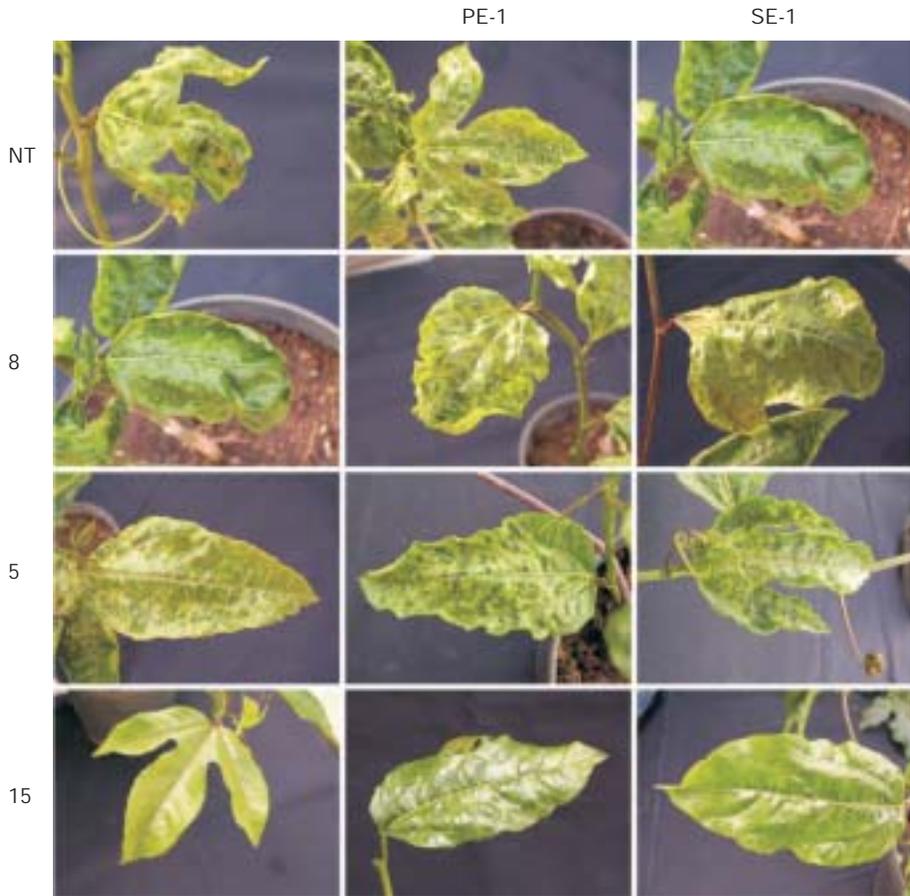
Progenitor materno	Progenitor paterno	Número do fruto	Número de sementes obtidas
TE5-10 (resistente)	TE5-10 (autofecundação)	7	101
	TE5-10 (autofecundação)	12	81
	TE5-10 (autofecundação)	15	49
	T2-5	14	315
	T2-5	5	140
	NT	6	80
	T2-5 (suscetível)	NT	8
TE5-10		13	140
TE5-10		16	95
NT (não-transformada)	TE5-10	1	140
	TE5-10	2	216
	TE5-10	3	75
	T2-5	4	200

As plantas provenientes de cada cruzamento foram inoculadas com os isolados CABMV-MG1, -PE1 e -SE1 e avaliadas por meio de observação visual de sintomas e ELISA indireto (Tabela 2; Figura 3). Plantas F2, provenientes dos frutos 4 e 8 (NT x TE2-5 suscetível) e 5 e 13 (TE2-5 suscetível x TE5-10 resistente), foram suscetíveis aos três isolados, conforme esperado. Plantas F2, provenientes dos frutos 1 e 6 (NT vx. TE5-10 resistente), foram resistentes ao isolado MG1, todavia, suscetíveis aos isolados PE1 e SE1, também, conforme esperado, pois o transge-

ne continua em hemizigose. Entre as 27 plantas F2, provenientes dos frutos 7, 12 e 15 (autofecundação do transformante TE5-10 resistente) testadas até o presente, uma (proveniente do fruto 15) mostrou-se resistente aos três isolados testados, não apresentando sintomas de infecção viral e com resultado negativo em ELISA indireto (Tabela 2; Figura 3). Essa planta está sendo propagada vegetativamente a fim de se obter material suficiente para inoculação em todos os 16 isolados de CABMV disponíveis no Laboratório de Virologia Vegetal Molecular da UFV e para análise genética a fim de comprovar que o transgene realmente se encontra em homozigose. A análise das demais plantas provenientes dos frutos 7, 12 e 15 continua em andamento, bem como a análise molecular das plantas F2, para verificar se o silenciamento gênico pós-transcricional continua ativo nas plantas com o transgene em homozigose e se há correlação entre o número de cópias do transgene, o nível de resistência e o silenciamento.

**Tabela 2.** Resultados de ELISA indireto (absorbância a 405 nm) para detecção de três isolados de CABMV, quatro semanas depois da inoculação em plantas F2 provenientes de diferentes cruzamentos entre plantas transgênicas de maracujá-amarelo e entre planta não-transformada.

Cruzamento	Planta	MG1	PE1	SE1
TE2-5 × NT (transgênica suscetível × não transformada)	8-1	0,89	0,97	0,88
	8-3	0,87	0,99	0,85
	8-4	0,85	0,95	0,87
	8-5	0,88	0,90	0,86
TE5-10 × TE2-5 (transgênica resistente x transgênica suscetível)	5-1	0,89	0,99	0,89
	5-2	0,88	1,01	0,90
	5-3	0,88	1,03	0,91
	5-4	0,90	0,98	0,92
TE5-10 × TE5-10 (autofecundação transgênica resistente)	15-1	0,87	0,99	0,90
	15-2	0,89	0,96	0,95
	15-4	0,90	0,98	0,93
	15-6	0,90	0,95	0,96
	15-7	0,88	0,97	0,97
	15-8	0,87	0,99	0,98
	15-9	0,89	0,98	0,95
	<b>15-10</b>	<b>0,37</b>	<b>0,40</b>	<b>0,42</b>
	15-12	0,90	0,95	0,90
15-14	0,91	0,96	0,90	
Não-transformada inoculada		1,30	1,03	1,21
Não-transformada sadia		0,25	0,24	0,21



**Figura 3.** Sintomas de infecção por três isolados de CABMV (MG-1, PE-1 e SE-1) em plantas F2 provenientes de diferentes cruzamentos entre plantas transgênicas de maracujá-amarelo e entre planta não-transformada. **NT**, planta não-transformada; **8**, planta F2 proveniente do cruzamento de planta transgênica suscetível (TE2-5) e planta não-transformada; **5**, planta F2 proveniente do cruzamento de planta transgênica suscetível (TE2-5) e planta transgênica resistente (TE5-10); **15**, planta F2 proveniente de autofecundação de planta transgênica resistente (TE5-10).

## Conclusões

Plantas de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) foram transformadas geneticamente visando à obtenção de plantas resistentes ao endurecimento dos frutos. As plantas transgênicas expressam um fragmento não traduzível do genoma de um isolado do *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) correspondente a dois terços da região codificadora da proteína NIB e um terço da região codificadora da proteína capsidial. Uma das plantas transgênicas obtidas foi resistente à infecção pelo mesmo isolado utilizado para a transformação, porém, foi suscetível à infecção por outro isolado do vírus. A análise molecular demonstrou que o mecanismo de resistência é o silenciamento de RNA que já se encontra ativo na planta antes da infecção viral. Após a autofecundação da planta resistente, uma planta F2 com o transgene em homozigose foi analisada e mostrou-se resistente à infecção por três isolados do vírus. Esse resultado indica que o espectro da resistência está relacionado ao número de cópias do transgene. Essa planta está sendo multiplicada vegetativamente para inoculação com demais isolados do vírus. Caso a resistência de amplo espectro seja confirmada, a utilização desse material pode constituir uma forma de controle eficiente para o endurecimento dos frutos, uma virose endêmica no Brasil e para a qual não existem atualmente medidas de controle satisfatórias.

## Referências bibliográficas

- ALFENAS, P. F.; BRAZ, A. S. K.; TORRES, L. B.; SANTANA, E. N.; NASCIMENTO, A. V. S.; OTONI, W. C.; ZERBINI, F. M. Transgenic passionfruit expressing an RNA derived from *Cowpea aphid-borne mosaic virus* are resistant to passionfruit woodiness disease. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 33-38, 2005.
- BEZERRA, D. R.; LIMA, J. A. A.; XAVIER FILHO, J. Purificação e caracterização de um isolado cearense do vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, p. 553-560, 1995.
- BRAND, R. J.; BURGER, J. T.; RYBICKI, E. P. Cloning, sequencing, and expression in *Escherichia coli* of the coat protein gene of a new potyvirus infecting South African passiflora. **Archives of Virology**, v. 128, p. 29-41, 1993.

BRUCKNER, C. H.; MELLETTI, L. M. M.; OTONI, W. C.; ZERBINI, F. M. Maracujazeiro. p. 373-409, In: BRUCKNER, C. H. (Ed.). **Melhoramento de fruteiras tropicais**. Viçosa: UFV, 2002.

CHAGAS, C. M.; KITAJIMA, E. W.; LIN, M. T. Grave moléstia em maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) no Estado da Bahia causada por um isolado do vírus do "woodiness" do maracujá. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, p. 259-268, 1981.

CHAGAS, C. M.; REZENDE, J. A. M.; COLARICCIO, A. Ocorrência do vírus do endurecimento do fruto do maracujazeiro no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 14, p. 187-290, 1992.

COBB, N. A. Woodiness of passionfruit. **Agricultural Gazette of New South Wales**, v. 12, p. 407-418, 1901.

LIMA, J. A. A.; SANTOS, C. D. G.; KITAJIMA, E. W. Isolamento de um potyvirus de plantas de maracujá com sintomas de mosaico. **Fitopatologia Brasileira**, v. 10, p. 305, 1985.

MCKERN, N. M.; STRIKE, P. M.; BARNETT, O. W.; DIJKSTRA, J.; SHUKLA, D. D.; WARD, C. W. Cowpea aphid borne mosaic virus-Morocco and South African Passiflora virus are strains of the same potyvirus. **Archives of Virology**, v. 136, p. 207-217, 1994.

NASCIMENTO, A. V. S.; SOUZA, A. R. R.; ALFENAS, P. F.; ANDRADE, G. P.; CARVALHO, M. G.; PIO-RIBEIRO, G.; ZERBINI, F. M. Análise filogenética de potyvirus causando endurecimento dos frutos do maracujazeiro no Nordeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 378-383, 2004.

PRINS, M. Broad virus resistance in transgenic plants. **Trends in Biotechnology**, v. 21, p. 373-375, 2003.

SANTANA, E. N.; BRAZ, A. S. K.; TORRES, L. B.; ZAMBOLIM, E. M.; ZERBINI, F. M. Molecular characterization of potyvirus isolates causing passionfruit woodiness in Brazil. **Virus Reviews and Research**, v. 4, p. 153, 1999.

TAYLOR, R. H.; GREBER, R. S. Passionfruit woodiness virus. **CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses**, v. 122, 1973.

TENNANT, P.; FERMIN, G.; FITCH, M. M.; MANSHARDT, R. M.; SLIGHTOM, J. L.; GONSALVES, D. *Papaya ringspot virus* resistance of transgenic Rainbow and SunUp is affected by gene dosage, plant development, and coat protein homology. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, p. 645-653, 2001.

VAN REGENMORTEL, M. H. V.; FAUQUET, C. M.; BISHOP, D. H. L.; CARSTENS, E.; ESTES, M. K.; LEMON, S. M.; MANILOFF, J.; MAYO, M. A.; MCGEOCH, D. J.; PRINGLE, C. R.; WICKNER, R. B. (Ed.). **Virus taxonomy**: seventh report of the international committee on taxonomy of viruses. San Diego: Academic Press, 2000. 1162 p.





## Capítulo 24

Dizem que a flor foi da cruz ornamento  
No país que viu cair do céu Maná.  
Mas isto é crendice e não tem fundamento  
Por que esta planta não cresce por lá.

O fruto maduro é doce e succulento  
E que a tantos povos conquistando está.  
É bom que o mundo tenha mais conhecimento  
Das riquezas que existem do lado de cá.

# Maracujá-doce: melhoramento genético e germoplasma

---

Marcelo Fideles Braga

Nilton Tadeu Vilela Junqueira

Fábio Gelape Faleiro

Graciele Bellon

Keize Pereira Junqueira

O maracujá mais cultivado no País é *Passiflora edulis f. flavicarpa*, também conhecido como maracujá-amarelo, representando 95% dos pomares comerciais (Ruggiero et al., 1996). Entretanto, devido aos preços diferenciados, a cultura do maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis<sup>1</sup>) vem ganhando importância dentro do mercado de frutas *in natura*. Segundo Kavati & Piza Jr. (2002), o volume comercializado em São Paulo tem aumentado significativamente desde o início da década de 1980, chegando 1,7 mil t em 2002, sendo Mogi-Gaçu e Mogi-Mirin os principais municípios produtores do estado. Outros Estados como Paraná, Santa Catarina, Minas Gerais, Espírito Santo, Bahia e Pará, também, têm entrado nesse mercado, contribuindo para a disseminação da cultura. O aumento da área plantada e o crescente interesse pela cultura criam novas demandas de cultivares superiores e de tecnologias de produção.

A inexistência de uma cultivar homogênea e produtiva tem sido fator limitante para elevar a qualidade e produtividade da cultura. Do ponto de vista do mercado, segundo Junqueira et al. (2005), a cultivar ideal deve ter frutos grandes (200 a 300 g), formato periforme ou ovalado, casca firme sem amolecimento apical, resistência ao transporte, vida útil pós-colheita a partir de sete dias. A casca deve ser firme, de cor amarelo-alaranjada, sem manchas

---

<sup>1</sup> Segundo Bernacci et al. (2003) a obra "Principales" foi publicada por Curtis (Bot. Mag. 2: pl. 66. 1788)

ou deformidades, polpa alaranjada, rendimento superior a 30% do fruto, alto valor nutricional, teor de sólidos solúveis acima de 20% e aroma marcante e agradável. Além dessas qualidades, do ponto de vista do sistema produtivo, a cultivar ideal deve ter maturação precoce, autocompatibilidade, floração abundante e uniforme durante o ano; resistência a pragas e a doenças, baixa exigência edafoclimática, boa produtividade em cultivo de sequeiro e alta capacidade de resposta, qualitativa e produtiva, à intensificação da aplicação de adubos, corretivos e irrigação.

Evidentemente, são padrões apenas referenciais. A cultivar ideal não existe e provavelmente nunca existirá. Ao longo do tempo, tanto os padrões de consumo quando as exigências agrônômicas de um sistema de produção tendem a sofrer mudanças decorrentes das interações entre ambiente e mercado, mudando o padrão referencial. Nesse contexto, as técnicas de melhoramento vegetal podem contribuir de maneira decisiva para o desenvolvimento e a competitividade da cultura, viabilizando a obtenção de cultivares que atendam a grande parte dos padrões referenciais.

O melhoramento genético é a arte da seleção e da recombinação. É por meio dessa arte que o homem tenta moldar a natureza aos seus mais diversos desejos e necessidades, tais como alimentação, vestuário, moradia, locomoção, estética, etc. Ao assumir essa empreitada, além de ter objetivos bem definidos é preciso ter conhecimento da espécie a ser melhorada, sua biologia floral, sistemas de propagação, diversidade genética e métodos de melhoramento adequados ao padrão de segregação genética da espécie. A interação desses conhecimentos é que irá definir as estratégias de melhoramento para a espécie.

## A espécie

O maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) é uma espécie pertencente à família *Passifloraceae*, gênero *Passiflora*, subgênero *Passiflora*, série *Quadrangularis*. É uma planta escandente, glabra, caule quadrangular de arestas aladas, gavinhas axilares robustas, estípulas lanceoladas, pecíolos

com 2 a 4 glândulas e folhas ovadas inteiras (7 a 15 cm de comprimento e 5 a 10 cm de largura). Os botões florais são pilosos e as flores são grandes (10 a 12 cm de diâmetro), com sépalas e pétalas carmim na face adaxial e corona com filamentos bandeados de branco e de roxo. Os frutos são ovóides, de coloração amarela a laranja quando maduros, com grande variação no formato e tamanho (Figura 1). As sementes são cordadas e faveoladas, em geral, de 7 a 8 cm de comprimento (Vanderplank, 1996; Cervi, 1997). O arilo é sulcoso de coloração bege e de sabor doce, com baixa acidez. Ainda segundo Cervi (1997), é uma espécie heliófita e seletiva higrófito que ocorre principalmente em capoeiras e restingas litorâneas, sendo raramente encontrada em orlas de florestas. É encontrada silvestre em todas as regiões do Brasil, ocorrendo também na Argentina, no Paraguai e no Peru. Segundo Coppens D'Eeckenbrugge (2005), citando Killip (1938), existem três variedades botânicas: *P. alata* vr. *latifolia*, *P. alata* vr. *mauritania* e *P. alata* vr. *brasiliana*.



Figura 1. Variabilidade de formatos e tamanhos de frutos de maracujá-doce.

## Biologia floral

Na Região Sudeste, o florescimento ocorre durante todo o ano, apresentando picos de abundância no verão e picos de escassez no inverno (Vasconcellos & Cereda, 1994). Essa sazonalidade pode se acentuar em regiões mais frias e mesmo desaparecer em regiões mais quentes onde a floração é mais uniforme durante todo o ano. Períodos de seca também declinam a floração, sendo nesses períodos que ocorrem os picos de escassez em regiões mais quentes. Do aparecimento do botão floral à antese, são necessários de 20 a 32 dias, sendo o número de dias inversamente proporcional à temperatura média.

A flor é hermafrodita, homoclamídea pentâmera. Cada flor apresenta uma única antese, sendo que, na Região Sudeste, é necessário 1h para a antese completa, iniciando a partir das 4 horas da manhã. O fechamento da flor ocorre por volta das 19h. A curvatura do estilete demora em média 113 minutos para ser completada, sendo que nem todas as flores apresentam curvatura completa. Em média, numa planta, 62% das flores apresentam curvatura completa (TC), 30% apresentam curvatura parcial (PC) e 8% apresentam-se sem curvatura (SC). As flores TC apresentaram 73% de pegamento de frutos, as PC, 44%, e as SC não apresentaram nenhum fruto. Entretanto, o índice de curvatura pode variar conforme o indivíduo avaliado, sendo um fator de interesse para programas de melhoramento (Vasconcellos & Cereda, 1994).

Os estames, em número de cinco, são unidos pela base, inseridos no topo do androginóforo, junto à inserção do ovário. Os três estiletos iniciam no centro superior do ovário. O ovário é súpero e unilocular com três placentas parietais (Cervi, 1997). O androginóforo apresenta altura em torno de 1,2 cm, indicando que o polinizador natural deva ter um tórax com altura superior a 1 cm, sendo o principal polinizador, provavelmente, as espécies de abelhas do gênero *Xylocopa*, comumente denominadas como mamangavas. Depois da polinização, os estigmas precisam permanecer sem umidade excessiva durante pelo menos 2 horas, para que haja fecundação. Não ocorre autopolinização natural nem compatibilidade entre a mesma flor ou flores

diferentes de uma mesma planta, indicando ser uma espécie alógama. Mesmo entre plantas, pode existir gradação de incompatibilidade e ainda diferenças de incompatibilidade quando doadora ou receptora de pólen (Vasconcellos & Cereda, 1994; Vasconcellos et al., 1994). Segundo Vasconcellos et al. (1994) e Bruckner & Otoni (1999), a auto-incompatibilidade pode ser superada artificialmente quando as flores encontram-se no estágio de botões. Estudos de viabilidade do pólen e receptividade do estigma ainda precisam ser feitos para otimizar as hibridações.

O tempo necessário entre a fecundação e a colheita dos frutos varia entre 71 e 96 dias, sendo a variação inversamente proporcional à temperatura e radiação solar médias. Também poderá haver essa variação entre indivíduos e entre frutos com menor ou maior exposição ao sol (Vasconcellos & Cereda, 1994). O número de sementes e conseqüentemente o tamanho e a quantidade de polpa no fruto vai depender do número de pólenes viáveis aderidos ao estigma. Segundo Kavati & Piza Júnior (2002) um fruto pode render de 150 a 300 sementes. Dessa forma, a polinização artificial pode ser utilizada, visando à produtividade e ao tamanho dos frutos e ao aumento do número de sementes. Além disso, aumenta também o número de pegamento de frutos, já que, muitas vezes, o número de mamangavas do local pode não ser suficiente para polinizar todas as flores.

Na Região do Cerrado, o percentual de pegamento de frutos é de aproximadamente 66% das flores polinizadas artificialmente. Da polinização da flor à colheita do fruto, podem decorrer em torno de 69 dias durante o período primavera/verão ou 86 dias para o período outono/inverno (Veras, 1997).

Segundo Melo et al. (2001), o número cromossômico de *P. alata* é  $2n=18$ , com 2 pares de satélite localizados no braço maior dos cromossomos menores.

## Propagação

Os sistemas de propagação disponíveis para a espécie são importantes para a estratégia de melhoramento, cada um podendo ser utilizado em uma

ou várias fases do melhoramento. A propagação pode ser feita via sexuada, por meio de sementes (Meletti et al., 2002; Braga & Junqueira, 2003) e por clonagem, por meio da estaquia (Salomão et al., 2002; Braga & Junqueira, 2003), enxertia e cultura de tecidos (Baccarin, 1988; Manica, 2005), devendo sempre atentar para os problemas de incompatibilidade dentro das progênies e suas conseqüências na produtividade e na variabilidade genética das descendências.

O sistema de propagação por sementes é, sem dúvida, o mais simples e o mais utilizado em maracujá-doce seja por vias naturais, por meio da polinização aberta, seja pela ação do homem, na polinização controlada. É por meio desse sistema que são geradas as descendências segregantes, fundamentais para manter a variabilidade natural da espécie e sua estratégia de sobrevivência no meio ambiente; além de ser importante para gerar híbridos selecionados pela ação do melhoramento. Devido a sua natureza alógama, o maracujá-doce gera uma descendência altamente heterozigótica. Pode-se dizer que cada indivíduo apresenta uma combinação genética única que dificilmente será mantida nas suas gerações provenientes de sementes. Isso gera conseqüências importantes para o melhoramento, já que a variação é desejada na fase de seleção de uma cultivar, mas indesejada na produção comercial de mudas dessa futura cultivar. Por sua vez, é a variabilidade que vai garantir a produção de frutos, já que é necessária para que haja compatibilidade de polinização entre plantas.

A clonagem é um sistema importante de propagação, principalmente, quando se encontram indivíduos superiores para as características que determinado programa de melhoramento deseja. Como são indivíduos de alta heteroze, a clonagem manterá suas características nas descendências geradas, o que é importante na manutenção de matrizes, coleções de trabalho e bancos de germoplasma, com grande potencial para utilização na propagação comercial de cultivares. A cultura de tecidos vegetais, além de poder proporcionar a clonagem de indivíduos e sua produção em biofábricas, pode contribuir para a recombinação genética pela fusão de protoplastos e da transformação .

É do paradoxo entre variabilidade e uniformidade proporcionado pelos sistemas de propagação disponíveis que surge a escolha do método de melhoramento genético que melhor se adapta às necessidades do mercado, tanto em relação às qualidades intrínsecas da cultivar quanto à viabilidade do seu sistema de propagação.

## Variabilidade genética e estratégia de melhoramento

De acordo com Meletti et al. (1992), o gênero *Passiflora* apresenta ampla variabilidade genética para ser explorada, observando-se grandes variações no florescimento, produtividade, em caracteres do fruto, resistência a pragas e a doenças. Os maracujazeiros são espécies alógamas e de cultivo recente.

Estima-se que existam mais de 500 espécies americanas do gênero *Passiflora*, sendo o Centro-Norte do Brasil o maior centro de distribuição geográfica desse gênero, com cerca de 150 espécies nativas (Oliveira et al., 1994; Souza & Meletti, 1997; Braga & Junqueira, 2005). Essa diversidade de espécies disponibiliza grande potencial de genes e alelos de interesse para a estratégia de melhoramento das passifloras. Mesmo dentro da espécie *P. alata*, espera-se grande variabilidade de alelos, em função da sua ampla distribuição geográfica, com acessos encontrados em várias condições ambientais não só no País, como também no Peru e na Argentina. Entretanto, os trabalhos de melhoramento em *Passiflora* são escassos (Bruckner & Otoni, 1999; Meletti et al., 2002) e os poucos existentes, na maioria, são direcionados à *P. edulis* Sims e *P. edulis f. flavicarpa* Deg.

Segundo (Bruckner & Otoni, 1999) os principais métodos de melhoramento genético utilizados em *Passiflora* são a introdução de plantas, a seleção massal, a hibridação sexual interespecífica, a hibridação sexual intervarietal e a seleção por teste de progênies. Trabalhando com seleção massal em *P. edulis f. flavicarpa*, Meletti et al. (2000) e Nascimento et al. (2003) têm logrado êxito em selecionar progênies promissoras, resultando inclusive no lançamento de cultivares comerciais.

Para as espécies de *P. edulis*, fatores como coloração da gavinha e coloração externa do fruto apresentam padrões de herança monogênica. A auto-incompatibilidade poderia ser explicada por herança monofatorial. No tamanho e na produção de frutos, a herança parece ser quantitativa. Também há informações de alta herdabilidade para produtividade, precocidade e peso de frutos. Já para porcentagem de polpa e teor de sólidos solúveis, a herdabilidade é moderada (Bruckner & Otoni, 1999). Para Vieira & Carneiro (2004), a auto-incompatibilidade em *P. edulis* é homomórfica esporofítica, controlada por dois *loci*. É provável que *P. alata* também apresente padrões semelhantes de herança.

Martins et al. (2003) avaliaram, em cinco populações de *P. alata* obtidas por seleção massal, as características de número de frutos por planta, massa do fruto, número de sementes por fruto, espessura da casca e rendimento de polpa. Verificaram alta variabilidade nessas características, exceto para espessura da casca e rendimento de polpa. Portanto, são para essas características de alta variabilidade que se têm as melhores possibilidades de obtenção de plantas superiores via melhoramento genético. Jung (2003), com *P. alata*, utilizando o esquema de cruzamento dialélico parcial, envolvendo gerações F1 e genitores, verificou predominância de variabilidade para efeitos gênicos aditivos, conseguindo selecionar três genitores promissores.

A seleção com teste de progênies de irmãos completos ou de meios-irmãos, obtida de cruzamentos inter e intra-específicos, pode ser eficiente no processo de seleção do maracujazeiro-doce, uma vez que apenas um fruto pode gerar mais de 100 indivíduos geneticamente heterogêneos. A propagação das matrizes selecionadas teria de ser feita por clonagem, o que aumentaria a chance de disseminação do vírus do endurecimento do fruto (PWV), sendo então necessária a manutenção das matrizes em telados anti-afídeos para evitar a transmissão do vírus.

Avaliando dez procedências de *P. alata*, Junqueira et al. (2005) classificaram-nas em função do formato dos frutos em dez categorias, nominando-as de A a J (Figura 2). Para cada procedência, encontraram diferenças significativas nas características do fruto relacionadas ao peso, comprimento, diâmetro, brix e acidez; além de diferentes matizes de

coloração da casca, entre amarelo e laranja. Já para rendimento de polpa, porcentual de casca e de sementes, não houve diferenças significativas entre as procedências avaliadas.

Em estudos objetivando avaliar a variabilidade de 17 acessos de *P. alata* mantidos no banco de germoplasma da Embrapa Cerrados, por meio de marcadores moleculares RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*); observou-se a existência de elevada variabilidade genética entre acessos de *P. alata*, sendo que os acessos silvestres foram os que mais contribuíram para a ampliação da base genética do material estudado. Nesse sentido, há boa perspectiva para o aproveitamento de tal variabilidade em programas de melhoramento genético. A similaridade genética verificada entre a espécie *P. quadrangularis* e a *P. alata* é um indicativo da existência de compatibilidade genética, o que permitiria a utilização de cruzamentos interespecíficos para ampliar ainda mais a base genética do maracujá-doce.

A *P. alata* é resistente ao *Fusarium oxysporum* f. *passiflora* e tolerante a *Phytophthora* spp. e *F. solani*. (Pio-Ribeiro & Mariano, 1997; Santos Filho, 1998; Bruckner & Otoni, 1999; Roncatto et al., 2004; Fischer et al., 2005). Sharma et al. (2002), testando um dos acessos de *P. alata* da Embrapa Cerrados, concluíram que esse acesso é resistente a *Meloidogyne javanica*, mas suscetível a *M. incognita* e altamente suscetível a *M. arenaria*. Outras fontes de resistência do maracujá-doce relacionam-se a pragas como o percevejo (*Holymeria clavigera* Herbst.), o besouro (*Epicauta atomaria*) e a lagarta (*Dione juno juno*). Entretanto, é suscetível à bacteriose (*Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*), à antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*), à cladosporiose (*Cladosporium herbarum*), à mosca-das-frutas (*Anastrepha* sp.), ao percevejo (*Holymeria clavigera*), ao percevejo-da-soja (*Nezara viridula*). É também suscetível ao vírus do endurecimento dos frutos (PWV). A resistência e a suscetibilidade podem variar conforme o acesso avaliado.

Coppens D'eeckenbrugge (2005) cita vários autores que conseguiram sucesso no cruzamento de *P. alata* com outras passifloras, o que amplia ainda mais as possibilidades de uso do *P. alata* nos programas de melhoramento genético. Junqueira et al. (2005) também relatam a obtenção de híbridos interespecíficos de *P. alata* com outras passifloras.



Tipo A



Tipo B



Tipo C



Tipo D



Tipo E



Tipo F

Figura 2. Classificação das categorias de frutos conforme o formato.

Continua...



Tipo G



Tipo H



Tipo I



Tipo J

Figura 2. Continuação.

Além do melhoramento convencional, a biotecnologia poderia contribuir de forma muito eficiente, sendo mais uma ferramenta de otimização da estratégia de melhoramento. A transformação genética tem sido utilizada no melhoramento visando à introgressão de genes de resistência à bacteriose e ao PWV (Vieira & Carneiro, 2004). Bruckner & Otoni (1999) consideram que, pela introgressão de genes da capa protéica do PWV (vírus do endurecimento dos frutos), pode-se chegar a cultivares resistentes a esses problemas. A fusão de protoplastos permitiria a hibridização somática, principalmente, entre espécies de passifloras não compatíveis sexualmente, ampliando ainda mais o leque de possibilidade (Bruckner & Otoni, 1999; Vieira & Carneiro, 2004). O uso

de marcadores moleculares também pode ser útil na elaboração de mapas genéticos visando à identificação de QTL para resistência à bacteriose. Outra possibilidade de aplicação da biotecnologia seria na manipulação de genes envolvidos na biossíntese de etileno, buscando manter a qualidade pós-colheita dos frutos.

Pesquisas em andamento na Embrapa Cerrados têm demonstrado, em condições experimentais, procedências com produtividade anual acima de 45 kg/planta (segundo ano), com polinização aberta e espaçamento de 3 m entre linhas e 5 m entre plantas. Isso demonstra o grande potencial para obtenção de cultivares de alta produtividade. Entretanto, os principais problemas que precisam ser resolvidos com urgência, referem-se à bacteriose, ao PWV e ao nematóide-das-galhas (*Meloidogyne* spp.); além dos problemas relacionados à espessura da casca e à baixa resistência ao transporte e armazenamento.

## Bancos de germoplasma

Um banco de germoplasma é o local onde se mantém a conservação *ex situ* de material genético representativo da diversidade genética das espécies de interesse. Além de manter os genótipos de interesse, um banco de germoplasma realiza atividades de prospecção, coleta, introdução, intercâmbio, quarentena, caracterização, conservação, inspeção, multiplicação e regeneração do germoplasma (Ramalho et al., 2004).

Os Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) fazem parte do Sistema Nacional de Recursos Genéticos, coordenado pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em colaboração com outras instituições, formando a rede nacional de BAGs. No Brasil, existem dois BAGs de passifloras, um em Jaboticabal, SP (UNESP) e outro em Cruz das Almas, BA (Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical). Além dos BAGs oficiais, existem as coleções de trabalho que são mantidas por várias instituições e que, apesar de não realizarem todas as atividades formais típicas dos BAGs, são também uma forma importante de conservação de recursos genéticos. Existem coleções de trabalho de passifloras em Conceição do Almeida, BA (EBDA),

Londrina, PR (IAPAR), Vitória da Conquista, BA (UESB), Boquim, SE (SUDAP), Campinas, SP (IAPAR), Piracicaba, SP (ESALQ) e Brasília, DF (Embrapa Cerrados). No exterior, 15 países mantêm bancos de germoplasma de passifloras (Ferreira, 1994; Bruckner & Otoni, 1999). Segundo Ferreira (2001), estima-se que existam oito coleções de passifloras no Brasil, totalizando 305 acessos. No mundo, a estimativa é de 540 acessos, sendo que 6% desses são mantidos *in vitro*.

## Conclusões

Comparado a outras culturas, o melhoramento do maracujá-doce ainda é incipiente. Muitos avanços já têm sido conquistados tanto com o uso de estratégias do melhoramento clássico quanto com o uso de ferramentas da biotecnologia. Entretanto, falta o lançamento da primeira cultivar oficialmente registrada.

As informações de mercado, não só em relação a preços e volume de comercialização, como também em relação às preferências de consumo, precisam ser mais bem definidas, de forma a facilitar o estabelecimento de referências para os melhoristas. A coleta e a caracterização de germoplasma precisa ser ampliada, assim como os conhecimentos da ecofisiologia e da biologia floral da espécie.

Além das possibilidades para o consumo *in natura*, existe o mercado de extração da passiflorina para uso da indústria farmacêutica, possibilitando o surgimento de paradigmas para o melhoramento da espécie.

Com os conhecimentos existentes, a expectativa é de que nos próximos cinco anos sejam lançadas cultivares adequadas ao mercado *in natura* e menos suscetíveis à bacteriose e à virose.

## Referências Bibliográficas

BACCARIN, M. N. R. A. *Cultura de tecidos e enxertia em Passiflora spp.* 1988.

101 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1988.

BERNACCI, L. C.; MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D. Maracujá-doce: o autor, a obra e a data da publicação de *Passiflora alata* (Passifloraceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 355-356, 2003.

BRAGA, M. F.; JUNQUEIRA, N. T. V. Uso potencial de outras espécies do gênero *Passiflora*. **Revista Informe Agropecuário**, v. 21, n. 206, 2000. p. 72-75.

BRAGA, M. F.; JUNQUEIRA, N. T. V. **Produção de mudas de maracujá-doce**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2003. 28 p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 93).

BRUCKNER, C. H.; OTONI, W. C. H. Hibridação em maracujá. In: BORÉM, A. (Ed.). **Hibridação artificial de plantas**. Viçosa: UFV, 1999. p. 379-399.

CERVI, A. C. *Passifloraceae do Brasil*: estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. Madrid: Fontqueria XLV, 1997. p. 16-18.

COPPENS D'EECKENBRUGGE, G. **Promesas de las pasifloras**. Disponível em : <[http://www.reuna.edu.co/temporales/memorias/especies/Magistrales/24\\_pasifloras%20Medellin2\\_Geo.htm](http://www.reuna.edu.co/temporales/memorias/especies/Magistrales/24_pasifloras%20Medellin2_Geo.htm)>. Acesso em: 26 set. 2005.

FERREIRA, F. R. Germoplasma de passiflora no Brasil. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.). **Maracujá: produção e mercado**. Vitória da Conquista: UESB, 1994. p. 71-83.

FERREIRA, F. R. **Recursos genéticos**: conservação de germoplasma de espécies frutíferas no campo. Brasília, DF: Fundação Dalmo Giacometti, 2001. Disponível em : <[http://www.giacometti.org.br/html/artigo\\_exibe.cfm?Id=30](http://www.giacometti.org.br/html/artigo_exibe.cfm?Id=30)>. Acesso em: 19 nov. 2005.

FISCHER, I. H.; LOURENÇO, S. A.; MARTINS, M. C.; KIMATI, H.; AMORIM, L. Seleção de plantas resistentes e de fungicidas para o controle da podridão do colo do maracujazeiro causada por *Nectria haematococca*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 250-258, 2005.

JUNG, M. S. **Análise da base genética do rendimento da polpa e resistência da casca do maracujazeiro doce (*Passiflora alata*) e seleção de progênies superiores**. 2003. 98 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

JUNQUEIRA, N. T. V.; PEIXOTO, J. R.; BRANCHER, A.; JUNQUEIRA, K. P.; FIALHO, J. F. Melhoramento genético do maracujá-doce. In: MANICA, I. et al. (Ed.). **Maracujá-doce: tecnologia de produção, pós-colheita e mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2005. p. 39-46.

KAVATI, R.; PIZA JUNIOR, C. T. **Cultura do maracujá-doce**. Campinas: CATI, 2002. p. 10-12. (Boletim Técnico, 244).

MANICA, I. Propagação das mundas. In: MANICA, I. et al. (Ed.). **Maracujá-doce: tecnologia de produção, pós-colheita e mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2005. p. 47-63.

MARTINS, M. R.; OLIVEIRA, J. C.; DI MAURO, A. O.; SILVA, P. C. Avaliação de populações de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis) obtidas de polinização aberta. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 1, 2003. p. 111-114.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; PINTO-MAGLIO, C. A. F.; MARTINS, F. P. Caracterização de germoplasma de maracujazeiro (*Passiflora* sp). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 14, n. 2, 1992. p. 157-162.

MELETTI, L. M. M.; SANTOS, R. R.; MINAMI, K. Melhoramento do maracujazeiro-amarelo: obtenção do cultivar 'COMPOSTO IAC-27'. **Scientia agricola**, v. 57, n. 3, 2000. p. 491-498.

MELETTI, L. M. M.; FURLANI, P. R.; ALVARES, V.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; FILHO, J. A. A. Novas tecnologias melhoram a produção de mudas de maracujá. **O Agrônomo**, v. 54, n. 1, p. 30-33, 2002. Disponível em: <[www.iac.sp.gov.br/Oagronomico/541/541\\_08t72.pdf](http://www.iac.sp.gov.br/Oagronomico/541/541_08t72.pdf)> . Acesso em: 14 out. 2004.

MELO, N. F.; CERVI, A. C.; GUERRA, M. Karyology and cytotaxonomy of the genus *Passiflora* L. (*Passifloraceae*). **Plant Systematics and Evolution**, n. 226, p. 69-84, 2001.

NASCIMENTO, W. O.; TOMÉ, A. T.; OLIVEIRA, M. S. P.; MÜLLER, C. H.; CARVALHO, J. E. U. Seleção de progênies de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) quanto à qualidade de frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 1, p. 186-188, 2003.

PIO-RIBEIRO, G.; MARIANO, R. de L. R. Doenças do maracujazeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 23, p. 528-533.

OLIVEIRA, J. C. de; NAKAMURA, K.; MAURO, A. O.; CENTURION, M. A. P. da C. Aspectos gerais do melhoramento do maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.). **Maracujá: produção e mercado**. Vitória da Conquista: UESB, 1994. p. 27-28.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. **Genética na agropecuária**. 3 ed. Lavras: UFLA, 2004. p. 25-30.

RONCATTO, G.; OLIVEIRA, J. C. de; RUGGIERO, C. Comportamento de maracujazeiros (*Passiflora spp.*) quanto à morte prematura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 3, p. 552-554, 2004.

ROSSETTO, C. A. V.; CONEGLIAN, R. C. C.; NAKAGAWA, J.; SHIMIZU, M. K.; MARIN, V. A. Germinação de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryand) em função de tratamento pré-germinativo. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 1, p. 247-252, 2000.

RUGGIERO, C.; SÃO JOSÉ, A. R.; VOLPE, C. A.; OLIVEIRA, J. C.; DURIGAN, J. F.; BAUMGARTNER, J. G.; SILVA, J. R.; MAKAMURA, K. I.; FERREIRA, M. E.; KAVATI, R.; PEREIRA, V. P. **Maracujá para exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília, DF: Embrapa-SPI, 1996. 64 p. (Publicações Técnicas Frupex, 19).

SALOMÃO, L. C. C.; PEREIRA, W. E.; DUARTE, R. C. C.; SIQUEIRA, D. L. Propagação por estaquia dos maracujazeiros doce (*Passiflora alata* Dryand.) e amarelo (*P. edulis f. flavicarpa* Deg.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 163-167, 2002.

SANTOS FILHO, H. P. Doenças do sistema radicular do maracujazeiro. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 5., 1998, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 1998. p. 244-254.

SHARMA, R. D. ; JUNQUEIRA, N. T. V.; GOMES, A. C. **Suscetibilidade do maracujazeiro-doce aos nematóides formadores de galhas, *Meloidogyne spp.*** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2002. 11 p. (Embrapa Cerrados. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 30).

SOUZA, J. S. I.; MELETTI, L. M. M. **Maracujá: espécies, variedades, cultivo**. Piracicaba: FEALQ, 1997.

VASCONCELLOS, M. A. das; CEREDA, E. O cultivo do maracujá doce. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.). **Maracujá: produção e mercado**. Vitória da Conquista: UESB, 1994. p. 71-83.

VASCONCELLOS, M. A. S.; CEREDA, E.; BUSQUE, R. N. B.; PACE, C. A. M. Observações sobre a incompatibilidade floral no maracujazeiro doce (*P. alata*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13., 1994, Salvador. **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1994. v. 3, p. 830.

VANDERPLANK, J. **Passion flowers**. 2th ed. Cambridge: MIT, 1996. p. 45-46.

VERAS, M. C. M. **Fenologia, produção e caracterização físico-química dos maracujazeiros ácido (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Deg.) e doce (*Passiflora alata* Dryand) nas condições de cerrado de Brasília-DF**. 1997. 105 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.

VIEIRA, M. L. C.; CARNEIRO, M. C. **Passionfruit**. In: LITZ, R. (Ed.). **Biotechnology of Fruit and Nut Crops**. Oxford: CABI, 2004. p. 436-453.



Pinta com cores fecundas a mata perdida  
Frutos e flores exalam perfumes que a nós  
Leva além do Divino sabor  
É inspiração nos poemas de amor

É o maracujá... É o fruto-da-paixão  
É o maracujá... É minha inspiração

Brasileira espécie da flora que atrai atenção  
De cientistas, poetas e músicos e dos agricultores  
Do mais indefeso ao mais sábio e forte  
Planta lendária do Brasil Centro-Norte

*Geovane Alves de Andrade*

# Novas variedades: validação e transferência de tecnologia

---

Rogério de Sá Borges

Ciro Scaranari

Amantino Martins Nicoli

Reginaldo Resende Coelho

## Introdução

O maracujá tem sua origem na América Tropical. Pertence à família *Passifloraceae* e ao gênero *Passiflora*. Apesar de possuir grande número de espécies, os cultivos comerciais baseiam-se na espécie *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, conhecida como maracujá-amarelo ou azedo (Meletti, 1999). A área plantada com maracujá-amarelo, no Brasil, vem se mantendo ao redor de 35 mil hectares com destaque para a Região Nordeste, principalmente, os Estados da Bahia e de Sergipe com cerca de 10 mil e 4 mil ha respectivamente. A Região Sudeste aparece como a segunda região produtora do País com 10 mil ha sendo 3,1 mil em São Paulo, 2,6 em Minas Gerais e 2,3 no Espírito Santo. A produção brasileira no ano de 2002 foi de 478.652 toneladas. Em relação à produtividade, a média nacional está em torno de 14 toneladas por hectare, porém, existem diferenças significativas entre as regiões distribuídas com 9,2 t/ha (N), 11,6 t/ha (NE), 11,7 t/ha (CO), 14,8 t/ha (S) e 19,6 t/ha na Região Sudeste. O Brasil é o maior produtor e o maior consumidor de maracujá do mundo. O maracujá-amarelo ou azedo é o mais cultivado no País e sua utilização se dá na forma de fruta fresca e de suco.

O maracujá-roxo também pode ser usado tanto para consumo in natura como para produção de suco. Bastante cultivado na Austrália e na África do Sul, é muito pouco produzido no Brasil provavelmente devido a sua baixa

aceitação no mercado atacadista. O maracujá-roxo tem sido aceito na indústria de suco por apresentar melhor rendimento industrial. O maracujá-doce possui características de frutos e de comportamento das plantas bem distintas do amarelo e do roxo, pois suas flores permanecem abertas todo o dia, e a aparência externa e características internas como aroma e sabor são bastante diferentes. Devido ao alto teor de sólidos solúveis, a produção de suco resulta em um produto um pouco enjoativo (Meletti, 1999).

Em relação ao mercado internacional, apesar de ser amplamente produzido na América do Sul (Brasil, Colômbia, Peru e Equador) e na África, o volume mundialmente comercializado de maracujá como fruta fresca é pequeno quando comparado com o de outras frutas exportadas. Na América do Norte e na Europa, o consumo é restrito a grupos étnicos já familiarizados com a fruta que, para a maioria da população desses países, ainda é considerada como fruta exótica (Matsuura, 2002). Além dos países europeus, principais importadores, recentemente, o maracujá brasileiro tem sido exportado para Argentina e Uruguai, ainda que de forma incipiente. No comércio internacional de frutas frescas, as exportações brasileiras de maracujá representam 3% sendo que as frutas frescas correspondem a 1,5% do total (US\$ 254 mil) das exportações brasileiras de maracujá (Pires & Mata, 2004).

No Brasil, a produção de maracujá tem aumentado nos últimos anos, principalmente, no mercado de frutas frescas com a inserção de novas regiões. A maior parte das lavouras é explorada em pequenas e médias propriedades sendo que cerca de metade da área cultivada com maracujá no País encontra-se em propriedades de até 20 ha. Como consequência, existe grande número de produtores na atividade proporcionando uma comercialização regida pelas forças que governam o mercado, não havendo grandes distorções de preços por parte dos agentes compradores e vendedores. O mercado nacional possui forte sazonalidade na oferta. No período de janeiro a julho, frutos de boa qualidade têm alcançado preços entre R\$ 0,55 e R\$ 1,05 por quilo, enquanto de agosto a dezembro, os preços têm variado de R\$ 0,80 a R\$ 2,00 (Pires & Mata, 2004). Essas variações de preços não determinam alternância de ciclo produtivo, mas têm sido

responsável por significativas transformações técnicas no cultivo do maracujazeiro determinando épocas de plantio e espaçamento para os pomares estabelecidos em regiões que apresentam condições climáticas de produção no período de entressafra (Silva, 2004).

Ao se considerar a posição de liderança na produção de maracujá que o País ocupa no cenário mundial, verifica-se uma escassez de literatura principalmente na área de melhoramento genético. A falta de variedades e híbridos hortícolas definidos e de potencial superior e a conseqüente falta de sementes comerciais reforça a necessidade de se voltar a atenção aos bancos de germoplasma como ferramenta imprescindível ao desenvolvimento dos programas de melhoramento (Cunha et al., 2004). Muitos genótipos que poderiam fazer parte de bancos ativos de germoplasma e serem utilizados em programas de melhoramento acabam sendo perdidos por representarem espécies selvagens e estarem dispersos em matas naturais que vêm sendo destruídas para ampliação de fronteiras agrícolas. No Brasil, existem atualmente cinco bancos de germoplasma (Souza & Meletti, 1997).

Várias espécies frutíferas ou ornamentais, chamadas comumente de maracujá, pertencem à família *Passifloraceae*, gênero *Passiflora*. Apesar de algumas discordâncias entre os autores quanto ao número de espécies pertencentes à família e ao gênero *Passiflora*, é aceita a existência de cerca de 400 espécies, sendo 150 nativas do Brasil e cerca de 60 possuem frutos comestíveis (Silva, 2004). Os cultivos comerciais no Brasil baseiam-se, principalmente, nas espécies *Passiflora alata* (maracujá-doce) e *Passiflora edulis* (maracujá-amarelo) responsáveis por 95% da área plantada no País (Meletti, 1999).

Segundo Silva (2004), existe grande variabilidade de forma, tamanho, teor de açúcar, acidez, rendimento de suco, tolerância a pragas e a doenças, cor de polpa e outras características de interesse nas principais espécies cultivadas no Brasil, sendo que para o maracujá-doce e para o maracujá-roxo ainda não há variedades comerciais. Para o maracujá-amarelo, já existem algumas seleções e híbridos, com sementes disponíveis comercialmente, sendo os principais:

- Seleção Maguary ou Araguari - FB 100: apresenta como principais características o alto rendimento de suco e teor de açúcar, polpa amarelo-alaranjada, além da excelente produtividade e rusticidade. Como foi desenvolvido para atender ao mercado industrial, apresenta frutos desuniformes em tamanho e cor de casca.
- Híbridos Flora Brasil - FB 200: Disponíveis a partir de 2001, têm como principais características o vigor e o tamanho dos frutos, ovalados, destinados para mercado in natura, apresentam também boa coloração da polpa, amarelo-alaranjada, bom rendimento de suco e teor de açúcar.
- Híbridos “IAC Série 270”: Essa série de material desenvolvida pelo Instituto Agrônômico – IAC é composta pelos híbridos “IAC 273”, “IAC 275” e “IAC 277” e possuem como principais características, bom rendimento de suco e teor de açúcar, polpa alaranjada, boa produtividade e vigor. A diferença entre eles é sutil. O “IAC 277” apresenta frutos maiores e mais alongados, o “IAC 275” tem maior proporção de frutos com polpa de coloração alaranjada intensa e o “IAC 273” é o de maior produtividade (Meletti, 1999).
- Seleção Sul Brasil: O material foi selecionado nas condições de São Paulo, a partir do qual foram feitas várias outras seleções.
- Seleções Embrapa: A Embrapa, por meio de seus centros de pesquisa, vem desenvolvendo algumas variedades e híbridos que deverão ter sementes comercialmente disponíveis em breve e, entre eles, tem chamado a atenção o material derivado de Roxo Australiano e Vermelho.

## A Embrapa Transferência de Tecnologia

Um dos maiores desafios das empresas geradoras de conhecimento e tecnologia é reduzir o tempo entre a produção do conhecimento e das tecnologias e sua devida disponibilidade aos usuários e à sociedade em geral. A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa conta com uma Unidade denominada Embrapa Transferência de Tecnologia que tem a missão de buscar mecanismos para diminuir essa distância.

A Unidade possui 15 Escritórios de Negócios (ENs) e 1 Unidade de Produção (UP), instalados em todas as regiões geográficas brasileiras, formando ampla rede de validação, demonstração e de transferência dos conhecimentos e tecnologias produzidos pela empresa e por demais instituições pertencentes ao Sistema Nacional de Pesquisa.

Para cumprir sua missão, promove a articulação intra e interinstitucional com o setor público e privado para o estabelecimento de redes de transferência de tecnologia e utiliza-se de mecanismos como Vitrines Tecnológicas, Unidades Demonstrativas (UDs), Dias de Campo, Cursos de Formação de Agentes Multiplicadores, participação em exposições, entre outras ações de transferência de tecnologia.

A Unidade é responsável pela multiplicação de sementes e mudas geradas pelas diversas Unidades da Embrapa, de forma a garantir o atendimento das demandas por sementes básicas e mudas, observando o rigor no controle de qualidade do material multiplicado. A multiplicação ocorre diretamente em áreas próprias dos Escritórios de Negócios ou por meio de parcerias firmadas com a iniciativa privada, obedecendo às leis pertinentes como a Lei de Sementes e Mudas, Lei de Proteção de Cultivares e a Lei de Biossegurança. Um dos instrumentos que formalizam a parceria com a iniciativa privada são os contratos de licenciamento. Os recursos arrecadados por meio desses contratos são destinados aos programas de pesquisa, desenvolvimento e inovação tecnológica da Embrapa.

O IAC – Instituto Agrônomo, instituição participante do Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária, órgão da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, é uma das instituições que vem ao longo dos anos realizando trabalhos em parceria com essa Unidade da Embrapa com a finalidade de somar esforços relativos à transferência de tecnologias e produtos desenvolvidos pelo IAC para outras unidades federativas do País.

## O programa IAC/Embrapa

Tendo em vista a existência de convênios anteriores entre as instituições com vistas na ampliação de programas de produção de sementes e mudas de diversas espécies e diante de resultados promissores envolvendo os novos híbridos de maracujá “IAC Série 270”, foi inicialmente elaborado, em 2001, um estudo visando ao conhecimento do mercado, das potencialidades e vulnerabilidades de cada material a ele oferecido, destacando-se cultivares como Seleção Maguary, Sul-Brasil e “Sem origem” (estimado na época em 92% do mercado), o que possibilitou desde a definição de posição competitiva de cada um até a definição de objetivos, metas e estratégias de um plano com a finalidade de incrementar a participação de material do IAC no mercado nacional por meio de ações da Embrapa Transferência de Tecnologia, plano esse definido como Plano de Marketing.

Nesse plano, foram elencados diversos fatores-chave de sucesso em ordem decrescente de importância: produtividade, tolerância ao vírus do endurecimento do fruto, marca, tolerância a fusariose, tamanho do fruto, teor de sólidos solúveis, peso do fruto, rendimento de polpa, resistência ao transporte, preço, coloração da polpa, coloração externa, homogeneidade de tamanho, espessura da casca e tempo de prateleira. Entre os materiais citados os da Série 270 do IAC foram os que mais se destacaram.

Entre os híbridos que compõem a série foram eleitos, visando ao mercado de frutas frescas, o IAC-277 (Figura 1) com elevada produtividade (2 a 3 vezes superior à média nacional), frutos ovais, de casca mais fina, maiores, mais pesados e de menor variabilidade em campo. Para o segmento da agroindústria, foi eleito o IAC-275 (Figura 2), de produtividade semelhante ao anterior, com frutos ovais, de melhor rendimento industrial (cavidade interna totalmente preenchida), apresentando teor de sólidos solúveis totais superior a 15° Brix e forte pigmentação de polpa.

Foram então definidos objetivos, metas e estratégias, visando atender a 5% de um mercado estimado, na época, em 10.000 ha potencialmente utilizador de sementes de qualidade com garantia de origem ao longo de um período de três anos.

Foto: Laura Maria Molina Meletti



**Figura 2.** Fruto do IAC 275.

**Figura 1.** Frutos do IAC 277.



Foto: Laura Maria Molina Meletti

Para tanto, foram instalados dois campos-piloto para produção de sementes dos híbridos IAC-275 e IAC-277, no Campo Experimental da Embrapa, em Nova Porteirinha, MG. Cada campo foi composto de seis progenitores distintos que, combinados entre si por meio de polinização controlada, deram origem a cada material. Inicialmente, as inflorescências foram protegidas por sacos de papel e, após o cruzamento, foram novamente ensacadas por mais dois dias para evitar a entrada de pólen de plantas indesejadas. Confirmado o pegamento pela coloração amarelada do ovário, a proteção foi substituída por sacos tipo “rede” de malha de náilon e assim permanecendo até o momento de sua colheita após desprenderem-se do pedúnculo (Figuras 3 e 4).



**Figura 3.** Campo de produção de sementes do IAC 275 .



**Figura 4.** Frutos hibridados.

Feita a coleta em dias alternados, os frutos foram selecionados com base no teor de sólidos solúveis, tamanho, espessura, textura e coloração da casca, número de sementes e coloração da polpa. A extração das sementes foi feita mecanicamente por ação de turbilhamento com água em liquidificadores providos de agitadores especiais sem facas. Depois da lavagem em água corrente, a secagem foi feita sobre papel absorvente e à sombra até que o teor de água nas sementes atingisse 10%, grau este facilmente atingido nas condições locais ambiente. Em épocas desfavoráveis a essa prática, utilizou-se de câmara de ventilação forçada, sob temperatura constante de 30°C. As sementes secadas após a retirada do arilo feita manualmente, com auxílio de flanelas, foram loteadas e amostradas para fins de análise em laboratório, obedecendo a padrões internos de qualidade do Programa Embrapa/IAC. Inicialmente foram submetidas a armazenamento a granel, enquanto aguardavam-se os resultados das análises em câmara fria e seca (10 °C e 45% de UR), as sementes, após a aprovação em laboratório, foram acondicionadas em embalagens herméticas com 25 g de capacidade (aproximadamente 1000 sementes) e revestidas internamente com filme de

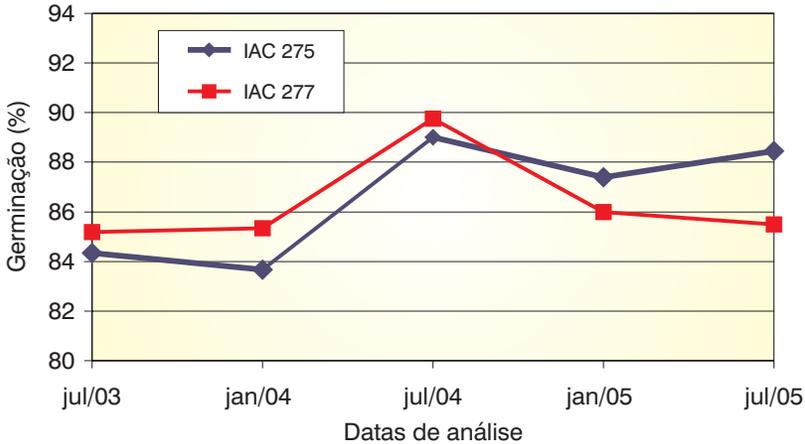
alumínio, capacidade esta definida em função de o potencial de plantio desse volume atingir 1 hectare. Assim, cada embalagem passou a ser definida pelo programa como sendo “1 módulo”, permanecendo armazenada nas citadas condições até o momento de sua efetiva comercialização.

Os volumes efetivamente comercializados por unidade federativa encontram-se na Tabela 1 a seguir na qual, considerando-se densidade de plantio de 25g/ha, infere-se que foi atingida aproximadamente 70% da meta originalmente proposta de 500 ha, recaindo a principal demanda, cerca de 90%, na cultivar IAC-277, destinada ao mercado de frutas frescas.

**Tabela 1.** Comercialização de sementes do Programa IAC/Embrapa (em gramas) - 2002 a 2005.

UF	IAC 275	IAC 277	Total
Amazonas	25	25	50
Bahia	225	3978	4203
Ceará	-	525	525
Distrito Federal	75	200	275
Espírito santo	-	25	25
Goiás	25	275	300
Maranhão	25	200	225
Minas Gerais	0	675	675
Mato Grosso do Sul	75	125	200
Mato Grosso	-	50	50
Pernambuco	-	75	75
Paraná	-	65	65
Rio de Janeiro	75	50	125
Rio Grande do Norte	-	25	25
São Paulo	250	1175	1425
Tocantins	50	50	100
<b>Total</b>	<b>825</b>	<b>7518</b>	<b>8343</b>

De acordo com análises de estoques efetuadas a cada seis meses, verifica-se que a germinação das sementes manteve-se alta no período de três anos, o que demonstra terem sido corretas as técnicas de sua conservação (Figura 5).



**Figura 5.** Viabilidade (% de germinação) dos estoques de sementes de maracujá – Programa IAC / Embrapa.

Outra meta do Programa foi a formação de novos viveiristas que, de posse das sementes das duas cultivares, poderiam vir a celebrar contratos de licenciamento de produção, comercialização, *marketing* e transferência de tecnologia para produção de sementes e mudas de maracujá, dentro do Programa Embrapa/IAC. Para tanto, foram elaboradas normas técnicas para a produção de mudas de maracujá cujo objetivo foi o de estabelecer exigências para a produção e comercialização de mudas que exigem requisitos obrigatórios, tais como: isolamento, aspectos construtivos do viveiro e exigências quanto a implantação e condução da produção envolvendo tipos de substrato, recipientes, semeadura, irrigação e controle fitossanitário e outras práticas de manejo. As normas fixam, ainda, outras obrigações do licenciado quanto ao atendimento dos padrões de produção, identificação e armazenamento das mudas. O produto final é uma muda de qualidade com a marca do Programa (Figura 6).



**Figura 6.** Muda produzida por viveirista licenciado com etiqueta do Programa IAC/Embrapa.

Assim, foram firmados contratos com produtores de mudas no qual se destacam a própria Embrapa por meio de seu Escritório de Negócios de Dourados, o Departamento de Sementes, Mudanças e Matrizes/CATI, órgão da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, além do viveiro de mudas Citro Setin localizado em Limeira, SP.

## O Projeto de Transferência de Tecnologia para Novas Cultivares

Iniciada a comercialização de sementes e mudas, foi verificada a necessidade de ampliar o trabalho de difusão das novas cultivares para as diversas regiões produtoras do País. Foi elaborado então um projeto intitulado “*Transferência de Tecnologia para novas cultivares de maracujazeiro (Passiflora edulis f. flavicarpa)*” aprovado pelo Sistema de Gestão de Macroprogramas da Embrapa cujo objetivo foi demonstrar as cultivares desenvolvidas para os agentes do sistema agroindustrial do maracujá e, por meio delas, transferir tecnologias visando otimizar suas características favoráveis e enaltecer suas vantagens comparativas. Sendo assim foram

instaladas Unidades de Demonstração (UDs), compostas de um número representativo de plantas das cultivares IAC 275 e IAC 277, por meio de parceiros selecionados em locais de atuação dos Escritórios de Negócios da Embrapa Transferência de Tecnologia.

A escolha dos locais foi feita levando-se em consideração aspectos como importância da cultura na região e disponibilidade de área e recursos humanos da Embrapa e de parceiros para condução e acompanhamento das UD's. Os locais escolhidos foram:

- Rolândia, PR (Cooperativa Agroindustrial - COROL): esta cooperativa desenvolve projetos integrados de produção e industrialização de citros e uva para produção de sucos e pretende em um futuro breve processar também o maracujá-amarelo.
- Araguari, MG (produtor parceiro): nesta região, o parceiro foi a empresa Kraft Foods Brasil S/A proprietária da marca de sucos Maguary que auxiliou desde o início, identificando um de seus produtores/fornecedores para a instalação da UD e desde então tem auxiliado na condução e acompanhamento da área.
- Campos dos Goytacazes, RJ (Bela Joana Sucos e Frutas Ltda): este local foi escolhido devido ao interesse em se avaliar o desempenho do híbrido IAC 275.
- Itaperuna, RJ (Sucos Niágara): nesta região também existe uma produção significativa direcionada principalmente ao processamento na indústria de sucos.
- Goiânia, GO (EN de Goiânia): foi instalada uma UD em área de uma Vitrine Tecnológica do Escritório de Negócios de Goiânia da Embrapa Transferência de Tecnologia onde já existem diversas UD's de outras culturas que são apresentadas anualmente em evento promovido por essa Unidade.
- Vianópolis, GO (produtor parceiro): este município foi escolhido por ser uma região de cultivo expressivo de maracujá no Estado.

- Rondonópolis, MT (Sindicato Rural de Rondonópolis): foi instalada uma UD em área do Sindicato localizada no parque de exposições da cidade. A proposta foi de realizar o trabalho em parceria com a Empresa Mato-Grossense de Pesquisa, Assistência e Extensão Rural - Empaer na tentativa de identificar oportunidades de cultivo com material geneticamente melhorado de maracujá para pequenos produtores por ela assistidos. A UD entrou na programação de visitas de agricultores promovida todos os anos pela Empaer e pela Embrapa durante a EXPOSUL, feira agropecuária realizada no mês de junho.
- Dourados, MS (EN de Dourados): foi instalada uma UD em área própria do Escritório de Negócios de Dourados onde também existem várias UDs de outras culturas freqüentemente visitadas por agricultores da região.
- Brasília, DF (Fazenda Sucupira): esta fazenda é uma Unidade de Produção (UP) da Embrapa Transferência de Tecnologia e abriga UDs de outras culturas com destaque para fruteiras. Essa UP possui estrutura de viveiros de mudas frutíferas.
- Petrolina, PE (EN de Petrolina): a escolha deste local levou em consideração não só a importância regional da fruticultura no Vale do São Francisco e da relevância da cultura do maracujá na Região Nordeste como também a disponibilidade de uma área própria da Embrapa no local.
- Amarante, MA (produtor parceiro): de acordo com levantamento feito pelo EN de Imperatriz, o cultivo de maracujá é significativo na região, porém, a utilização de cultivares melhoradas é muito baixa. Cabe destacar que na ocasião voltava a funcionar uma indústria de processamento de maracujá em Benevides, PA (Nova Amafruta), o que vinha despertando o interesse dos produtores da região, fato esse que reforçou a decisão de se instalar uma UD no local.

Todas as sementes utilizadas na produção das mudas para as UDs foram fornecidas pelo EN de Sete Lagoas responsável pelo campo de sementes em Nova Porteirinha, MG. A maior parte das mudas foi produzida em cada local de instalação da UD. As mudas destinadas a Rolândia foram

produzidas pelo IAC e as de Vianópolis e das UDs do Rio de Janeiro, pelos ENs de Goiânia e Sete Lagoas respectivamente. A produção das mudas seguiu recomendações técnicas elaboradas pela Embrapa e pelo IAC, baseadas nas “Normas Técnicas para Produção de Mudanças de Maracujá” e enviadas a cada responsável técnico das UDs.

Cada UD foi composta de quatro linhas de 35 m de espaldeira contendo apenas um fio de arame. O espaçamento adotado foi de 4 m entre linhas e 5 m entre plantas. Foram plantadas duas linhas com o IAC 275 e outras duas com o IAC 277 totalizando 14 plantas de cada híbrido (7 em cada linha). Além das recomendações de produção das mudas, foram elaboradas pela Embrapa e pelo IAC recomendações para condução das UDs, contendo tratamentos culturais, adubações e demais prescrições da cultura do maracujá (Figura 7).



**Figura 7.** Unidade de Demonstração em Rondonópolis, MT.

Em relação às avaliações das UDs, foi elaborada e enviada a cada técnico responsável uma ficha para anotações sobre informações tais como: local, número de plantas, data de plantio, tratamentos culturais, início e intensidade de florescimento, peso médio dos frutos e da casca, teor de sólidos solúveis e número de sementes. Em alguns locais, não foi possível a realização de parte das anotações em virtude de estarem instaladas em locais de acesso público sujeitos a furtos como no caso de Rondonópolis. Neste caso, foi priorizada a demonstração a produtores e técnicos não sendo realizadas as avaliações de florescimento e frutificação. Nos demais locais, os resultados vêm demonstrando bom desempenho dos híbridos do IAC.

Foram realizados dias de campo, visitas monitoradas de grupos de produtores e vitrines tecnológicas promovendo assim o uso dos híbridos IAC 275 e IAC 277 estimulando com isto o uso de cultivares melhoradas (Tabela 1).

## Novas cultivares da Embrapa Cerrados

Em junho de 2004, técnicos da Embrapa Transferência de Tecnologia e pesquisadores da Embrapa Cerrados estudaram a possibilidade de introduzir novo material de maracujá, oriundo de programa de melhoramento da Embrapa Cerrados, na rede anteriormente criada para validação dos híbridos do IAC da Série 270. A proposta seria utilizar a estrutura já disponível de algumas das UD's para inclusão desse material.

Foram então definidos locais que reunissem o interesse da pesquisa e a estrutura existente para estabelecimento e condução das Unidades. Nessa escolha, foi levado em conta, também, o aspecto de segurança por se tratar de seleções ainda em fase de registro e passíveis de proteção. Sendo assim, foram priorizados locais onde a Embrapa Transferência de Tecnologia possuísse área interna e, nos locais onde as UD's fossem estabelecidas em áreas de terceiros, firmaram-se Acordos de Transferência de Material (ATMs). Nesses documentos, estabeleceram-se as condições básicas para avaliação do desempenho agrônomo do material, destacando-se a garantia dos direitos de propriedade intelectual por meio da restrição da multiplicação, a cessão para terceiros e tudo que pudesse ser qualificado como uso indevido.

Locais como Goiânia, Brasília e Vianópolis, contemplados anteriormente com material do IAC, foram dessa vez descartados por se considerar que já havia dados suficientes do comportamento dessas novas seleções nas condições do planalto central.

Ao contrário dos híbridos do IAC, não havia resultados do novo material nas condições do Estado de São Paulo. Sendo assim, foram instaladas duas Unidades nos Municípios de Limeira e Jacupiranga. Este último foi selecionado posteriormente em virtude de demandas locais. O Município de Jacupiranga localiza-se no Vale do Ribeira, SP, principal região produtora do Estado. Até 1999, a produção do Vale era de 1,5 milhão de caixas, mas, a partir de 2000, com a entrada do vírus do endurecimento na região, a área chegou a ser reduzida a menos da metade. Com a ajuda de órgãos estaduais e de prefeituras, os produtores da região decidiram retomar o cultivo de

maracujá adotando técnicas de manejo que permitissem a viabilidade do cultivo. A decisão pela inclusão de uma UD no local deveu-se a tolerância à doença apresentada por alguns dos materiais da Embrapa.

A partir de outra demanda do EN de Manaus, foi instalada uma UD em área da Embrapa Amazônia Oriental, localizada naquele município.

Além das Unidades mencionadas, foram instaladas UDs também em Rolândia, Araguari, Rondonópolis, Dourados e Petrolina, eleitas pelas mesmas razões consideradas na escolha quando da instalação das Unidades com os híbridos IAC.

O material oriundo do programa de melhoramento da Embrapa Cerrados constitui cruzamentos entre seleções visando à obtenção de cultivares produtivas, com qualidade de fruto superior e tolerância a algumas das principais doenças da cultura. Até o presente momento, as cultivares ainda estão sendo identificadas pelos respectivos códigos até que seja concluída a etapa de validação e sejam definidos nomes para registro, proteção e lançamento das cultivares. O material possui as seguintes características nas condições de cultivo do planalto central (Brasília, DF) (Junqueira, 2005)<sup>1</sup>.

- **GA-2** - Cultivar híbrida obtida do cruzamento entre a Cv. Sul Brasil ou Marília x “Redondão”. Produz frutos amarelos, formato oblongo, pesando de 120 a 350 g, rendimento de polpa em torno de 40% e teor de sólidos solúveis de 13 a 15° Brix. Tem boa tolerância à antracnose e à bacteriose, mas é suscetível à virose, verrugose e a doenças causadas por patógenos do solo. Sua produtividade nas condições do Distrito Federal, com irrigação e plantada no período de maio a julho, no espaçamento de 2,5 x 2,5 m, tem ficado em torno de 42 t/ha no ano seguinte, mesmo com ataque da virose. No segundo ano de produção, essa produtividade cai para 20 a 25 t/ha, dependendo do manejo (Figura 8).

---

<sup>1</sup> JUNQUEIRA, N.T.V. Comunicação pessoal, 2005.

- **AR-1** - Cultivar obtida do cruzamento entre a GA-2 x MA (matriz derivada da Redonda) que apresentava tolerância a doenças foliares como bacteriose, antracnose e virose. Produz frutos amarelos, grandes oblongos, afilados no ápice e mais arredondados na base. Pesam de 150 a 350 g, rendimento de polpa em torno de 38%, teor de sólidos solúveis de 13 a 14° Brix (Figura 9).
- **AR-2** - cultivar híbrida obtida do cruzamento do “Redondão” com uma seleção de maracujá-amarelo mais resistente a doenças das raízes e da parte aérea, porém, de frutos pequenos. Essa cultivar produz frutos de 120 a 230 g, formato ligeiramente arredondado, rendimento de polpa em torno de 38%, teor de sólidos solúveis de 13 a 14° Brix. No Distrito Federal, sua produtividade com irrigação e no espaçamento de 2,5 x 2,5 m tem ficado em torno de 32 t/ha/ano se plantada de maio a julho. No segundo ano, essa produtividade vem sendo mantida (Figura 10).
- **AP-1** - cultivar obtida do cruzamento entre dois tipos de maracujá-amarelo de alta produtividade, selecionados em um pomar comercial. Os frutos pesam de 100 a 220 g, com teor de sólidos solúveis em torno de 14° Brix, formato alongado. As plantas, assim como os frutos, são suscetíveis a doenças foliares, virose e podridão-de-raízes. No Distrito Federal, com irrigação, pode se obter em torno de 50 t/ha de 1600 plantas em cultivos de maio a julho (Figura 11).
- **EC-2-O** - cultivar híbrida obtida do cruzamento entre Cv. Sul Brasil Marília X Roxo australiano e F1 x GA-2. Produz de 10% a 15% de frutos de casca vermelha ou arroxeadas. Os frutos pesam de 120 a 350 g, são arredondados, com teor de sólidos solúveis de 13 a 15° Brix, rendimento de suco em torno de 40%. A maioria das plantas é tolerante a doenças foliares e à virose. Nas condições do DF, vem-se obtendo em torno de 40 t/ha no primeiro ano de produção, se plantado de maio a julho, com irrigação, no espaçamento de 2, x 2,5 m (Figura 12).
- **EC-RAM** - cultivar híbrida obtida do cruzamento de Roxo australiano x cultivar Sul Brasil Marília (seleção MSC) F1 de casca vermelha x GA-2. Produz de 25% a 30% de frutos de casca vermelha, com 120 a 300 g (Figura 13), formato alongado em sua maioria, às vezes ovalado, rendimento de polpa de 39% a 42%, Teor de sólidos solúveis de 14 a 16° Brix. A maioria das plantas é tolerante à virose, bacteriose e antracnose do fruto. Nas condições do DF, com irrigação, vem-se obtendo, no primeiro ano de produção, de 30 a 50 t/ha no espaçamento de 2,5 x 2,5m em plantios efetuados de junho a agosto.



**Figura 8.** Fruto de GA-2 .

Foto: Nilton Junqueira



**Figura 9.** Fruto de AR-1.



**Figura 10.** Fruto AR-2.

Foto: Nilton Junqueira



**Figura 11.** Fruto de AP-1.

Foto: Nilton Junqueira



**Figura 12.** Fruto de EC-2-O.



**Figura 13.** Frutos vermelhos do EC-RAM.

Todas as sementes utilizadas na produção das mudas destinadas à instalação das Unidades de Demonstração foram produzidas e fornecidas pela Embrapa Cerrados. As mudas destinadas às UD's de Araguari, Dourados, Rondonópolis, Petrolina e Manaus foram produzidas em cada local seguindo as mesmas recomendações de produção de mudas de maracujá elaboradas e fornecidas pelo EN de Campinas. Para as UD's de Limeira, Jacupiranga e Rolândia, a produção das mudas foi realizada no viveiro de mudas Citro Setin anteriormente licenciado pela Embrapa Transferência de Tecnologia para produção comercial das mudas dos híbridos IAC.

Á exceção das UD's de Jacupiranga e Manaus, que foram incluídas em agosto de 2005, as demais Unidades foram implantadas entre dezembro de 2004 e fevereiro de 2005.

O desenho adotado para cada UD seguiu o mesmo modelo do trabalho realizado com o material do IAC, permitindo, assim, o aproveitamento da estrutura já existente em alguns locais. Nos locais onde não havia a estrutura anterior, foram usadas linhas de 35 m espaçadas a 4 m uma da outra seguindo o modelo anterior. O espaçamento entre plantas nas linhas também foi o mesmo (5 m).

Todos os locais foram contemplados com as cultivares AR-2, GA-2, EC-2-O e AP-1. Em Limeira (SP), foram incluídos, além desses, o EC-RAM e o AR-1 e, em Jacupiranga, está sendo avaliado apenas o material AR-1, AR-2 e EC-RAM.

Para estabelecimento, condução e avaliação estão sendo seguidas as mesmas recomendações adotadas anteriormente.

Os primeiros resultados das avaliações desse material deverão estar disponíveis no próximo ano quando então já se espera que seja possível o direcionamento das cultivares para as diferentes regiões de avaliação e que possam ser tomadas decisões quanto a estratégias de lançamento e metas e produção de sementes comerciais obtidas da realização de plano de *marketing* e plano de negócios para as novas cultivares.

## Conclusões

A utilização de mecanismos e estratégias como Planos de *Marketing* e de Negócios, Unidades Demonstrativas, Vitrines Tecnológicas, Dias de Campo e oferta de sementes e mudas de qualidade vem auxiliando na validação e na transferência de tecnologias visando à adoção de novas cultivares de maracujazeiro lançadas pelo IAC e pela Embrapa.

## Referências Bibliográficas

Agrifannual 2005: anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2004. p. 393-399.

CUNHA, M. A. P.; BARBOSA, L. V.; FARIA, G. A. Melhoramento Genético. In: LIMA, A. A.; CUNHA, M. A. P. (Ed.). **Maracujá**: produção e qualidade na passicultura. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 67-93.

MATSUURA, F. C. A. U.; FOLEGATTI, M. I. S. (Ed.). **Maracujá**: pós-colheita. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2002. 51 p. (Frutas do Brasil).

MELETTI, L. M. M. **Maracujá**: produção e comercialização. Campinas: Instituto Agrônômico, 1999. 64 p. (Boletim técnico, 181).

PIRES, M. M.; MATA, H. T. C. Uma abordagem econômica e mercadológica para a cultura de maracujá no Brasil. In: LIMA, A. A.; CUNHA, M. A. P. (Ed.). **Maracujá: produção e qualidade na passicultura**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 323-343.

SILVA, J. R. **Maracujá: produção, pós-colheita e mercado**. Fortaleza: Instituto Frutal, 2004. 77 p.

SOUZA, J. S. I.; MELETTI, L. M. M. **Maracujá: espécies, variedades, cultivo**. Piracicaba: Fealq, 1997. 179 p.





Encontrado em vales, montanhas, ladeiras e serras  
No Bioma Cerrado e em outras terras brasileiras  
Nobre componente da ecologia  
Sua rara beleza transcende a poesia

Fruto dourado que encanta a população  
Que cura, alimenta, é produto de exportação  
Que gera empregos, riqueza e renda  
É da agricultura uma nobre oferenda

*Geovane Alves de Andrade*

# Aspectos fitotécnicos: desafios da pesquisa

---

Adelise de Almeida Lima

## Introdução

A importância econômica e social da cultura do maracujazeiro reflete-se nos dados que a colocam entre as fruteiras tropicais mais plantadas no Brasil. É uma cultura exigente em mão-de-obra e com boa rentabilidade econômica.

Essa cultura apresenta vários problemas fitotécnicos, desde seu estabelecimento, passando pela inexistência de variedades melhoradas, falta de sementes selecionadas, ocorrência de doenças da parte aérea e do sistema radicular, incidência de insetos-praga e insuficiência de conhecimentos relacionados ao manejo do solo e da água, até a colheita e comercialização.

Esses fatores provocam a baixa produtividade e a mudança periódica do local de plantio, com inevitável encerramento das atividades antes do previsto.

É grande a importância social da cultura do maracujá, haja vista ser uma fruteira cultivada predominantemente em pequenos pomares, com área média entre 1,0 ha e 4,0 ha. O longo período de safra, variando de oito meses no Sudeste, dez meses no Nordeste e doze meses no Norte, permite um fluxo de renda mensal equilibrado que pode contribuir para elevar o padrão de vida nas pequenas propriedades rurais de exploração familiar. Ainda por ser uma cultura que geralmente necessita de renovação dos pomares de dois em dois anos, esta promove a geração de empregos e, conseqüentemente, a absorção e a fixação de mão-de-obra no meio rural.

## Aspectos fitotécnicos

### Propagação

Entre os vários problemas fitotécnicos apresentados pela cultura, um dos maiores entraves, com conseqüência sobre os demais, refere-se ao material de plantio. Não existem variedades e híbridos horticulturalmente definidos, com elevada produtividade e resistência/tolerância a doenças e a insetos-praga, com a conseqüente dificuldade na obtenção de sementes selecionadas por parte do produtor. Desse modo, o grande problema começa antes mesmo do plantio, na escolha do material propagativo.

A propagação do maracujazeiro, desde o início do seu cultivo comercial (anos 70), é realizada por meio de sementes. Entretanto, pode ser propagado, também, por via assexuada. A propagação vegetativa, realizada por meio de estaquia ou enxertia, é utilizada na manutenção de material genético com boa característica agrônômica, favorecendo a multiplicação de plantas produtivas e tolerantes/resistentes a pragas e doenças. Por sua vez, até o momento, no Brasil, esse método de propagação não é utilizado em escala comercial, devido, principalmente, aos maiores custos de produção das mudas e ao maior tempo requerido para a formação delas.

### *Propagação por sementes*

Apesar dos 35 anos em que o maracujazeiro é explorado comercialmente, a propagação por sementes ainda é o processo usado na totalidade dos pomares. Não obstante os avanços em relação à produção de mudas com micorrizas em tubetes e com um sistema de entrega de mudas em caixas de papelão, que permite sua distribuição em todo Brasil, trabalho realizado pelo Viveiro Flora Brasil, em Araguari, MG, a maioria dos produtores continua obtendo sementes de seus próprios pomares, sem respeitar os critérios de seleção recomendados, nos quais se enfatiza que as sementes utilizadas devem ser retiradas de plantas vigorosas, produtivas, precoces, com flores cujos estigmas/estiletos mostrem-se totalmente curvos (o estigma deve

encontrar-se abaixo das anteras), resistentes a doenças e pragas, produtoras de frutos grandes, maduros e com alto rendimento em suco. Aliado a esse problema, torna-se imprescindível grande avanço na determinação de normas para produção de mudas certificadas, garantindo desse modo a qualidade delas. Por sua vez, para diminuir as conseqüentes dificuldades na obtenção de sementes selecionadas, torna-se urgente o lançamento de variedades e híbridos horticulturalmente definidos, passíveis de uso imediato pelo produtor, sendo ponto de partida para a liberação de novo material.

## ***Propagação vegetativa***

### *Estaquia*

A propagação por estacas baseia-se na faculdade de regeneração dos tecidos e emissão de raízes.

Feichtinger Júnior (1985), em Jaboticabal, SP, realizando estaquia de maracujazeiro-amarelo em caixas de madeira, contendo vermiculita como substrato, em câmara de nebulização intermitente, concluiu que a melhor época para a obtenção das estacas é o início da brotação primaveril (agosto-setembro). Esse autor obteve 33% de enraizamento com estacas de dois nós e 2,5 folhas e 80% de enraizamento com estacas com três nós e três folhas.

Em pesquisa conduzida com a espécie *Passiflora laurifolia*, com o objetivo de avaliar metodologias que pudessem influenciar na produção de mudas por estaquia, utilizando quatro substratos (Plantmax, areia lavada, vermiculita e mistura de solo agrícola + resíduo de fava d'anta) e dois tipos de estacas (com três gemas e uma folha inteira e com três gemas e uma meia folha), Rodrigues et al. (2003) observaram que o tipo de estaca não influenciou no desenvolvimento das mudas dessa espécie, sendo que os substratos Plantmax e solo agrícola + resíduo de fava d'anta produziram melhores resultados.

Roncatto et al. (2002) buscaram estabelecer um protocolo para propagação de mudas por estaquia nas espécies comerciais e porta-enxertos de maracujazeiro (*P. edulis f. flavicarpa*; *P. alata*, *P. nitida*, *P. giberti* e *P. setacea*).

Esses autores observaram que a utilização de sementes para produção de mudas pode não transmitir com fidelidade as características genéticas da planta-mãe, dada a segregação genética que esse tipo de propagação apresenta, gerando material heterogêneo. Verificaram, ainda, que os maracujazeiros-amarelo e doce apresentam maior potencial para enraizamento de mudas por estaquia na primavera. Os porta-enxertos *P. giberti* e *P. nitida* apresentaram melhor enraizamento no outono/inverno e *P. setacea* não apresentou potencial para enraizamento.

Salomão et al. (2002) avaliaram o desempenho de três tipos de estaca, como material para formação de mudas de maracujazeiros-amarelo e doce. Concluíram que, tanto o maracujazeiro-amarelo quanto o doce apresentaram maior potencial para formação de mudas por estaquia a partir de estacas oriundas das porções mediana e basal do último surto de crescimento. Comparando a qualidade e a sobrevivência das mudas advindas de estacas enraizadas pelo sistema tradicional com aquelas enraizadas pelo sistema hidropônico, utilizando plantas-matriz das cultivares IAC-273, IAC-275 e IAC-277 de maracujazeiro-amarelo, Melletti et al. (2002) concluíram que a hidroponia de miniestacas permite economizar material propagativo e antecipar a formação de raízes em 25 dias. Quando comparada ao sistema tradicional, pode ser adotada com vantagens na estaquia de matrizes comerciais superiores ou plantas-elite de lotes experimentais de programas de melhoramento, sem perda de qualidade e com bons índices de aproveitamento.

A estaquia é uma das técnicas de propagação vegetativa do maracujazeiro que permite a obtenção de pomares uniformes. Entretanto, uma das principais desvantagens, em comparação com a enxertia, é que não resolve os problemas de doenças e nematóides que ocorrem no sistema radicular.

### *Enxertia*

Recomenda-se a enxertia com a finalidade de garantir sanidade às plantas por meio de porta-enxertos tolerantes/resistentes a insetos-praga e a doenças.

O uso de porta-enxertos resistentes a doenças causadas por fungos de solo prolonga a vida útil da planta, preserva as qualidades do material genético e pode perenizar a cultura do maracujazeiro.

O tipo de enxertia mais usado, com pegamento de até 90%, é o de garfagem do topo em fenda cheia que consiste em se transferir da planta-mãe (cavaleiro) um ramo para outra planta que é o porta-enxerto.

Manica (1981) mencionou que, na Austrália, o método de enxertia mais empregado para o maracujazeiro é o da garfagem do topo em fenda cheia. Oliveira et al. (1984) identificaram *P. gibertii* (maracujá-de-veado) como porta-enxerto satisfatório para *P. edulis* f. *flavicarpa* (maracujá-amarelo).

Comparando o desempenho dos porta-enxertos *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. gibertii*, *P. alata*, *P. caerulea*, *P. cincinnata* e *P. foetida*, Lima et al. (1999) observaram que, à exceção de *P. foetida* e *P. gibertii*, as demais espécies mostraram-se promissoras como porta-enxertos para o maracujá-amarelo, embora com diferentes percentuais de pegamento, sobressaindo-se as espécies *P. cincinnata* (73%) e *P. caerulea* (74%) como as mais eficientes.

Pace (1984), testando quatro métodos de enxertia em maracujazeiro-amarelo, utilizando porta-enxerto de *P. caerulea* (maracujá-mirim), já instalado em local definitivo, concluiu que a garfagem lateral foi o melhor método, com 89,3% de pegamento, e que esse sistema de enxertia, com as plantas no local definitivo, foi tecnicamente viável. Stenzel & Carvalho (1992) avaliaram o comportamento do maracujá-amarelo, enxertado em maracujá-amarelo, *P. edulis* Sims (roxinho silvestre), *P. giberti* e *P. cincinnata*, observando compatibilidade entre aquele maracujá e os diversos porta-enxertos.

Oliveira (1987) & Yamashiro (1987) ressaltaram que o controle químico para doenças do sistema radicular, devido às características do agente causal, é pouco eficiente. No controle dessas doenças, esses autores recomendam o uso de mudas enxertadas em porta-enxertos resistentes. Carvalho (1974) recomendou a propagação por enxertia de clones de maracujazeiro devidamente comprovados como produtivos e com frutos de boa qualidade, garantindo-se a sanidade das plantas com o uso de porta-enxertos resistentes

a pragas e a doenças. Em estudos sobre enxertia, realizados com as espécies *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, *P. alata* e *P. giberti*, Baccarin (1988) constatou que a enxertia tipo inglês simples foi suficiente na propagação das espécies e *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* mostrou-se suscetível a doenças causadas por fungos de solo, enquanto *P. giberti* e *P. alata* foram resistentes.

Delanoe & Ullstrup (1991), na França, relataram que *Passiflora laurifolia* mostrou-se mais tolerante que *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* quando cultivada em isolados de *Fusarium solani*. Terblanche et al. (1987), na África, relataram que *P. caerulea* mostrou maior resistência à podridão-de-raízes causada por *Phytophthora* e podridão-do-colo causada por *Fusarium* do que as espécies *Passiflora edulis* e *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. Yamashiro & Landgraff (1979), na Bahia, observaram que *P. alata* mostrou-se resistente à murcha de *Fusarium* quando utilizado como porta-enxerto para *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. *P. alata* conferiu maior precocidade à copa, sem alterar a qualidade dos frutos, além de possibilitar a formação de pomares mais uniformes e produtivos mediante seleção fenotípica de matrizes. Posteriormente, Yamashiro & Cardoso (1982) constataram a ocorrência de murcha de *Fusarium* em *P. alata* no Estado de São Paulo.

Apesar de vários trabalhos de pesquisa mostrarem a enxertia como processo de propagação vegetativa que apresenta vantagens na manutenção de material com boa característica agrônômica, favorecendo a multiplicação de plantas produtivas e tolerantes/resistentes a insetos-praga e a doenças, contribuindo, assim, para estabelecimento de pomares tecnicamente superiores àqueles formados por meio de plantas oriundas de sementes, não houve avanços significativos até o momento com o emprego dessa técnica. Continua predominantemente sendo utilizada a propagação por via sexuada. Entretanto, desde a 1ª Reunião Técnica de Pesquisa em Maracujazeiro, realizada em 1997, em Cruz das Almas, BA, tem-se debatido sobre a importância da propagação vegetativa para a cultura. Esse método de propagação precisa ser alvo de mais trabalhos de pesquisa devido a sua importância nos trabalhos de melhoramento genético e, principalmente, no controle de doenças do sistema radicular.

## Nutrição e adubação

A baixa produtividade média nacional do maracujazeiro pode estar relacionada a vários fatores, entre eles, a prática inadequada da calagem e da adubação. Muitas vezes, a quantidade de fertilizante aplicada não atende às necessidades nutricionais da planta, pois o desconhecimento do solo cultivado e, principalmente, da exigência nutricional da planta leva a práticas de manejo inadequadas que afetam o crescimento e a produtividade do maracujazeiro.

### *Calagem*

A calagem tem como objetivo neutralizar o Al e/ou Mn trocáveis, fornecer Ca e Mg para as plantas e melhorar a atividade microbiana. Mediante essa prática, o pH do solo é levado a níveis adequados, proporcionando aumento na disponibilidade de N, P, K, S e Mo.

Sabe-se que o maracujazeiro é muito sensível à acidez e ao Al trocável; o pH do solo deve-se situar entre 5,5 e 6,5 e a saturação por Al inferior a 5%.

É importante o emprego do calcário dolomítico quando são aplicados com frequência adubos que não contêm Mg; recomenda-se uma relação Ca:Mg no solo em torno de 4:1.

O calcário deve ser aplicado a lanço em toda a área e incorporado pela gradagem, preferencialmente, dois a três meses antes do plantio.

Em solos com baixos teores em Ca ( $< 0,5 \text{ cmol}_c/\text{dm}^3$ ), nas camadas subsuperficiais, o uso do gesso agrícola ( $\text{CaSO}_4$ ) favorece o seu suprimento e o melhor desenvolvimento do sistema radicular em profundidade. O gesso não altera o pH do solo, porém, reduz o teor de alumínio (Al) no perfil, devido à formação de sulfato de alumínio [ $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ], além de fornecer Ca e S.

### *Adubação*

A resposta à adubação depende tanto das quantidades adequadas como também da localização e da época de aplicação do adubo, facilitando a absorção pela planta e evitando perdas.

## Viveiro

Para a produção de mudas, o substrato utilizado no enchimento dos sacos deve conter três partes de solo e duas de esterco de curral bem curtido e peneirado. Se o solo for muito argiloso, adicionar uma parte de areia lavada. Para cada metro cúbico dessa mistura, colocar 2 kg de calcário dolomítico, 1 kg de superfosfato simples e 0,5 kg de cloreto de potássio. Caso as mudas apresentem sintomas de deficiência de N, ou seja, se estiverem cloróticas, após o surgimento do segundo par de folhas verdadeiras, regá-las com solução de nitrocálcio a 5 g/L ou de sulfato de amônio a 2 a 3 g/L (Borges, 2002).

A utilização de micorrizas (*Gigaspora* e *Glomus*) tem sido uma prática na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo na região do Triângulo Mineiro, favorecendo o controle de doenças como a septoria e o maior desenvolvimento das mudas.

## Campo

### Orgânica

É uma prática importante para manter o solo produtivo, pois exerce efeitos benéficos sobre suas propriedades físicas, químicas e biológicas. As quantidades a serem aplicadas nas covas de plantio, principalmente, em solos arenosos e de baixa fertilidade, variam de acordo com os adubos disponíveis, ou seja, esterco de curral de 20 a 30 litros, esterco de galinha de 5 a 10 litros, torta de mamona de 5 a 10 litros, compostos e outros. Contudo, recomenda-se dar preferência ao esterco de curral em razão do maior volume utilizado. Recomenda-se, também, aplicar anualmente essa mesma quantidade de adubo orgânico em cobertura (Borges, 2002).

Acredita-se que, se forem aplicadas quantidades razoáveis de matéria orgânica na cultura, dificilmente, ocorrerá deficiência de algum micronutriente.

### Mineral - macronutrientes

**Nitrogênio (N):** As quantidades de N recomendadas para a cultura, em nível mundial, são muito variáveis, com amplitude de 20 a 733 kg/ha no plantio e no

primeiro ano de estabelecimento da cultura; 40 a 733 kg/ha no segundo e 50 a 733 kg/ha no terceiro ano. No Brasil, as recomendações variam de 40 a 200 kg/ha de N. Em solo de tabuleiro do Estado da Bahia, sob irrigação, maiores produtividades foram obtidas com 300 kg/ha de N. O nitrogênio deve ser parcelado no mínimo de três a quatro aplicações anuais, pois é um nutriente móvel no solo. No caso de aplicação via água de irrigação, recomenda-se a mesma quantidade via solo, porém, com maior parcelamento (quinzenalmente).

**Fósforo (P):** As quantidades de P recomendadas nas regiões produtoras, em nível mundial, variam de 20 a 400 kg/ha de  $P_2O_5$  no plantio e no primeiro ano de estabelecimento, 20 a 367 kg/ha no segundo e 30 a 367 kg/ha de  $P_2O_5$  no terceiro ano. No Brasil, dependendo do teor encontrado no solo, as quantidades variam de 0 a 160 kg/ha de  $P_2O_5$ . Em solo de tabuleiro do Estado da Bahia, sob irrigação, produtividades maiores foram obtidas com 80 kg/ha de  $P_2O_5$ . O fósforo deve ser aplicado na cova de plantio e repetido anualmente no período da floração.

**Potássio (K):** As doses de K recomendadas nas regiões produtoras, em nível mundial, variam de 48 a 1466 kg/ha de  $K_2O$  no plantio e no primeiro ano de estabelecimento e de 50 a 1466 kg/ha de  $K_2O$  no segundo e terceiro anos. No Brasil, essas doses oscilam de 0 a 420 kg/ha de  $K_2O$ , dependendo do teor do nutriente no solo. Em solo de tabuleiro do Estado da Bahia, sob irrigação, maiores produtividades foram obtidas com a adição de 300 kg/ha de  $K_2O$ . O potássio deve ser parcelado no mínimo de três a quatro aplicações, sendo uma no período da floração. No caso da adubação via água de irrigação, considerar as mesmas quantidades via solo, aplicadas quinzenalmente. É importante a relação N:K que deve ser de 1:1 até a floração, 1:2 até o início da colheita e 1:3 até o final da colheita, uma vez que o incremento do teor de K aumenta a resistência do fruto às doenças e ao transporte.

**Cálcio (Ca):** Em razão da exigência da planta em Ca e objetivando elevar o pH do solo na cova, tornando o ambiente menos favorável ao fungo *Fusarium*, recomenda-se, se o teor de  $Mg^{++}$  no solo estiver inferior a 0,9 cmolc/dm<sup>3</sup>, utilizar o calcário dolomítico que contém Ca e Mg. E, além do calcário

aplicado em toda a área, deve-se aplicar ainda 300 g de calcário dolomítico na cova de plantio, se o solo apresentar pH em água inferior a 6,0.

**Enxofre (S):** O fornecimento de enxofre (S) às plantas é feito por meio das adubações nitrogenadas e fosfatadas, principalmente, do sulfato de amônio e superfosfato simples. Sabe-se que, em relação à quantidade total de macronutrientes absorvida pela planta inteira, somente 4,2% correspondem ao S; no entanto, 16% da quantidade absorvida de S é extraída pelos frutos.

### Mineral – micronutrientes

A adubação do maracujazeiro com micronutrientes tem sido pouco estudada. Contudo, recomenda-se, no plantio, colocar 50 g de FTE BR12 por cova ou 20 g sulfato de zinco e 10 g de bórax por cova.

### ***Localização do adubo***

Nos pomares em formação, colocar os adubos a uma distância de 10 cm do tronco da planta, ao redor deste, em uma faixa de aproximadamente 20 cm de largura, aumentando gradativamente essa distância em relação ao tronco com a idade do pomar. Em pomares adultos, recomenda-se aplicá-los em uma faixa de 2 m de comprimento por 1 m de largura em ambos os lados das plantas, 20 a 30 cm a partir do tronco.

### ***Análise foliar***

A análise foliar é utilizada para determinar deficiências e/ou toxidez de nutrientes, pois as folhas são os órgãos da planta em que ocorre maior atividade química.

### ***Amostragem***

Somente folhas sadias devem ser coletadas. Por sua vez, não se devem misturar folhas com sintomas de deficiência com folhas de desenvolvimento

normal. Cada amostra deve ser coletada em plantas da mesma espécie, com a mesma idade e que representem a média da planta (Comissão..., 1989), antes da aplicação de qualquer produto para evitar contaminações.

Amostrar a folha recém-madura que tenha completado seu desenvolvimento, estando totalmente desenvolvida. Recomenda-se coletar a quarta ou quinta folha (inclusive o pecíolo) a partir da ponta, de ramos medianos produtivos de plantas vigorosas, sendo quatro folhas por planta, duas de cada lado (80 a 100 folhas/ha). Encaminhar as amostras em sacos de papel, o mais breve possível, para o laboratório de análise foliar mais próximo.

### *Preparo da amostra*

Após a coleta, as folhas devem ser lavadas com água corrente, evitando-se qualquer contaminação com produtos químicos. Posteriormente, as amostras devem ser acondicionadas em sacos de papel comum e encaminhadas para análise por via de transporte mais rápida.

Quando for necessário armazená-las por alguns dias, antes de encaminhá-las ao laboratório, mantê-las na parte baixa do refrigerador.

No que se refere às necessidades nutricionais, em geral, há carência acentuada de informações sobre a prática adequada de adubação e calagem, como a quantidade, a época, a fonte e o modo de aplicação dos fertilizantes.

De modo geral, é adotado o mesmo esquema de adubação para condições edafoclimáticas diferentes, acarretando prejuízos econômicos para o produtor.

Geralmente, as quantidades de fertilizantes aplicadas não atendem às necessidades nutricionais da planta. O desconhecimento do solo cultivado e, sobretudo, da exigência nutricional da planta leva a práticas de manejo inadequadas que afetam o crescimento e a produção do maracujazeiro.

Vale lembrar que o sucesso da adubação depende tanto da quantidade aplicada, quanto da época e localização do calcário e dos fertilizantes. Além disso, a aplicação dos adubos deve ocorrer em períodos de boa umidade do

solo. Recomenda-se, também, fazer análise química do solo anualmente, a fim de mantê-lo com níveis adequados de nutrientes.

Em relação às recomendações de adubação para o maracujazeiro, houve alguns avanços com a confecção de várias tabelas de adubação para os diversos estados brasileiros. Entretanto, é importante ressaltar a carência de trabalhos científicos nessa área. As recomendações encontradas na literatura são bastante variáveis. Quanto aos efeitos na qualidade dos frutos, também faltam informações mais precisas.

## **Irrigação**

Em regiões subúmidas e semi-áridas, onde há menor disponibilidade hídrica, a irrigação dos pomares é essencial para se garantir a produção. Em regiões onde os totais de precipitação são considerados razoáveis, como é o caso do Sudeste do Brasil, o emprego da irrigação pode viabilizar a produção na entressafra. Naquela região, no período de setembro a dezembro, quando ocorrem períodos de deficit hídrico antes da estação chuvosa, e os preços são mais compensadores, o produtor pode antecipar a produção com o uso da irrigação, colocando frutos no mercado ainda na entressafra.

O método mais comumente usado para irrigar pomares de maracujá tem sido a irrigação localizada, representada pelos sistemas de gotejamento e microaspersão que amplia a área molhada de solo comparada ao gotejamento, permitindo maior expansão do sistema radicular. Na microaspersão, a água é aspergida na atmosfera e, à semelhança do método da aspersão, pode levar à formação de um microclima próximo às plantas favorável ao surgimento de doenças, como a murcha e a podridão-do-pé.

O sistema de irrigação por gotejamento vem tendo ampla aceitação entre os produtores de maracujá, pois proporciona condições de umidade e aeração do solo que estimulam o pleno desenvolvimento das plantas e a produção da cultura. Adicionalmente, o gotejamento tem a vantagem de não contribuir para a formação de um microclima úmido transitório no interior da cultura, visto que não molha a parte aérea das plantas, reduzindo assim os riscos de incidência de doenças.

A distribuição mais comum do sistema de gotejamento no campo é o uso de uma linha lateral disposta ao longo das fileiras de plantas, com dois gotejadores por planta, mantidos a uma distância da planta que varia de 20 cm em solos arenosos a 40 cm em solos argilosos.

Pode-se usar tanto o sistema de gotejamento superficial quanto o subsuperficial ou enterrado. Em caso de se optar por esse último e devido à característica do maracujazeiro de apresentar um sistema radicular superficial (inferior a 50 cm), recomenda-se instalar as linhas de gotejadores em profundidades variando de 20 cm, em solo arenoso, a 25 cm, em solo argiloso. Ainda no gotejamento enterrado, o plantio na época chuvosa facilita o desenvolvimento das raízes que alcançarão profundidade suficiente para garantir absorção de água do volume molhado nos períodos secos subsequentes.

### ***Requerimento de água***

O maracujazeiro encontra condições ideais para seu desenvolvimento em regiões com precipitações pluviais de 800 a 1750 mm, distribuídas regularmente durante o ano. Produtividades em torno de 40  $\text{tha}^{-1}$ , para a cultura irrigada por gotejamento, foram encontradas por Martins et al. (1998) para uma lâmina d'água total (chuva + irrigação) variando de 1300 a 1470 mm, sendo 826 mm desse total contribuição das chuvas.

O teor de água no solo é um dos fatores que mais influenciam o florescimento da cultura do maracujá (Vasconcellos & Cereda, 1994). A falta de umidade no solo provoca a queda das folhas e dos frutos, principalmente, no início de seu desenvolvimento. Se formados, os frutos podem crescer com enrugamento, prejudicando a qualidade da produção (Manica, 1981 & Ruggiero et al., 1996).

A escassez de água no solo afeta a hidratação dos tecidos da planta e, sob condições de estresse hídrico, formam-se ramos menores, com menor número de nós e comprimento de internós, refletindo conseqüentemente no número de botões florais e flores abertas (Manzel et al., 1986).

Proporcionalmente, o estresse hídrico prejudica mais o desenvolvimento de brotos florais do que a perda de flores ou frutos por queda prematura.

## ***Manejo da irrigação***

Uma vez estabelecido o pomar e o sistema de irrigação escolhido, define-se o conjunto de procedimentos que auxiliará o agricultor a decidir sobre quando irrigar e a quantidade de água a aplicar. É o manejo da irrigação. No Brasil, geralmente, água e área não são fatores limitantes à produção. Qualquer que seja a situação, no entanto, o melhor método de programação da irrigação, do ponto de vista do produtor, é aquele que proporciona os maiores lucros.

A irrigação pode ser programada com base em experiências passadas e em um conhecimento de práticas já comprovadamente capazes de proporcionar bons rendimentos às culturas. Tanques de evaporação têm sido usados como guias para determinação da lâmina de irrigação e frequência de aplicação. Em outros casos, a estimativa das necessidades hídricas das plantas é feita com base nas variáveis meteorológicas e no monitoramento do estado da água no solo.

Apesar dos avanços obtidos na área de irrigação, é preciso, ainda, progredir nas pesquisas para determinar o manejo adequado, necessidades hídricas, tensão ótima de umidade do solo e lâmina de irrigação.

## **Manejo da cultura**

### ***Condução***

Por se tratar de uma planta trepadeira, o maracujazeiro necessita de suporte para proporcionar uma boa distribuição dos ramos e garantir maior produção de frutos. Os sistemas mais utilizados são latada ou caramanchão e espaldeira vertical.

## *Latada ou caramanchão*

Sua utilização é preferida no estabelecimento de plantios em chácaras e quintais, tendo a vantagem de proporcionar maior produtividade; contudo, apresenta custo elevado e possibilita a ocorrência de doenças, devido à formação de massa vegetativa muito densa (Figura 1).

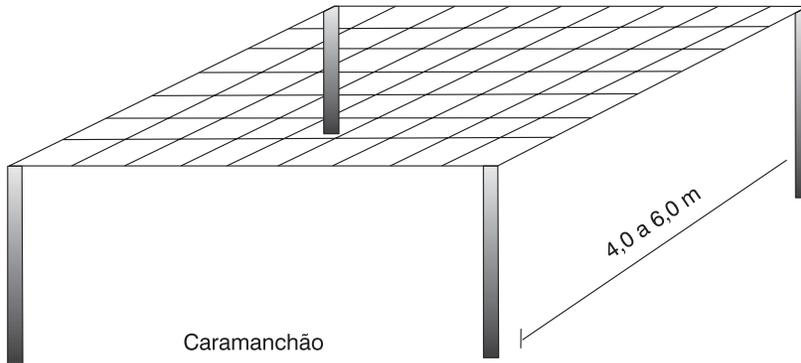


Figura 1. Esquema de tipo de condução.

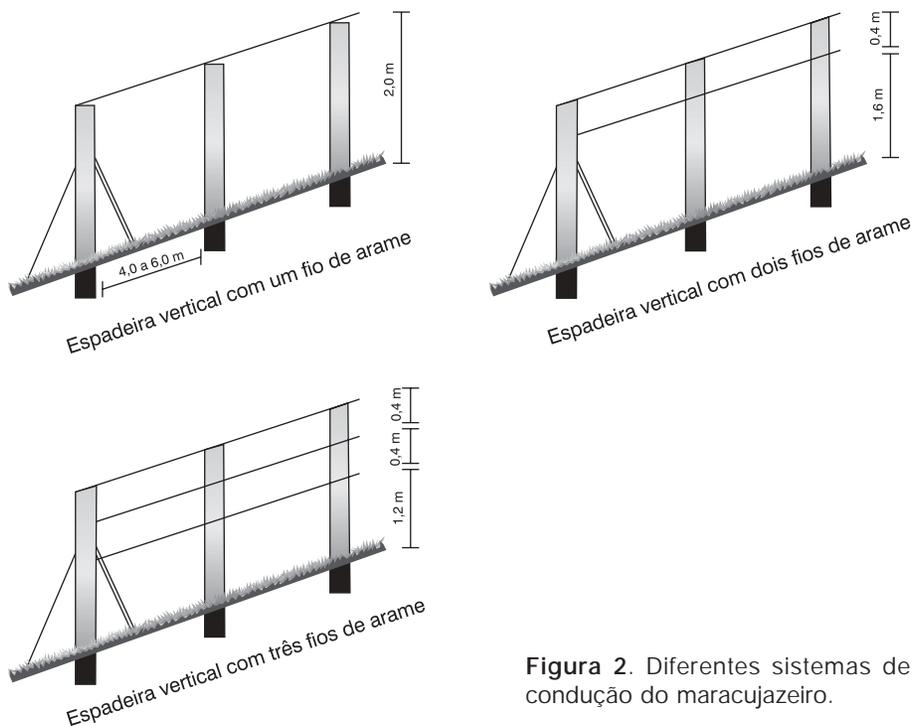
## *Espaldeira vertical*

A espaldeira vertical ou cerca pode ser feita com mourões e estacas com 2,5 m de comprimento, espaçados de 4 m a 6 m com um, dois ou três fios de arame liso número 12, sendo que o superior deve ficar a 2,0 m do solo e os demais espaçados entre si de 0,40 m (Figura 2). Para que os postes fiquem firmes e possam suportar todo o peso da massa vegetativa, devem ser enterrados na profundidade de 0,50 m.

Geralmente, tem-se utilizado a espaldeira com um fio de arame por ser mais econômico e funcional, à exceção de regiões de ventos fortes onde o uso de dois fios é mais seguro.

Recomenda-se que o comprimento das linhas de cada talhão não ultrapasse 60 a 80 m, deixando-se um espaço de 3 a 4 m entre talhões para possibilitar a mobilização dentro do pomar. Os mourões devem ter extremidade superior em bisel para evitar infiltração de água e apodrecimento. Devem ser colocados nas extremidades e no centro da espaldeira, sendo que

os das extremidades necessitam receber uma escora complementar para maior resistência do suporte de sustentação.



**Figura 2.** Diferentes sistemas de condução do maracujazeiro.

## ***Poda***

Conhecendo-se o hábito de crescimento e frutificação do maracujazeiro, observa-se que os botões florais aparecem nos ramos em desenvolvimento e que em cada axila foliar existe, além da gavinha e da gema florífera, uma gema vegetativa. Desse modo, torna-se necessária a realização de poda de modo a possibilitar produções satisfatórias. Por sua vez, o intenso crescimento estabelece o excesso de massa vegetativa favorável ao desenvolvimento de pragas e doenças, além de aumentar o peso no sistema de sustentação da planta adotado pelo produtor.

A poda contribui para um bom estado sanitário da planta, permitindo a remoção de ramos doentes e improdutivos.

Cerca de 15 dias após o plantio, inicia-se a operação de poda de formação, eliminando-se todos os brotos laterais, deixando apenas o ramo mais vigoroso que será conduzido por um tutor até o fio de arame. Quando a planta ultrapassar o arame (cerca de 10 cm), deve-se eliminar o broto terminal (Figura 3A) para forçar a emissão de brotos laterais que serão conduzidos para os dois lados do arame (Figura 3B). Posteriormente, esses brotos deverão ser despontados (Figura 3C), a fim de forçar o desenvolvimento das gemas laterais que formarão os ramos produtivos. As ramificações que surgem dos dois ramos laterais em direção ao solo devem ficar livres (Figura 3D) para facilitar o arejamento e a penetração de luz, fatores muito importantes no processo produtivo e na diminuição do ataque de pragas e doenças. Para isso, torna-se necessária a eliminação das gavinhas que provocam o entrelaçamento das hastes e dos ramos produtivos.

No período da entressafra, deve ser feita uma poda de limpeza, retirando-se todos os ramos secos e/ou doentes, proporcionando melhor arejamento à folhagem e diminuição do risco de contaminação das novas brotações.

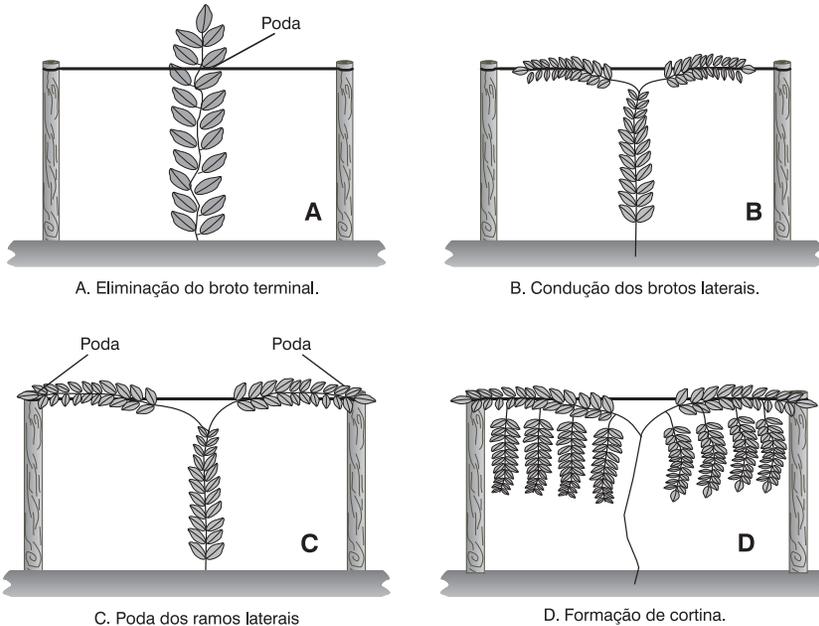


Figura 3A, B, C, D. Esquema de condução e poda de formação de maracujá em espaldeira com um fio de arame.

## *Poda de renovação*

Devido a diversos fatores que afetam a fisiologia da planta do maracujazeiro, a exemplo do movimento de fotoassimilados e de as relações fonte-dreno não estarem devidamente estudadas, os resultados de trabalhos que tratam da poda de renovação são contraditórios (Cereda, 1994).

Por sua vez, em razão do crescimento contínuo e indeterminado do maracujazeiro, a poda de renovação é uma prática necessária. Assim, para que a poda de renovação obtenha sucesso, é necessário que:

- a) a planta esteja em início de atividade vegetativa;
- b) a planta esteja no início da brotação;
- c) o plantio tenha sido bem conduzido na estação anterior, com boas adubações e apresentar boa sanidade;
- d) a temperatura média esteja entre 20 °C e 25 °C, o que possibilita a translocação das auxinas que promoverão novas brotações; e
- e) o solo tenha água disponível para promover o crescimento.

## *Polinização e manejo da floração*

A polinização é um das fases mais importantes na produção de maracujá. Sabe-se que as características porcentagem de frutificação, tamanho do fruto, número de sementes e rendimento de suco estão correlacionadas, positivamente, com o número de grãos de pólen depositados no estigma durante a polinização. Assim, a produtividade do maracujazeiro está diretamente relacionada com a eficiência na polinização de suas flores. O maracujazeiro, geralmente, produz flores auto-incompatíveis, isto é, o pólen produzido em determinada flor não pode fecundá-la e nem fecundar as demais flores produzidas na mesma planta. Os agentes polinizadores que têm sido mais eficientes são as mamangavas e as abelhas do gênero *Xylocopa* que, em virtude de seu grande porte, ao visitarem a flor do maracujazeiro, encostam seu dorso nos estames onde estão os grãos de

pólen, fazendo a retirada deles e levando-os para o estigma, efetuando dessa maneira a polinização. Sendo assim, para obter altas produtividades, o produtor deve fazer interplântio de diferentes genótipos e manter os insetos polinizadores e/ou fazer a polinização manual. É de vital importância para o sucesso da polinização do maracujazeiro a preservação e o aumento da população de mamangavas, por meio da construção de abrigos, usando preferencialmente tocos secos de bambu e plantio de espécies que produzem flores atrativas, como hibisco (*Hibiscus* spp.), cariola (*Ipomoea purpurea*) e cássia (*Cassia* spp.). Se forem usados produtos químicos para o controle de pragas e doenças, estes deverão ser aplicados pela manhã, para não comprometer os agentes polinizadores naturais. A polinização feita pelo homem é mais eficiente do que aquela realizada por insetos, constatando-se pegamento de frutos de mais de 50%, e quando feita por insetos este é de 30%. Assim, o agricultor deve, com base no conhecimento de suas condições, optar ou não pela ajuda do homem nessa tarefa.

Uma forma de avaliar a necessidade de aumentar a população de mamangava e/ou a utilização de polinização manual dá-se mediante a observação do número de flores caídas. Sabendo-se que a flor do maracujá, após a abertura, fecha e cai, caso não seja fecundada, a queda acentuada de flores por planta pode refletir a necessidade do incremento da polinização. Outra maneira seria usar a seguinte técnica: 1) marcar três flores abertas por planta, em dia de sol, de modo a ter-se o total de 100 flores marcadas (em um conjunto de 34 plantas) em cada dois a três hectares; 2) contar o número de frutos (tamanho de uma azeitona) quatro dias após a marcação das flores; 40 a 50 frutos nas flores marcadas indicam a presença de mamangavas em número adequado, e menos de 30 frutos são considerados insuficientes para uma boa polinização (Lima et al., 2002).

Outros fatores como chuvas prolongadas, ventos frios e secos, temperaturas noturnas abaixo de 15 °C, ataques de pragas como o tripses, besouros e mosca-do-botão-floral, de doenças como a cladosporiose e podridão de *Rhizopus*, afetam significativamente o vingamento e a qualidade do fruto.

## *Como fazer a polinização manual*

A polinização manual deve ser realizada no período da tarde, haja vista que as flores do maracujazeiro-amarelo abrem-se no período que vai das 12h30min às 15h, permanecendo abertas até às 18h.

Definido o horário ideal para se fazer a polinização manual, o produtor deve tocar os dedos nas anteras até que fiquem impregnados com pólen (pó amarelo), tocando-os, em seguida, levemente nos três estigma de outra flor. Na seqüência, nessa mesma flor, o produtor deve tocar novamente as anteras para retirar mais pólen, evitando que esse novo pólen retirado toque no estigma da flor que o produziu. Nos locais onde as abelhas tiram todo o pólen, recomenda-se que, antes da abertura das flores, o produtor vá até o pomar, por volta das 12h, e abra os botões de ponta branca, retirando as anteras com os grãos de pólen e colocando-as dentro de uma vasilha. Em seguida, deve mantê-las em local sombreado até a hora em que as flores estiverem aptas para serem polinizadas. O pólen coletado tem de ser usado no mesmo dia.

É importante saber também que o maracujazeiro necessita de pelo menos 11 horas de luz diária para emitir flores. Mesmo que a temperatura diurna seja alta no momento da polinização, se ocorrerem temperaturas noturnas inferiores a 15 °C, a taxa de vingamento será muito baixa ou simplesmente não haverá fecundação (Lima et al., 2002).

## *Manejo de plantas infestantes*

A competição com plantas infestantes é um dos fatores que afetam a produtividade dos cultivos no Brasil, ocasionando diminuição no rendimento e aumento do custo de produção.

As plantas infestantes quando crescem juntamente com a cultura interferem no seu desenvolvimento, reduzindo-lhe a produção; competem pela extração dos elementos vitais: água, luz, CO<sub>2</sub> e nutrientes e exercem inibição química sobre o desenvolvimento das plantas, fenômeno conhecido como alelopatia.

Essas plantas, consideradas nocivas, também precisam ser vistas como importantes fontes de matéria orgânica e nutrientes na reciclagem; como abrigo, na sua rizosfera, para microrganismos benéficos; como modificadoras do microclima, tanto em culturas anuais como perenes; como fonte de flores e, conseqüentemente, de pólen e néctar para inimigos naturais de importantes pragas; como fonte de insetos neutros; como barreiras físicas para insetos prejudiciais; como alteradoras das condições de colonização; como produtoras de substâncias químicas ligadas à atração-repulsão de insetos; como fonte de alimentos para o homem; como fonte para obtenção de medicamentos; como importante base de diversidade genética (Lima et al., 2004).

### *Métodos de controle de plantas infestantes*

O controle de plantas infestantes nos pomares de maracujá pode ser realizado por diversos métodos, levando-se em consideração fatores de natureza técnica, econômica, cultural e ecológica (Durigan, 2003).

#### Capina com enxada

É uma operação utilizada principalmente por pequenos produtores. Entretanto, esse método demanda muita mão-de-obra, é de baixo rendimento e tem duração muito curta, pois as plantas infestantes restabelecem-se rapidamente; pode, além disso, afetar o sistema radicular superficial das plantas. A necessidade de muitas capinas, em locais onde ocorrem espécies de plantas infestantes com reprodução vegetativa, torna a capina com enxada uma operação economicamente viável somente para pequenas plantações.

#### Roçadeira

O controle por meio de capinas manuais ou controle químico nas linhas de plantio e entre as linhas com o uso de roçadeira geralmente é utilizado em áreas declivosas e em períodos chuvosos. Essa prática tem baixo custo operacional em função de seu bom rendimento. No entanto, operações repetidas podem provocar a dispersão de sementes das plantas infestantes.

## Controle químico

O controle químico pela aplicação de herbicidas seletivos que eliminam as plantas infestantes, com as vantagens de redução do custo das operações e simplificação dos trabalhos, é uma alternativa viável, principalmente, em função da escassez de mão-de-obra em determinadas épocas do ano e da sua ação mais eficiente, rápida e prolongada.

Para o maracujazeiro, não existem, atualmente, produtos registrados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Entretanto, sob ponto de vista técnico, são indicados ingredientes ativos eficientes para o controle químico de plantas infestantes, tendo-se por base resultados de pesquisa. Em pré-emergência, são recomendados os herbicidas diuron, oxifluorfen e alachlor, e, em pós-emergência, glifosate e paraquat, devido a seus bons resultados. Contudo, somente deverão ser prescritos mediante autorização dos órgãos federais competentes, a exemplo do MAPA.

Na aplicação de herbicidas, deve-se evitar o seu contato com o maracujazeiro, fazendo-se as pulverizações com cuidado, sobretudo, nos dois primeiros meses após o plantio, período em que a planta atinge o fio de arame.

Em virtude de a ação dos herbicidas, de modo geral, estar limitada a determinada planta ou a grupo de plantas, é sugerido o uso de misturas e combinações programadas de herbicidas em pré-emergência e pós-emergência das plantas infestantes, procurando-se, dessa forma, aumentar o período e o espectro de ação do controle químico.

Ademais, à medida que o maracujazeiro vai se desenvolvendo, ocorre maior sombreamento dentro da linha de plantio, havendo, como consequência, menor competição com as plantas infestantes, diminuindo desse modo a necessidade de controles mais freqüentes, o que reduz os custos de produção. O controle é de grande importância nas faixas paralelas à linha de plantio durante a colheita, porque os frutos são apanhados no solo.

Nas regiões produtoras de maracujá, em todo o Brasil, o herbicida mais utilizado tem sido o glifosate, na concentração de 2,0 Lha<sup>-1</sup>.

## Leguminosas

O uso de leguminosas como adubo verde proporciona economia no controle de plantas infestantes, porquanto reduz a produção de sementes destas e, conseqüentemente, suas infestações, além de melhorar as condições físico-químicas do solo, contribuindo com o fornecimento de nutrientes. Entretanto, na literatura, não se dispõem de trabalhos sobre o uso de métodos integrados de controle de plantas infestantes na cultura do maracujazeiro. As poucas informações existentes são oriundas de observações empíricas, sem metodologia científica, portanto, sem embasamento técnico.

É de grande importância, conforme já mencionado, o conhecimento das plantas infestantes como promotoras da reprodução de inimigos naturais de insetos-praga e doenças do maracujazeiro, a par de sua relação com o equilíbrio do ecossistema e com a conservação do solo. Desse modo, um manejo adequado é de suma importância, de modo a contribuir com um sistema de produção integrado na manutenção de coberturas vegetais, evitando, assim, a o desprotegimento do solo e a exposição da cultura ao uso indiscriminado de produtos químicos convencionais.

## Insetos-praga

Diversas espécies de artrópodes encontram-se associadas à cultura do maracujazeiro. Somente algumas, contudo, são consideradas pragas, por seus efeitos na redução da produção, seja diretamente, pela destruição de tecidos vegetais (folhas, ramos, botões florais, flores e frutos) e desvalorização da qualidade do produto, seja indiretamente, pela transmissão de doenças. Entretanto, a importância desses insetos-praga pode variar de região para região, época do ano (condições climáticas) e manejo da cultura (Fancelli & Lima, 2002).

### ***Insetos-praga de maior importância***

**Lagartas** - *Dione junio junio* e *Agraulis vanillae vanillae*.

**Percevejos** - *Diactor bilineatus*, *Holhymenia clavigera*, *Leptoglossus gonagra*.

**Broca-da-haste** - *Philonis passiflorae*, *P. obesus*.

**Moscas-das-frutas** - *Anastrepha* spp., *Ceratitis capitata*.

**Moscas-do-botão-floral** - *Protearomyia* sp., *Neosilba pendula*, *Dasiops* sp.

**Ácaro plano** - *Brevipalpus phoenicis*.

## Doenças

Nos últimos anos, a área cultivada com maracujá no Brasil aumentou consideravelmente, sem que cuidados estritamente necessários fossem observados. Tal comportamento tem propiciado o aumento de problemas fitossanitários, a ponto de reduzir o tempo de exploração econômica da cultura, podendo até mesmo inviabilizar seu cultivo em determinadas regiões. Essa situação é ainda mais grave quando se considera que um dos maiores problemas encontrados atualmente refere-se ao número limitado de produtos fitossanitários registrados pelo MAPA para o controle de doenças da cultura (Santos Filho & Laranjeira, 2004).

### *Doenças causadas por fungos*

#### *Doenças que ocorrem na parte aérea*

**Antracnose** - *Colletotrichum gloeosporioides*.

**Verrugose** - *Cladosporium herbarum*.

**Septoriose** - *Septoria passiflorae*.

#### *Doenças que ocorrem no sistema radicular*

**Murcha ou Fusariose** - *Fusarium oxysporum* f. sp. *Passiflorae*.

**Podridão-do-colo** - *Phytophthora cinnamomi*.

### *Doenças causadas por bactérias*

**Bacteriose** - *Xanthomonas campestris* pv. *Passiflorae*.

## *Doenças causadas por vírus*

### **Endurecimento dos frutos**

Pinta verde / Definhamento precoce

### **Colheita**

Os frutos de maracujá-amarelo têm a característica de caírem ao chão quando completamente maduros, desse modo, o ponto de colheita é determinado pela coleta deles no chão. Antes da colheita, recomenda-se efetuar uma passagem entre as filas e derrubar os frutos maduros que não caíram ou que estejam presos entre os ramos das plantas.

Depois da colheita, os frutos perdem peso rapidamente à medida que permanecem no chão; ficam murchos, sujeitos ao apodrecimento, principalmente, no período chuvoso. Desse modo, devem ser comercializados ou armazenados, imediatamente, para que não haja prejuízo em sua qualidade. O produtor deve fazer a coleta dos frutos em intervalos semanais ou duas a três vezes por semana.

Quanto aos frutos destinados ao mercado de frutas frescas, a colheita pode ser feita no chão ou quando os frutos ainda estiverem na planta. Estes não devem estar totalmente maduros, pois desse modo, sua durabilidade e aparência serão melhores para a comercialização. Sabe-se, entretanto, que o suco da fruta completamente madura é superior ao de frutas que ainda não estão totalmente maduras, ainda que deixadas amadurecer fora da planta.

Para uma comercialização mais eficiente dos frutos destinados ao mercado de frutas frescas, a conservação destes em bom estado por um período mais longo é de fundamental importância, trazendo benefícios para toda cadeia de produção. Assim, após a colheita, os frutos devem ser levados para um local apropriado, em seguida, lavados, secados, classificados e embalados conforme os padrões estabelecidos pelo Programa Brasileiro para Melhoria dos Padrões Comerciais e Embalagens de Hortigranjeiros (Ceagesp, 2001).

A classificação é feita com o objetivo de separar o fruto por cor, tamanho, formato e qualidade. Os frutos destinados ao processamento industrial não requerem essa classificação. Nesse caso, são comercializados a granel ou em embalagens de náilon, tipo rede.

## ***Manejo pós-colheita***

Geralmente, no Brasil, os critérios utilizados para o manejo pós-colheita do maracujazeiro são os seguintes: os frutos devem ser selecionados, preparados e lavados no máximo 12 horas depois de trazidos do campo. Na seleção, devem ser descartados frutos com qualquer tipo de lesão mecânica, murchos, sem pedúnculo, imaturos e com sintomas de ataques de pragas e/ou doenças. Os restos florais devem ser eliminados e o pedúnculo aparado para 0,5 cm. A lavagem deve ser feita com detergente e água clorada (100 ppm de cloro livre) (Ruggiero et al., 1996).

## ***Controle da maturação***

Apesar de vários estudos indicarem que maracujás-amarelos, colhidos 50, 60 e 70 dias após a antese, apresentam aumento respiratório e de produção de etileno do tipo climatérico, com aplicação ou sem a aplicação de etileno, trabalhos desenvolvidos no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) apontam que, uma vez colhidos, pouca ou nenhuma alteração é observada nos teores de acidez e açúcares dos frutos, mesmo quando submetidos à maturação controlada ou climatização (aplicação de etileno exógeno) (Pocasangre et al., 1995). Frutos de maracujás-amarelos colhidos aos 39, 43, 46, 53, 57, 60 e 63 dias após a antese foram submetidos a três aplicações de 0,1% de etileno (Ethil-5) às 0, 12 e 36 horas após a colheita, em câmara de climatização a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e 90% a 95% de umidade relativa. Em avaliações periódicas, realizadas durante nove dias após o término do período de aplicação do etileno, nenhuma diferença significativa ( $P=0,05$ ) foi verificada, em comparação com o controle (frutos que não receberam etileno), quanto aos valores de pH, acidez, sólidos solúveis totais – SST e coloração da casca e da polpa, independentemente da idade fisiológica dos frutos. Todavia,

quanto mais adiantada a idade, mais altos os valores de pH e SST e quanto mais baixa a acidez, é mais intensa a cor amarelada da casca e alaranjada da polpa (Pocasangre et al., 1995).

Por sua vez, o maracujá-roxo responde intensamente à aplicação de etileno exógeno. Concentrações da ordem de apenas 0,01%, aplicadas por um período de 1 a 2 dias, em frutos que começam a apresentar a coloração roxa, são suficientes para acelerar seu amadurecimento. Entretanto, uma vez iniciado esse processo, o tratamento com etileno é desnecessário, porque os próprios frutos produzem níveis muito elevados desse gás, capazes de promover seu rápido amadurecimento e senescência.

Portanto, para a exportação de maracujás-roxos, somente se recomenda a maturação controlada ou a climatização dos frutos quando houver desuniformidade da matéria-prima quanto à coloração da casca e da polpa, teor de sólidos solúveis (°Brix), acidez, e o meio de transporte a ser utilizado para o embarque for o aéreo.

O ideal é que se aplique o etileno em câmaras apropriadas a essa finalidade e que os seguintes fatores sejam observados:

- Concentração do etileno: como geralmente as câmaras de maturação não possuem vedação adequada, recomenda-se que se injete dez vezes mais etileno do que o suficiente para promover o rápido amadurecimento dos frutos, ou seja, 0,1% a cada aplicação;
- Aplicação do etileno: às 0, 12 e 36 (opcional) horas da colocação dos frutos na câmara;
- Renovação do ar da câmara antes de cada aplicação de etileno, porque os próprios frutos produzem altas concentrações de gás carbônico (CO<sub>2</sub>) que exercem um efeito contrário ao do etileno e impedem sua ação;
- Temperatura: 25 °C;
- Umidade relativa: 90% a 95%;
- Circulação de ar: deve ser suficiente para que os diferentes pontos da câmara estejam na mesma temperatura, umidade relativa e concentração de etileno.

## Proteção contra perda de água

A principal causa da perda de qualidade e da deterioração de maracujás é a facilidade com que perdem água, ocasionando seu rápido murchamento.

Os dois métodos mais simples para se retardar a transpiração excessiva, após a colheita, consistem em: (1) coletar os frutos do pé e não do chão, cortando o pedúnculo a uma distância de 1 a 2 cm de sua inserção no fruto; e (2) evitar a exposição dos frutos a movimentos de ar muito intensos após serem colhidos.

Portanto, em galpões de embalagem, os frutos devem ser colocados distantes de portas e janelas, especialmente, em dias de muito vento. As correntes de ar que se formam no interior desses galpões facilitam a transpiração e, em questão de horas, desencadeiam o processo de murchamento.

Durante o transporte para a comercialização dos maracujás, a carga deve estar coberta com lona para evitar a exposição dos frutos ao ar em grande movimento.

Da mesma forma, quando se utilizam câmaras de refrigeração para o armazenamento, a circulação de ar deve ser suficiente somente para a retirada do calor vital (produzido no processo de respiração dos frutos), ou seja, adequada para mantê-los na temperatura desejada. Câmaras com velocidade de ar muito intensa, como as usadas para o resfriamento rápido (pré-resfriamento), devem ser evitadas durante o armazenamento dos frutos, mesmo que a umidade relativa seja elevada.

A lavagem dos frutos é outra prática de manuseio pós-colheita que contribui para a aceleração do murchamento. Nesse processo, a camada de cera natural é facilmente removida, fazendo com que os frutos fiquem desprovidos de sua proteção natural contra a perda de água.

Diferentemente da coleta dos frutos do chão, a colheita com tesouras contribui para que a operação de lavagem seja suprimida. Entretanto, quando

a colheita é realizada após períodos de chuva, observa-se que folhas do próprio maracujazeiro vêm fortemente aderidas aos frutos. A sua remoção só é possível por meio da lavagem. Recomenda-se que essa operação seja realizada, com o máximo cuidado, evitando-se esfregar os frutos para que as folhas se soltem.

Mesmo com todas essas precauções, o murchamento é inevitável. Assim, tem sido avaliada a prática de aplicação de emulsões ou ceras em maracujás, como tratamento de proteção contra a perda de água excessiva. Com o desenvolvimento de novas formulações desses produtos, algumas específicas para frutas, sua utilização comercial tem se tornado comum não somente para as frutas destinadas à exportação como também para o mercado interno.

Emulsões à base de parafina e mistura desta com emulsão de carnaúba aniônica, ambas de fácil aplicação, mantiveram maracujás-amarelos por 21 dias à temperatura ambiente, sem sintomas visíveis de murchamento. Essas mesmas ceras, quando associadas à refrigeração, conservaram os maracujás por 21 dias a 10 °C e por mais cinco dias à temperatura ambiente (26 dias no total), com pouco enrugamento (Mota, 1999).

O uso de filmes plásticos flexíveis, também para proteger contra a perda de água, tem sido constantemente estudado. Embalagens de polietileno de baixa densidade, com espessura de 20 a 50 micra, associadas à refrigeração, parecem ser as mais recomendadas, permitindo conservar os frutos por até 40 dias (Mota, 1999).

A utilização de envoltórios plásticos tem a desvantagem de dificultar o resfriamento dos frutos à temperatura próxima a de armazenamento, antes de serem colocados dentro das embalagens. Caso contrário, ocorre condensação de umidade no interior da embalagem quando os frutos forem colocados na câmara de refrigeração. A presença de gotículas de água na face interna do filme flexível pode favorecer o desenvolvimento de microrganismos nos frutos e impedir sua visualização. Mesmo em filmes flexíveis que eliminam a condensação visível, a alta umidade no interior das embalagens favorece o aparecimento de doenças. Como o pré-resfriamento

de maracujás tem sido pouco estudado e não há dados consistentes sobre o assunto, a utilização de filmes flexíveis torna-se difícil quando se manuseia grandes volumes de frutos.

## Desafios da pesquisa

Os desafios da pesquisa devem ter soluções interdisciplinares e interinstitucionais, envolvendo diferentes áreas do conhecimento, destacando-se:

1. **Melhoramento e recursos genéticos:** intensificação de estudos dirigidos à seleção de variedades definidas de maracujazeiros-amarelo, roxo e doce, incluindo a criação de híbridos adaptados a diferentes agroecossistemas, resistentes/tolerantes às principais doenças e insetos-praga, com elevada produtividade e destacada qualidade de frutos. Incluem-se aqui estudos na área de biologia molecular, objetivando a caracterização da variabilidade genética disponível. Nesse sentido, cabe ressaltar a preocupação com os recursos genéticos que devem ser priorizados no tocante a sua preservação, caracterização e avaliação.
2. **Fitossanidade:** manejo integrado e monitoramento sistemático de insetos-praga, assim como manejo integrado de doenças que ocorrem tanto na parte aérea como no sistema radicular, causadas por fungos, bactérias e vírus. Nesse contexto, ênfase deve ser dada a ações interdisciplinares e interinstitucionais, envolvendo particularmente as áreas de fitossanidade e melhoramento genético, visando ao desenvolvimento de variedades resistentes a tais agentes bióticos.
3. **Plantas infestantes:** devem ser estimulados estudos baseados em manejo integrado, visando ao entendimento das interações existentes em um dado agroecossistema, de modo a diminuir a dependência e o uso indiscriminado de produtos químicos convencionais empregados no controle de tais plantas.
4. **Solos e nutrição de plantas:** pesquisas relacionadas a recomendações de adubação e calagem devem ser intensificadas, visando responder às

indagações do produtor, incluindo quantidades, épocas, fontes e modo de aplicação de nutrientes, bem como dos efeitos da nutrição na qualidade dos frutos.

5. **Irrigação:** são demandados estudos envolvendo necessidades hídricas, tensão ótima de umidade no solo e lâminas ideais de irrigação, em conformidade com o estágio de desenvolvimento das plantas e com as condições edafoclimáticas locais.
6. **Manejo e tratos culturais:** intensificação de pesquisas relacionadas à propagação vegetativa, condução da planta, podas, polinização e plantios consorciados.
7. **Economia:** realização de estudos sobre tendências e potencialidade de mercados, em nível interno e externo, sazonalidade, fatores determinantes na formação de preços e estudos sobre a cadeia produtiva.

Tratando-se de uma fruteira cultivada predominantemente em pequenos pomares, em média de 1,0 a 4,0 ha, é de suma importância desenvolver estratégias de pesquisa relacionadas à realidade dos agricultores de base familiar, visando ao aumento da produtividade, com qualidade e custos de produção reduzidos.

## Conclusões

A produtividade média brasileira é uma das mais baixas, limitada a níveis entre 6 e 12 t/ha. Essa baixa produtividade é reflexo dos vários empecilhos/obstáculos fitotécnicos da cultura que caracterizam bem os desafios que os projetos de pesquisa dos próximos anos precisam contemplar e vencer, que vão desde o estabelecimento da cultura, passando pela inexistência de variedades melhoradas, falta de sementes selecionadas, ocorrência de doenças da parte aérea e do sistema radicular, incidência de insetos-praga e insuficiência de conhecimentos relativos ao manejo do solo e da água, até a colheita e comercialização.

A esperada mudança no atual quadro de baixa produtividade, entretanto, exige uma forte aplicação de recursos, materiais e humanos, em pesquisa, desenvolvimento e transferência de tecnologia, com a consequente adoção de técnicas já existentes e de outras passíveis de serem desenvolvidas, possibilitando que o agricultor alcance níveis de produtividade substancialmente mais elevados, de até 50,0 t de frutos/ha/ano.

## Referências bibliográficas

BACCARIN, M. N. R. A. **Cultura de tecidos e enxertia em *Passiflora* spp.** 1988. 101 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1988.

BORGES, A. L. Exigências nutricionais, calagem e adubação. In: LIMA, A. de A. (Ed). **Maracujá produção: aspectos técnicos.** Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2002. p. 34-40. (Frutas do Brasil, 15).

CARVALHO, A. M. de. Melhoramento cultural do maracujazeiro. In: SIMPÓSIO SOBRE A CULTURA DO MARACUJÁ, 7., 1974, Campinas. **Anais...** Campinas: SBF, 1974. p. 1-9.

CEREDA, E. Formação e condução da cultura e sistemas de poda. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.). **Maracujá: produção e mercado.** Vitória da Conquista: DFZ: UESB, 1994. p. 58-64.

COMISSÃO ESTADUAL DE FERTILIDADE DO SOLO. **Manual de adubação e calagem para o Estado da Bahia.** 2. ed. Salvador: CEPLAC: EMBRAPA, 1989. 176 p.

CEAGESP. **Classificação do maracujá (*Passiflora edulis* Sims).** Programa de adesão voluntária. São Paulo, 2001. Disponível em: <cqhor@uol.com.br>. Acesso em: 10 jul. 2005.

DELANOE, O.; ULLSTRUP, A. S. Etude de la résistance de passiflores de Guyane française vis-à-vis de *Fusarium* pathogènes de la cultura des fruitx de la passion (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.). **Fruits**, v. 46, n. 5, p. 53-600, 1991.

DURIGAN, J. Manejo de plantas daninhas na cultura do maracujá. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 6., 2003, Campos dos Goytacazes. **Resumos...** Campos dos Goytacazes: UENF/UFFFJ, 2003. 1 CD-ROM.

FANCELLI, M.; LIMA A. de A. Insetos-praga e seu controle. In: LIMA, A. de A. (Ed). **Maracujá produção: aspectos técnicos**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2002. p. 57-66. (Frutas do Brasil, 15).

FEICHTINGER JÚNIOR, W. **Enraizamento de diferentes tipos de estacas enfolhadas e maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) em câmara de nebulização**. 1985. 50 f. Monografia (Trabalho de graduação)- Universidade Estadual de São Paulo, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 1985.

LIMA, A. de A.; CALDAS, R. C.; CUNHA, M. A. P. da; SANTOS FILHO, H. P. Avaliação de porta-enxertos e tipos de enxertia para o maracujá amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 21, n. 3, p. 318-321, 1999.

LIMA, A. de A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; VERAS, M. C. M.; CUNHA, M. A. P. da. Tratos culturais. In: LIMA, A. de A. (Ed). **Maracujá produção: aspectos técnicos**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2002. p. 41-48. (Frutas do Brasil, 15).

LIMA, A. de A.; CARVALHO, J. E. B. de; BORGES, A. L. **Manejo de plantas infestantes na cultura do maracujá amarelo**. Cruz das Almas, 2004. Disponível em: <<http://www.cnpmf.embrapa.br>>. Acesso em: 01 set. 2005.

MANICA, I. **Fruticultura tropical: maracujá**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1981. 160 p.

MANZEL, C. M.; SIMPSON, D. R.; PRINCE, G. H. Effect of foliar applied nitrogen during winter on growth, nitrogen content and production of passionfruit. **Scientia Horticulturae**, v. 28, p. 339-346, 1986.

MARTINS, D. P.; CARVALHO JÚNIOR, A. C.; BERNARDO, S.; MONNERAT, P. H. Produtividade do maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims var. *flavicarpa* Deg.) em função das lâminas totais de água. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 27., 1998, Poços de Caldas. **Anais...** Poços de Caldas: SBEA, 1998. v. 2.

MELETTI, L. M. M.; FURLANI, P. R.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; AZEVEDO FILHO, J. A. de. Enraizamento de mini-estacas de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) em Hidroponia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2002, Belém. **Anais...** Belém: SBF, 2002. 1 CD-ROM.

MOTA, W. F. **Conservação pós-colheita do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) influenciada por ceras e filme plástico**. 1999. 58 f. Dissertação (Mestrado em pós-colheita)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1999.

OLIVEIRA, J. C. de. Melhoramento genético. In: RUGGUERO, C. (Ed.). **Maracujá**. Ribeirão Preto: UNESP: Legis Summa, 1987. p. 218-246.

OLIVEIRA, J. C. de; RUGGIERO, C.; NAKAMURA, K.; BAPTISTA, M. Comportamento de *Passiflora edulis* enxertado sobre *P. giberti* N.E. Brown. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 7., 1983, Florianópolis. **Anais...** Santa Catarina: SBF, 1984. p. 989-993.

PACE, C. A. M. Comparação de quatro métodos de enxertia para o maracujazeiro amarelo *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 7., 1983, Florianópolis. **Anais...** Santa Catarina: SBF, 1984. p. 983-988.

POCASANGRE, H.; FINGER, F.; BARROS, R.; PUSCHMAN, R. Development and ripening of yellow passion fruit. **Journal of Horticultural Science**, v. 70, n. 4, p. 573-576, 1995.

RUGGIERO, C.; SÃO JOSÉ, A. R.; VOLPE, C. A.; OLIVEIRA, J. C. de; DURIGAN, J. F.; BAUMGARTNER, J. G.; SILVA, J. R. da; NAKAMURA, K.; FERREIRA, M. E.; PEREIRA, V. P. **Maracujá para exportação**: aspectos técnicos da produção. Brasília, DF: EMBRAPA- SPI, 1996. 64 p. (EMBRAPA-SPI. Série Publicações Técnicas FRUPEX, 19).

RODRIGUES, R. C. M.; MARTINS, M. R.; AGUIAR, A. J. N.; RODRIGUES, K. M. L.; CARVALHO, G. L. Propagação vegetativa de maracujazeiro-do-mato (*Passiflora laurifolia* L.) submetida a diferentes substratos e tipo de estaca. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJÁ, 6., 2003, Campos dos Goytacazes. **Anais...** Campo dos Goytacazes: SBF, 2003. 1 CD-ROM.

RONCATTO, G.; NOGUEIRA FILHO, G. C.; RUGGIERO, C.; OLIVEIRA, J. C. de; MARTINS, A. B. G. Avaliação do comportamento de diferentes espécies de maracujazeiro (*Passiflora* spp.) propagadas por estaquia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2002, Belém. **Anais...** Belém: SBF, 2002. 1 CD-ROM.

SALOMÃO, L. C. C.; PEREIRA, W. E.; DUARTE, R. C. C.; SIQUEIRA, D. L. D. Propagação por estaquia dos maracujazeiros doce (*Passiflora alata* Dryand.) e amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa* Deg.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 163-167, abr. 2002.

SANTOS FILHO, H. P.; LARANJEIRA, F. F. Doenças do maracujazeiro. In: LIMA, A. de A.; CUNHA, M. A. P. da. (Ed.). **Maracujá**: produção e qualidade na passicultura. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 241-280.

STENZEL, N. M. C.; CARVALHO, S. L. C. de. Comportamento do maracujazeiro 'amarelo' (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) enxertado sobre diferentes porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 14, n. 3, p. 183-186, 1992.

TERBLANCHE, J. H.; BRECH, N.; FREAN, R.; CRABÉE, F.; JOUBERT, A. Good news for passion fruit industry. **Information Bulletin**, n. 164, p. 1-5, 1987.

VASCONCELLOS, M. A. S.; CEREDA, E. O cultivo do maracujá-doce. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.). **Maracujá: produção e mercado**. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 1994. p. 71-83.

YAMASHIRO, T.; LANDGRAFF, J. H. Maracujá-açú (*Passiflora alata* Ait) porta-enxerto resistente à fusariose do maracujá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 5., 1979, Pelotas. **Anais...** Pelotas: SBF, 1979, p. 918-921, v. 3.

YAMASHIRO, T.; CARDOSO, R. M. G. Ocorrência de murcha de *Fusarium* em maracujá-açú (*Passiflora alata* Ait) no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v. 8, n. 1/2, p. 57, 1982.

YAMASHIRO, T. Principais doenças do maracujazeiro amarelo no Brasil. In: RUGGUERO, C. (Ed.). **Maracujá**. Ribeirão Preto: UNESP: Legis Summa, 1987. p. 146-150.

## Organização



## Parceiros

*Embrapa Mandioca e Fruticultura*  
*Embrapa Amazônia Oriental*  
*Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia*  
*Embrapa Transferência de Tecnologia*



Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento



## Patrocinadores

