

**CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE
FRUTOS E VARIABILIDADE GENÉTICA DE
Passiflora nitida Kunth. POR MEIO DE RAPD**

KEIZE PEREIRA JUNQUEIRA

2006

KEIZE PEREIRA JUNQUEIRA

**CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE FRUTOS E
VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Passiflora nitida* Kunth. POR MEIO
DE RAPD**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para a obtenção do título de “Mestre”.

**Orientador
Prof. Dr. José Darlan Ramos**

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2006**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Junqueira, Keize Pereira

Características físico-químicas de frutos e variabilidade genética de *Passiflora nitida* Kunth. por meio de RAPD / Keize Pereira Junqueira. -- Lavras : UFLA, 2006.

114 p. : il.

Orientador: José Darlan Ramos.
Dissertação (Mestrado) – UFLA.
Bibliografia.

1. Maracujá-suspiro. 2. Variabilidade genética. 3. Características físico-químicas. 4. Marcadores moleculares. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-634.425

KEIZE PEREIRA JUNQUEIRA

**CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE FRUTOS E
VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Passiflora nitida* Kunth. POR MEIO
DE RAPD**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 11 de setembro de 2006.

Prof. Dr. Moacir Pasqual - UFLA

Pesq. Dr. Ângelo Abérico Alvarenga - EPAMIG

Prof. Dr. José Darlan Ramos
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

Aos meus pais, Nilton e Rozania, pelo incentivo e por todos os ensinamentos de vida.

Às minhas irmãs, Lívia e Tassiane, pelo carinho.

Ao Enrico, pelo amor e companheirismo.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Agricultura pela oportunidade de realização do mestrado.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Cerrados – CPAC), pela disponibilização de infra-estrutura para o desenvolvimento científico deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. José Darlan Ramos e ao Dr. Fábio Gelape Faleiro, pela orientação, pelo inestimável aprendizado, amizade e incentivo durante o curso.

Ao meu pai, Nilton Tadeu Vilela Junqueira, pelo incentivo e exemplo de profissionalismo e simplicidade.

Ao Msc. Marcelo Fideles Braga, pela amizade e atenção sempre concedida.

Ao Prof. Dr. Moacir Pasqual e Prof. Dr. Messias José B. de Andrade, pelo grande apoio durante todo o curso.

À Profa. Dra. Édila V. R. Von Pinho, pela amizade, pelo exemplo e pelos valiosos ensinamentos que muito colaboraram para meu crescimento humano e profissional.

Ao Prof. Dr. João Bosco dos Santos, pela paciência e pelo preciso aprendizado.

Aos amigos da pós-graduação: Flávia, Leila, Fabíola, Giovana, Adriana, Milene, Alysson, Everton e Flávio, pela amizade e apoio.

Aos grandes amigos Graciele, Erivanda, Mariana, Aliane, Leylanne, Cristiane, Luciana, Dalvilmar, Daniel, Carolina e Kênia, pela valiosa ajuda na execução dos experimentos.

À grande amiga Flávia, pela amizade incondicional, pelo carinho fraterno e por toda a ajuda.

A Marina, Giovana, Adriana, Karina e Everton, pela amizade eterna.

A Dinga, Tia Sandra e Sônia, pelo carinho materno.

Aos professores e funcionários da UFLA, pela amizade e colaboração.

Aos pesquisadores, laboratoristas e amigos da Embrapa Cerrados, que muito contribuíram para o meu crescimento profissional, científico e humano.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

| | Página |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| RESUMO GERAL..... | i |
| GENERAL ABSTRACT..... | iii |
| | |
| CAPITULO 1..... | 1 |
| 1 Introdução geral..... | 1 |
| 2 Referencial teórico..... | 4 |
| 2.1 Evolução da cultura e produção do maracujá no Brasil..... | 4 |
| 2.2 O gênero <i>Passiflora</i> | 5 |
| 2.3 Caracterização da espécie <i>Passiflora nitida</i> | 7 |
| 2.3.1 Aspectos botânicos e fisiológicos..... | 7 |
| 2.3.2 Áreas de ocorrência, ecologia e adaptação | 11 |
| 2.3.3 Resistência a doenças e pragas..... | 12 |
| 2.3.4 Uso de <i>Passiflora nitida</i> como porta-enxerto..... | 17 |
| 2.4 Espécies nativas no melhoramento do maracujá comercial..... | 19 |
| 2.4.1 Métodos de melhoramento em <i>Passiflora</i> | 19 |
| 2.4.2 Uso de marcadores moleculares em <i>Passiflora</i> | 21 |
| 3 Referências bibliográficas..... | 25 |
| | |
| CAPÍTULO 2: Análise comparativa de características físico-químicas de maracujá-suspiro, maracujá-doce e maracujá-azedo..... | 34 |
| Resumo..... | 34 |
| Abstract..... | 36 |
| 1 Introdução..... | 38 |
| 2 Material e métodos..... | 40 |
| 2.1 Localização geográfica e genótipo analisado | 40 |
| 2.2 Características físicas e químicas..... | 40 |
| 2.3 Teste de médias..... | 42 |
| 3 Resultados e discussão..... | 42 |
| 4 Conclusões..... | 53 |
| 5 Referências bibliográficas..... | 53 |
| | |
| CAPÍTULO 3: Variabilidade genética de acessos de maracujá-suspiro (<i>Passiflora nitida</i> Kunth.) com base em marcadores moleculares..... | 59 |
| Resumo..... | 59 |
| Abstract..... | 60 |
| 1 Introdução..... | 61 |
| 2 Material e métodos..... | 62 |
| 3 Resultados e discussão..... | 64 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4 Conclusões..... | 72 |
| 5 Referências bibliográficas..... | 73 |
| | |
| CAPÍTULO 4: Estudos preliminares sobre a origem genética de <i>Passiflora nitida</i> Kunth. "Manaus 2" com base em marcadores moleculares..... | 77 |
| Resumo..... | 77 |
| Abstract..... | 79 |
| 1 Introdução..... | 80 |
| 2 Material e métodos..... | 81 |
| 3 Resultados e discussão..... | 82 |
| 4 Conclusões..... | 89 |
| 5 Referências bibliográficas..... | 89 |
| | |
| CAPÍTULO 5: Obtenção de híbrido interespecífico de <i>Passiflora laurifolia</i> L. e <i>Passiflora nitida</i> Kunth..... | 91 |
| Resumo..... | 91 |
| Abstract..... | 93 |
| 1 Introdução..... | 96 |
| 2 Material e métodos..... | 97 |
| 3 Resultados e discussão..... | 97 |
| 4 Conclusões..... | 99 |
| 5 Referências bibliográficas..... | 100 |

RESUMO GERAL

JUNQUEIRA, Keize Pereira. **Características físico-químicas de frutos e variabilidade genética de *Passiflora nitida* Kunth. por meio de RAPD.** 2006. 102 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

O maracujá-suspiro (*Passiflora nitida* Kunth.) é uma espécie amplamente distribuída no território nacional, apresentando notáveis variações fenotípicas entre os acessos. Além disso, apresenta boas perspectivas para a utilização *per se* e no melhoramento do maracujazeiro comercial, tendo em vista sua resistência a diversas doenças destas culturas. Objetivou-se estudar as características físico-químicas de frutos, analisar a variabilidade genética de acessos de *P. nitida* por meio de RAPD e confirmar, por meio de marcadores moleculares, uma hibridação interespecífica envolvendo esta espécie. No experimento 1, analisaram-se as características físico-químicas de frutos de *P. nitida* e das espécies cultivadas *P. alata* Curtis e *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. Os dados foram comparados pelo teste de Tukey. No experimento 2, analisou-se a variabilidade genética de 17 acessos de *P. nitida* por meio de RAPD e, no experimento 3, realizaram-se estudos preliminares sobre a origem genética de uma *P. nitida* acesso “Manaus 2”, analisada juntamente com cinco espécies de maracujazeiro de ocorrência amazônica. No experimento 4, realizou-se a hibridação interespecífica entre *P. laurifolia* L. (genitor feminino) e *P. nitida* (genitor masculino), obtendo-se uma planta supostamente híbrida. Para os experimentos 2, 3 e 4, o DNA genômico de cada acesso foi extraído e *primers* decâmeros foram utilizados para a obtenção de marcadores moleculares RAPD. Para os experimentos 2 e 3, os marcadores foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os acessos e realizadas análises de agrupamento. Para o experimento 4, a confirmação da hibridação baseou-se na ocorrência de bandas informativas. Comparando-se as características de *P. nitida*, *P. alata* e *P. edulis* f. *flavicarpa*, no experimento 1, verificaram-se algumas peculiaridades de *P. nitida*, como a maior espessura de casca e valores intermediários de pH e acidez total titulável. Quanto ao experimento 2, menores distâncias genéticas foram verificadas entre os acessos de mesma origem geográfica. O acesso “Manaus 2” apresentou o maior distanciamento genético em relação aos demais e, segundo análise realizada no experimento 3, este material pode ser um híbrido interespecífico

* Comitê Orientador: Dr. José Darlan Ramos – DAG/UFLA (Orientador), Dr. Fábio Gelape Faleiro – Embrapa Cerrados (Co-orientador), Dr. Nilton Tadeu Vilela Junqueira – Embrapa Cerrados.

natural ou uma nova espécie. No entanto, não deve ser descartada a possibilidade desse acesso ser *P. nitida*. No experimento 4, confirmou-se o cruzamento entre *P. laurifolia* e *P. nitida*, sendo possível a utilização das mesmas em programas de melhoramento visando à melhoria de suas características morfo-agronômicas, além de possibilitar inferências acerca da evolução genética destas espécies.

GENERAL ABSTRACT

JUNQUEIRA, Keize Pereira. **Physical-chemical characteristics of fruits and genetic variability of *Passiflora nitida* Kunth. using RAPD markers.** 2006. 102 p. Dissertation (Master in Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.*

Sigh passion fruit (*Passiflora nitida* Kunth.) is an widely distributed species in the Brazilian territory, presenting remarkable phenotypic variations between the accesses. Moreover, it presents good perspectives for its own use and at the improvement of commercial passion fruit vine, in view of its resistance to several diseases of these cultures. In this way, it was objectified to study the physical-chemical characteristics of fruits; to analyze the genetic variability of accesses of *P. nitida* through RAPD; and to confirm interspecific hybridization involving this species, through molecular markers. In experiment 1, the physical-chemical characteristics of *P. nitida* fruits and cultivated species of *P. alata* Curtis and *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. were analyzed. The data have been compared by the Tukey's test. In experiment 2, the genetic variability of 17 accesses of *P. nitida* was analyzed through RAPD and, in experiment 3, preliminary studies on the genetic origin of *P. nitida* access "Manaus 2" have been fulfilled, and it was analyzed along with five species of passion fruit vine of Amazonian occurrence. In experiment 4, it was fulfilled the interspecific hybridization between *P. laurifolia* L. (feminine genitor) and *P. nitida* (masculine genitor), getting a supposedly hybrid plant. For experiments 2, 3 and 4, the genomic DNA of each origin was extracted and amplified using decamer primers to obtain RAPD molecular markers. For experiments 2 and 3, these markers were transformed in binary matrix data to estimate genetic distances among accessions and to perform cluster and graphical dispersion analysis. For experiment 4, the confirmation of hybridization was based on the occurrence of informative bands. Comparing the characteristics of *P. nitida*, *P. alata* and *P. edulis* f. *flavicarpa*, in experiment 1, some peculiarities of *P. nitida* have been verified, such as the bigger thickness of rind and intermediate values of pH and titratable total acidity. Regarding experiment 2, minor genetic distances have been verified between the accesses of the same geographic origin. The access "Manaus 2" presented the biggest genetic distance towards the others and, according to analysis carried through in experiment 3, this material can be a natural interspecific hybrid or a new species. However, the possibility of this

* Guidance Committee: Dr. José Darlan Ramos – DAG/UFLA (Advisor), Dr. Fábio Gelape Faleiro – Embrapa Cerrados (Co-advisor), Dr. Nilton Tadeu Vilela Junqueira – Embrapa Cerrados.

access to be *P. nitida* must not be discarded. In experiment 4, the crossing between *P. laurifolia* and *P. nitida* was confirmed, allowing their use in programs of improvement aiming at the improvement of their morpho-agronomic characteristics, besides making possible inferences concerning the genetic evolution of these species.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

Passiflora nitida Kunth. é uma espécie de maracujazeiro amplamente distribuída no território nacional. Acessos dessa espécie já foram coletados em estado silvestre nos estados do Amazonas, Pará, Piauí, Mato Grosso, Tocantins, Goiás, Bahia, Minas Gerais e Distrito Federal. No Cerrado, essa espécie pode ser facilmente encontrada em matas ciliares, veredas, cerradão, cerrado *stricto sensu* e até em matas secas. Trata-se de uma importante espécie da família *Passifloraceae*.

A família *Passifloraceae* é largamente distribuída nos trópicos e regiões temperadas quentes e é composta de mais de 500 espécies, das quais aproximadamente 130 ocorrem no Brasil (Bernacci et al., 2005) e podem ser utilizadas como alimento, remédios e ornamento. Cerca de 70 espécies produzem frutos comestíveis (Cunha et al., 2002).

O cultivo do maracujazeiro em escala comercial teve início no começo da década de 1970, com a espécie *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg., também conhecida como maracujá-amarelo ou maracujá-azedo. A espécie *P. alata* Curtis, o maracujá-doce, também vem sendo cultivada e comercializada como “fruto de mesa”, ou seja, para consumo *in natura*.

P. nitida pertence ao grupo dos maracujás-doces, sendo seus frutos muito apreciados pelas comunidades rurais para consumo *in natura*, confecção de doces e sucos. Em Manaus, AM, geralmente, os frutos de *P. nitida* são comercializados em feiras e sacolões, sendo conhecidos como maracujá-suspiro, maracujá-de-rato, maracujá-do-mato ou maracujá-de-cheiro. Possui características peculiares, com cor e sabor similares ao granadillo andino (*Passiflora ligularis* Juss.). Pode ser encontrada vegetando normalmente em

áreas úmidas sujeitas ao encharcamento, mas também ocorre em áreas muito secas.

Vários autores (Junqueira et al., 2005; Menezes et al., 1994; Oliveira et al., 1994b) relatam *P. nitida* como espécie rústica, tolerante a bacteriose, antracnose e a doenças causadas por patógenos do solo. Portanto, tem grande potencial para ser utilizada como porta-enxerto para a espécie comercial de *P. edulis* f. *flavicarpa*, conforme já relatado por Chaves et al. (2004) ou ser inserida em programas de melhoramento que incluam hibridação interespecífica.

Por ter muitas similaridades botânicas com maracujazeiro-doce (*P. alata*), acredita-se que seu potencial seja ainda maior como fonte de resistência para várias doenças dessa espécie, cujo cultivo, no Brasil, vem sendo limitado pela incidência severa da bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*), da podridão-do-pé (*Fusarium solani*), da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) e da virose do endurecimento do fruto (*Cowpea aphid-borne mosaic virus* – *CABMV*).

Entre os acessos de *P. nitida* mantidos na coleção de germoplasma da Embrapa Cerrados, pode-se observar grande variabilidade dos formatos e tamanho de frutos, espessura de casca, aroma, cor da casca e da polpa, sabor, bem como de produtividade e resistência a doenças. No entanto, pouco se conhece sobre essa espécie e sua variabilidade genética.

O estudo das principais características da espécie, incluindo aspectos físico-químicos dos frutos e da variabilidade genética existente entre acessos, permitirá a seleção de acessos promissores, que poderão ser utilizados *per se*, como frutos de mesa ou como fonte de resistência às doenças a ser incorporada a partir de cruzamentos convencionais ou como porta-enxertos para o maracujazeiro-azedo e doce.

Para o estudo da variabilidade genética, marcadores do DNA têm se tornado uma tecnologia muito atrativa e viável. Tais marcadores possuem as

vantagens de serem potencialmente ilimitados, independentes da idade ou órgãos da planta, não deletérios e livres de influência ambiental (Pereira et al., 2005). Marcadores do tipo RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), por constituírem uma metodologia mais simples e relativamente mais barata, têm sido intensamente utilizados para diferentes estudos genéticos de diversas cultivares, incluindo importantes trabalhos sobre a variabilidade genética do maracujazeiro (Faleiro et al., 2005; Pio Viana et al., 2003) e na identificação rápida de seleções interespecíficas provenientes ou não de cruzamentos controlados.

Objetivou-se conhecer as características físico-químicas de frutos e a variabilidade genética entre acessos de *P. nitida* utilizando marcadores moleculares RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), bem como obter um híbrido interespecífico de *Passiflora laurifolia* e *P. nitida* e confirmar a fecundação cruzada também utilizando-se marcadores moleculares.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Evolução da cultura e produção do maracujá no Brasil

Frutífera típica da região centro-norte do Brasil, até meados de 1960, o maracujá era cultivado apenas nos quintais das residências, não havendo plantios comerciais (Martins, 2006). Os primeiros cultivos surgiram na década de 1960, e a produção, em torno de 1.444 t/ha/ano, era suficiente apenas para atender às necessidades da família e do pequeno mercado regional (Araújo, 1978).

O censo de 1970 registrou uma produção, no Brasil, da ordem de 39.316 toneladas de maracujá, correspondente a um aumento na ordem de 2.620% em relação ao censo de 1960. Tais índices permitem verificar que, no período de 1960 a 1970, a cultura do maracujazeiro passou a assumir importância em termos econômicos, fato que, provavelmente, representou o início de sua exploração para fins industriais (Araújo, 1978).

Naquela época, havia poucas informações a respeito da cultura. O grande interesse e as perspectivas de mercado incentivaram o início das pesquisas no Brasil e foram realizados os primeiros simpósios sobre a passicultura: I, II, III, IV e V Simpósio sobre a Cultura do Maracujazeiro, realizados, respectivamente, no IAC, em 1974; na UNESP, Jaboticabal, em 1977; UESB, Vitória da Conquista, em 1991 e 1994, e UNESP, Jaboticabal, em 1998 (Ruggiero, 2000).

A partir de 1998, foi instituída a realização da Reunião Técnica de Pesquisas em Maracujazeiro (RTPM), tendo, até 2005, sido realizadas quatro reuniões, respectivamente, na Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, BA; IAPAR, em Londrina, PR; UFV, em Viçosa, MG, e Embrapa Cerrados, em Planaltina, DF (Faleiro & Sousa, 2005).

Desde 1995, o Brasil vem se destacando como o maior produtor mundial de maracujá, apresentando, naquele ano, área colhida de 38.522 hectares e

produção na ordem de 405.535 toneladas (Agrianual, 2006; Meletti, 2000). Os maiores produtores mundiais são Brasil, Equador, Colômbia, Peru, África do Sul, Austrália, Nova Zelândia, Estados Unidos (Havaí), Papua Nova Guiné, Ilhas Fiji, Formosa e Quênia que, juntos, são responsáveis por 80% a 90% da produção total (Manica & Oliveira Jr., 2005).

Em 2003, a área total colhida no Brasil foi de, aproximadamente, 35.000 hectares, com produção anual de 485.342 toneladas. A produção nacional estava distribuída, por região, em 2003, na seguinte ordem: Nordeste: 17.306 ha de área colhida e produção de 214.467 t; Sudeste: 10.387 ha de área colhida e produção de 197.074 t; Norte: 4.513 ha de área colhida e produção de 38.301 t; Centro-Oeste: 1.553 ha de área colhida e produção de 19.286 t e Sul: 1.235 ha de área colhida e produção de 16.214 t. Os estados que se destacaram como os cinco maiores produtores, em 2003, foram: Bahia (107.876 t), Espírito Santo (72.270 t), São Paulo (50.496 t), Rio de Janeiro (45.702 t) e Ceará (41.113 t) (Agrianual, 2006).

2.2 O gênero *Passiflora*

O termo “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 frutos-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 foi explicada por Frei Vicente (Hoehne, 1937), referindo-se, inicialmente, aos três estiletos/estigmas, que representariam a Santíssima Trindade ou os três cravos utilizados na crucificação de Jesus Cristo. Frei Vicente também fez referência aos cinco filetes/estames, representando as cinco chagas e à corona/verticilos, representando a coroa de espinhos de Jesus Cristo.

O gênero *Passiflora* é originário da América do Sul e tem no centro-norte do Brasil seu maior centro de distribuição geográfica (Leitão Filho & Aranha, 1974, citados por Meletti & Bruckner, 2001). Há mais de 580 espécies de *Passifloraceae*, a maioria habitante da América Tropical e muitas nativas do Brasil. Nessa família, o gênero *Passiflora* possui cerca de 400 espécies, sendo o mais expressivo. Muitas dessas espécies possuem propriedades alimentícias, ornamentais ou medicinais, várias notadamente apreciadas pela qualidade de seus frutos (Souza & Meletti, 1997).

O valor ornamental é conferido pelas belas flores, que exercem atração pelo seu tamanho, exuberância das cores e originalidade das formas. Segundo Peixoto (2005), a cultura do maracujazeiro apresenta grandes perspectivas em relação à exploração do seu potencial paisagístico. Os frutos, além de consumidos *in natura*, são usados comercialmente na elaboração de sucos, doces, refrescos e sorvetes. O uso medicinal, bastante difundido, baseia-se nas propriedades calmantes da passiflorina, um sedativo natural encontrado nos frutos e folhas (Souza & Meletti, 1997), nas propriedades como vermífugo e febrífugo e também nos efeitos diuréticos, antiblenorrágicos, hipnóticos e abortivos para o gado (Oliveira, 1987). Entretanto, a grande maioria das espécies do gênero *Passiflora* ainda não foi estudada quanto às propriedades medicinais e funcionais (Costa & Tupinambá, 2005).

Há grande variabilidade genética a ser explorada dentro do gênero *Passiflora* (Bernacci et al., 2005), visto serem observadas variações no florescimento, produtividade, resistência a pragas e doenças, tolerância ao frio e características de fruto (Meletti et al., 1992). Estas plantas poderiam ser submetidas à cultura e ao melhoramento genético, vindo também a constituir novas fontes de alimentos (Pereira, 1998). Dessa forma, Oliveira & Ruggiero (2005) ressaltam que é de grande importância a intensificação das pesquisas visando ao maior conhecimento do germoplasma do maracujazeiro silvestre.

2.3 Caracterização da espécie *Passiflora nitida*

2.3.1 Aspectos botânicos e fisiológicos

A espécie *Passiflora nitida* Kunth. (*P. nympheoides* Karst.) é conhecida como maracujá-suspiro (Cavalcante, 1976, citado por Souza & Meletti, 1997) maracujá-de-rato ou maracujá-de-cheiro (Souza & Meletti, 1997). Outro sinônimo é maricouia, que Fouqué (1972-1974), citado por Souza & Meletti (1997), coletou em Demerara, na Guiana Inglesa. Trata-se de um maracujá silvestre, porém, de fruto muito apreciado em todo o norte da América do Sul (Cavalcante, 1976, citado por Souza & Meletti, 1997). Oliveira & Ruggiero (1998) relataram que, nos estados do Pará, Amazonas e na amazônia colombiana, *P. nitida* é explorada extrativamente.

P. nitida, espécie pertencente ao subgênero *Passiflora* série *Laurifoliae*, é considerada uma trepadeira glabra de caule cilíndrico, subangular nas partes novas. Suas folhas são oblongo-ovaladas ou amplamente ovaladas, lustrosas, medindo de 9 a 17 cm, longitudinalmente, e 6 a 10 cm, transversalmente, de ápice agudo e base arredondada. Segundo Pereira (1998), as plantas apresentam folhagem muito vigorosa, mesmo no inverno, período no qual resistem à seca. Os pecíolos possuem mais de 3 cm de comprimento e são biglandulares apicalmente (Cunha et al., 2004; Souza & Meletti, 1997).

O maracujá-suspiro possui flores grandes, com 9 a 11 cm de largura, brilhantes, com sépalas oblongo-lanceoladas, carnosas, esverdeadas externamente e pétalas oblongo-lanceoladas, brancas interna e externamente. Os filamentos da corona contêm faixas azuis e brancas na base e manchas azuis no ápice (Cunha et al., 2004; Souza & Meletti, 1997). Menezes (1990) constatou que as flores de *P. nitida* abrem-se no período da manhã e não apresentam diferenças nas curvaturas dos estigmas, fenômeno este observado em outras

espécies, como no maracujá-azedo comercial. A curvatura do estigma é altamente determinante no índice de frutificação no maracujazeiro.

Menezes (1990) também verificou abundante florescimento nos meses de outubro a abril, nas condições de Jaboticabal, SP. No entanto, Oliveira (1996) relatou que, nas condições de São José do Rio Preto, SP, as plantas de maracujá-suspiro floresceram mais intensamente, no primeiro ano, em janeiro e fevereiro e, no ano seguinte, em março. No Peru, Villachica (1996), citado por Pereira (1996), avaliou plantas que floresceram sete a oito meses após o plantio, ao passo que Oliveira (1996) constatou o início da floração de plantas em São José do Rio Preto, cerca de vinte meses após o plantio. Nas condições de Jaboticabal, SP, Pereira (1998) relatou a ocorrência de florescimento intenso de *P. nitida* acesso “Manaus” de outubro a fevereiro, com pico máximo em dezembro e janeiro e ausência de florescimento nos meses de agosto, setembro, março e abril. Nessa espécie, freqüentemente, se observam picos de florescimento (Oliveira & Ruggiero, 1998; Pereira, 1998) que, geralmente, ocorrem de outubro a abril (Oliveira & Ruggiero, 1998).

A abertura das flores do maracujá-suspiro, geralmente, se inicia em torno das 9:00 horas, permanecendo abertas por todo o dia, fechando-se somente às 20:00 horas. A abertura destas flores não se repete no dia seguinte.

Segundo Oliveira (1996), a viabilidade do pólen de *P. nitida* é alta (98,1%). A taxa de frutificação por polinização natural e artificial em *P. nitida* acesso “Manaus” foi estudada por Pereira (1998), que verificou 93,7% de frutificação no mês de julho e 71,7% em outubro, por polinização natural e 100% de frutificação, por polinização artificial.

A auto-incompatibilidade em *P. nitida* também foi estudada por Pereira (1998), utilizando acessos obtidos em Manaus. Segundo a autora, quando não houve intervenção na autopolinização, não ocorreu frutificação nas flores pré-ensacadas. Por outro lado, quando foi realizada autopolinização artificial, cerca

de 24% dos botões frutificaram e chegaram até a maturação com tamanho e características de cor, sabor e formato semelhantes aos frutos provenientes de polinização cruzada. Esse comportamento sugere a existência de algum mecanismo de auto-incompatibilidade nessa espécie.

Menezes (1990) e Oliveira (1996) também relataram a autocompatibilidade em *P. nitida*. Oliveira (1996) obteve 7,9% de frutos quando houve autopolinização manual do maracujá-suspiro, contra 0% na autopolinização manual de *P. edulis* f. *flavicarpa*. Menezes (1990) obteve quatro frutificações em dez flores de *P. nitida* autopolinizadas manualmente. Oliveira (1996) sugere que a autopolinização espontânea não ocorre devido à falta de contato entre os estigmas e anteras. Pereira (1998) observou a ocorrência de diferentes graus de incompatibilidade entre plantas de *P. nitida* acesso “Manaus”, assim como ocorre nas espécies comerciais do gênero *Passiflora*.

Com relação ao fruto de *P. nitida*, o mesmo é globoso (8 cm de comprimento por 6 a 7 cm de diâmetro), tipo baga, com a casca amarelada, arilo succulento, transparente e doce, porém, sem perfume. As sementes são chatas e cordiformes (Cunha et al., 2004; Souza & Meletti, 1997). De acordo com Hidalgo et al. (1996), citados por Pereira (1998), *P. nitida* possui sementes com germinação epígea e o tempo para o início desta varia de 16 a 42 dias, de acordo com o tempo e condições de armazenamento.

A maturação, segundo Souza & Meletti (1997), ocorre entre os meses de abril e agosto. Entretanto, alguns acessos frutificam entre janeiro e fevereiro. Oliveira (1996) relatou que os frutos de *P. nitida* desenvolvem-se rapidamente, amadurecendo suas sementes num prazo bastante curto.

Menezes (1990), estudando *P. nitida* nas condições de Jaboticabal, SP, verificou que a maturação do fruto iniciou-se em torno de 60 dias após a fertilização, período em que iniciou a diminuição do seu tamanho e a casca assumiu a coloração amarelo-pálida ou alaranjada.

De acordo com trabalho realizado por Pereira (1998), os frutos de *P. nitida* acesso “Manaus” apresentaram tempo de desenvolvimento de fruto distinto, variando com a época do ano. Os valores encontrados foram de 60 dias, a partir da polinização nas floradas de outubro a fevereiro, podendo chegar até a 90 dias a partir das floradas de maio. O crescimento do fruto ocorreu até os 30-40 dias, quando houve estabilização da curva de crescimento e iniciou-se o processo de amadurecimento. Os frutos permaneceram presos aos ramos, mesmo após sua completa maturação.

Segundo Villachica (1996), citado por Pereira (1998), os frutos devem ser colhidos com o pedúnculo, ajudando, assim, na manutenção da coloração, contribuindo para a manipulação dos mesmos e reduzindo o ataque de fungos e a perda de peso. Pereira (1998) relatou que os frutos de *P. nitida* acesso “Manaus” podem permanecer por até 4 meses presos à planta depois de maduros, mantendo condições adequadas para o consumo.

De acordo com Oliveira & Ruggiero (1998), a casca do fruto de *P. nitida* rompe-se facilmente com a pressão dos dedos, expondo as sementes envolvidas pelo arilo de coloração branco-leitosa. O fruto apresenta boa conservação em geladeira, dentro de recipiente de plástico.

Com relação à produtividade, estudos realizados por Pereira (1998) mostraram que a produção média por planta de *P. nitida* acesso “Manaus” é de 17 kg, com máximo de 45 kg e mínimo de 2 kg/planta. Esse trabalho expõe a grande variabilidade genética existente dentro deste acesso, evidenciando que a variabilidade genética dentro da espécie seja ainda maior. Segundo Villachica (1996), citado por Pereira (1998), estima-se que a produção de *P. nitida* esteja entre 5 e 8 kg/planta. Esses valores podem variar muito, de acordo com a procedência do acesso estudado.

O peso médio de frutos encontrado por Pereira (1998) em *P. nitida* acesso “Manaus” variou entre 23,49 g e 53,02 g, sendo a média de 35,78 g.

Segundo a autora, os frutos produzidos no verão são menores que os de inverno, devido a maior produção neste período. De acordo com Oliveira & Ruggiero (1998), os frutos de *P. nitida* possuem média de peso de 45 g.

O suco do fruto de *P. nitida* maduro é adocicado e agradável ao paladar (Oliveira & Ruggiero, 1998). Pereira (1998) destaca *P. nitida* como uma espécie de potencial para consumo *in natura*, para fins ornamentais e como opção para estudos de enxertia e hibridação com outras espécies de maior interesse, relatando também resultados positivos encontrados em testes de aceitabilidade dos frutos de maracujá-suspiro. Segundo Melo (1996) e Oliveira & Ruggiero (2005), *P. nitida* possui grande potencial para exploração comercial.

2.3.2 Áreas de ocorrência, ecologia e adaptação

Passiflora nitida é uma espécie de larga distribuição, desde o Paraná até o Norte da América do Sul. Segundo observações de Junqueira et al. (2006), *P. nitida* ocorre em todos os estados da região Norte e Centro-Oeste e exemplares já foram coletados no Maranhão, Bahia, Minas Gerais e nordeste do Estado de São Paulo. Pode ser encontrado vegetando em capoeiras e matas ciliares ao longo dos cursos de água, grimpendo sua ramagem por sobre a copa de outras plantas. Hoehne (1937) relatou ter encontrado exemplares de *P. nitida* em 1912, quando desceu os cursos do Tapajós e do Jurena. A espécie chamou-lhe a atenção pela beleza das flores e excelência dos frutos.

De acordo com Cavalcante (1976, 1991), citado por Pereira (1998), o maracujá-suspiro é distribuído por toda a região norte da América do Sul, tendo por habitat ideal as capoeiras ou vegetação baixa de estradas ou qualquer outro local com algum sombreamento, mas suficiente luz solar.

Segundo Pereira (1998), a espécie *P. nitida* acesso “Manaus” não é encontrada dentro de matas nem vegetando naturalmente a pleno sol, no entanto, não apresenta obstáculos à condução nessas condições.

Villachica (1996), citado por Pereira (1998), sugere que *P. nitida* seja uma espécie adaptada ao clima tropical e solos ácidos da Amazônia, porém em zonas que apresentem períodos secos bem definidos.

2.3.3 Resistência a doenças e pragas

Em 2000, a espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* ocupava, no Brasil, uma área de, aproximadamente, 33.400 ha com uma produção de 330,8 mil toneladas e produtividade de 9,9 t/ha (FrutiSéries, 2002). Nos últimos anos tem-se observado uma redução na produtividade (FrutiSéries, 2002), o que se deve, principalmente, à ocorrência de doenças nessa cultura. Com a expansão da cultura do maracujazeiro no país, várias doenças apareceram. Algumas dessas, como a bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*), a virose do endurecimento do fruto (CABMV) e o nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.), são limitantes ao seu cultivo, podendo provocar perdas totais (Junqueira et al., 2004a). No passado, a vida útil da cultura do maracujazeiro era de cinco a seis anos, mas, atualmente, os pomares são renovados a cada dois anos ou mesmo anualmente (Ruggiero, 1996). Não tem sido observada resistência ou tolerância a esses patógenos, na prática, nas populações cultivadas. Em populações nativas no Cerrado, tem sido observada alguma tolerância à bacteriose, mas não ao CABMV e ao nematóide das galhas (Junqueira et al., 2004a).

Outras doenças, como a fusariose ou murcha (*Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*), podridão-do-pé (*Fusarium solani*) e antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*), vêm provocando perdas expressivas, mas não têm sido limitantes. Existem perspectivas de controle dessas doenças causadas por

patógenos do solo com o uso de enxertia em porta-enxertos resistentes de *Passiflora alata* ou de outras espécies, como *P. setacea*, híbridos F1 de *P. setacea* x *P. edulis*, *P. setacea* x *P. coccinea*, *P. nitida*, *P. coccinea* e outras. A antracnose pode ser controlada de forma eficaz com fungicidas, mas fontes de resistência a essa doença já foram relatadas em populações nativas de Mato Grosso e Rondônia (Junqueira et al., 2003, 2004a). O uso de espécies silvestres de maracujá como fontes de resistência em programas de melhoramento apresenta grande potencial e resultados interessantes já estão sendo obtidos (Junqueira et al., 2005). O estudo deste potencial tem sido levantado como uma importante demanda para a pesquisa (Faleiro et al., 2005).

Outro aspecto que deve ser considerado foi relatado por Tokeshi (2006). Segundo este autor, é nos centros de origem das plantas que estão concentrados os mais altos graus de resistência horizontal a doenças e, segundo Leitão Filho & Aranha (1974), citados por Meletti & Bruckner (2001), o centro-norte do Brasil é, provavelmente, um dos centros de origem de Passifloráceas. De acordo com Van der Plank (1963), a resistência horizontal é permanente e confere resistência a todas as raças do fungo, independente da carga genética do patógeno. Segundo Tokeshi (2006), normalmente, dez gerações ou ciclos de seleção na ausência do patógeno são suficientes para erodir ou eliminar os genes de resistência horizontal.

Alguns acessos de *P. nitida* nativos no Cerrado têm boa tolerância à bacteriose e a patógenos do solo, produzem frutos de casca mais fina, periformes e de tamanho um pouco menor que o *P. alata* comercial. Com a existência de variabilidade genética dentro de *P. nitida*, acredita-se que, com o tempo, se obtenha algum genitor desejável (Junqueira et al., 2004a).

Moraes (2002) constatou a presença do vírus do endurecimento dos frutos infectando plantas de *P. nitida* acesso “Manaus”. Segundo esta 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. Os frutos doentes apresentavam-se menores, deformados e com manchas corticosas de formato irregular que, em alguns casos, se estendiam por toda a sua superfície, podendo ser confundidas com os sintomas causados por ácaros.

No Brasil, o endurecimento dos frutos já foi relatado nos principais estados produtores de maracujá, tendo, em todos os casos, o *Passion fruit woodiness virus* (PWV) sido identificado como agente etiológico da doença com base em características biológicas e sorológicas. Entretanto, a análise de seqüência de aminoácidos da proteína capsial de isolados procedentes de diversos estados brasileiros indicou que os mesmos pertencem à espécie *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). Até o presente, todos os isolados brasileiros seqüenciados pertencem a essa espécie, e a detecção molecular do PWV no Brasil ainda aguarda confirmação (Zerbini et al., 2005).

Oliveira et al. (1994a), analisando o comportamento de várias espécies de maracujazeiro em relação à morte prematura, verificaram que *Passiflora nitida*, *P. laurifolia* e alguns acessos de *P. suberosa*, *P. alata*, *P. caerulea*, *P. gibertii* e *P. setacea* mostraram-se resistentes. Esses autores sugerem o uso de *P. nitida* e *P. laurifolia* como porta-enxertos para o maracujá-azedo.

Roncatto et al. (2004), estudando *Passiflora nitida* acesso “Manaus” e “Campinas”, observaram que os mesmos mostraram-se resistentes à morte prematura, independentemente do local de origem.

Estudos realizados por Fischer (2003) mostraram que as espécies *P. nitida*, *P. laurifolia* e *P. alata* apresentaram as menores médias de lesões provocadas por *Nectria haematococca*, um dos prováveis causadores da morte prematura do maracujazeiro. A planta de *P. nitida* apresenta também resistência ao ataque de *Fusarium* sp. (Pereira et al., 1998).

Oliveira & Ruggiero (1998) observaram que as espécies *P. nitida*, *P. alata*, *P. macrocarpa*, *P. setacea*, *P. gibertii*, *P. laurifolia* e *P. suberosa*, cultivadas em Jaboticabal, em local com histórico de ocorrência de doenças do sistema radicular, apresentaram alta frequência de plantas resistentes.

Oliveira et al. (1994b) observaram que a inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. em folhas destacadas ou em mudas, em condições controladas, foi efetiva apenas quando se realizou ferimento no limbo foliar. Os mesmos autores relataram que *P. nitida* mostrou-se imune ao fungo, *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. gibertii*, *P. cincinnata*, *P. mollissima*, *P. caerulea*, *P. setacea*, *P. serrato-digitata*, *P. coccinea*, *P. edulis* x *P. setacea*, *P. edulis* x *P. alata* mostraram-se suscetíveis, enquanto *P. edulis* acesso “Serra do Mar, Santos, SP” apresentou maior tolerância inicial.

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 variedades resistentes a doenças é estratégico para todas as 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).

Pereira (1998) relata a alta rusticidade da espécie *P. nitida* e sua resistência a certas pragas e doenças do maracujá-azedo, apresentando-se como fonte potencial de genes a ser explorada. Segundo a mesma autora, em seu trabalho, a única doença observada nas plantas de *P. nitida* acesso “Manaus” foi a verrugose, causada por *Cladosporium* spp. A incidência desta 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.

Quanto às pragas, a cultura do maracujazeiro apresenta uma rica fauna associada, formada por ácaros e insetos, sendo alguns extremamente úteis, como no caso da polinização e outros altamente nocivos (Nascimento, 1997; Ruggiero et al., 1996). De acordo com Boiça Júnior (1998), praticamente todas as estruturas do maracujazeiro, tais como ramos, folhas, botões florais, flores e frutos, podem ser atacadas por insetos, trazendo prejuízos consideráveis à produtividade.

Algumas espécies de maracujá podem interferir no comportamento ou desenvolvimento do inseto, sendo essas informações úteis em programas de melhoramento de plantas para a obtenção de variedades promissoras, com características agronômicas adequadas e resistência a pragas. Segundo estudo realizado por Lara et al. (1999), citados por Fancelli & Lima (2004), *Passiflora nitida*, *P. alata*, *P. setacea* e o híbrido *P. alata* x *P. macrocarpa* apresentam resistência do tipo não-preferência para alimentação a *Dione juno juno*.

Trabalhos realizados por Caetano & Boiça Júnior (2000), citados por Fancelli & Lima (2004), mostraram que, com relação a *Leptoglossus gonagra*, *P. nitida* apresentou o mais alto grau de antibiose dentre os hospedeiros avaliados (*P. nitida*, *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. alata*, *P. laurifolia* e *P. gibertii*).

Baldin & Lara (2002) e Boiça Júnior et al. (1996) avaliaram a preferência alimentar de *Epicauta atomaria* por genótipos de maracujazeiro, em condições de laboratório. O trabalho de Boiça Júnior et al. (1996) permitiu a conclusão de que o genótipo preferido para a alimentação pelo inseto foi *Passiflora caerulea*, enquanto os menos preferidos foram *P. setacea*, *P. nitida*, *P. alata*, *P. cincinnata*, *P. coccinea*, *P. edulis*, *P. alata* x *P. macrocarpa* e *P. edulis* x *P. alata*. Baldin & Lara (2002) concluíram que a espécie *P. setacea* é a mais suscetível ao ataque da praga, enquanto *P. nitida* e *P. gibertii* são resistentes, expressando não preferência para a alimentação.

Boiça Júnior (1994), avaliando a infestação de maracujazeiro com *Dione juno juno* em condições de campo, constatou que os genótipos menos afetados pelo inseto foram *P. nitida*, *P. alata*, *P. setacea*, *P. coccinea*, *P. edulis* x *P. setacea* e *P. alata* x *P. macrocarpa*.

Baldin et al. (1997), avaliando o consumo e a atratividade do percevejo *Holymenia clavigera* por *P. nitida*, *P. alata*, *P. edulis*, *P. coccinea* e *P. gibertii*, verificaram que *P. edulis* foi o mais atrativo e, quanto ao número total de picadas no teste de consumo, *P. alata* apresentou maiores médias.

Lara (1991) e Rossetto et al. (1981) ressaltam que o controle de insetos pelo uso de materiais resistentes é o método ideal, principalmente em virtude da preservação ambiental e da sensível redução nos custos de produção.

2.3.4 Uso de *Passiflora nitida* como porta-enxerto

Baccarin (1988) e Ferreira (2000) consideram a produção de mudas de maracujá por meio de estaquia ou enxertia uma técnica vantajosa, pois permite a conservação das características da planta-mãe, além da possibilidade de controle de doenças causadas por patógenos do solo, resistência à seca e à morte prematura das plantas, podendo conferir maior longevidade à cultura e melhor qualidade aos frutos.

A baixa produtividade do maracujá-azedo no Brasil deve-se, em grande parte, a problemas fitossanitários, dentre os quais as doenças provocadas por patógenos do solo são as mais importantes, em termos de expressão econômica (Meletti & Bruckner, 2001; Menezes et al., 1994). Vários autores (Meletti & Bruckner, 2001; Menezes et al., 1994; Pace, 1983; Ruggiero, 2000; São José, 1991) relatam a necessidade de se usar porta-enxertos resistentes para controlar a fusariose e a morte prematura do maracujazeiro.

Há relatos de que algumas espécies de passifloras nativas, como *Passiflora nitida*, *P. laurifolia* e alguns acessos de *P. suberosa*, *P. alata*, *P. coccinea*, *P. gibertii* e *P. setacea*, vêm apresentando resistência à morte precoce e à fusariose (Menezes et al., 1994, Oliveira et al., 1994a). No entanto, segundo Meletti & Bruckner (2001), os porta-enxertos oriundos de sementes da maioria dessas espécies apresentam o inconveniente de gerar plantas com caules muito finos e, portanto, incompatíveis com o diâmetro dos garfos, que são obtidos de plantas adultas. Esse fato dificulta a enxertia, aumenta o custo de produção e o tempo requerido para a formação da muda (Siqueira & Pereira, 2001). Assim, vários processos de seleção têm como objetivo obter porta-enxertos nativos resistentes e compatíveis com a enxertia.

Menezes et al. (1994) avaliaram cinco espécies de *Passiflora* como porta-enxertos para o maracujazeiro-azedo, dentre elas o *P. nitida* (acesso não referenciado). Foram determinados a taxa de pegamento e o desenvolvimento dos enxertos, vigor vegetativo aparente das mudas enxertadas e a ocorrência da morte prematura. O tipo de enxertia utilizado foi a garfagem em fenda cheia. Noventa dias após a enxertia, verificou-se 18,7% de pegamento da enxertia em *P. nitida*, que não apresentou bons resultados em relação ao crescimento da muda. Não foi verificada a ocorrência de morte prematura nas mudas enxertadas. Entretanto, considerando a variabilidade genética dentro da espécie com base em características morfológicas e comportamentais distintas entre os diferentes acessos de *P. nitida*, estudos mais detalhados seriam necessários para determinar a viabilidade da enxertia, utilizando-se esta espécie como porta-enxerto.

Em pesquisa realizada por Chaves et al. (2004), enxertando-se o maracujazeiro-azedo (*P. edulis* f. *flavicarpa*) em *P. nitida* acesso “Itiquira – MT”, verificou-se bom desempenho desta espécie como porta-enxerto, produzido a partir de estacas herbáceas, obtendo-se cerca de 86% de enxertos

brotados, evidenciando a viabilidade de *P. nitida* para este fim. É importante ressaltar que não ocorreu mortalidade do porta-enxerto após a enxertia. Segundo estes mesmos autores, as taxas de pegamento de enxertos sobre estacas enraizadas de *P. nitida*, aos 80, 95 e 110 dias após a enxertia, variaram de 60% a 100%, com uma média 78,88% e média de comprimento do broto do enxerto de 38,6 cm.

Segundo Junqueira et al. (2006), a propagação do maracujazeiro azedo por enxertia em estacas enraizadas de *P. nitida* é tecnicamente viável. Esses autores observaram que o índice de pegamento do enxerto variou de 73,3% a 93,3% e o índice de enxertos brotados oscilou entre 66,7% e 73,3%.

Oliveira & Ruggiero (1998) sugerem que sejam realizadas mais observações referentes ao comportamento como porta-enxerto das espécies *P. nitida*, *P. gibertii*, *P. caerulea*, *P. macrocarpa*, *P. setacea*, *P. laurifolia* e *P. alata*, visto que são espécies promissoras.

2.4 Espécies nativas no melhoramento do maracujá comercial

2.4.1 Métodos de melhoramento em *Passiflora*

Por ser uma cultura com domesticação recente, o maracujazeiro ainda possui grande variabilidade genética natural para as diversas características da planta e do fruto. Devido ao fato de ser uma planta alógama, vários são os métodos de melhoramento aplicados a essa cultura. Métodos de melhoramento de plantas alógamas baseiam-se, principalmente, no aumento da frequência de genes favoráveis ou na exploração do vigor híbrido (Meletti & Bruckner, 2001).

O Brasil, por ser um dos centros de origem do maracujá, possui ampla variabilidade genética, que é o ponto de partida para qualquer programa de melhoramento genético de uma espécie. A caracterização e a avaliação das espécies de interesse são ferramentas indispensáveis aos trabalhos de

fitomelhoramento. A pesquisa sobre as espécies de *Passiflora* é incipiente e a grande maioria refere-se ao manejo da cultura, tratando somente daquelas espécies de importância comercial (Ganga et al., 2004). Estudos de melhoramento genético, normalmente, visam ao desenvolvimento de materiais superiores, principalmente com relação a caracteres de interesse agrônomo, e tendem a utilizar a hibridação intraespecífica para a transferência de genes de interesse (Bruckner, 1997).

Segundo Ferreira & Oliveira (1991), citados por Meletti & Bruckner (2001), os métodos de melhoramento mais utilizados para proporcionar elevados ganhos de qualidade com a seleção individual de plantas, de forma isolada ou em conjunto, são: introdução de plantas, seleção massal, seleção massal com teste de progênie, seleção de clones, hibridações interespecíficas e intervarietais e seleção recorrente.

A utilização da variabilidade genética existente nas populações de maracujazeiro-doce permite a identificação de genótipos superiores para os fins específicos. No entanto, Meletti (2002) chama a atenção para o fato de que a seleção visando apenas determinadas características pode induzir a perdas de outras também importantes para a cultura, como a resistência a determinadas doenças.

A seleção massal é eficiente para caracteres, como produção, formato do fruto, teor de suco, teor de sólidos solúveis e vigor vegetativo (Oliveira, 1980).

A seleção com teste de progênies de irmãos completos ou de meios-irmãos obtidos a partir de cruzamentos inter e intraespecíficos pode ser eficiente no processo de seleção do maracujazeiro, uma vez que apenas um fruto pode gerar mais de 100 indivíduos geneticamente heterogêneos. Junqueira et al. (2004b) propõem que a propagação das matrizes selecionadas teria que ser feita por métodos assexuados (enxertia ou estaquia), o que aumentaria a chance de

disseminação do vírus do endurecimento do fruto e da bacteriose, a não ser que tais matrizes fossem selecionadas dentro de telados anti-afídios.

Segundo Oliveira & Ruggiero (1998), *P. nitida*, *P. incarnata*, *P. cincinnata*, *P. gibertii*, *P. setacea*, *P. alata*, *P. laurifolia*, *P. serrato digitata* e *P. coccinea* são espécies vigorosas e apresentam ampla adaptação, além de possuírem características de resistência a doenças, o que as torna promissoras para o uso no melhoramento genético. Também foi relatada a alta longevidade das espécies *P. nitida* e *P. setacea* em campo. Os mesmos autores afirmam, dessa forma, não haver dúvida a respeito do potencial de *P. nitida* como frutífera tropical e subtropical.

Menezes (1990) e Menezes et al. (1994) também relatam que *P. nitida* apresenta grande potencial para a utilização em programas de melhoramento que incluam hibridação interespecífica em virtude de sua rusticidade e resistência a vários patógenos e pragas do maracujazeiro, além do alto vigor vegetativo e produtivo. Observações de Oliveira & Ruggiero (1998), no entanto, mostraram que a espécie *P. nitida* apresentou crescimento inicial lento quando cultivada no Campus da UNESP de Jaboticabal.

Oliveira & Ruggiero (1998) relataram que, do cruzamento de *P. nitida* (acesso não referenciado) x *P. edulis*, obteve-se apenas um descendente, sendo este uma planta anormal, deformada, raquítica e, até a idade de quatro anos, ainda não havia florescido.

2.4.2 Uso de marcadores moleculares em *Passiflora*

Marcadores moleculares do DNA têm sido utilizados como uma 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).

Nos últimos anos, com o desenvolvimento da biotecnologia, diversas técnicas de marcadores moleculares têm permitido indicar, com precisão, as variações genéticas presentes no DNA de um determinado organismo. Entre os marcadores moleculares mais usados atualmente estão o RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) ou polimorfismo do DNA amplificado ao acaso, o SSR (*Single Sequence Repeat*) ou polimorfismo de microssatélite (pequenas seqüências com um a quatro nucleotídeos de comprimento repetidas em tandem) e o AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) ou polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados.

O primeiro, RAPD, por ser uma metodologia mais simples e relativamente mais barata, tem sido intensamente utilizado por diversos laboratórios, para diferentes culturas e as mais variadas finalidades. O segundo tipo, SSR, apresenta vantagens de fornecer maior conteúdo de informação de polimorfismo por loco, devido à expressão co-dominante e ao multialelismo, em relação ao RAPD, que tem comportamento dominante, detectando apenas um alelo por loco. Entretanto, sua utilização é limitada pela necessidade prévia do desenvolvimento de *primers* específicos para a obtenção dos marcadores (Sawazaki et al., 2002).

Por sua vez, marcadores AFLP possibilitam a obtenção de um grande número de marcadores em um único gel, oriundos de análise multiplex e combinação do polimorfismo de presença e ausência de sítios de restrição com a ocorrência ou não de amplificação a partir de seqüências arbitrárias. Como desvantagens, os marcadores AFLP têm comportamento dominante como o RAPD e, por ser uma análise mais sofisticada, demanda mais recursos e etapas para sua execução, sendo mais adequada para espécies de plantas cultivadas que apresentam uma baixa taxa de polimorfismo de DNA (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

O uso de marcadores moleculares do tipo RAPD, associado às avaliações fenotípicas do material, pode ser útil em programa de melhoramento genético de maracujazeiro para caracterização de acessos, assim como na identificação rápida de seleções interespecíficas provenientes ou não de cruzamentos controlados.

Por se tratar de uma espécie semiperene, o estudo de diversidade genética com base em características morfo-agronômicas em *Passiflora* spp. demanda tempo. Nesse caso, o uso de marcadores moleculares é altamente viável, por permitir um rápido estudo da variabilidade presente (Pereira et al., 2005; Stephen et al., 1997, citados por Pio Viana et al., 2003; Vieira et al., 2005). Alguns autores realizaram trabalhos referentes à diversidade genética no gênero *Passiflora*, utilizando marcadores RAPD (Angel et al., 1998; Cassiano et al., 1998; Pio Viana et al., 2003; Vieira et al., 1997).

Estudos preliminares têm mostrado que existe pouca variabilidade genética entre as cultivares comerciais de *P. edulis* f. *flavicarpa* para resistência a doenças (Junqueira et al., 2003; Nascimento, 2003). Trabalhos envolvendo genótipos de maracujazeiro azedo cultivados no Rio de Janeiro, baseados em características morfo-agronômicas e marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), também não evidenciaram expressiva variabilidade genética (Pio Viana et al. 2002a; 2002b).

Por outro lado, espécies silvestres do gênero *Passiflora* (*P. laurifolia*, *P. nitida*, *P. tenuifila*, *P. mucronata*, *P. gibertii*, *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) e também variabilidade no DNA (Aukar et al., 2002; Crochemore, 2002; Faleiro et al., 2004, 2005; Pio Viana et al., 2003).

Estudos mais aprofundados de caracterização agrônômica e molecular de variedades comerciais de maracujá e de espécies nativas promissoras são

necessários e de grande interesse para o melhoramento genético, orientando a escolha de genitores e o planejamento dos cruzamentos. Segundo Cunha (1998) e Faleiro et al. (2005), estudos acurados e detalhados sobre a variabilidade genética do maracujazeiro poderão indicar recursos genéticos valiosos, sejam novas espécies nos sistemas de produção, como opções adicionais ao maracujazeiro azedo e doce, sejam genes de espécies silvestres ou selvagens úteis ao melhoramento das atuais espécies cultivadas. Nesse sentido, muitos autores apontam que tais estudos são prioritários para as pesquisas com o maracujá.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIANUAL. 2006: Anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo. FNP – Consultoria e Comércio, 2006. Maracujá, p. 359-365.
- ANGEL, E. O.; FARJADO, D.; GRUM, M.; TOHME, J.; LOBO, M. Genetic variation analysis of the genus *Passiflora* L. using RAPD markers. **Euphytica**, Dordrecht, v. 101, n. 3, p. 341-347, 1998.
- ARAÚJO, B. C. Maracujá em Sergipe – situação atual e perspectivas. In: ENCONTRO ESTADUAL DA CULTURA DO MARACUJÁ, 1., 1978, Aracaju, SE. **Anais...** Aracaju, SE, 1978. p. 67-76.
- AUKAR, A. P. A.; LEMOS, E. G. M.; OLIVEIRA, J. C. Genetic variations among passion fruit species using RAPD markers. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 738-740, dez. 2002.
- BACCARIN, M. N. R. A. **A cultura de tecidos e enxertia em *Passiflora* sp.** 1988. 101 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- BALDIN, E. E. L.; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; LARA, F. M. Atratividade e consumo de *Holymenia clavigera* (HEMIPTERA: COREIDAE) por genótipos de maracujazeiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16., 1997, Salvador, BA. **Anais...** Salvador, BA, 1997. p. 235.
- BALDIN, E. E. L.; LARA, F. M. Atratividade e preferência alimentar de adultos de *Epicauta atomaria* (Germar, 1821) (Coleoptera: Meloidae) em maracujazeiros (*Passiflora* spp.) sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 68-71, abr. 2002.
- BERNACCI, L. C.; MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; PASSOS, I. R. S. Espécies de maracujá: caracterização e conservação da biodiversidade. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 559-586.
- BOIÇA JÚNIOR, A. L. Pragas da Cultura do Maracujazeiro. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 1., 1998, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 1998. p. 175-203.

BOIÇA JÚNIOR, A. L. **Resistência de maracujazeiro (*Passiflora* spp.) a *Dione juno juno* (Cramer, 1779) (Lepidóptera, Nymphalidae) e determinação dos tipos envolvidos.** 1994. 218 p. Tese (Livre – Docência) – Universidade Estadual Paulista. Faculdades de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; LARA, F. M.; OLIVEIRA, J. C.; PESSOA, R. Resistência de genótipos de maracujá a *Epicauta atomaria* (Germar, 1821) (Coleoptera: Meloidae) – não preferência alimentar. **Boletim de Sanidad Vegetal Plagas**, Madrid, v. 22, n. 1, p. 189-192, 1996.

BRUCKNER, C. H. **Perspectivas do melhoramento genético do maracujazeiro.** Maracujá: temas selecionados. Porto Alegre: Cinco Continentes Editora, 1997. p. 25-46.

CASSIANO, A. P. A. A.; LEMOS, E. G. M. OLIVEIRA, J. C. Avaliação de espécies de *Passiflora* através de marcadores moleculares RAPD. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 21, n. 3, p. 214, 1998. Suplemento.

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**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 120-123, 2004.

COSTA, A. M.; TUPINAMBÁ, D. D. O maracujá e suas propriedades medicinais – o estado da arte. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 475-506.

CROCHEMORE, M. L. Diversidade genética do maracujazeiro (*Passiflora* spp.). In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO, 3., 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa, 2002. p. 69-74.

CUNHA, M. A. P. da. Prioridades de pesquisa por subárea e objetivo. In: REUNIÃO TÉCNICA: PESQUISA EM MARACUJAZEIRO NO BRASIL, 1998, Cruz das Almas, BA: EMBRAPA/CNPMPF, 1998. p. 11-14 (EMBRAPA-CNPMPF. Documentos, 77).

CUNHA, M. A. P.; BARBOSA, L. V.; FARIA, G. A. Botânica. In: LIMA, A. A.; CUNHA, M. A. P. (Ed.). **Maracujá: produção e qualidade na passicultura.** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 15-35.

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

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**, Brasília, v. 29, p. S325, 2004. 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, 2005. 1CD-ROM. (Artigo 7398).

FALEIRO, F. G.; SOUSA, E. dos S. de. IV Reunião técnica de pesquisas em maracujazeiro. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 35-38.

FANCELLI, M.; LIMA, A. A. Insetos – Praga 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. 181-209.

FERREIRA, G. Propagação do maracujazeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 21, n. 206, p. 18-24, set./out. 2000.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEM, 1998. p. 220.

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

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

GANGA, R. M. D.; RUGGIERO, C.; LEMOS, E. G. M.; GRILI, G. V. G.; GONÇALVES, M. M.; CHAGAS, E. A.; WICKERT, E. Diversidade genética em maracujazeiro-amarelo utilizando marcadores moleculares fALP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 494-498, dez. 2004.

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

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.; VASCONCELLOS, M. A. S.; JUNQUEIRA, N. T. V. **Maracujá-doce: tecnologia de produção e pós-colheita**. Porto Alegre, RS: ed. 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**, Brasília, v. 38, n. 8, p. 1005-1010, ago. 2003.

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. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 81-106.

JUNQUEIRA, N. T. V.; LAGE, D. A. C.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R.; BORGES, T. A.; ANDRADE, S. R. M. Reação a 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, abr. 2006.

JUNQUEIRA, N. T. V.; PEIXOTO, J. R.; BRANCHER, A.; JUNQUEIRA, K. P. Maracujá-doce: Melhoramento genético do maracujá-doce. In: MANICA, I.; BRANCHER, A.; SANZONOWICZ, C.; ICUMA, I. M.; AGUIAR, J. L. P.; AZEVEDO, J. A.; VASCONCELLOS, M. A. S.; JUNQUEIRA, N. T. V. **Maracujá-doce: tecnologia de produção e pós-colheita**. Porto Alegre, RS: ed. Cinco Continentes, 2004b. p. 39-46.

LARA, F. M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo: Ícone, 1991. 336 p.

MANICA, I.; OLIVEIRA Jr., M. E. D. Maracujá no Brasil. In: MANICA, I. (Ed.). **Maracujá-doce: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes. 2005. p. 11-33.

MARTINS, I. **Reação de progênies de maracujazeiro-azedo ao *Colletotrichum gloesporioides* e biocontrole da antracnose com *Trichoderma* spp.** 2006. 137 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília-DF.

MELETTI, L. M. M. Maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims). In: MELETTI, L. M. M. (Ed.). **Propagação de frutíferas tropicais**. Guaíba, RS: Agropecuária, 2000. p. 186-204.

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.

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

MELO, A. L. **Efeitos da retirada do arilo e do armazenamento e aspectos morfológicos de sementes do maracujazeiro (*Passiflora* spp.)**. 1996. 52 f. Tese (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

MELO, A. L. **Métodos de quebra de dormência, e de armazenamento de sementes, e aspectos da obtenção de mudas de maracujá de suspiro (*Passiflora nitida* H. B. K.)**. 1999. 95 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

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) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

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**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 95-104, 1994.

MORAES, M. C.; VIEIRA, M. L. C.; NOVAES, Q. S.; REZENDE, J. A. M. Susceptibilidade de *Passiflora nitida* ao *Passion fruit woodiness virus*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 108-108, jan./fev. 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 em Agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília.

NASCIMENTO, W. A. **O cultivo do maracujá**. Goiânia: Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Goiás, 1997. 57 p. (Boletim Técnico, 1)

OLIVEIRA, A. M. A. **Reprodução e citogenética de espécies de *Passiflora***. São José do Rio Preto, 1996. 148 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” UNESP.

OLIVEIRA, J. C. de. Melhoramento genético. In: RUGGIERO, C. (Ed.) **Maracujá**. Ribeirão Preto: Legis Summa, 1987. p. 218-246.

OLIVEIRA, J. C. de. **Melhoramento genético de *P. edulis f. flavicarpa* Deg. visando aumento de produtividade**. 1980. 133 f. Tese (Livre-Docência) – Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal.

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

OLIVEIRA, J. C. de; RUGGIERO, C. Espécies de maracujá com potencial agrônomico. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 143-158.

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: EMPASC/Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1983. p. 983-988.

PEIXOTO, M. Problemas e perspectivas do maracujá ornamental. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 457-463.

PEREIRA, M. C. N. **Fenologia, Produção e Conservação de Frutos de *Passiflora nitida* H. B. K. nas condições de Jaboticabal – SP**. 1998. 74 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista – UNESP. Jaboticabal.

PEREIRA, M. G.; PEREIRA, T. N. S.; PIO VIANA, A. Marcadores moleculares aplicados ao melhoramento genético do maracujazeiro. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 277-292.

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**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 489-493, dez. 2003.

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, 2002a. p. 160-163.

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, 2002b. p. 156-159.

QUIRINO, T. R. Agricultura e meio ambiente: tendências. In: SILVEIRA, M. A. da; VILELA, S. L. de O. (Ed.). **Globalização e sustentabilidade da agricultura**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. p. 109-138. (Embrapa-CNPMA. Documentos, n. 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**, Jaboticabal – SP. v. 26, n. 3, p. 552-554, dez. 2004.

ROSSETO, C. J.; NAGAI, V.; IGUE, T.; ROSSETO, D.; MIRANDA, M. A. C. Preferência de alimentação de adultos de *Diabrotica speciosa* (Germar) e *Cerotoma arcuata* (Oliv.) em variedades de soja. **Bragantia**, Campinas, v. 40, n. 1, p. 179-183, 1981.

RUGGIERO, C. Situação da cultura do maracujazeiro no Brasil. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 21, n. 206, p. 5-9, set./out. 2000.

RUGGIERO, C.; SÃO JOSÉ, A. R.; VOLPE C. A.; OLIVEIRA, J. C.; DURIGAN, J. F.; BAUMGARTNER, J. G.; SILVA, J. R. da; MAKAMURA, K. I.; FERREIRA, M. E., KAVATI, R.; PEREIRA V. P. **Maracujá para exportação**: aspectos técnicos da produção MAARA/ SDR- FRUPEX, Brasília. Embrapa-SPI, 1996. 64 p. (Embrapa-SPI. Publicações Técnicas FrupeX, n. 19)

SÃO JOSÉ, A. R. Propagação do Maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.). **A cultura do maracujá no Brasil**. Jaboticabal: FUNEP, 1991. p. 25-43.

SAWAZAKI, H. E.; BARBOSA, W.; COLOMBO, C. A. Caracterização e identificação de cultivares e seleções de pereiras através de marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 447-452, ago. 2002.

SIQUEIRA, D. L. de; PEREIRA, W. E. Propagação. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. (Ed.). **Maracujá**: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001. p. 85- 137.

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

TOKESHI, H. Importância dos centros de origem das plantas e sua resistência a pragas e doenças. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS (COBRADAN), 3., 2006, Belém, PA. **Palestras...** Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2006. p. 69-81.

VAN DER PLANK, J. E. **Plant diseases**. Epidemics and Control. New York: Academic Press, 1963. 134 p.

VIEIRA, M. L. C.; OLIVEIRA, E. J.; MATTA, F. P.; PÁDUA, J. G.; MONTEIRO, M. Métodos biotecnológicos aplicados ao melhoramento genético do maracujá. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá**: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina - Distrito Federal: Embrapa Cerrados, 2005. p. 411-453.

VIEIRA, M. L. C.; OLIVEIRA, C. A.; MAYEDA, L. 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**, Ribeirão Preto, v. 20, n. 3, p. 88, 1997. Suplemento.

ZERBINI, F. M.; NASCIMENTO, A. V. S.; ALFENAS, P. F.; TORRES, L. B.; BRAZ, A. S. K.; SANTANA, E. N.; OTONI, W. C.; CARVALHO, M. G. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá**: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 589-597.

CAPÍTULO 2

ANÁLISE COMPARATIVA DE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE MARACUJÁ-SUSPIRO, MARACUJÁ-DOCE E MARACUJÁ-AZEDO

RESUMO

JUNQUEIRA, Keize Pereira. **Análise comparativa de características físico-químicas de maracujá-suspiro, maracujá-doce e maracujá-azedo.** 2006. Cap. 2, 25 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

O maracujá-suspiro (*Passiflora nitida* Kunth.), espécie nativa da América do Sul, pertence ao grupo dos maracujás doces e apresenta um grande potencial para a utilização *per se*. Atualmente, as espécies mais importantes no mercado *in natura* são o maracujá-doce (*P. alata* Curtis) e o maracujá-azedo (*P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.). Objetivou-se analisar comparativamente as características físico-químicas de frutos de *P. nitida* do Cerrado (acesso CPAC MJ-01-10) em relação às espécies comerciais *P. alata* (acesso CPAC MJ-02-12) e *P. edulis* f. *flavicarpa* (acesso CPAC MJ-M-09). Para cada uma das espécies estudadas, utilizaram-se 25 repetições, sendo cada uma representada por 1 fruto, coletado ao acaso na coleção ativa de germoplasma da Embrapa Cerrados. Analisaram-se as características peso de frutos (PF), diâmetro longitudinal (DL) e transversal (DT), peso da polpa acrescida das sementes (PP+PS), peso da polpa (PP), peso de sementes (PS), peso de casca (PC), espessura da casca (EC), acidez total titulável (ATT), sólidos solúveis totais (SST) e pH. Para a característica PC, houve diferença significativa entre as espécies a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey, tendo *P. nitida* (75,39 g) e *P. alata* (78,72 g) apresentado médias superiores a *P. edulis* f. *flavicarpa* (63,92 g). A 1% de probabilidade, *P. nitida* apresentou as menores médias para PF (102,25 g), PP+PS (26,86 g), PP (12,31 g), DL (77,85 mm) e PS (16,6 g). Esta última não diferiu de *P. edulis* f. *flavicarpa* (15,15 g). *P. nitida* apresentou a maior EC média (16,67 mm), seguida por *P. alata* (9,60 mm) e *P. edulis* f. *flavicarpa* (4,82 mm). *P. nitida* também apresentou o maior DT (69,29 mm) e não diferiu de *P. edulis* f.

* Comitê Orientador: Dr. José Darlan Ramos – DAG/UFLA (Orientador), Dr. Fábio Gelape Faleiro – Embrapa Cerrados (Co-orientador), Dr. Nilton Tadeu Vilela Junqueira – Embrapa Cerrados.

flavicarpa (71,94 mm), sendo superior a *P. alata* (63,04 mm). *P. alata* apresentou teor de SST (20,89 °Brix) superior a *P. nitida* (13,43 °Brix) e *P. edulis* f. *flavicarpa* (12,83 °Brix), que não diferiram entre si. A média de pH para *P. alata* foi a maior dentre as espécies estudadas (4,03), seguida por *P. nitida* (3,74) e *P. edulis* f. *flavicarpa* (2,98). Esta última apresentou a maior ATT (3,54%), seguida por *P. nitida* (2,07%) e *P. alata* (0,66%). Portanto, a espécie *P. nitida* possui boa parte das características favoráveis a sua inserção no mercado de frutas *in natura*. Por se tratar de uma espécie silvestre, são necessários trabalhos envolvendo a seleção de materiais mais promissores. Também devem ser realizados estudos acerca do potencial da casca de frutos de *P. nitida* para a indústria de produtos fitoterápicos, bem como da farinha de casca.

ABSTRACT

JUNQUEIRA, Keize Pereira. **Comparative analysis of physical-chemical characteristics of sigh passion fruit, sweet passion fruit and sour passion fruit.** 2006. Cap. 2, 25 p. Dissertation (Master in Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.*

Sigh passion fruit (*Passiflora nitida* Kunth.), native species of South America, belongs to the group of sweet passion fruits and presents a great potential of use *per se*. Currently, the most important species in the market *in natura* are the sweet passion fruit (*P. alata* Curtis) and the sour passion fruit (*P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.). It was objectified, in this work, to analyze comparatively the physical-chemical characteristics of *P. nitida* fruits of Brazilian Savannah (access CPAC MJ-01-10) in relation to commercial species *P. alata* (access CPAC MJ-02-12) and *P. edulis* f. *flavicarpa* (access CPAC MJ-M-09). For each one of the studied species, 25 repetitions have been used, being each one represented by 1 fruit, randomly collected in the collection of Embrapa Cerrados. It has been analyzed fruits weight (FW), longitudinal and transversal diameter (LD and TD), pulp weight increased by seeds weight (PW+SW), pulp weight (PW), seeds weight (SW), rind weight (RW), rind thickness (RT), titratable total acidity (TTA), total soluble solids (TSS) and pH. Regarding the RW characteristic, There was a significant difference among the species to 5% of probability by Tukey's test, and *P. nitida* (75,39 g) and *P. alata* (78,72 g) have presented superior averages than *P. edulis* f. *flavicarpa* (63,92 g). To 1% of probability, *P. nitida* presented the minors averages for FW (102,25 g), PW+SW (26,86 g), PW (12,31 g), LD (77,85 mm) and SW (16,6 g), considering that, for this last one, it did not differ from *P. edulis* f. *flavicarpa* (15,15 g). *P. nitida* presented the biggest average RT (16,67 mm), followed by *P. alata* (9,60 mm) and *P. edulis* f. *flavicarpa* (4,82 mm). *P. nitida* also presented the biggest TD (69,29 mm) and did not differ from *P. edulis* f. *flavicarpa* (71,94 mm), being superior to the *P. alata* (63,04 mm). *P. alata* presented content of TSS (20,89 °Brix) superior to *P. nitida* (13,43 °Brix) and *P. edulis* f. *flavicarpa* (12,83 °Brix), that have not differed between themselves. The average pH for *P. alata* was the biggest amongst the studied species (4,03), followed by *P. nitida* (3,74) and *P. edulis* f. *flavicarpa* (2,98). This last one presented the biggest TTA (3,54%), followed by *P. nitida* (2,07%) and *P. alata* (0,66%). Therefore, *P.*

* Guidance Committee: Dr. José Darlan Ramos – DAG/UFLA (Advisor), Dr. Fábio Gelape Faleiro – Embrapa Cerrados (Co-advisor), Dr. Nilton Tadeu Vilela Junqueira – Embrapa Cerrados.

nitida species possesses good part of the characteristics favorable to its use for the market *in natura*, in resemblance to the sweet passion fruit. Being a wild species, studies involving the election of more promising materials are necessary. Researches concerning the potential of the rind of *P. nitida* fruits for the industry of phytotherapeutic products, such as the rind flour, must be carried through.

1 INTRODUÇÃO

Entre as 130 espécies de maracujá nativas do Brasil, mais de 60 produzem frutos que podem ser aproveitados, direta ou indiretamente, como alimentos. As mais cultivadas no Brasil e no mundo são o maracujá-azedo ou amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.), o maracujá-roxo (*P. edulis* f. *edulis* Sims), muito cultivado na Austrália, e o maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis), que é uma espécie de grande ocorrência no Brasil.

O maracujá-azedo é a principal espécie explorada comercialmente. Sua produção é destinada ao mercado de consumo *in natura* e, principalmente, para a indústria de suco. O maracujá-doce é considerado a segunda espécie, em importância econômica, no Brasil. Seus frutos apresentam polpa adocicada e acidulada, muito saborosa e aromática, motivo pelo qual têm sido destinados prioritariamente para o mercado *in natura*. Os frutos de *P. alata* também podem ser utilizados na forma de suco processado, apesar de Oliveira et al. (1982) e Silva & Tassara (1996) considerarem o seu sabor enjoativo para este fim.

O maracujá-suspiro (*Passiflora nitida* Kunth.) pertence ao grupo dos maracujás doces e apresenta um grande potencial para a utilização *per se*, embora ainda não existam cultivos comerciais e predomine a atividade extrativista. O aproveitamento alimentar desta espécie ainda é muito restrito aos estados da região Norte do país que, até então, era considerada o maior centro de diversidade da espécie no Brasil. Com a descoberta de *P. nitida* vegetando vigorosamente em diversos tipos fitofisionômicos do Cerrado Central, com peculiares características fenotípicas, surgiram melhores perspectivas para a sua exploração econômica. Os acessos provenientes do Cerrado são, notadamente, mais vigorosos e possuem frutos maiores quando comparados àqueles originários do Norte. Oliveira & Ruggiero (2005) já haviam relatado o potencial

desta espécie para comércio *in natura* e estudaram sua aceitabilidade entre os consumidores, obtendo resultados satisfatórios.

Devido ao fato de ainda não existir qualquer seleção de genótipos para *P. nitida*, há grande defasagem de produtividade das plantas cultivadas em relação ao maracujá-azedo. Nas condições do Distrito Federal, o maracujá-suspiro propagado via estaquia inicia a frutificação aos 7 meses após o plantio, ao passo que algumas seleções de maracujá-azedo propagadas da mesma forma produzem aos 3 meses posteriores ao plantio.

As características físico-químicas do maracujá são de grande importância para o melhoramento genético dessa frutífera, pois permitem avaliar as propriedades organolépticas e de sabor dos frutos, garantindo a sua qualidade para o mercado *in natura* ou para a indústria. Atualmente, busca-se, por meio de pesquisas, selecionar genótipos de maracujazeiro mais produtivos e mais resistentes a doenças por meio de cruzamentos convencionais das seleções comerciais com as espécies silvestres (hibridação interespecífica) ou cultivadas (hibridação intraespecífica), por seleção massal e recorrente ou, até mesmo, pela exploração de novas espécies de potencial econômico. O maracujá-suspiro é uma espécie interessante, tanto para ser incorporada a programas de melhoramento, em função da resistência a diversas doenças do maracujazeiro azedo e doce, quanto para a utilização *per se*.

Considerando o potencial comercial de frutos de *P. nitida*, objetivou-se analisar comparativamente as características físico-químicas de frutos desta espécie em relação às espécies comerciais *P. alata* e *P. edulis* f. *flavicarpa*, bem como estimar parâmetros genéticos associados a essas características.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização e genótipos analisados

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fruticultura e Pós-colheita da Embrapa Cerrados (CPAC), localizada em Planaltina, DF, no período de julho de 2005 a março de 2006. Utilizaram-se 25 frutos de cada uma das espécies estudadas (Tabela 1), coletados ao acaso na coleção ativa de germoplasma da Embrapa Cerrados.

TABELA 1. Relação de espécies de maracujazeiro analisadas na Embrapa Cerrados. UFLA, Lavras, MG, 2006.

| Espécie | Nome comum | Acesso | Código |
|---------------------------------------|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| <i>P. nitida</i> | Maracujá -suspiro | Corumbá – GO | CPAC MJ-01-10 |
| <i>P. alata</i> | Maracujá -doce | Distrito Federal | CPAC MJ-02-12 |
| <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> | Maracujá -azedo | EC-2-0 [Híbrido comercial entre F1 ('Roxo Australiano' x 'CSB-Marília') e 'CSB-Marília'] | CPAC MJ-M-09 |

Foi adotado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 25 repetições, sendo cada fruto uma repetição.

2.2 Características físicas e químicas

As análises foram iniciadas 24 horas após a colheita. A princípio, foram realizadas as avaliações físicas de cada fruto, medindo-se o peso e os diâmetros longitudinal e transversal. Os frutos foram despoldados posteriormente com o

uso de peneira plástica ou de liquidificador adaptado. Utilizou-se o método da peneira apenas para a espécie *P. nitida*, tendo em vista a pequena quantidade de polpa por fruto. Neste caso, obteve-se a polpa pressionando-se o conteúdo interno do fruto contra a peneira. Para as demais espécies, utilizou-se liquidificador da marca Wallita Roma, contendo uma peça despoldadora acoplada, ligado, intermitentemente, por 3 a 4 minutos. Em seguida, a polpa foi separada das sementes utilizando-se uma peneira de plástico de malha fina e acondicionada em béquer de 250 ml, devidamente identificado com o número de cada fruto. Após este procedimento, determinaram-se o peso da polpa acrescida das sementes, o peso da polpa, o peso da semente, o volume de suco e a espessura da casca.

As avaliações de diâmetro do fruto e espessura da casca foram realizadas com auxílio de um paquímetro digital. Para a medida da espessura da casca, foi adotado, como padrão, o sentido transversal do fruto. Os pesos de fruto, polpa acrescida de sementes, polpa e sementes foram obtidos utilizando-se balança de precisão de 0,01 g (Ohaus modelo Precision Standard). O volume do suco, em mililitros, foi obtido com o auxílio de uma proveta.

As sementes foram colocadas em copos descartáveis tipo cafezinho e, em seguida, pesadas em balança. O peso da casca foi determinado pela diferença entre o peso da polpa acrescida das sementes e o peso do fruto.

Em seguida, procederam-se as análises químicas. Foram avaliados a acidez total titulável (ATT), o teor de sólidos solúveis totais (SST) e o pH.

O SST foi avaliado sem diluição, em refratômetro digital Atago PR-100 modelo Palette, com compensação automática de temperatura de 20°. O pH do suco foi obtido em aparelho da marca Horiba pH meter M-8L, segundo técnica preconizada AOAC (1990).

A ATT, expressa em percentagem de ácido cítrico, foi determinada pela titulação com hidróxido de sódio (NaOH), a 0,2 N, em 6 ml de suco, usando-se

duas gotas de fenolftaleína 1% como indicador, até atingir coloração rósea, segundo metodologia preconizada por Pregnotatto & Pregnotatto (1985). Após a titulação, anotou-se o volume gasto de NaOH para cada amostra. Para o maracujá, o ácido orgânico predominante é o ácido cítrico (Chitarra & Chitarra, 1990) e, sendo assim, utilizou-se a fórmula abaixo para representar teor de acidez em ácido cítrico:

$$ATT = (V * N * 100/P) * meq$$

Em que:

ATT: porcentagem da acidez titulável em ácido cítrico (%)

V: volume da solução de NaOH gasto (ml)

N: normalidade da solução de NaOH;

P : peso (g) ou volume (ml) de cada amostra inicial;

Meq: miliequivalente ácido cítrico anidro, neste caso 0,0064.

2.3 Teste de médias

As médias de dados das diferentes espécies foram comparadas pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância de cada característica são apresentados nas Tabelas 2 e 3. Verifica-se que há diferenças significativas, pelo teste F, a 1% de probabilidade, entre as espécies, para todas as características, com exceção do peso de casca, em que o teste foi significativo, a 5% de probabilidade.

TABELA 2. Resumo da análise de variância dos dados relativos às variáveis peso de fruto (PF), peso de polpa acrescida de sementes (PP + PS), peso de polpa (PP), peso de sementes (PS), peso de casca (PC) e espessura da casca (EC), avaliados em 3 espécies de maracujazeiro. UFLA, Lavras, MG, 2006.

| Fonte de variação | GL | QM | | | | | |
|-------------------|----|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|
| | | PF | PP + PS | PP | PS | PC | EC |
| Espécies | 2 | 5656,4415** | 7389,2673** | 6888,9567** | 297,6181** | 1085,3409* | 639,2478** |
| Resíduo | 51 | 473,8040 | 237,8505 | 203,0690 | 17,1289 | 280,8636 | 2,3575 |
| CV (%) | - | 17,7392 | 31,5867 | 44,3007 | 24,2237 | 23,0607 | 14,8143 |

**,* : Significativo, a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

TABELA 3. Resumo da análise de variância dos dados relativos às variáveis diâmetro longitudinal (DL), diâmetro transversal (DT), teor de sólidos solúveis totais (SST) e acidez total titulável (ATT), avaliados em 3 espécies de maracujazeiro. UFLA, Lavras, MG, 2006.

| Fonte de variação | GL | QM | | | | |
|-------------------|----|-------------|------------|----------|------------|-----------|
| | | DL | DT | PH | SST | ATT |
| Espécies | 2 | 1007,7482** | 375,8688** | 5,2345** | 361,3739** | 37,3006** |
| Resíduo | 51 | 41,7725 | 29,2641 | 0,0465 | 3,2600 | 0,2965 |
| CV (%) | - | 7,5150 | 7,9447 | 6,0169 | 11,4800 | 26,0921 |

** : Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F.

Com base na comparação entre médias das características físico-químicas de frutos de *P. nitida*, *P. alata* e *P. edulis* f. *flavicarpa*, realizada utilizando-se o teste de Tukey (Tabela 4), observam-se grandes diferenças entre as espécies, ressaltando a grande diversidade dentro do gênero *Passiflora* para tais características. Essa grande diversidade no gênero *Passiflora* já havia sido relatada por diversos autores, incluindo Faleiro et al. (2005), Ferreira & Oliveira (1991) e Paula et al. (2005).

TABELA 4. Médias de peso de fruto (PF), peso de polpa acrescido de sementes (PP + PS), peso de polpa (PP), peso de sementes (PS), peso de casca (PC), espessura de casca (EC), diâmetro longitudinal (DL), diâmetro transversal (DT), pH, teor de sólidos solúveis (SST) e acidez total titulável (ATT) avaliados em 3 espécies de maracujazeiro. UFLA, Lavras, MG, 2006.

| Espécie | Caracteres | | | | | | | | | | |
|------------------------------------------|------------|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|-------|----------------|------------|
| | PF (g) | PP + PS (g) | PP (g) | PS (g) | PC (g) | EC (mm) | DL (mm) | DT (mm) | pH | SST (°Brix) | ATT (%) |
| <i>P. nitida</i> | 102,25 b | 26,86b | 12,51c | 14,35b | 75,39a | 16,67a | 77,85b | 69,29a | 3,74b | 13,46b | 2,07b |
| <i>P. alata</i> | 133,59a | 52,83a | 32,36b | 21,76a | 78,72a | 9,60b | 87,60a | 63,04b | 4,03a | 20,89a | 0,66c |
| <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> | 132,28a | 66,78a | 51,63a | 15,15b | 63,92a | 4,82c | 92,56a | 71,94a | 2,98c | 12,83b | 3,54a |

As médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si, a 1% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Analisando-se as características peso de fruto e peso de polpa acrescida de sementes, *P. nitida* apresentou as menores médias (102,25 g e 26,86 g, respectivamente), não tendo *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. alata* diferido significativamente entre si. As médias de peso observadas para *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. alata* foram, respectivamente, 132,28 e 133,59 g. Para peso de polpa acrescida de sementes, *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. alata* apresentaram, respectivamente, 66,78 e 52,83 g.

O valor de peso observado para *P. nitida* é muito superior aos valores relatados por Pereira (1998) e Oliveira & Ruggiero (1998), para esta espécie, de 35,78 e 45 g, respectivamente. Os baixos valores encontrados por estes autores devem-se, principalmente, ao fato de que os acessos estudados pelos mesmos são procedentes da Amazônia e, no presente estudo, utilizou-se um acesso do Cerrado. Os acessos do Cerrado, geralmente, possuem frutos maiores e são mais vigorosos.

O intervalo de peso citado por diversos autores para o maracujá-azedo encontra-se entre 95,70 a 243,01 g (Collard et al., 2000; Costa et al., 2001; Fortaleza et al., 2005; Martins et al., 2003; Melo, 1999; Nascimento et al., 1999; Nascimento et al., 2003; Oliveira et al., 2002; Veras, 1997). De acordo com Junqueira et al. (1999), existem seleções capazes de produzir frutos com mais de 300 g. A média encontrada para o maracujá-azedo na presente pesquisa (132,28 g), está dentro do intervalo citado na literatura. *P. nitida* apresentou média (102,25 g) próxima ao limite inferior citado para *P. edulis* f. *flavicarpa*.

Segundo Gamarra Rojas (1994), a grande variação nos pesos de frutos encontrada nos diversos trabalhos com maracujá-azedo podem ser consequência da variabilidade intra-específica, além do fato desta espécie ser a mais utilizada em programas de melhoramento genético visando ganhos em várias características, inclusive peso de frutos.

Segundo São José et al. (1999) produções de frutos de maracujá-azedo com peso médio inferior a 120 g podem não ser economicamente viáveis.

Para o maracujá-doce, alguns autores citam valores de peso entre 104,27 g e 342 g (Meletti et al., 2003; Pereira et al., 2005; Vasconcellos & Cereda, 1994; Vasconcellos et al., 2001). A média observada para *P. alata* neste trabalho (133,59 g) encontra-se dentro do intervalo citado. Os valores inferiores constatados em *P. nitida*, em relação às espécies cultivadas devem-se ao fato desta espécie ainda não ter passado por processos de seleção.

Para peso de polpa, observou-se a maior média para *P. edulis* f. *flavicarpa* (51,63 g), seguida por *P. alata* (32,36 g) e *P. nitida* (12,51 g).

Collard et al. (2000), Machado et al. (2003) e Medeiros et al. (2005) citaram peso de polpa de maracujá-azedo variando de 32,2 g a 125,60g. O valor encontrado para esta espécie na presente pesquisa situa-se dentro deste intervalo.

A média encontrada para *P. alata* foi inferior aos valores relatados por Vasconcellos et al. (2001), que citaram de 49,3 a 67,1 g de polpa para alguns acessos de maracujá-doce.

O maracujá-suspiro proporcionou peso de polpa inferior aos valores referidos na literatura para o maracujá-azedo e doce. Entretanto, o valor encontrado é superior ao de outras espécies nativas, como *P. tenuifila* (Braga et al., 2005), *P. foetida* (Aular & Rodriguez, 2003), *P. misera*, *P. galbana* e *P. suberosa* (Pereira et al., 2005).

Em relação a peso de sementes, a maior média foi observada para *P. alata* (21,76 g), seguida por *P. nitida* (14,35 g) e *P. edulis* f. *flavicarpa* (15,15 g), que não diferiram significativamente entre si.

Os pesos de sementes relatados na literatura variam de 7,43 a 35,1 g para o maracujá-azedo (Andrade, 1998, citados por Costa et al., 2001; Costa et al., 2001; Martins et al., 2003; Queirós, 1997, citados por Costa et al., 2001).

Para o maracujá-doce, Pereira et al. (2005) encontraram valor médio de 5,54g por fruto, bem inferior ao encontrado nesta pesquisa para *P. alata*.

Para a característica peso de casca, não houve diferença significativa entre as espécies, a 1% de probabilidade. Entretanto, a 5%, *P. nitida* (75,39 g) e *P. alata* (78,72 g) apresentaram médias superiores a *P. edulis* f. *flavicarpa* (63,92 g) em relação a esta característica. Para espessura de casca, *P. nitida* apresentou a maior média (16,67 mm), seguida por *P. alata* (9,60 mm) e *P. edulis* f. *flavicarpa* (4,82 mm).

Alguns autores citam peso de casca variando de 105,0 a 114,4g no maracujá-azedo (Collard et al., 2000), e de 136,7 a 206,2 g no maracujá-doce (Vasconcellos et al., 2001). Os valores encontrados no presente trabalho para todas as espécies variaram de 63,92 a 78,72 g, sendo, portanto, inferiores aos citados nas referências.

O intervalo para espessura de casca relatado na literatura é de 3,0 a 8,5 mm para o maracujá-azedo (Costa et al., 2001; Fortaleza et al., 2005; Meletti et al., 1994, citados por Nascimento et al., 2003; Nascimento et al., 1999; Nascimento et al., 2003; Oliveira et al., 1988; Queirós, 1997, citados por Costa et al., 2001). As médias encontradas para *P. nitida* e *P. alata* neste trabalho superaram o intervalo citado.

Segundo Oliveira et al. (1988), maior espessura da casca relaciona-se com menor rendimento em suco. Com base nisso, tanto a indústria como o mercado de frutos *in natura* consideram a característica espessura da casca de grande importância.

Assim, considerando-se o maracujá-suspiro uma espécie promissora para o mercado *in natura* dos maracujás-doces, a espessura da casca seria um fator negativo, sendo necessários trabalhos de seleção a fim de encontrar acessos com menor espessura de casca. Caso a seleção não seja suficiente, hibridações interespecíficas com espécies de casca mais fina podem constituir-se numa

alternativa viável. Segundo Meletti et al. (2003), há necessidade de desenvolver-se um padrão para esta característica, ainda inexistente, aliando uma cavidade interna maior com rendimento em polpa.

Entretanto, para outros aspectos, a espessura de casca pode não ser um fator negativo. Segundo Meletti et al. (2003), considerando o mercado de frutas *in natura*, a presença de casca mais fina representa menos descarte para o consumidor, mas também menor resistência mecânica ao transporte e manuseio.

É importante considerar também que o processo produtivo de maracujá não tem seguido apenas as vertentes de produção para consumo *in natura* ou industrial. A produção de casca, antes um subproduto da produção, muitas vezes descartado, tem ocupado uma parcela considerável no sistema produtivo. Muitos produtores, especialmente os pequenos, produzindo maracujá exclusivamente para a produção da farinha de casca.

Gomes (2004), citado por Córdova et al. (2005), ressalta que a casca do maracujá é rica em pectina, niacina (vitamina B3), ferro, cálcio e fósforo. Em humanos, a niacina atua no crescimento e na produção de hormônios, assim como na prevenção de problemas gastrintestinais. Os minerais atuam na prevenção da anemia (ferro), no crescimento e no fortalecimento dos ossos (cálcio), além da formação celular (fósforo). Quanto à composição de fibras, a casca do maracujá constitui em produto vegetal rico em fibra do tipo solúvel (pectinas e mucilagens), benéfica ao ser humano. Ao contrário da fibra insolúvel, contida no farelo dos cereais, que pode interferir na absorção do ferro, a fibra solúvel pode auxiliar na prevenção de doenças (Rocco, 1993; Bina, 2004, citados por Córdova et al., 2005).

Além disso, alguns autores citam outras formas de exploração do maracujá utilizando-se a sua casca. Segundo Oliveira et al. (2002), tanto no Brasil, como no exterior, as cascas foram testadas com relativo sucesso na alimentação animal. Otagaki & Matsumoto (1958) e Ariki et al. (1977), citados

por Oliveira et al. (2002), utilizaram a casca do maracujá na suplementação de rações para vacas leiteiras, suínos e outros animais, permitindo a incorporação de níveis relativamente altos de melaço à ração.

De acordo com Córdova et al. (2005) e Oliveira et al. (2002), o aproveitamento de cascas de frutas, como o maracujá, deve ser mais explorado. Segundo Medina (1980), suas características e propriedades funcionais podem ser utilizadas para o desenvolvimento de novos produtos. A inclusão de uma nova espécie no sistema produtivo com maior rendimento em casca, como *P. nitida*, poderia ser um fator importante para o desenvolvimento deste novo ramo de cultivo do maracujazeiro.

Para diâmetro longitudinal, as maiores médias foram observadas para *P. alata* (87,60 mm) e *P. edulis* f. *flavicarpa* (92,56 mm), que não diferiram significativamente entre si, seguidas por *P. nitida* (77,85 mm).

Em relação à característica diâmetro transversal, as maiores médias foram observadas para *P. nitida* (69,29 mm) e *P. edulis* f. *flavicarpa* (71,94 mm), que não diferiram significativamente entre si, seguidas por *P. alata* (63,04 mm).

Diversos autores estudaram as características diâmetro longitudinal e transversal em maracujá. Segundo Fortaleza et al. (2005), a relação entre o comprimento e o diâmetro dos frutos de maracujá é utilizada para avaliar o formato dos frutos. Frutos destinados à indústria devem ser preferencialmente oblongos, por apresentarem cerca de 10% a mais de suco que os redondos. Entretanto, estes autores, estudando nove genótipos de maracujazeiro azedo, não observaram correlação entre a relação comprimento e diâmetro e rendimento de polpa.

Na literatura, os diâmetros longitudinais relatados para maracujá-azedo variam de 67,1 a 139,0 mm (Collard et al., 2000; Martins et al., 2003; Nascimento et al., 1999; Nascimento et al., 2003; Oliveira et al., 1988) e, para o

maracujá-doce, de 78,0 e 116,0 mm (Vaconcellos et al., 2001; Pereira et al., 2005; Meletti et al., 2003). Os diâmetros transversais relatados para maracujá-azedo variam de 59,8 a 82,0 mm (Collard et al., 2000; Martins et al., 2003; Nascimento et al., 1999; Oliveira et al., 1988) e para o maracujá-doce, de 57,29 a 89,0 mm (Meletti et al., 2003; Pereira et al., 2005; Vaconcellos et al., 2001). O maracujá-azedo, doce e suspiro apresentaram médias dentro dos valores citados para os dois primeiros. O maracujá-suspiro, entretanto, possui formato mais arredondado e o maracujá-doce é o mais oblongo.

Quanto ao pH, *P. alata* apresentou a maior média (4,03), seguida por *P. nitida* (3,74) e *P. edulis* f. *flavicarpa* (2,98). Os valores de pH para o maracujá-azedo estão dentro do intervalo proposto por Nascimento et al. (2003), Collard et al. (2000) e Medeiros et al. (2005). Brasil (1999), citado por Nascimento et al. (2003), estabelece, como padrão para a polpa do maracujá utilizado na indústria, uma variação de 2,7 a 3,8. O maracujá-doce e o maracujá-suspiro apresentaram valores superiores, o que não é uma característica negativa, tendo em vista destinarem-se, principalmente, ao consumo *in natura*.

Em *P. alata* verificou-se o maior teor de sólidos solúveis totais (SST) (20,89), seguida por *P. nitida* (13,46) e *P. edulis* f. *flavicarpa* (12,83), que não diferiram significativamente entre si. Segundo Chitarra & Chitarra (1990), os sólidos solúveis indicam a quantidade, em gramas, dos sólidos que se encontram dissolvidos no suco ou polpa.

Diversos autores estudaram esta característica em maracujá-azedo e doce e relatam valores de 12,70 a 19,5° Brix em *P. edulis* f. *flavicarpa* (Chen et al., 1991; Collard et al., 2000; Costa et al., 2001; Fortaleza et al., 2005; Gamarra Rojas & Medina, 1996; Machado et al., 2003; Medeiros et al., 2005; Nascimento et al., 2003; Silva et al., 2005, citados por Nascimento et al., 2003; Tocchini et al., 1994, citados por Costa et al., 2001) e de 18,4 a 22,8 °Brix em *P. alata* (Meletti et al., 2003; Vasconcellos & Cereda, 1994). Os valores obtidos para *P.*

alata e *P. edulis* f. *flavicarpa* no presente trabalho concordam com aqueles relatados na literatura. O teor de sólidos solúveis totais constatado para *P. nitida* está compreendido no intervalo relatado para *P. edulis* f. *flavicarpa*.

Segundo Nascimento et al. (2003), para a indústria e, principalmente, para o mercado de frutos *in natura*, o teor elevado de SST é uma característica desejável. Para a indústria, são necessários 11 kg de frutos com SST, entre 11% a 12%, para a obtenção de 1 kg de suco concentrado a 50 °Brix. Assim sendo, quanto mais alto o valor de SST, menor será a quantidade de frutos necessária para a concentração do suco.

De acordo com Meletti et al. (2005), o teor de SST é importante para elevar a relação açúcares/acidez e tornar o fruto mais adocicado e, por isso, mais aceito em países europeus (Souza & Sandi, 2001, citados por Meletti et al., 2005). O elevado teor de SST dispensa, ainda, o uso de açúcar quando consumido (Toda Fruta, 2002, citado por Meletti et al., 2005).

Para a característica acidez total titulável (ATT), o maior valor observado foi para *P. edulis* f. *flavicarpa* (3,54), seguida por *P. nitida* (2,07) e *P. alata* (0,66).

Collard et al. (2000), Costa et al. (2001), Fortaleza et al. (2005), Medeiros et al. (2005), Nascimento et al. (2003), Silva et al. (2005), Veras (1997) observaram valores para a porcentagem de ácido cítrico no maracujá-azedo variando de 2,29% a 5,08%. A média observada para esta espécie, na presente pesquisa (3,54%), encontra-se dentro do intervalo citado na literatura.

Muller (1977), citado por Collard et al. (2000), ressalta que, ao contrário do consumo *in natura*, para a industrialização, é importante que os frutos apresentem elevada acidez total titulável, o que diminui a adição de acidificantes e propicia melhoria nutricional, segurança alimentar e qualidade organoléptica. Ritzinger et al. (1989), citados por Machado et al. (2003), afirmam que a

composição dos frutos de maracujá-azedo pode ser influenciada por fatores climáticos, principalmente no que se refere à acidez.

Vasconcellos & Cereda (1994) e Veras (1997) relataram valores de ATT variando entre 0,7% e 2,05% para o maracujá-doce. A média observada para *P. alata* (0,66%), no presente trabalho, encontra-se próxima do limite inferior do intervalo citado na literatura. *P. nitida* apresentou um padrão de acidez intermediário entre o maracujá-doce e o azedo, embora se aproxime do valor máximo relatado na literatura para *P. alata*.

4 CONCLUSÕES

A comparação das médias das características de *Passiflora nitida* com as espécies comerciais *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. alata* mostra algumas características peculiares de *P. nitida*, como a maior espessura de casca e valores intermediários de pH e acidez total titulável.

Para a utilização *per se*, *P. nitida* deve ser inserida em programas de melhoramento, a fim de selecionar acessos com maior produção de polpa e menor espessura de casca.

Maiores estudos acerca do potencial da casca de *P. nitida* para a obtenção de farinha de casca e demais produtos relacionados devem ser realizados.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15. th. Arlington, 1990. v. 1, p. 685-1213.

AULAR, J.; RODRIGUEZ, Y. Algunas características físicas y químicas del fruto de cuatro especies de *Passiflora*. **Bioagro**, Barquisimetto, v. 15, n. 1, p. 41-46, ene. 2003.

BRAGA, M. F.; BATISTA, A. D. B.; JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNQUEIRA, K. P.; VAZ, C. F.; SANTOS, E. C.; SANTOS, F. C. Características agronômicas, físicas e químicas do maracujá-alho (*Passiflora tenuifila* Killip.) cultivado no Distrito Federal. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISAS EM MARACUJAZEIRO, 4., 2005, Planaltina, DF. **Quarta...** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 86-90.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças:** fisiologia e manuseio. Lavras: ESAL/Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão, 1990. 293 p.

COLLARD, F. H.; ALMEIDA, A.; COSTA, M. D. R.; ROCHA, M. C. Efeito do uso do biofertilizante Agrobio na cultura do maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg). **Revista Biociências**, Taubaté, v. 7, n. 1, p. 15-21, jan./jun. 2000.

CÓRDOVA, K. R. V.; GAMA, T. M. M. T. B.; WINTER, C. M. G.; NETO, G. K.; FREITAS, R. J. S. Características físico-químicas da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa* Degener) obtida por secagem. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimento**, Curitiba, v. 23, n. 2, p. 221-230, jul./dez. 2005.

COSTA, J. R. M.; LIMA, C. A. A.; LIMA, E. D. P. A.; CAVALCANTE, L. F.; OLIVEIRA, F. K. D. Caracterização dos frutos de maracujá amarelo irrigados com água salina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 5, n. 1, p. 143-146, jan./ago. 2001.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; BELLON, G.; PEIXOTO, J. R. Diversidade genética variedades comerciais de maracujazeiro-azedo com base em marcadores RAPD. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISAS EM MARACUJAZEIRO, 4., 2005, Planaltina, DF. **Quarta...** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 105-109.

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.

FORTALEZA, J. M.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V.; OLIVEIRA, A. T.; RANGEL, L. E. P. Características físicas e químicas em nove genótipos de maracujá-azedo cultivado sob três níveis de adubação potássica. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 124-127, abr. 2005.

GAMARRA ROJAS, G. **Desenvolvimento do fruto do maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.)** 1994. 72 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Agronomia. Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas, BA.

GAMARRA ROJAS, G.; MEDINA, V. M. Mudanças bioquímicas do suco de maracujá-amarelo em função da idade do fruto. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 18, n. 1, p. 75-83, 1996.

JUNQUEIRA, N. T. V.; ANJOS, J. R. N. dos; SHARMA, R. D.; SANZONWICZ, C.; ANDRADE, L. R. M. de. Doenças do maracujazeiro. In: ENCONTRO DE FITOPATOLOGIA, 3., 1999, Viçosa, MG. **Doenças de Frutíferas Tropicais**. Viçosa: UFV, 1999. P. 83-115.

MACHADO, S. S.; CARDOSO, R. L.; MATSUURA, F. C. A. U.; FOLEGATTI, M. I. S. Caracterização física e físico-química de frutos de maracujá amarelo provenientes da região de Jaguaquara – Bahia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 8, p. 1005-1010, 2003.

MARTINS, M. R.; OLIVEIRA, J. C.; MAURO, A. O.; SILVA, P. C. Avaliação de populações de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis) obtidas de polinização aberta. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 111-114, abr. 2003.

MEDEIROS, S. A. F.; YAMANISHI, O. K.; PEIXOTO, J. R.; PIRES, M. C.; RIBEIRO, J. G. B. L.; JUNQUEIRA, N. T. V. Caracterização físico-química de genótipos de maracujá-roxo e maracujá-amarelo cultivados no Distrito Federal. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISAS EM MARACUJAZEIRO, 4., 2005, Planaltina, DF. **Quarta...** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 147-151.

MEDINA, J. C. **Alguns aspectos tecnológicos das frutas tropicais e seus produtos**. São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento de São Paulo, 1980. 295 p. (Série Frutas Tropicais).

MELETTI, L. M. M.; BERNACCI, L. C.; SOARES-SCOTT, M. D.; FILHO, J. A. A.; MARTINS, A. L. M. Variabilidade genética em caracteres morfológicos, agrônômicos e citogenéticos de populações de maracujazeiro-doce (*Passiflora*

alata Curtis). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 275-278, ago. 2003.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; PASSOS, I. R. S. Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina - Distrito Federal: Embrapa Cerrados, 2005. p. 81-106.

MELO, K. T. **Comportamento de seis cultivares de maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims e *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) em Vargem Bonita, no Distrito Federal**. 1999. 101 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e medicina Veterinária, Brasília.

NASCIMENTO, T. B.; RAMOS, J. D.; MENEZES, J. B. Características físicas do maracujá-amarelo produzido em diferentes épocas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 12, p. 2353-2358, dez. 1999.

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

OLIVEIRA, J. C. de; FERREIRA, F. R.; RUGGIERO, C.; NAKAMURA, L. Caracterização e avaliação de germoplasma de *Passiflora edulis*. In: CONGRESSO BRASILEIRO FRUTICULTURA, 9., 1988, Campinas. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira Fruticultura, 1988. v. 2, p. 591-596.

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

OLIVEIRA, J. C. de; RUGGIERO, C. Espécies de maracujá com potencial agrônomico. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 143-158.

OLIVEIRA, J. C. de; SALOMÃO, T. A.; RUGGIERO, C.; ROSSINI, A. C. Variações observadas em frutos de *Passiflora alata* Ait. **Proceedings of the**

Tropical Region – American Society for Horticultural Science, v. 25, p. 343-345, 1982.

OLIVEIRA, L. F.; NASCIMENTO, M. R. F.; BORGES, S. V.; RIBEIRO, P. C. N.; RUBACK, V. R. Aproveitamento alternativo da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) para produção de doce em calda. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 3, p. 259-262, set./dez. 2002.

PAULA, M. S.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, K. P.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. Diversidade genética de espécies de *Passiflora*, potenciais fontes de resistência a doenças, com base em marcadores RAPD. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISAS EM MARACUJAZEIRO, 4., 2005, Planaltina, DF. **Quarta...** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 100-104.

PEREIRA, M. C. N. **Fenologia, Produção e Conservação de Frutos de *Passiflora nitida* H. B. K. nas condições de Jaboticabal – SP.** 1998. 74 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

PEREIRA, T. N. S.; NICOLI, R. G.; MADUREIRA, H. C.; JUNIOR, P. C. D.; GABURRO, N. O. P.; COUTINHO, K. Caracterização morfológica e reprodutiva de espécies silvestres do gênero *Passiflora*. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISAS EM MARACUJAZEIRO, 4., 2005, Planaltina, DF. **Quarta...** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 29-34.

PREGNOLLATTO, W.; PREGNOLLATTO, N. P. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz.** 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. v. 1, p. 26.

SÃO JOSÉ, A. R.; REBOUÇAS, T. N. H.; BONFIM, M. P.; PIRES, M. M. Situação regional da cultura do maracujá – Nordeste. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISAS EM MARACUJAZEIRO, 1999, Londrina: IAPAR/SBF, 1999. p. 4-10.

SILVA, S.; TASSARA, H. **Frutas do Brasil.** São Paulo. Empresas das Artes, 1996. 230 p.

SILVA, T. V.; RESENDE, E. D.; VIANA, A. P.; ROSA, R. C. C.; PEREIRA, S. M. F.; CARLOS, L. A.; VITORAZI, L. Influência dos estádios de maturação na qualidade do suco do maracujá-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v. 27, n. 3, p. 472-475, dez. 2005.

VASCONCELLOS, M. A. da S.; BRANDÃO FILHO, J. U. T.; VIEITES, R. L. Maracujá-doce. In: BRUCKNER, C. K.; PICANÇO, M. C. **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado.** Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001. p. 387-408.

VASCONCELLOS, M. A. da 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.

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 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CAPÍTULO 3

VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE MARACUJÁ- SUSPIRO (*Passiflora nitida* Kunth.) COM BASE EM MARCADORES MOLECULARES

RESUMO

JUNQUEIRA, Keize Pereira. **Variabilidade genética de acessos de maracujá-suspiro (*Passiflora nitida* Kunth.) com base em marcadores moleculares.** 2006. Cap. 3, 18p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Passiflora nitida é uma espécie silvestre amplamente distribuída pelo território brasileiro, constituindo-se em fonte de resistência a doenças foliares e de raízes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a variabilidade genética entre acessos de *P. nitida* procedentes de diferentes tipos fitofisionômicos de Cerrado e estados brasileiros (Goiás, Distrito Federal, Tocantins, Mato Grosso e Amazonas) utilizando marcadores moleculares RAPD. O DNA genômico de cada acesso foi extraído e doze *primers* decâmeros foram utilizados para a obtenção de marcadores moleculares RAPD, que foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os acessos e realizadas análises de agrupamento e de dispersão gráfica. Foram obtidos 196 marcadores para *P. nitida*, dos quais 63,81% foram polimórficos. As distâncias genéticas entre os acessos de maracujá variaram de 0,031 a 0,614 e, considerando apenas *P. nitida*, de 0,031 a 0,417. Os marcadores moleculares demonstraram uma alta variabilidade genética dos acessos de *P. nitida*. Menores distâncias genéticas foram verificadas entre os acessos originados do mesmo estado. Considerando-se os acessos de um mesmo estado, menores distâncias genéticas foram verificadas entre os acessos provenientes de tipos fitofisionômicos próximos. O acesso “Manaus 2” apresentou o maior distanciamento genético em relação aos demais acessos.

* Comitê Orientador: Dr. José Darlan Ramos – DAG/UFLA (Orientador), Dr. Fábio Gelape Faleiro – Embrapa Cerrados (Co-orientador), Dr. Nilton Tadeu Vilela Junqueira – Embrapa Cerrados.

ABSTRACT

JUNQUEIRA, Keize Pereira. **Genetic variability of wild passion fruit (*Passiflora nitida* Kunth.) determined by molecular markers.** 2006. Cap. 3, 18 p. Dissertation (Master in Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.*

Passiflora nitida is a wild species widely distributed in Brazilian territory. It is a source of resistance to foliar and soil borne diseases. The objective of this work was to evaluate the genetic variability among accessions of *P. nitida* proceeding from different types of Cerrado (Brazilian savannah) vegetation and Brazilian states (Goiás, Distrito Federal, Tocantins, Mato Grosso and Amazonas) using RAPD molecular markers. The genomic DNA of each origin was extracted and amplified using 12 decamer primers to obtain RAPD molecular markers. These markers were transformed in binary matrix data to estimate genetic distances among accessions and to perform cluster and graphical dispersion analysis. It was obtained 196 markers, of which 63.81% were polymorphic to *P. nitida* accessions. The genetic distances among accessions of *Passiflora* species ranged from 0.031 to 0.614 and among *P. nitida* accessions ranged from 0.031 to 0.417. It was observed high genetic variability among *P. nitida* accessions. Lower genetic distances was verified among accessions of the same Brazilian state. In the same state, lower genetic distances was found among accessions from similar Cerrado vegetation types. The accession named “Manaus 2” presented greatest genetic distance in comparison with others accessions.

* Guidance Committee: Dr. José Darlan Ramos – DAG/UFLA (Advisor), Dr. Fábio Gelape Faleiro – Embrapa Cerrados (Co-advisor), Dr. Nilton Tadeu Vilela Junqueira – Embrapa Cerrados.

1 INTRODUÇÃO

Passiflora nitida Kunth. é uma espécie de maracujá de ocorrência em grande parte do território nacional. Acessos silvestres dessa espécie já foram coletados nos estados do Amazonas, Pará, Piauí, Mato Grosso, Tocantins, Goiás, Bahia, Minas Gerais e Distrito Federal. No Cerrado, pode ser facilmente encontrada em matas ciliares, veredas, cerradão, cerrado *stricto sensu* e até em matas secas. Entretanto, até o relato de Junqueira et al. (2006), esta espécie era citada como ocorrente apenas na região Norte do Brasil, em terras baixas do trópico úmido da América do Sul (Villachica, 1996, citado por Oliveira & Ruggiero, 2005) e, segundo Oliveira & Ruggiero (2005), não poderia ser encontrada dentro de mata ou vegetando a pleno sol. Porém, há acessos de Cerrado ocorrendo desde matas ciliares a chapadas, respectivamente, mata e a pleno sol, inclusive em altitudes de até 1.600 m, em Alto Paraíso, estado de Goiás. Os acessos provenientes de matas crescem e se desenvolvem sobre a vegetação arbórea ou arbustiva existente.

Entre os acessos de *P. nitida* mantidos na coleção da Embrapa Cerrados, oriundos de várias regiões do centro-norte do país, pode-se observar grande variabilidade fenotípica entre formatos e tamanho de frutos, espessura de casca, aroma, cor da casca e da polpa, sabor, bem como na produtividade e resistência a doenças foliares.

Para analisar a origem genética dessa variabilidade fenotípica, objetivou-se realizar o estudo da variabilidade de 17 acessos de *P. nitida* mantidos no banco de germoplasma da Embrapa Cerrados, por meio de marcadores moleculares RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Embrapa Cerrados. Foram analisados 17 acessos de *Passiflora nitida*. Um acesso de *P. edulis* f. *flavicarpa* e um de *P. alata* foram utilizados como “outgroups” (Tabela 1). Folhas em estágio intermediário de maturação foram coletadas e o DNA genômico extraído, utilizando-se o método do CTAB, com algumas modificações (Faleiro et al., 2003).

Amostras de DNA de cada material genético foram amplificadas para a obtenção de marcadores RAPD. As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 13 µL, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, MgCl₂ 3 mM, 100 µM de cada um dos desoxirribonucleotídeos (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 0,4 µM de um *primer* (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA), uma unidade da enzima Taq polimerase e, aproximadamente, 15 ng de DNA. Foram utilizados 12 *primers* decâmeros: OPD (04, 07, 08 e 16), OPE (18 e 20), OPF (01 e 14), OPG (08) e OPH (12, 16 e 17).

As amplificações foram efetuadas em termociclador programado para 40 ciclos, cada um constituído pela seguinte seqüência: 15 segundos a 94°C, 30 segundos a 35°C e 90 segundos a 72°C. Após os 40 ciclos, foi feita uma etapa de extensão final de seis minutos a 72°C e, finalmente, a temperatura foi reduzida para 4 °C. Após a amplificação, foram adicionados, a cada amostra, 3 µl de uma mistura de azul de bromofenol (0,25%) e glicerol (60%), em água. Essas amostras foram aplicadas em gel de agarose (1,2%), corado com brometo de etídio, submerso em tampão TBE (Tris-Borato 90 mM, EDTA 1 mM). A separação eletroforética foi de, aproximadamente, quatro horas, a 90 volts. Ao término da corrida, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta.

TABELA 1. Acessos de maracujazeiro analisados, com os respectivos locais de coleta e códigos do Banco de Germoplasma da Embrapa Cerrados. UFLA, Lavras, MG, 2006.

| Nº | Espécie | Acesso | Estado | Código |
|-----------|-----------------------------------------------|---------------------------------------|---------------|---------------|
| 1 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "N. R. São José" (Chapada) | DF | CPAC MJ-01-01 |
| 2 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "N. R. São José" (Vereda) | DF | CPAC MJ-01-02 |
| 3 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "Vale do Amanhecer" (Vereda) | DF | CPAC MJ-01-03 |
| 4 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "Jardim Botânico" (Cerradão) | DF | CPAC MJ-01-04 |
| 5 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "Silvânia" (Mata Ciliar) | GO | CPAC MJ-01-05 |
| 6 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "Silvânia" (Chapada) | GO | CPAC MJ-01-06 |
| 7 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "Alto Paraíso" (Mata Ciliar) | GO | CPAC MJ-01-01 |
| 8 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "Corumbá" (Mata seca) | GO | CPAC MJ-01-01 |
| 9 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "Itiquira 1" | MT | CPAC MJ-01-07 |
| 10 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "Itiquira 2" | MT | CPAC MJ-01-08 |
| 11 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "Natividade" | TO | CPAC MJ-01-01 |
| 12 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "Natividade" (Com. Casa de Telha) | TO | CPAC MJ-01-01 |
| 13 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "Natividade" (Com. do Brejão) | TO | CPAC MJ-01-01 |
| 14 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "Palmas-TO" | TO | CPAC MJ-01-01 |
| 15 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "Manaus 1" (Rio Urubu) | AM | CPAC MJ-01-01 |
| 16 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "Manaus 2" (Distrito Agropecuário) | AM | CPAC MJ-01-01 |
| 17 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "Manaus 3" | AM | CPAC MJ-01-01 |
| 18 | <i>Passiflora alata</i> comercial | "Seleção FAL" | DF | CPAC MJ-02-11 |
| 19 | <i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> | "GA-2" | DF | CPAC MJ-M-01 |

Os marcadores RAPD gerados foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os diferentes acessos, com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei & Li (1979), utilizando-se o Programa Genes (Cruz, 1997). A matriz de distâncias genéticas foi utilizada para realizar análises de agrupamento por meio de dendrograma, utilizando-se o método do UPGMA (*Unweighted pair-group arithmetic average*) como critério de agrupamento e a dispersão gráfica baseada em escalas multidimensionais usando o método das coordenadas principais, com auxílio do Programa SAS (SAS Institute, 1989) e Statistica (Statsoft, 1999).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 12 *primers* decâmeros geraram um total de 196 marcadores RAPD, perfazendo uma média de 16,3 marcadores por *primer*. O padrão de amplificação de amostras de DNA, gerado pelo *primer* OPD-04 está ilustrado na Figura 1. Do total de marcadores, considerando-se apenas os acessos de *P. nitida*, 125 (63,81%) foram polimórficos (Tabela 2). A alta média de marcadores por *primer* e a alta porcentagem de marcadores polimórficos dentro da espécie *P. nitida* evidenciam a presença de alta variabilidade genética intra-específica. Alta variabilidade genética interespecífica foi verificada ao analisarem-se as bandas polimórficas dos acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. alata* (“outgroups”) em relação aos acessos de *P. nitida*. Faleiro et al. (2004) e Pio Viana et al. (2003) já haviam relatado a alta variabilidade genética interespecífica no gênero *Passiflora* com base em marcadores RAPD.

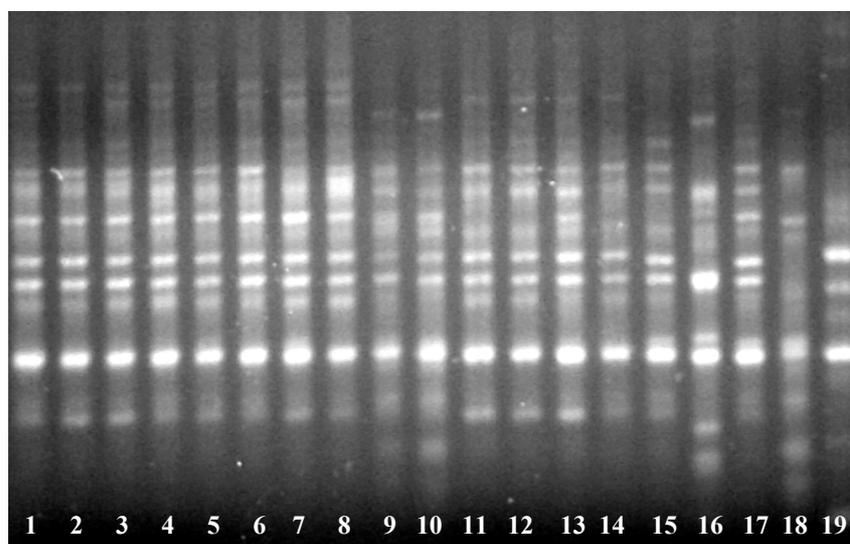


FIGURA 1. Produto de amplificação de amostras de DNA genômico de 19 acessos de maracujazeiro obtidos com o uso do *primer* decâmero OPD-04. Os números correspondem aos acessos da Tabela 1.

TABELA 2. *Primers* utilizados para a obtenção dos marcadores RAPD e respectivos números de bandas polimórficas e monomórficas, considerando-se apenas os acessos de *P. nitida*. UFLA, Lavras, MG, 2006.

| <i>Primer</i> | Seqüência 5'→3' | Nº de bandas polimórficas | Nº de bandas monomórficas |
|---------------|-----------------|---------------------------|---------------------------|
| OPD-04 | TCTGGTGAGG | 16 | 13 |
| OPD-07 | TTGGCACGGG | 27 | 1 |
| OPD-08 | GTGTGCCCCA | 8 | 5 |
| OPD-16 | AGGGCGTAAG | 12 | 9 |
| OPE-18 | GGA CTGCAGA | 2 | 6 |
| OPE-20 | AACGGTGACC | 7 | 4 |
| OPF-01 | ACGGATCCTG | 3 | 7 |
| OPF-14 | TGCTGCAGGT | 12 | 5 |
| OPG-08 | TCACGTCCAC | 9 | 3 |
| OPH-12 | ACGCGCATGT | 15 | 4 |
| OPH-16 | TCTCAGCTGG | 6 | 7 |
| OPH-17 | CACTCTCCTC | 8 | 7 |
| TOTAL | | 125 | 71 |

De acordo com Lopes (1991), o gênero *Passiflora* é originário da América do Sul, com o centro-norte do Brasil, seu maior centro de dispersão geográfica, fato que pode explicar a grande variabilidade dos acessos estudados. Ganga et al. (2004) ressaltam que a diversidade de locais de coleta implica diferentes capacidades adaptativas dos acessos analisados, o que é de extremo interesse para programas de melhoramento genético visando à obtenção de variedades adaptadas a diferentes regiões ou sistemas agrícolas do país. Segundo esses autores, a avaliação da divergência genética possibilita selecionar combinações com maiores possibilidades de complementação gênica e recuperação de genótipos superiores nas gerações segregantes.

Bianchi et al. (2003), Salla et al. (2002), Sawazaki et al. (2002), utilizando marcadores RAPD, também encontraram elevado polimorfismo entre acessos de aceroleira (*Malpighia emarginata*), pereira (*Pyrus* spp.) e ameixeira (*Prunus* spp.), respectivamente.

Crochemore et al. (2003a), estudando características agromorfológicas de *Passiflora edulis*, *P. alata*, *P. coccinea*, *P. caerulea*, *P. foetida*, *P. gibertii*, *P. macrocarpa*, *P. macrocarpa* x *P. alata*, *P. serrato digitata*, *P. suberosa* e um acesso de *Passiflora* spp., observaram ampla divergência genética entre as espécies. Entretanto, apesar dos descritores utilizados mostrarem grande variação dentro do grupo *P. edulis*, também relatada por Aukar et al. (2002), limitada variabilidade foi encontrada dentro do grupo *flavicarpa*. Essa observação foi também confirmada por Crochemore et al. (2003b).

Fajardo et al. (1998), utilizando marcadores RAPD, observaram uma grande variação intra-específica em *P. ligularis* e *P. adenopoda*, enquanto que em *P. edulis* e *P. maliformis* houve pouca variabilidade.

Segundo Ganga et al. (2004), um dos fatores que podem explicar a elevada diversidade existente na mesma espécie é o fato da maioria das espécies de maracujá serem alógamas, com presença de um sistema genético de auto-

incompatibilidade que favorece a polinização cruzada e, conseqüentemente, o fluxo gênico entre genótipos distintos, inclusive entre espécies.

As distâncias genéticas entre os 19 acessos de maracujá variaram entre 0,031 e 0,614 (Tabela 3), e os maiores valores observados referem-se à distância entre as espécies comerciais (*P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. alata*) e os acessos de *P. nitida*. Considerando apenas os acessos de *P. nitida*, as distâncias genéticas variaram entre 0,031 a 0,417, com uma média de 0,209. O acesso que mais diferenciou dos demais foi o “Manaus 2” com uma distância média de 0,388.

TABELA 3. Matriz de distâncias entre 19 acessos de maracujazeiro, baseada em 196 marcadores RAPD. UFLA, Lavras, MG, 2006.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | - | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 0,047 | - | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 0,080 | 0,040 | - | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 0,063 | 0,031 | 0,037 | - | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 0,063 | 0,052 | 0,033 | 0,037 | - | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | 0,080 | 0,058 | 0,073 | 0,062 | 0,040 | - | | | | | | | | | | | | |
| 7 | 0,099 | 0,064 | 0,091 | 0,082 | 0,092 | 0,073 | - | | | | | | | | | | | |
| 8 | 0,125 | 0,092 | 0,116 | 0,115 | 0,112 | 0,100 | 0,095 | - | | | | | | | | | | |
| 9 | 0,205 | 0,219 | 0,218 | 0,241 | 0,223 | 0,241 | 0,237 | 0,184 | - | | | | | | | | | |
| 10 | 0,224 | 0,227 | 0,216 | 0,226 | 0,231 | 0,247 | 0,234 | 0,214 | 0,118 | - | | | | | | | | |
| 11 | 0,193 | 0,195 | 0,170 | 0,176 | 0,153 | 0,176 | 0,169 | 0,188 | 0,236 | 0,185 | - | | | | | | | |
| 12 | 0,265 | 0,260 | 0,263 | 0,256 | 0,228 | 0,236 | 0,231 | 0,238 | 0,303 | 0,283 | 0,110 | - | | | | | | |
| 13 | 0,272 | 0,267 | 0,265 | 0,268 | 0,244 | 0,252 | 0,215 | 0,229 | 0,313 | 0,272 | 0,139 | 0,050 | - | | | | | |
| 14 | 0,214 | 0,216 | 0,225 | 0,230 | 0,193 | 0,189 | 0,186 | 0,182 | 0,283 | 0,239 | 0,146 | 0,141 | 0,143 | - | | | | |
| 15 | 0,238 | 0,217 | 0,225 | 0,244 | 0,212 | 0,209 | 0,210 | 0,198 | 0,298 | 0,263 | 0,227 | 0,229 | 0,215 | 0,179 | - | | | |
| 16 | 0,391 | 0,395 | 0,403 | 0,396 | 0,368 | 0,351 | 0,399 | 0,372 | 0,416 | 0,371 | 0,394 | 0,404 | 0,405 | 0,320 | 0,417 | - | | |
| 17 | 0,250 | 0,229 | 0,225 | 0,236 | 0,224 | 0,244 | 0,243 | 0,193 | 0,263 | 0,235 | 0,225 | 0,285 | 0,253 | 0,224 | 0,146 | 0,405 | - | |
| 18 | 0,471 | 0,490 | 0,494 | 0,497 | 0,497 | 0,509 | 0,526 | 0,488 | 0,430 | 0,432 | 0,493 | 0,577 | 0,545 | 0,526 | 0,510 | 0,515 | 0,470 | - |
| 19 | 0,581 | 0,550 | 0,556 | 0,528 | 0,573 | 0,559 | 0,564 | 0,552 | 0,569 | 0,527 | 0,540 | 0,552 | 0,583 | 0,559 | 0,563 | 0,614 | 0,524 | 0,475 |

67

* O número do acesso é o mesmo da Tabela 1.

A partir da análise de agrupamento realizada com base nas distâncias genéticas, subdividiram-se os 19 acessos em, pelo menos, 7 grupos de similaridade genética, sendo 5 grupos dentro da espécie *Passiflora nitida* (Figura 2). Observou-se que os agrupamentos dos acessos de *P. nitida* relacionaram-se com a origem geográfica dos mesmos. As distâncias entre os acessos e a distribuição dos mesmos nos grupos de similaridade podem ser também observadas no gráfico de dispersão (Figura 3).

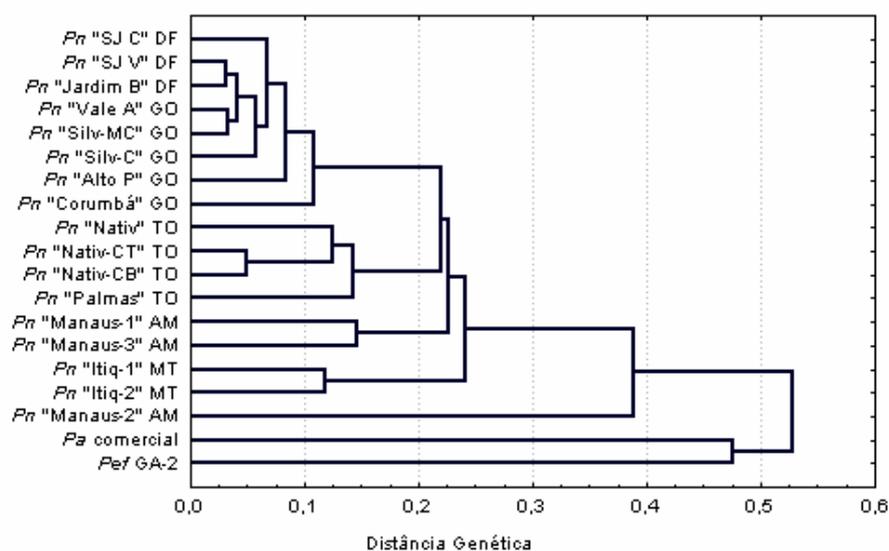


FIGURA 2. Análise de agrupamento de 19 acessos de maracujazeiro com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 196 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

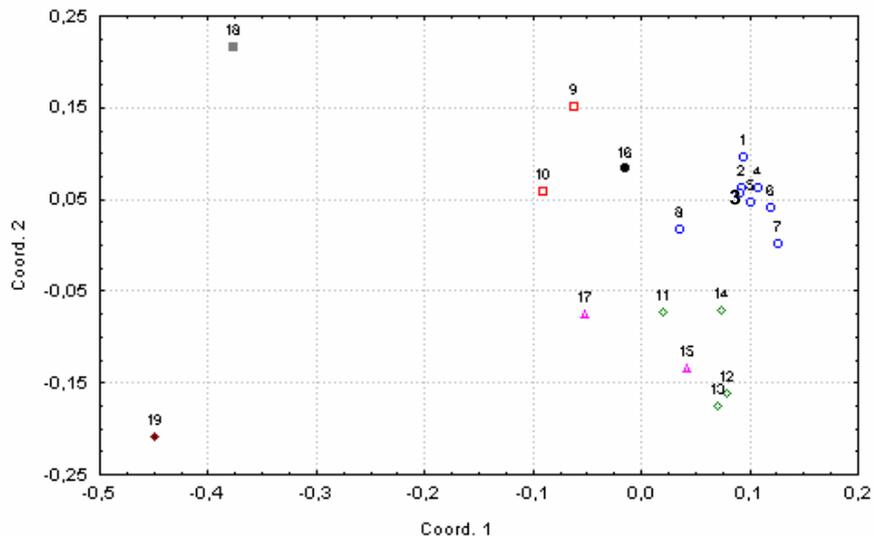


FIGURA 3. Dispersão gráfica de 19 acessos de maracujazeiro com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 196 marcadores RAPD. Os números correspondem aos acessos da Tabela 1.

Os resultados não concordam com aqueles obtidos por Ganga et al. (2004) que, estudando a diversidade genética de 18 acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa* por meio de marcadores fAFLP, não observaram estruturação geográfica em relação à similaridade entre acessos de mesmo estado ou região, exceto para dois acessos provenientes de Rondônia. Para estes acessos, os autores já esperavam a proximidade genética observada, tendo em vista que os materiais foram coletados na mesma propriedade.

A ausência de correlação entre grau de similaridade genética e procedência de acessos também foi obtida por Salla et al. (2002), que estudaram a variabilidade genética de 24 acessos de aceroleiras (*Malpighia emarginata*) por RAPD. Yee et al. (1999), citados por Salla et al. (2002), analisando acessos de *Vigna angularis*, também não observaram agrupamento de acessos de mesma

procedência. Neste caso, os autores apontaram para a possibilidade de que a origem dos acessos diferia do local de coleta.

Por outro lado, Crochemore et al. (2003a), estudando 34 acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa*, observaram possível estruturação baseada em pequena divergência genética, associada a mesma origem de região geográfica, no subgrupo integrado pelos acessos IA11, do Espírito Santo, IA86, IA65, ambos de Minas Gerais e BG18, de São Paulo.

Gaia et al. (2004), analisando a diversidade genética de 18 acessos de pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.) por meio de marcadores RAPD, concluíram que os padrões da diversidade acompanharam os padrões de distribuição geográfica. O mesmo foi relatado por Sawazaki et al. (1998) em palmeiras do gênero *Euterpe*.

No presente trabalho, o maior grupo foi formado por 8 acessos, todos procedentes do Distrito Federal e Goiás. Dentro deste grupo, pode-se verificar maior similaridade entre os acessos *P. nitida* “São José” de vereda e *P. nitida* “Jardim Botânico” de cerradão (0,031) e entre *P. nitida* “Vale do Amanhecer” de vereda e *P. nitida* “Silvânia” de mata ciliar (0,033). Dentro deste grupo, o material que mais se distanciou geneticamente foi *P. nitida* “Corumbá” de mata seca, que corresponde a um material originário de uma fitofisionomia mais seca. Por outro lado, os acessos procedentes dos tipos fitofisionômicos mais úmidos, como mata ciliar e vereda, aproximaram-se mais, do ponto de vista genético.

Também foram formados grupos envolvendo acessos de *P. nitida* procedentes de Tocantins, Mato Grosso e Amazonas, com exceção de “Manaus 2”, que se distanciou muito dos acessos procedentes do Amazonas e dos demais. Tal acesso apresentou distância genética de até 0,416 em relação a outro acesso da mesma espécie, *P. nitida* “Itiquira 1”. Considerando-se toda a base genética do gênero *Passiflora* já estudada (Bellon et al., 2005; Faleiro et al., 2004, 2005; Paula et al., 2005) este valor é bastante elevado. Portanto, há possibilidade de tal

material ser um híbrido interespecífico de *P. nitida* com outra espécie geneticamente compatível ou contituir-se em outra espécie de *Passiflora*. Assim, trabalhos mais apurados envolvendo este acesso devem ser realizados levando em consideração os aspectos morfoagrômicos e genéticos.

A importância do estudo da variabilidade em *Passiflora* está em monitorar a hibridação interespecífica, visando à introgressão de genes das espécies silvestres para as cultivadas, além de definir quais as populações e espécies que poderão ser utilizadas em programas de melhoramento (Pio Viana et al., 2003).

Segundo Ganga et al. (2004), a identificação de genitores com alta divergência tem sido o objetivo de muitos trabalhos de melhoramento para que, realizada a hibridação, ocorra uma segregação tal na progênie que aumente as possibilidades de ocorrência de genótipos superiores com constituições ajustadas ao ambiente. No caso de espécies nativas, como *P. nitida*, a ocorrência de variabilidade genética entre acessos pode resultar em características agrômicas divergentes e interessantes para hibridações interespecíficas com espécies de importância comercial, como resistência a doenças. Entretanto, para validar esta abordagem, deve-se aliar as informações obtidas por meio de técnicas moleculares ao desempenho destes materiais em condições de cultivo, orientando programas de melhoramento. Assim, a caracterização morfoagrômica de germoplasma torna-se necessária, visando assegurar informações sobre fontes de genes para utilização futura que, além de prevenirem a perda desses recursos, também são fundamentais para o sucesso da produção agrícola.

4 CONCLUSÕES

Existe elevada variabilidade genética entre acessos de *Passiflora nitida* procedentes de diferentes estados. Dentro do mesmo estado, a variabilidade é

menor, porém existente principalmente entre acessos procedentes de diferentes tipos fitofisionômicos.

A grande variabilidade genética intra-específica de *P. nitida* permite concluir que não se deve fazer generalizações sobre a espécie.

O acesso “Manaus 2” deve ser mais estudado, tendo em vista o grande distanciamento genético em relação aos demais acessos de *P. nitida*.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUKAR, A. P. A.; LEMOS, E. G. M.; OLIVEIRA, J. C. Variação genética entre espécies de maracujá utilizando marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 738-740, dez. 2002.

BELLON, G.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, K. P.; PAULA, M. S.; BRAGA, M. F.; JUNQUEIRA, N. T. V.; PEIXOTO, J. R. Diversidade genética de acessos comerciais e silvestres de maracujazeiro-doce com base nos marcadores RAPD. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISAS EM MARACUJAZEIRO, 4., 2005, Planaltina, DF. **Quarta...** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 118-121.

BIANCHI, V. J.; FACHINELLO, J. C.; SCHUCH, M. W. RAPDs na caracterização genético-molecular e no estudo da variabilidade genética de cultivares de ameixeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 272-274, ago. 2003.

CROCHEMORE, M. L.; MOLINARI, H. B. C.; STENZEL, N. M. C. Caracterização agromorfológica do maracujazeiro (*Passiflora* spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 5-10, abr. 2003a.

CROCHEMORE, M. L.; MOLINARI, H. B. C.; VIEIRA, L. G. E. Genetic diversity in passion fruit (*Passiflora* spp.) evaluated by RAPD markers. **Brazilian Archives of biology and Technology**, Curitiba, v. 46, n. 4, p. 521-527, Oct./Dec. 2003b.

CRUZ, C. D. **Programa genes**: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV. 1997. 442 p.

FAJARDO, D.; ANGEL, F.; GRUM, M.; TOHME, J.; LOBO, M.; ROCA, W. M.; SANCHEZ, I. Genetic variation analysis of the genus *Passiflora* l. using rapid markers. **Euphytica**, Dordrecht, v. 101, n. 3, p. 341-347, 1998.

FALEIRO, F. G.; FALEIRO, A. S. G.; CORDEIRO, M. C. R., KARIA, C. T. **Metodologia para operacionalizar a extração de DNA de espécies nativas do cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003. 6 p. (Embrapa Cerrados. Comunicado Técnico, 92).

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**, Brasília, v. 29, p. S325, ago. 2004. Suplemento.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; BELLON, G.; PEIXOTO, J. R. Diversidade genética variedades comerciais de maracujazeiro-azedo com base em marcadores RAPD. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISAS EM MARACUJAZEIRO, 4., 2005, Planaltina, DF. **Quarta...** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 105-109.

GAIA, J. M. D.; MOTA, M. G. C.; CONCEIÇÃO, C. C. C.; COSTA, M. R.; MAIA, J. G. S. Similaridade genética de populações naturais de pimenta-de-macaco por análise RAPD. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 4, p. 686-689, dez. 2004.

GANGA, R. M. D.; RUGGIERO, C.; LEMOS, E. G. M.; GRILI, G. V. G.; GONÇALVES, M. M.; CHAGAS, E. A.; WICKERT, E. Diversidade genética em maracujazeiro-amarelo utilizando marcadores moleculares fAFLP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 494-498, dez. 2004.

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. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 81-106.

JUNQUEIRA, N. T. V.; LAGE, D. A. C.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R.; BORGES, T. A.; ANDRADE, S. R. M. Reação a 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, abr. 2006.

LOPES, S. C. Citogenética do maracujá, *Passiflora* spp. In: SÃO JOSÉ, A. R. **A cultura do maracujá no Brasil**. Jaboticabal: FUNEP, 1991. p. 201-209.

NEI, M.; LI, W. H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 76, n. 10, p. 5269-5273, 1979.

OLIVEIRA, J. C. de; RUGGIERO, C. Espécies de maracujá com potencial agrônomico. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 143-158.

PAULA, M. S.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, K. P.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. Diversidade genética de espécies de *Passiflora*, potenciais fontes de resistência a doenças, com base em marcadores RAPD. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISAS EM MARACUJAZEIRO, 4., 2005, Planaltina, DF. **Quarta...** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 100-104.

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**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 489-493, dez. 2003.

SALLA, M. F. S.; RUAS, C. F.; RUAS, P. M.; CARPENTIERI-PÍPOLO, V. Uso de marcadores moleculares na análise da variabilidade genética em acerola (*Malpighia emarginata* D. C.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 15-22, abr. 2002.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user's guide**. Version 6. 4. ed. North Caroline, Cary, 1989.

SAWAZAKI, H. E.; BARBOSA, W.; COLOMBO, C. A. Caracterização e identificação de cultivares e seleções de pereiras através de marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 447-452, ago. 2002.

SAWAZAKI, H. E.; BOVI, M. L. A.; SODEK, L.; COLOMBO, C. A.
Diversidade genética em palmeiras através de isoenzimas e RAPD. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 58, n. 4, p. 681-691, dez. 1998.

STATSOFT INC. **Statistica for Windows [Computer program manual]**
Tulsa, OK. StatSoft Inc. 2300 East 14th Street, Tulsa. 1999.

CAPÍTULO 4

ESTUDOS PRELIMINARES SOBRE A ORIGEM GENÉTICA DE *Passiflora nitida* Kunth. “MANAUS 2” COM BASE EM MARCADORES MOLECULARES

RESUMO

JUNQUEIRA, Keize Pereira. **Estudos preliminares sobre a origem genética de *Passiflora nitida* Kunth. “Manaus 2” com base em marcadores moleculares.** 2006. Cap. 4, 14 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

O acesso *Passiflora nitida* “Manaus 2”, apesar de morfológicamente semelhante aos outros acessos de *P. nitida* procedentes de Manaus, AM, possui grande distanciamento genético em relação aos demais. Objetivando estudar a origem genética deste acesso de maracujá-suspiro, marcadores moleculares RAPD foram utilizados. Além de *P. nitida* “Manaus 2”, cinco espécies de maracujazeiro de ocorrência também no Amazonas, foram analisadas: *P. nitida* “Manaus 1”, *P. alata* “Alto Paraíso – GO”, *P. laurifolia* “Picos - PI”, *P. coccinea* “Manaus” e *P. glandulosa* “Igarapé-Açu – PA”. O DNA genômico de cada espécie foi extraído e doze primers decâmeros (OPD-04, OPD-07, OPE-18, OPE-20, OPF-17, OPF-20, OPG-05, OPG-09, OPG-17, OPH-04, OPH-12 e OPH-19) foram utilizados para a obtenção de marcadores moleculares RAPD. Os marcadores obtidos foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre as espécies e realizadas análises de agrupamento. Analisando-se cada acesso em relação a *P. nitida* “Manaus 2”, observou-se uma maior frequência de bandas monomórficas em relação ao acesso *P. nitida* “Manaus 1” (68,54%). *P. nitida* “Manaus 2” apresentou menores distâncias genéticas com as espécies *P. nitida* “Manaus 1” (0,472), *P. alata* (0,514) e *P. laurifolia* (0,549), apesar dos valores serem considerados elevados. Desse modo, considerando-se a base genética já estudada do gênero, *P. nitida* “Manaus 2” pode ser um híbrido interespecífico natural ou

* Comitê Orientador: Dr. José Darlan Ramos – DAG/UFLA (Orientador), Dr. Fábio Gelape Faleiro – Embrapa Cerrados (Co-orientador), Dr. Nilton Tadeu Vilela Junqueira – Embrapa Cerrados.

uma nova espécie. No entanto, não deve ser descartada a possibilidade desse material constituir-se em um acesso de *P. nitida*, considerando a existência de grande variabilidade genética intra-específica.

ABSTRACT

JUNQUEIRA, Keize Pereira. **Preliminary studies on the genetic origin of *Passiflora nitida* Kunth. "Manaus 2" based on molecular markers.** 2006. Cap. 5, 14 p. Dissertation (Master in Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.*

The access *Passiflora nitida* "Manaus 2", although morphologically similar to accesses of *P. nitida* originated from Manaus-AM, possesses great genetic distance towards the others. Objectifying a study of the genetic origin of this access of siph passion fruit, molecular markers RAPD have been used. Besides *P. nitida* "Manaus 2", five species of passion fruit vine of occurrence in Amazon have been also analyzed: *P. nitida* "Manaus 1", *P. alata* "Alto Paraiso - GO", *P. laurifolia* "Picos - PI", *P. coccinea* "Manaus" and and *P. glandulosa* "Igarapé-Açu - PA". The genomic DNA of each origin was extracted and amplified using 12 decamer primers (OPD-04, OPD-07, OPE-18, OPE-20, OPF-17, OPF-20, OPG-05, OPG-09, OPG-17, OPH-04, OPH-12 e OPH-19) to obtain RAPD molecular markers. These markers were transformed in binary matrix data to estimate genetic distances among accessions and to perform cluster analysis. Analyzing each access concerning *P. nitida* "Manaus 2", it has been observed a bigger frequency of monomorphic bands in comparison to *P. nitida* access "Manaus 1" (68,54%). *P. nitida* "Manaus 2" presented minor genetic distances to species *P. nitida* "Manaus 1" (0,472), *P. alata* (0,514) and *P. laurifolia* (0,549), despite the values are considered high. In this way, considering the genetic base already studied of the gender, *P. nitida* "Manaus 2" can be a natural interspecific hybrid or a new species. However, it can not be discarded the possibility of this material consist in an access of *P. nitida*, considering the existence of great intraspecific genetic variability.

* Guidance Committee: Dr. José Darlan Ramos – DAG/UFLA (Advisor), Dr. Fábio Gelape Faleiro – Embrapa Cerrados (Co-advisor), Dr. Nilton Tadeu Vilela Junqueira – Embrapa Cerrados.

1 INTRODUÇÃO

Os vários acessos de *Passiflora nitida* Kunth. dispersos pelo Brasil possuem características físicas, agronômicas e moleculares bastante peculiares. González (1996) e Oliveira & Ruggiero (2005) já haviam relatado que, dentro do gênero *Passiflora*, as espécies apresentam algumas diferenças fisiológicas, até mesmo entre plantas da mesma espécie, sendo que essas características podem sofrer influência das condições climáticas do local de cultivo.

O estudo da variabilidade genética em acessos de *Passiflora nitida*, apresentado no Capítulo 3, permitiu observar grande base genética na espécie e forte tendência de agrupamento baseada na origem geográfica dos acessos. Entretanto, houve grande distanciamento genético do acesso *P. nitida* “Manaus 2”, que apresentou distâncias em relação aos outros acessos de *P. nitida* variando de 0,351 a 0,416, enquanto os outros acessos de mesma origem geográfica apresentaram distâncias de 0,146 a 0,285 em relação aos demais. Por outro lado, considerando-se as distâncias genéticas de *P. nitida* “Manaus 2” relativas aos “outgroups” *P. edulis* e *P. alata*, estas foram 0,515 e 0,405, respectivamente.

O acesso em questão foi coletado em Manaus, AM, como *P. nitida* por apresentar padrão de folhas e hábito de crescimento muito semelhantes a esta espécie. Assim, apesar de, morfológicamente, ser parecido com os acessos de *P. nitida* procedentes de Manaus, AM, chama a atenção o grande distanciamento genético deste material em relação aos demais. Objetivou-se estudar a origem genética do acesso *P. nitida* “Manaus 2” utilizando-se marcadores moleculares RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Embrapa Cerrados, em Planaltina, DF. Foi analisado o acesso *P. nitida* "Manaus 2", estudando-se a similaridade genética apresentada em relação a *P. nitida* "Manaus 1", *P. laurifolia*, *P. alata*, *P. coccinea* e *P. glandulosa* (Tabela 1), todos mantidos no banco de germoplasma da Embrapa Cerrados. As referidas espécies foram escolhidas por possuírem relatos de ocorrência no estado do Amazonas.

TABELA 1. Espécies de maracujazeiro analisadas e respectivos acessos (locais de coleta) e códigos do Banco de Germoplasma da Embrapa Cerrados. UFLA, Lavras, MG, 2006.

| Nº | Espécie | Acesso | UF | Código |
|----|-----------------------------------|---------------------------------------|----|---------------|
| 1 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "Manaus 2" (Distrito Agropecuário) | AM | CPAC MJ-01-16 |
| 2 | <i>Passiflora nitida</i> Kunth. | "Manaus 1" (Rio Urubu) | AM | CPAC MJ-01-15 |
| 3 | <i>Passiflora laurifolia</i> L. | "Picos" | PI | CPAC MJ-03-01 |
| 4 | <i>Passiflora alata</i> Curtis | "Alto Paraíso" | GO | CPAC MJ-02-13 |
| 5 | <i>Passiflora coccinea</i> Aubl. | "Manaus" | AM | CPAC MJ-08-03 |
| 6 | <i>Passiflora glandulosa</i> Cav. | "Igarapé-Açu" | PA | CPAC MJ-05-01 |

Folhas em estágio intermediário de maturação foram coletadas e o DNA genômico extraído utilizando-se o método do CTAB, com algumas modificações (Faleiro et al., 2003).

Amostras de DNA de cada material genético foram amplificadas para a obtenção de marcadores RAPD. As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 13 µL, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, MgCl₂ 3 mM, 100 µM de cada um dos desoxirribonucleotídios (dATP, dTTP, dGTP e

dCTP), 0,4 μ M de um *primer* (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA), uma unidade da enzima Taq polimerase e, aproximadamente, 15 ng de DNA. Foram utilizados 12 *primers* decâmeros: OPD (04 e 07), OPE (18 e 20), OPF (17 e 20), OPG (05, 09, 17) e OPH (04, 12 e 19).

As ampliações foram efetuadas em termociclador programado para 40 ciclos, cada um constituído pela seguinte seqüência: 15 segundos a 94°C, 30 segundos a 35°C e 90 segundos a 72°C. Após os 40 ciclos, foi feita uma etapa de extensão final de seis minutos a 72°C e, finalmente, a temperatura foi reduzida para 4 °C. Após a amplificação, foram adicionados, a cada amostra, 3 μ l de uma mistura de azul de bromofenol (0,25%) e glicerol (60%) em água. Essas amostras foram aplicadas em gel de agarose (1,2%), corado com brometo de etídio, submerso em tampão TBE (Tris-Borato 90 mM, EDTA 1 mM). A separação eletroforética foi de, aproximadamente, quatro horas, a 90 volts. Ao término da corrida, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta.

Os marcadores RAPD gerados foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os diferentes acessos, com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei & Li (1979), utilizando-se o Programa Genes (Cruz, 1997). A matriz de distâncias genéticas foi utilizada para realizar análises de agrupamento por meio de dendrograma, utilizando-se o método do UPGMA (*Unweighted pair-group arithmetic average*) como critério de agrupamento, com auxílio do Programa Statistica (Statsoft, 1999).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 12 *primers* decâmeros geraram um total de 191 marcadores RAPD, perfazendo a média de 15,92 marcadores por *primer*. Houve grande número de bandas polimórficas (98,95%), o que já era esperado, devido à grande

diversidade do gênero *Passiflora* (Tabela 2). Esse fato já foi relatado por diversos autores, incluindo Ferreira & Oliveira (1991), Ganga et al. (2004), Paula et al. (2005) e Pio Viana et al. (2003).

TABELA 2. *Primers* utilizados para a obtenção dos marcadores RAPD e respectivos números de bandas polimórficas e monomórficas. UFLA, Lavras, MG, 2006.

| <i>Primer</i> | Seqüência 5'→3' | Nº de bandas polimórficas | Nº de bandas monomórficas |
|---------------|-----------------|---------------------------|---------------------------|
| OPD-04 | TCTGGTGAGG | 14 | 0 |
| OPD-07 | TTGGCACGGG | 13 | 0 |
| OPE-18 | GGACTGCAGA | 11 | 0 |
| OPE-20 | AACGGTGACC | 9 | 0 |
| OPF-17 | AACCCGGGAA | 16 | 0 |
| OPF-20 | GGTCTAGAGG | 17 | 0 |
| OPG-05 | CTGAGACGGA | 26 | 0 |
| OPG-09 | CTGACGTCAC | 19 | 0 |
| OPG-17 | ACGACCGACA | 12 | 0 |
| OPH-04 | GGAAGTCGCC | 19 | 1 |
| OPH-12 | ACGCGCATGT | 18 | 1 |
| OPH-19 | CTGACCAGCC | 15 | 0 |
| TOTAL | | 189 | 2 |

O padrão de amplificação de amostras de DNA, gerado pelos *primers* OPF-20, OPG-05, OPG-09 e OPH-04, está ilustrado na Figura 1.

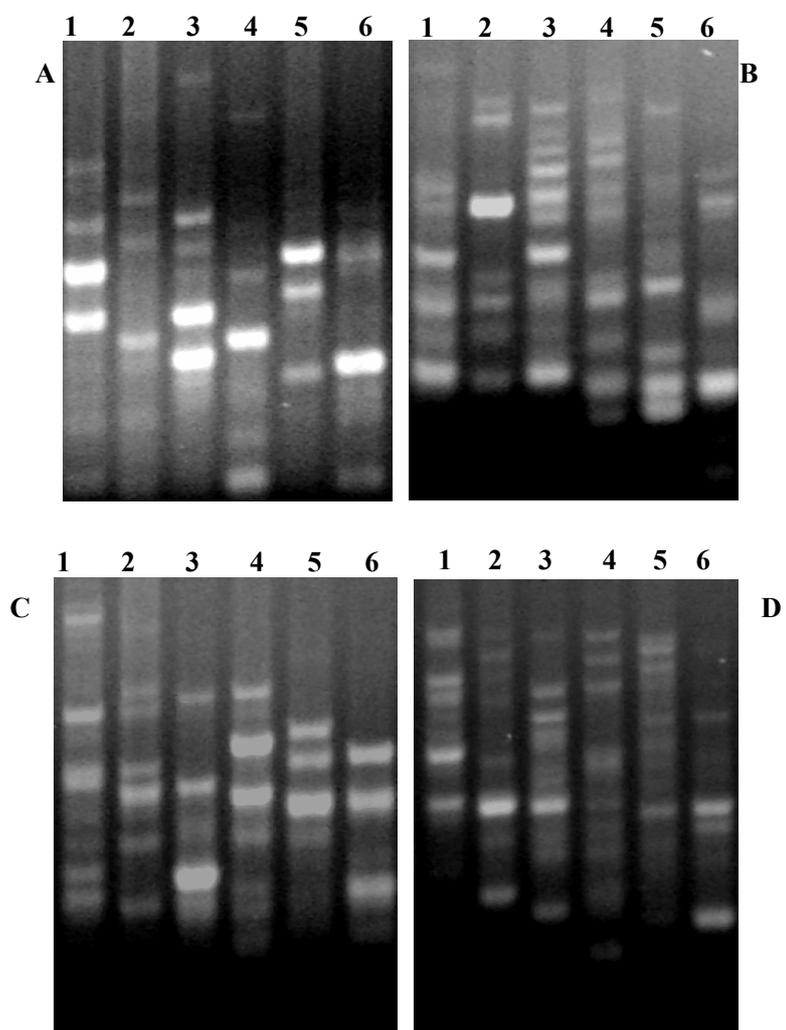


FIGURA 1. Produto de amplificação de amostras de DNA genômico de 6 acessos de maracujazeiro obtidos com o uso dos *primers* decâmeros OPF-20 (A), OPG-05 (B), OPG-09 (C) e OPH-04 (D). Os números correspondem aos acessos da Tabela 1. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Analisando-se cada acesso em relação a *P. nitida* “Manaus 2”, observa-se uma maior frequência de bandas monomórficas em relação ao acesso *P. nitida* “Manaus 1” (68,54%), conforme exposto na Tabela 3. Esse resultado confirma a proximidade genética, embora não muito expressiva, entre os dois materiais, fato este que, aliado às similaridades morfológicas, justifica o material em questão ter sido coletado como *P. nitida*.

TABELA 3. Frequência de bandas monomórficas e polimórficas de 5 espécies de *Passiflora* em relação a *P. nitida* “Manaus 2”. UFLA, Lavras, MG, 2006.

| Espécie | Nº de bandas polimórficas | Nº de bandas monomórficas | % de bandas monomórficas |
|-----------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| <i>P. nitida</i> “Manaus 1” | 28 | 61 | 68,54% |
| <i>P. laurifolia</i> | 38 | 72 | 65,46% |
| <i>P. alata</i> | 35 | 65 | 65,00% |
| <i>P. coccinea</i> | 52 | 43 | 45,26% |
| <i>P. glandulosa</i> | 34 | 40 | 54,05% |

As distâncias genéticas entre os 6 acessos de maracujá variaram entre 0,472 e 0,744 (Tabela 4), correspondendo, respectivamente, às distâncias entre *P. nitida* “Manaus 1” e *P. nitida* “Manaus 2” e entre *P. nitida* “Manaus 2” e *P. glandulosa*. Considerando-se a análise de agrupamento realizada com base nas distâncias genéticas, pode-se subdividir os 6 acessos em, pelo menos, 2 grupos de similaridade genética a uma distância genética relativa de 0,6 (Figura 2). No primeiro grupo, encontram-se *P. nitida* “Manaus 1”, *P. nitida* “Manaus 2”, *P. laurifolia* e *P. alata*. As espécies *P. coccinea* e *P. glandulosa* formaram o outro grupo.

TABELA 4. Matriz de distâncias entre 6 acessos de maracujazeiro, baseada em 191 marcadores RAPD. UFLA, Lavras, MG, 2006.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|----------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|---|
| 1- <i>Passiflora nitida</i> “Manaus 1” | - | | | | | |
| 2- <i>Passiflora nitida</i> “Manaus 2” | 0,472 | - | | | | |
| 3- <i>Passiflora laurifolia</i> | 0,517 | 0,549 | - | | | |
| 4- <i>Passiflora alata</i> | 0,613 | 0,514 | 0,551 | - | | |
| 5- <i>Passiflora coccinea</i> | 0,674 | 0,767 | 0,632 | 0,684 | - | |
| 6- <i>Passiflora glandulosa</i> | 0,744 | 0,741 | 0,667 | 0,647 | 0,581 | - |

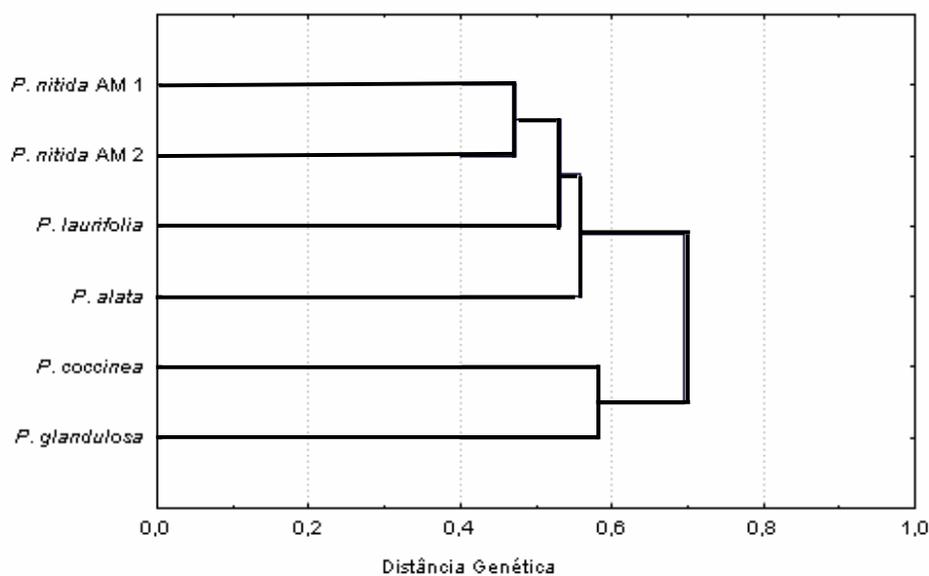


FIGURA 2. Análise de agrupamento de 6 acessos de maracujazeiro com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 191 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Em trabalho semelhante, Pio 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. gibertii*, *P. suberosa*, *P. cincinnata*, *P. maliformis* e *P. edulis* f. *edulis*, tendo as espécies *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. gibertii* sido 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*.

Paula et al. (2005), estudando a diversidade genética entre as espécies *P. alata*, *P. serrato-digitata*, *P. coccinea*, *P. coccinea* x *P. setacea*, *P. setacea*, *P. nitida*, *P. amethystina*, *P. caerulea*, *P. odontophylla*, *P. gibertii* e algumas seleções de *P. edulis*, observaram uma ampla diversidade genética, com distâncias genéticas variando de 0,043 a 0,798.

Considerando apenas as distâncias genéticas em relação a *P. nitida* “Manaus 2”, os menores valores foram observados com *P. nitida* “Manaus 1” (0,472), *P. alata* (0,514) e *P. laurifolia* (0,549). Tendo em vista toda a base genética já estudada do gênero *Passiflora*, os valores em relação a *P. nitida* “Manaus 1” encontram-se muito altos para acessos de mesma espécie. Assim, no presente estudo, apesar do menor valor de distância genética encontrado ser entre *P. nitida* “Manaus 2” e *P. nitida* “Manaus 1”, a classificação taxonômica inicial deste primeiro acesso como pertencente à espécie *Passiflora nitida* Kunth. pode não estar correta.

Entretanto, alguns autores têm encontrado distâncias genéticas intra-específicas semelhantes àquela observada entre *P. nitida* “Manaus 1” e *P. nitida* “Manaus 2”, especialmente quando se comparam acessos comerciais e silvestres. Paula et al. (2005) observaram distância genética de 0,200 entre diferentes cultivares de *P. edulis* f. *flavicarpa*. No entanto, ao incluir neste

conjunto um acesso nativo do grupo *P. edulis* f. *edulis*, a maior distância genética passou a ser 0,489. Faleiro et al. (2005), estudando acessos comerciais e um acesso nativo de *P. edulis* f. *flavicarpa*, também verificaram altas distâncias genéticas entre o acesso nativo e os comerciais “Gigante Amarelo” e “EC-3-0”, com valores de 0,473 e 0,474, respectivamente. Nesse aspecto, *P. nitida* “Manaus 2” poderia constituir um acesso de *P. nitida* mais distante geneticamente.

Por outro lado, no Capítulo 3, desconsiderando-se o acesso *P. nitida* “Manaus 2”, a distância genética máxima observada nos acessos de *P. nitida* foi de 0,313, encontrada entre os acessos *P. nitida* “Itiquira 1” e *P. nitida* “Natividade” (Comunidade do Brejão). Bellon et al. (2005) estudaram acessos comerciais e silvestres de *P. alata*, e obtiveram distâncias genéticas entre os acessos de até 0,324, valor observado entre *P. alata* “Mato Grosso do Sul” e “Brinco”.

Um fato que também deve ser considerado é a possibilidade de *P. nitida* “Manaus 2” ser produto de hibridação interespecífica envolvendo *P. nitida* “Manaus 1” e outra espécie de mesma ocorrência geográfica. Nesta hipótese e considerando as espécies estudadas no presente trabalho, haveria chance do outro genitor ser *P. alata* ou *P. laurifolia*, levando-se em consideração as distâncias genéticas e o agrupamento no dendrograma. Entretanto, estas são apenas suposições, tendo em vista que, para a confirmação da fecundação cruzada, seria imprescindível conhecer cada provável indivíduo progenitor. Deve-se considerar também que, por indisponibilidade de material no Banco de Germoplasma da Embrapa Cerrados, alguns acessos utilizados na presente pesquisa não são procedentes do estado do Amazonas e, segundo os dados do Capítulo 3, há grande variabilidade intra-específica entre acessos de diferentes regiões geográficas. Assim, supondo ser *P. nitida* “Manaus 2” um híbrido natural, estudos mais apurados devem ser realizados.

Rejeitando-se as hipóteses anteriores, *P. nitida* “Manaus 2” pode constituir-se em uma nova espécie. Para tanto, estudos mais aprofundados de taxonomia devem ser conduzidos.

4 CONCLUSÕES

O acesso *Passiflora nitida* “Manaus 2” apresenta maior similaridade genética com as espécies *Passiflora nitida* “Manaus 1”, *P. laurifolia* e *P. alata*. Entretanto, em virtude dos elevados valores de distância genética e considerando-se a base genética já estudada do gênero, *P. nitida* “Manaus 2” pode tratar-se de um acesso resultante de hibridação interespecífica natural ou pode ser uma nova espécie. No entanto, não deve ser descartada a possibilidade desse material constituir um acesso de *P. nitida*, considerando a existência de grande variabilidade genética intra-específica.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELLON, G.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, K. P.; PAULA, M. S.; BRAGA, M. F.; JUNQUEIRA, N. T. V.; PEIXOTO, J. R. Diversidade genética de acessos comerciais e silvestres de maracujazeiro-doce com base nos marcadores RAPD. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISAS EM MARACUJAZEIRO, 4., 2005, Planaltina, DF. **Quarta...** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 118-121.

CRUZ, C. D. **Programa genes**: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV. 1997. 442 p.

FALEIRO, F. G.; FALEIRO, A. S. G.; CORDEIRO, M. C. R.; KARIA, C. T. **Metodologia para operacionalizar a extração de DNA de espécies nativas do cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003. 6 p. (Embrapa Cerrados. Comunicado Técnico, 92).

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; BELLON, G.; PEIXOTO, J. R. Diversidade genética variedades comerciais de maracujazeiro-

azedo com base em marcadores RAPD. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISAS EM MARACUJAZEIRO, 4., 2005, Planaltina, DF. **Quarta...** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 105-109.

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.

GANGA, R. M. D.; RUGGIERO, C.; LEMOS, E. G. M.; GRILI, G. V. G.; GONÇALVES, M. M.; CHAGAS, E. A.; WICKERT, E. Diversidade genética em maracujazeiro-amarelo utilizando marcadores moleculares fAFLP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 494-498, dez. 2004.

GONZÁLEZ, A. **Biología floral e caracterização físico-química dos frutos de dois accesos de *Passiflora cincinnata* Mast. nas condições de Jaboticabal**. 1996. 80 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Jaboticabal.

NEI, M.; LI, W. H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 76, n. 10, p. 5269-5273, 1979.

OLIVEIRA, J. C. de; RUGGIERO, C. Espécies de maracujá com potencial agrônomo. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 143-158.

PAULA, M. S.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, K. P.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. Diversidade genética de espécies de Passiflora, potenciais fontes de resistência a doenças, com base em marcadores RAPD. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISAS EM MARACUJAZEIRO, 4., 2005, Planaltina, DF. **Quarta...** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 100-104.

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**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 489-493, dez. 2003.

STATSOFT INC. **Statistica for Windows [Computer program manual]** Tulsa, OK. StatSoft Inc. 2300 East 14th Street, Tulsa. 1999.

CAPÍTULO 5

OBTENÇÃO DE HÍBRIDO INTERESPECÍFICO DE *Passiflora laurifolia* L. e *Passiflora nitida* Kunth.

RESUMO

JUNQUEIRA, Keize Pereira. **Obtenção de híbrido interespecífico de *Passiflora laurifolia* L. e *Passiflora nitida* Kunth.** 2006. Cap. 5, 12 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

A hibridação interespecífica no gênero *Passiflora* é interessante quando se quer melhorar alguma característica das espécies genitoras ou na geração de híbridos ornamentais. No caso de *Passiflora nitida* Kunth., a grande espessura de casca é uma forte limitação à sua inserção no mercado de frutas *in natura*. *P. laurifolia* L., por outro lado, possui casca pouco espessa e algumas similaridades botânicas e taxonômicas com *P. nitida*. Neste trabalho, objetivou-se obter um híbrido interespecífico de *Passiflora laurifolia* e *P. nitida* e confirmar a fecundação cruzada utilizando-se marcadores RAPD. Realizou-se a fecundação cruzada utilizando-se *P. nitida* como genitor masculino. Após a obtenção das plantas do suposto híbrido, o DNA genômico de cada acesso foi extraído e 12 primers decâmeros foram utilizados para a obtenção de marcadores moleculares RAPD para o suposto híbrido e seus genitores, todos devidamente registrados no BAG da Embrapa Cerrados. Os marcadores moleculares gerados pelos diferentes primers foram analisados quanto à presença ou não de bandas informativas para a confirmação da fecundação cruzada. Foi confirmado o cruzamento entre *P. laurifolia* e *P. nitida*, constatando-se que as mesmas não são isoladas reprodutivamente. Assim, é possível a utilização das mesmas em programas de melhoramento, visando à redução da espessura de casca de *P. nitida*, aumento da resistência a doenças e a geração de híbridos ornamentais. Estudos agrônômicos, entretanto, são indispensáveis. A obtenção de um híbrido interespecífico entre *P. nitida* e *P. laurifolia* também abre perspectivas para outros estudos acerca de evolução genética em *P. nitida*, envolvendo as questões taxonômicas. Os

* Comitê Orientador: Dr. José Darlan Ramos – DAG/UFLA (Orientador), Dr. Fábio Gelape Faleiro – Embrapa Cerrados (Co-orientador), Dr. Nilton Tadeu Vilela Junqueira – Embrapa Cerrados.

marcadores RAPD mostraram-se excelentes ferramentas para verificar a ocorrência ou não da fecundação cruzada entre *P. laurifolia* e *P. nitida*.

ABSTRACT

JUNQUEIRA, Keize Pereira. **Acquisition of interspecific hybrid of *Passiflora laurifolia* L. and *Passiflora nitida* Kunth.** 2006. Cap. 5, 12 p. Dissertation (Master in Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.*

Interspecific hybridization in the gender *Passiflora* is interesting when it is aimed to improve some characteristic of the genitor species or in the generation of ornamental hybrids. In the case of *Passiflora nitida* Kunth., the great rind thickness is a strong limitation to its insertion in the market of *in natura* fruits. *P. Laurifolia* L., on the other hand, little possesses thick rind and some botanical and taxonomical similarities with *P. nitida*. In this work, it was objectified to get an interspecific hybrid of *Passiflora laurifolia* and *P. nitida*, and to confirm the crossed fecundation using RAPD markers. The crossed fecundation was fulfilled using *P. nitida* as masculine genitor. After the acquisition of the supposed hybrid plants, the genomic DNA of each origin was extracted and amplified using 12 decamer primers to obtain RAPD molecular markers for the supposed hybrid and its genitors, all duly registered in the BAG of Embrapa Cerrados. The molecular markers generated by different primers have been analyzed concerning the presence or not of informative bands for the crossed fecundation's confirmation. The crossing between *P. laurifolia* and *P. nitida* was confirmed, evidencing that there isn't reproductive isolation between these species. Thus, it is possible to use them in improvement programs aiming at the reduction of rind thickness of *P. nitida*, increase of resistance to diseases and generation of ornamental hybrids. Agronomics studies, however, are indispensable. The acquisition of an interspecific hybrid between *P. nitida* and *P. laurifolia* also opens perspectives for other studies concerning genetic evolution in *P. nitida*, involving taxonomical questions. RAPD markers have revealed themselves as excellent tools to verify the occurrence or not of the crossed fecundation between *P. laurifolia* and *P. nitida*.

* Guidance Committee: Dr. José Darlan Ramos – DAG/UFLA (Advisor), Dr. Fábio Gelape Faleiro – Embrapa Cerrados (Co-advisor), Dr. Nilton Tadeu Vilela Junqueira – Embrapa Cerrados.

1 INTRODUÇÃO

As espécies de maracujá pertencem à família *Passifloraceae*, que é composta de 12 gêneros. Grande parte das espécies, cerca de 400, pertence ao gênero *Passiflora*. No Brasil, ocorrem, aproximadamente, 130 espécies desta família e o país pode ser considerado um dos seus centros de diversidade (Bernacci et al., 2005).

Entre as várias espécies de passifloras silvestres do Brasil, algumas têm características interessantes que podem ser introduzidas no maracujazeiro comercial. Vários autores (Fischer, 2003; Meletti & Bruckner, 2001; Menezes et al., 1994; Oliveira et al., 1994) relataram a resistência de *P. nitida*, *P. caerulea*, *P. laurifolia*, alguns acessos de *P. suberosa*, *P. alata*, *P. coccinea*, *P. gibertii* e *P. setacea* a morte prematura e a outras doenças causadas por patógenos do solo.

Segundo Junqueira et al. (2005), além da resistência a doenças e algumas pragas, há algumas espécies autocompatíveis e outras que apresentam características morfológicas e aspectos fenológicos relacionados ao florescimento bastante peculiares. Estes autores relatam a possibilidade de se obter híbridos férteis e promissores para o melhoramento, utilizando-se espécies silvestres de passifloras como genitores.

As hibridações podem ser utilizadas também quando se deseja melhorar características físicas, químicas ou sensoriais de alguma espécie de interesse para a incorporação ao mercado consumidor, seja em função de seu potencial como fruta exótica ou devido as suas propriedades medicinais. É também uma forma de conservação de germoplasma, tendo em vista que algumas espécies silvestres são de difícil manutenção em Bancos de Germoplasma, ao contrário de seus híbridos.

Os híbridos interespecíficos podem também ter finalidade ornamental. No Brasil, apesar da grande diversidade genética existente, este potencial das

passifloráceas não é muito explorado, diferentemente de outros países do hemisfério-norte, onde já se produziram e registraram mais de 400 híbridos para fins ornamentais (Peixoto, 2005).

A espécie *Passiflora nitida*, além de ser rústica e resistente a diversas doenças, possui grande potencial para a exploração no mercado de frutas *in natura*. Neste aspecto, a grande espessura de casca é fator limitante, abrindo perspectivas para a utilização da hibridação interespecífica controlada, visando à melhoria deste caráter. A inserção de *P. laurifolia* neste programa é uma alternativa interessante, tendo em vista que esta espécie possui casca fina e pertence ao mesmo subgênero (*Passiflora*) e mesma série de *P. nitida* (Laurifoliae), aumentando as chances de sucesso do cruzamento.

Os estudos de hibridações interespecíficas em *P. nitida* também se justificam pelo fato de permitirem o conhecimento de alguns processos evolutivos que incluem hibridações interespecíficas naturais, como discutido no Capítulo 4, fato que pode estar gerando altas variabilidades genéticas entre acessos de diversas espécies de *Passiflora*, já que o fenômeno da auto-incompatibilidade condiciona a polinização cruzada.

Para confirmar a polinização cruzada, marcadores moleculares têm sido utilizados (Faleiro et al., 2003b). Segundo estes autores, os marcadores RAPD podem ser utilizados para a confirmação de fecundação cruzada envolvendo cruzamentos inter e intra-específicos, uma vez que a metodologia é confiável, por se tratar de análise do DNA, e rápida, pois permite a confirmação da hibridação em estágios iniciais de desenvolvimento dos supostos híbridos.

Objetivou-se obter um híbrido interespecífico de *Passiflora laurifolia* e *P. nitida* e confirmar a fecundação cruzada, utilizando-se marcadores RAPD.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Banco de Germoplasma e no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Embrapa Cerrados, em Planaltina, DF.

Os cruzamentos entre *Passiflora laurifolia* L. (genitor feminino) e *P. nitida* Kunth. (genitor masculino) foram realizados em janeiro de 2005. Utilizaram-se acessos de *P. laurifolia* (CPAC MJ-03-02) e *P. nitida* (CPAC MJ-01-01) procedentes do Distrito Federal e mantidos no Banco de Germoplasma da Embrapa Cerrados. Os botões florais dos genitores foram protegidos, sendo que aqueles pertencentes ao genitor feminino foram emasculados antes da antese. Após a hibridação artificial, as flores foram protegidas novamente até o desenvolvimento completo do fruto. Após o amadurecimento, os frutos foram coletados e as sementes semeadas em bandejas de poliestireno de 72 células contendo substrato Plantmax®. As mudas foram mantidas em casa de vegetação.

Folhas em estágio intermediário de maturação foram coletadas e o DNA genômico extraído utilizando o método do CTAB com algumas modificações (Faleiro et al., 2003a).

Amostras de DNA de cada material genético foram amplificadas para a obtenção de marcadores RAPD. As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 13 µL, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, MgCl₂ 3 mM, 100 µM de cada um dos desoxiribonucleotídios (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 0,4 uM de um *primer* (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA), uma unidade da enzima Taq polimerase e, aproximadamente, 15 ng de DNA. Foram utilizados 12 *primers* decâmeros: OPD (02 e 04), OPE (04 e 18), OPF (08 e 14), OPG (05 e 09) e OPH (04, 12, 13 e 17).

As amplificações foram efetuadas em termociclador programado para 40 ciclos, cada um constituído pela seguinte seqüência: 15 segundos a 94°C, 30 segundos a 35°C e 90 segundos a 72°C. Após os 40 ciclos, foi feita uma etapa de

extensão final de seis minutos a 72°C e, finalmente, a temperatura foi reduzida para 4°C. Após a amplificação, foram adicionados, a cada amostra, 3 µl de uma mistura de azul de bromofenol (0,25%) e glicerol (60%) em água. Essas amostras foram aplicadas em gel de agarose (1,2%), corado com brometo de etídio, submerso em tampão TBE (Tris-Borato 90 mM, EDTA 1 mM). A separação eletroforética foi de, aproximadamente, quatro horas, a 90 volts. Ao término da corrida, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta.

Os marcadores RAPD gerados para o possível híbrido e os prováveis genitores foram analisados quanto à presença ou não de bandas informativas para a confirmação da fecundação cruzada. Segundo Faleiro et al. (2003a), bandas informativas são alelos presentes no genitor masculino e ausentes no feminino, cuja presença nas plantas supostamente híbridas confirmam a fecundação cruzada. Foram consideradas bandas informativas somente aquelas com alta nitidez e reproducibilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os marcadores RAPD mostraram-se excelentes ferramentas para verificar a ocorrência ou não de fecundação cruzada entre as espécies de *Passiflora* em estudo. Faleiro et al. (2003b) já haviam relatado sucesso na utilização destes marcadores para a confirmação de hibridação interespecífica entre *Theobroma cacao* e *T. grandiflorum*. Segundo os autores, o uso de um ou dois *primers* ou combinações de *primers* com, pelo menos, uma banda informativa é suficiente para confirmar ou não a ocorrência da fecundação cruzada. Segundo Borém (1997), cada banda informativa funciona como um gene marcador comumente utilizado pelos melhoristas.

A Figura 1 ilustra o padrão de amplificação do DNA e as bandas informativas, confirmando a ocorrência da hibridação.

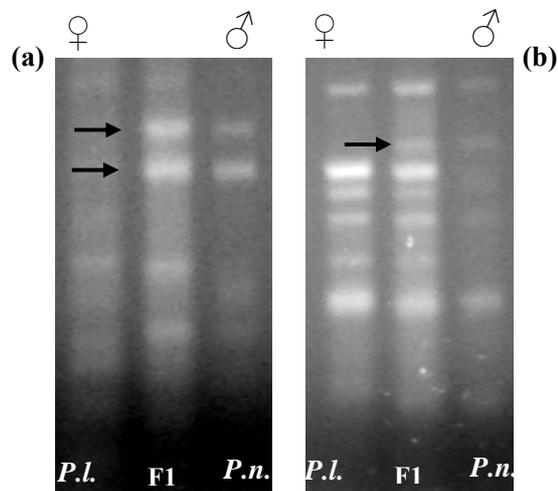


FIGURA 1: Produto de amplificação de amostras de DNA genômico de um híbrido interespecífico de maracujazeiro e seus genitores, obtido com o uso dos *primers* decâmeros OPF-08 (a) e OPF-14 (b). As setas indicam bandas informativas utilizadas para a confirmação da fecundação cruzada. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Pereira (1998) destaca *Passiflora nitida* Kunth. como uma espécie de potencial para estudos de hibridação com outras espécies de maior interesse. Fischer (2003), Menezes et al. (1994) e Roncatto et al. (2004) já haviam relatado *P. nitida* como uma espécie de grande potencial para uso em programas de melhoramento envolvendo hibridação interespecífica. *P. laurifolia*, assim como *P. nitida*, tem sido citada como resistente à morte prematura e a outras doenças de solo (Fischer, 2003).

Considerando outro aspecto, *P. nitida* é uma espécie de grande potencial para inserção no mercado de frutos *in natura*, tendo em vista que pertence ao grupo dos maracujás-doces e possui boa aceitabilidade (Oliveira & Ruggiero, 2005). Entretanto, esta espécie apresenta grande espessura de casca, o que é considerado uma característica indesejável para o comércio. A hibridação com *P. laurifolia* é interessante, pois esta espécie possui casca fina, possibilitando a transferência desta característica ao híbrido.

Souza & Meletti (1997) relataram o potencial ornamental de *P. laurifolia* e *P. nitida*, sendo este último também denominado maracujá-de-cheiro em virtude do aroma de suas flores. A hibridação interespecífica pode também contribuir para a melhoria das características ornamentais dos genitores.

É importante, entretanto, que o híbrido seja avaliado em campo em relação a suas características morfo-agronômicas, relacionadas, principalmente, às características físico-químicas, produtividade e resistência a doenças.

Em relação aos pressupostos acerca da evolução genética da espécie *P. nitida*, a confirmação da hibridação controlada com *P. laurifolia* levanta um questionamento a respeito do surgimento de novas “espécies” de *Passiflora*. Em função da simplicidade do processo de hibridação nos maracujás, da mesma forma que se obtêm híbridos controlados, é possível que hibridações interespecíficas possam estar ocorrendo de forma natural nos ambientes de origem destas espécies. Esta suposição possui maior embasamento se for considerada sua associação à grande variabilidade genética constatada na espécie *P. nitida*, no Capítulo 3. A hipótese de que *Passiflora nitida* “Manaus 2” possa ser um híbrido interespecífico natural, discutida no Capítulo 4, pode estar alcançando maior sustentabilidade. Assim, pesquisas mais abrangentes envolvendo questões taxonômicas e estudos de similaridade genética inter e intra-específica são fundamentais para a melhor compreensão dos mecanismos evolutivos do gênero *Passiflora*.

4 CONCLUSÕES

O híbrido interespecífico de *P. laurifolia* e *P. nitida* foi obtido com sucesso, sendo confirmado o cruzamento com base em marcadores moleculares do DNA.

Estas espécies não são isoladas reprodutivamente, sendo possível a utilização das mesmas em programas de melhoramento visando à melhoria das características dos frutos, incremento na resistência a doenças e obtenção de híbridos ornamentais.

Os marcadores RAPD mostraram-se excelentes ferramentas para verificar a ocorrência ou não da fecundação cruzada entre as espécies em questão.

A obtenção de um híbrido interespecífico entre *P. nitida* e *P. laurifolia* abre perspectivas para outros estudos acerca de evolução genética em *P. nitida*, envolvendo as questões taxonômicas.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNACCI, L. C.; MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; PASSOS, I. R. S. Espécies de maracujá: caracterização e conservação da biodiversidade. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 559-586.

BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. Viçosa, MG: UFV, 1997. 547 p.

FALEIRO, F. G.; FALEIRO, A. S. G.; CORDEIRO, M. C. R. , KARIA, C. T. **Metodologia para operacionalizar a extração de DNA de espécies nativas do cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003a. 6 p. (Embrapa Cerrados. Comunicado Técnico ; n. 92).

FALEIRO, F. G.; PIRES, J. L.; LOPES, U. V. Uso de marcadores moleculares RAPD e microssatélites visando a confirmação da fecundação cruzada entre *Theobroma cacao* e *Theobroma grandiflorum*. **Agrotropica**, Ilhéus, v. 15, n. 1, p. 41-46, jan. /abr. 2003b.

FISCHER, I. H. **Seleção de plantas resistentes e de fungicidas para o controle da “morte prematura” do maracujazeiro, causada por *Nectria hematococca* e *Phytophthora parasítica***. 2003. 48 f. Dissertação (Mestrado) -

Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

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. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 81-106.

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

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**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 95-104, 1994.

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, 1994. v. 3, p. 827. (Resumo 347).

OLIVEIRA, J. C. de; RUGGIERO, C. Espécies de maracujá com potencial agrônomo. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 143-158.

PEIXOTO, M. Problemas e perspectivas do maracujá ornamental. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 457-463.

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

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**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 552-554, dez. 2004.

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