

**FLÁVIA CARVALHO SANTOS**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO FRUTO  
E MICROPROPAGAÇÃO DO MARACUJÁ-DO-SONO  
(*Passiflora setacea* DC.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para 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**

Santos, Flávia Carvalho

Caracterização físico-química do fruto e micropropagação do Maracujá-do-  
sono (*Passiflora setacea* DC.) / Flávia Carvalho Santos. – Lavras : UFLA, 2005.  
65 p. : il.

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

1. Maracujá. 2. Germinação. 3. Meio de cultura. 4. Micropropagação. I.  
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-634.425

**FLÁVIA CARVALHO SANTOS**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO FRUTO E  
MICROPROPAGAÇÃO DO MARACUJÁ-DO-SONO  
(*Passiflora setacea* DC.)**

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

APROVADA em 18 de julho de 2006.

Prof. Dr. Moacir Pasqual UFLA

Pesq. Dr. Ângelo Albérico Alvarenga EPAMIG

**Prof. Dr. José Darlan Ramos**  
**UFLA**  
**(Orientador)**

**LAVRAS**  
**MINAS GERAIS – BRASIL**

**2006**

A Deus que está sempre  
presente em minha vida,  
**Agradeço**

Aos meus pais, Dorval e Sônia,  
e aos meus irmãos, Ivo e Fabíola,  
pelo exemplo de coragem e pelo carinho eterno,  
**Dedico**

À minha amiga Keize,  
minha dinha Therezinha, vovó Cida  
e a todos os meus amigos,  
**Ofereço**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por guiar meus passos e iluminar meu caminho.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) pela oportunidade da realização deste curso de pós-graduação.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento e Pesquisa do Ensino Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos durante a realização do curso.

Ao professor do Departamento de Agricultura (UFLA), Dr. José Darlan Ramos, pelos conhecimentos, orientação e confiança em mim depositada.

Ao professor do Departamento de Agricultura (UFLA), Dr. Moacir Pasqual, pelo precioso auxílio, amizade e ensinamentos.

Ao Dr. Nilton Tadeu Vilela Junqueira, pelo apoio e disponibilidade.

À Keize Pereira Junqueira pelo convívio e amizade infinita.

À minha irmã Fabíola pela preciosa colaboração.

Às amigas Juliana e Estér, pelo companheirismo em todos os momentos.

Aos meus amigos Vantuil e Antonio Claret, funcionários do Laboratório de Cultura de Tecidos da UFLA, pelo convívio e ensinamentos.

A minha família.

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

**MUITO OBRIGADA!**

## SUMÁRIO

RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	ii
CAPÍTULO 1 .....	1
1 Introdução geral.....	1
2 Referencial teórico.....	3
2.1 Importância da cultura do maracujazeiro.....	3
2.2 Descrição da espécie <i>Passiflora setacea</i> DC.....	4
2.3 Propagação do maracujazeiro.....	5
2.4 Alguns aspectos ligados à tolerância a pragas e doenças.....	8
2.5 Microprogação do maracujazeiro.....	11
2.6 Meios de cultura.....	15
3 Referências bibliográficas.....	17
CAPÍTULO 2: Características físico-químicas do maracujazeiro silvestre <i>Passiflora setacea</i> .....	23
1 Resumo.....	23
2 Abstract.....	24
3 Introdução.....	25
4 Material e métodos.....	26
5 Resultados e discussão.....	27
6 Conclusões.....	30

7 Referências bibliográficas.....	30
CAÍTULO 3: Estabelecimento de plântulas de <i>Passiflora setacea</i> DC. via germinação de sementes <i>in vitro</i> .....	33
1 Resumo.....	33
2 Abstract.....	34
3 Introdução.....	35
4 Material e métodos.....	37
5 Resultados e discussão.....	38
6 Conclusões.....	42
7 Referências bibliográficas.....	42
CAPÍTULO 4: Efeito de diferentes meios nutritivos associados a várias concentrações de sacarose na multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Passiflora setacea</i> DC.....	45
1 Resumo.....	45
2 Abstract.....	46
3 Introdução.....	47
4 Material e métodos.....	48
5 Resultados e discussão.....	49
6 Conclusões.....	54
7 Referências bibliográficas.....	54

## RESUMO

SANTOS, Flávia Carvalho. **Caracterização físico-química do fruto e micropropagação do maracujá-do-sono (*Passiflora setacea* DC.)**. Lavras: UFLA, 2006. 59p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia/Fitotecnia)\*.

Em função da dificuldade de propagação da *Passiflora setacea*, tanto na germinação das sementes como no enraizamento de estacas, as técnicas de cultura de tecidos tornam-se viáveis para a sua propagação. Objetivou-se obter a germinação *in vitro* e determinar o meio de cultura para a micropropagação *in vitro* de *Passiflora setacea* DC. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras. Fez-se análise físico-química de frutos de *Passiflora setacea* DC. provenientes do Centro de Pesquisa EMBRAPA Cerrados, Planaltina, DF, apresentando as seguintes características: comprimento de 5,38 cm, diâmetro de 4,30 cm, peso do fruto de 47,26 g (21,94 g de casca e 25,32 g de polpa + casca), rendimento médio de polpa 53,6%, 205 sementes por fruto, teor de acidez do suco de 2,61%, teor de °Brix de 16,8 e pH de 3,04. Sementes oriundas desta análise foram utilizadas no experimento de quebra de dormência, que constou-se dos seguinte tratamento: doses de ácido giberélico (0; 20; 40 mg.L<sup>-1</sup>), combinadas com presença de escarificação (corte na ponta da semente, no meio e ausência), em que observou-se que o uso de 20 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> escarificando a ponta da sementes (próximo ao embrião) proporcionou maior percentagem de dormência e índice de velocidade de germinação. Plântulas oriundas do experimento de germinação *in vitro* foram utilizadas para o experimento de germinação. Foram testados meios de cultura MS, MSM, BDS, DSD1 e WPM combinados com concentrações de sacarose (0, 15, 30, 45 g.L<sup>-1</sup>). O emprego do meio de cultura MSM associado com 28,51 e 28,74 g.L<sup>-1</sup> de sacarose promoveu maior comprimento da parte aérea e número de gemas, respectivamente. O meio MSM acrescido de 45 g. L<sup>-1</sup> de sacarose proporcionou maior peso da matéria seca das plântulas. Não houve presença de raízes e de brotações em todos os tratamentos do ensaio.

---

\* Orientador: José Darlan Ramos - UFLA

## ABSTRACT

SANTOS, Flávia Carvalho. **Physical-chemical characterization and micropropagation of the passion fruit (*Passiflora setacea* DC.)**. Lavras: UFLA, 2006. 59p. (Dissertation – Master's Degree in Agronomy/Plant Science)\*.

In function of the propagation difficulty of the *Passiflora setacea* DC., in seed germination, as well as in the rooting of cuttings, tissue culture techniques become viable for its propagation. The object was to obtain *in vitro* germination and to determine the culture medium for the *in vitro* micropropagation of *Passiflora setacea* DC. The experiments were carried out in the Tissue Culture Laboratory of the Department of Agriculture in the Federal University of Lavras. Physical-chemical analysis of *Passiflora setacea* DC. fruits from the EMBRAPA Cerrados Research Center, Planaltina, DF, were done. The results presented the following characteristics: length-5.38 cm, diameter-4.30 cm, fruit weight-47.26 g (21.94 g of peel and 25.32 g of pulp + peel), average pulp yield-53.6%, seeds per fruit-205, juice acidity level-2,61%, Brix scale level-16.8 and pH-3.04. Seeds originating from this analysis were used in the dormancy break experiment which consisted of the following treatment: doses of gibberellic acid (0; 20; 40 mg.L<sup>-1</sup>), combined with scarification presence (cut on the tip of the seed, in the middle and absence). It was observed that the use of 20 mg.L<sup>-1</sup> of GA<sub>3</sub> and scarring the tip of the seeds (close to the embryo) provided a higher dormancy percentage and germination speed index. Plantlets originating from of the *in vitro* germination experiment were used for the germination experiment. The tested culture mediums were, MS, MSM, BDS, DSD1 and WPM combined with sucrose concentrations (0, 15, 30, and 45g.L<sup>-1</sup>). The use of the MSM culture medium associated with 28.51 and 28.74 g.L<sup>-1</sup> of sucrose promoted larger length of the aerial part and number of buds, respectively. The medium MSM supplemented with 45 g. Sucrose L<sup>-1</sup> provided higher dry matter weight of the plantlets. There was no root or shoot presence in any of the treatments of the assay.

---

\* Major Professor: José Darlan Ramos – UFLA

## CAPÍTULO 1

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

A cultura do maracujazeiro, no Brasil, ocupa posição de destaque, sendo também, atualmente, o maior produtor mundial de frutos. Grande número de espécies é conhecida e utilizada para diferentes finalidades, dividindo-se, basicamente, em comestíveis, medicinais ou ornamentais. As espécies cultivadas comercialmente são: maracujá-azedo ou maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.), maracujá-roxo (*Passiflora edulis*) e maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis). Entretanto, a cultura apresenta alguns problemas com relação à propagação e à fitossanidade, dentre os quais as doenças provocadas por patógenos do solo se constituem nas mais importantes, em termos de expressão econômica. Por isso, variabilidade observada entre e dentro de espécies do gênero *Passiflora* para resistência a doenças e pragas tem sido estudada e caracterizada com o objetivo de aproveitá-las nos programas de melhoramento e utilização de porta-enxertos.

Dentre as espécies pouco conhecidas, destaca-se o maracujá-sururuca ou maracujá-do-sono (*Passiflora setacea* DC.), uma espécie silvestre pouco estudada, em especial com relação a propagação, germinação e condições de armazenamento. Vários autores citam que essa espécie silvestre possui tolerância a algumas doenças e pragas, como resistência à morte precoce e à fusariose, constituindo uma importante alternativa potencial para porta-enxertos. Poucas características são conhecidas, a exemplo seu longo período de dormência das sementes e dificuldade no enraizamento de estacas.

Em função da dificuldade de propagação da espécie *Passiflora setacea* DC., tanto no que diz respeito à germinação das sementes quanto ao

enraizamento de estacas, as técnicas de cultura de tecidos tornam-se alternativas viáveis a serem pesquisadas. Além dos problemas citados, há relatos de que a espécie *Passiflora setacea* DC. se encontra em extinção.

A aplicação cultura de tecidos em *Passiflora* spp. poderá contribuir para o desenvolvimento de mudas de alta qualidade fitossanitária e genética. As técnicas de cultura de tecidos têm sido empregadas de diferentes formas no desenvolvimento de cultivares superiores, desde a obtenção de mudas sadias de diversas espécies até o apoio a programas de melhoramento genético.

Estudos visando à otimização do processo de multiplicação *in vitro* são também de grande importância para maior eficiência na regeneração clonal de plantas. Diversos fatores influenciam a qualidade e a quantidade de plantas obtidas, podendo-se citar, entre os mais importantes, as condições ambientais, os tipos de reguladores vegetais e a composição do meio de cultura nas diferentes fases do processo.

No presente trabalho, objetivou-se estudar a caracterização físico-química dos frutos, a germinação *in vitro* e determinar meio de cultura para a micropropagação de *Passiflora setacea* DC.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Importância da cultura do maracujazeiro

O gênero *Passiflora* compreende cerca de 24 subgêneros e 465 espécies (Vanderplank, 1996), entre as quais cerca de 50 espécies produzem frutos comestíveis. A maioria das espécies do gênero *Passiflora* é oriunda das regiões Central e Norte do Brasil, cerca de 150, considerado o principal centro de diversidade genética (Lopes, 1991).

Apesar desse grande número de espécies, somente algumas têm importância econômica em função da qualidade dos frutos para consumo ou por apresentarem propriedades medicinais. As espécies *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg. (maracujá-amarelo) e *Passiflora alata* Curtis. (maracujá-doce) são as mais cultivadas.

Os plantios comerciais são formados, basicamente, por maracujá-amarelo, que é responsável por 95% dos pomares brasileiros (Meletti & Maia, 1999; Ruggiero et al., 1996).

O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa*), com produção aproximada de 330.777 toneladas (FNP Consultoria & Agroinformativos, 2003). Os mercados de suco e de fruta fresca têm crescido e a produção, embora estagnada nos últimos anos, é substancialmente maior que aquela de décadas anteriores (Aguiar & Santos, 2001). O destino da produção varia de acordo com a região, porém, verifica-se ao longo das últimas duas décadas, uma inversão: o mercado de fruta fresca que absorvia, aproximadamente, 30% da produção nacional, hoje absorve mais da metade (Ruggiero & Oliveira, 1998). O suco da fruta concentrado ocupa o segundo lugar na pauta de exportações brasileiras de sucos de frutas que

movimenta um mercado mundial de 5,0 bilhões de dólares/ano (Ruggiero et al., 1996). O mercado internacional de maracujá é considerado emergente, necessitando apenas de garantia de continuidade de fornecimento ao longo dos anos. A cultura está presente em praticamente todas as regiões do país e os principais estados produtores são Minas Gerais (62%), Bahia (23,40%), São Paulo (17,50%), Sergipe (10,83%) e Goiás (14%) (FNP Consultoria & Agroinformativos, 2003).

O Brasil possui excelentes condições ecológicas para o cultivo do maracujazeiro, mas a produtividade, de modo geral, ainda é baixa. Esse fato deve-se, principalmente, à falta de informações técnico-científica e ao baixo nível tecnológico dos produtores no manejo da cultura na pré e pós-colheita (Melo et al., 2001). Oliveira & Ferreira (1991) apontam a falta de uma cultivar homogênea, produtiva e tolerante às principais moléstias como entrave à qualidade e à produtividade dos pomares comerciais. Além disso, as variedades de maracujá comercial são, em sua maioria, suscetíveis a grande número de pragas e doenças, além de pouco produtivas.

Os trabalhos de melhoramento genético ainda são escassos, mas podem contribuir significativamente para o aumento da produtividade em função da grande variabilidade existente (Bruckner, 1997) e também para diminuir a oscilação na área plantada e a conseqüente produção de frutos.

## **2.2 Descrição da espécie *Passiflora setacea* DC.**

A espécie *Passiflora setacea* DC. é conhecida no Brasil como maracujá-sururuca ou maracujá-do-sono. É uma fruta de antiga popularidade, está incluída no rol das passifloráceas de frutos saborosos e é muito apreciada para a fabricação de doces. É uma planta de caule roliço, sutilmente revestido de tomento pardacento; folhas trilobadas com 5 a 8 cm longitudinalmente por 6 a

10 cm transversalmente; pecíolos com 3cm de comprimento, portando, na base, um par de glândulas sésseis. Fruto globoso para ovóide, com 4 cm de comprimento por 3 cm de diâmetro; casca verde-amarelada e rajadas quando próximos à maturação, apresentando cinco listas longitudinais da base ao ápice do fruto, casca coriácea, suco doce-acidulado e saboroso (Sousa & Meletti, 1997).

Segundo Oliveira et al. (2005), as flores são brancas e solitárias, a antese ocorre depois das 18 horas, apresentando baixa taxa de frutificação em Jaboticabal, SP e Araguari, MG, provavelmente, devido à falta de agentes polinizadores. A polinização artificial dá bons resultados, dando origem a frutos grandes. No sul da Bahia e no semi-árido mineiro, é conhecido como maracujá-cobra.

As sementes obovadas são de tamanho reduzido em relação a outras passifloráceas e perdem rapidamente a capacidade de germinação. No início do desenvolvimento, as plântulas são delicadas com caule delgado. Em cultivo, apresentam crescimento inicial lento e posteriormente vigoroso. Algumas plantas chegaram a viver nove anos segundo (Oliveira & Rugiero, 2005).

### **2.3 Propagação do maracujazeiro**

A propagação do maracujazeiro pode ser feita por meio de sementes ou vegetativamente, por meio de enxertia ou estaquia (Grattapaglia et al., 1991; São José et al., 1994). A propagação por meio de sementes determina, por segregação provocada pela polinização cruzada, indivíduos diferentes, com conseqüente formação de lavouras heterogêneas, acarretando diferenças no Brix e coloração do suco, prejudicando o aproveitamento industrial do produto. Em escala comercial, os produtores multiplicam o maracujazeiro por meio de sementes. Entretanto, este método apresenta a desvantagem de a germinação não

ser sincronizada, havendo relatos de que ela ocorrer no período de 10 dias até 6 semanas, fato que dificulta a formação de mudas, devido à desuniformidade destas (Tsuboi & Nakagawa, 1992).

A propagação vegetativa permite a multiplicação de plantas selecionadas pela alta produtividade e teor de suco, como também para o estabelecimento de plantios uniformes. Entretanto, esta prática é mais utilizada em programas de pesquisa e melhoramento do maracujazeiro na multiplicação de clones.

A enxertia pode ser realizada visando, principalmente, contornar problemas fitossanitários pela combinação e multiplicação de espécies mais tolerantes como também para a manutenção de bancos de germoplasma (Grattapaglia et al., 1991; Sousa & Meletti, 1997).

A propagação por meio da enxertia apresenta algumas vantagens, tais como a obtenção de plantas filhas iguais à planta mãe, o controle de pragas e doenças do sistema radicular pelo uso adequado do porta-enxerto e o aumento da produtividade (Ruggiero et al., 1994). Embora esses autores tenham sugerido o incremento de novas áreas com mudas enxertadas, também salientam a existência de problema com o tempo gasto para a produção destas mudas, o que dificulta o seu uso por parte dos produtores.

Ainda segundo Ruggiero et al. (1994), é comum, dentro de um pomar obtido por meio de sementes, a existência de plantas altamente produtivas e outras de baixa produtividade. Desse modo, a propagação vegetativa poderia contribuir para a implantação de pomares tecnicamente superiores àqueles formados por meio de sementes, em função de multiplicação de material produtivo, do controle de doenças e pragas pelo uso adequado do porta-enxerto, da resistência à seca, da redução do volume da copa e da influência na qualidade dos frutos.

O conhecimento sobre os aspectos da germinação de sementes das diversas espécies de *Passiflora* é fundamental para a propagação e para a

manutenção de bancos de germoplasma, visando evitar a erosão genética (Passos et al., 2004).

Nos estudos de melhoramento de plantas, principalmente em programas de seleção, essa diversidade pode ser investigada precocemente pela qualidade fisiológica das sementes, com os testes de vigor (Dias & Marcos Filho, 1995). Assim, o tempo médio de germinação e sua uniformidade poderão proporcionar produção de mudas em escala comercial de maneira mais eficiente (Alexandre et al., 2004).

Muitas informações são conhecidas quanto à germinação de sementes do maracujazeiro, porém, é unânime a afirmativa de que o início e o término de germinação das sementes de Passifloráceas ocorrem de forma irregular. Este período pode ser de dez dias a três meses, o que dificulta a formação das mudas, por não serem uniformes (Akamine et al., 1956; Kuhne, 1968; Luna, 1984).

Alexandre et al. (2004) afirmam que, nos trabalhos de melhoramento e em outras pesquisas, tem sido, por vezes, constatado que as sementes de algumas plantas não germinam bem ou de modo mais lento, apesar de coletadas e beneficiadas pela mesma técnica utilizada em sementes que não apresentam tais problemas.

Segundo Santos et al. (2003), a propagação de espécies nativas é limitada pela ocorrência de dormência nas sementes, retardando a sua germinação.

A dormência pode ser definida como o fenômeno pelo qual as sementes de uma determinada espécie, mesmo sendo viáveis e tendo todas as condições ambientais para tanto, deixam de germinar. O estado de dormência não se confunde com o de quiescência, que é um estado de repouso em que, estando viável a semente, ele é facilmente superável com o fornecimento das condições ambientais necessárias (Carvalho & Nakagawa, 1988; Hartmann et al., 1997).

Algumas espécies apresentam dormência em suas sementes. Essa dormência consiste em um mecanismo de sobrevivência, pois pode retardar a germinação, que não ocorre quando as condições para o estabelecimento das plântulas são limitantes, além de permitir a distribuição das sementes germinadas ao longo do tempo, favorecendo sua sobrevivência (Ramos et al., 2002).

No caso de espécies silvestres, como *Passiflora setacea* DC., *Passiflora cincinata* e *Passiflora nitida*, tolerantes a moléstias e com importante potencial para porta-enxertos, o período de dormência é muito mais longo do que em outras passifloráceas (Manica et al., 2005).

A espécie *Passiflora setacea* DC. apresentar dormência em suas sementes. Além disso Roncatto et al. (2002), estudando a avaliação do comportamento de diferentes espécies de maracujazeiro (*Passiflora* spp.) propagadas por estaquia, observaram que ela não apresenta potencial para enraizamento.

Com dificuldades de germinação, enraizamento de estacas limitados, as técnicas de cultura de tecidos representam estratégias importantes para a sua propagação.

#### **2.4 Alguns aspectos ligados à tolerância a pragas e doenças**

A variabilidade observada entre e dentro de espécies do gênero *Passiflora* para resistência a doenças e pragas tem sido estudada e caracterizada com o objetivo de aproveitá-las nos programas de melhoramento e utilização de porta-enxertos (Fischer, 2003).

Segundo Chaves et al. (2004), há grande número de doenças associadas à baixa produtividade do maracujazeiro, especialmente aquelas relacionadas a patógenos do solo, tais como fusariose, podridão-do-pé e morte prematura. Uma

alternativa a esse problema seria a utilização de espécies nativas resistentes como porta-enxertos para o maracujazeiro comercial.

De acordo com Ruggiero & Oliveira (1998), as informações já disponíveis, geradas pela pesquisa, sobre o comportamento de várias espécies de maracujazeiro para a formação de mudas enxertadas, devem ser aproveitadas pelos grandes pólos da cultura, como promissores porta-enxertos. Inicialmente, essas observações deveriam ser conduzidas com ênfase para: *Passiflora gibertii*, *Passiflora macrocarpa*, *Passiflora setacea* DC., *Passiflora caerulea*, *Passiflora nitida*, *Passiflora laurifolia* e *Passiflora alata*. A curto e médio prazos, a adoção da enxertia em porta-enxertos resistentes à morte prematura de plantas parece ser o caminho para o plantio em áreas com histórico da doença.

Existem perspectivas de controle de fusariose ou murcha (*Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*), podridão-do-pé (*Fusarium solani*) e antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) no maracujá-doce, com o uso de enxertia em porta-enxertos resistentes de *Passiflora alata* ou de outras espécies, como *Passiflora setacea* DC., híbridos F<sub>1</sub> de *Passiflora setacea* x *Passiflora edulis*, *Passiflora setacea* DC. x *Passiflora coccinea*, *Passiflora nitida*, *Passiflora coccinea* e outras (Manica et al., 2005).

Ruggiero & Oliveira (1998) relatam que, no Campus da UNESP–Jaboticabal, cultivando espécies de maracujazeiros em local com histórico de morte prematura, observou-se que *Passiflora alata*, *Passiflora nitida*, *Passiflora macrocarpa*, *Passiflora setacea* DC., *Passiflora laurifolia*, *Passiflora gibertii* e *Passiflora suberosa* apresentam alta resistência em relação à doença. Para o controle a curto prazos, está sendo recomendado enxertar o maracujá-amarelo, o maracujá-roxo e outras espécies para a sua manutenção sobre *Passiflora alata*, *Passiflora gibertii*, *Passiflora macrocarpa* e *Passiflora setacea* DC. A médio e longo prazo está se tentando transferir genes de resistência das espécies resistentes para *Passiflora edulis* (maracujá-amarelo e maracujá-roxo).

Soares-Scott et al. (2002) observaram a resistência à morte prematura de plantas, com tolerância também à murcha causada por *Fusarium* ssp. Além disso, esta espécie mostra compatibilidade com o maracujá-amarelo, resultando em híbridos interespecíficos, com potencial agrônomo, que estão sendo avaliados.

Pelo que se observou, no comportamento de híbridos interespecíficos visando à resistência à morte prematura de plantas, a transferência de resistência de *Passiflora setacea* para *Passiflora edulis* tem se mostrado a mais promissora em relação aos híbridos *Passiflora edulis* vs *Passiflora giberti*, *Passiflora edulis* vs *Passiflora alata*, *Passiflora edulis* vs *Passiflora laurifolia* e *Passiflora edulis* vs *Passiflora macrocarpa*. Entretanto, tem-se esbarrado na esterilidade masculina dos descendentes híbridos e as dificuldades da técnica de avaliação da resistência (Ruggiero et al., 1994).

Além da *Passiflora caerulea*, outras espécies de passifloras nativas, como *Passiflora nitida*, *Passiflora laurifolia* e alguns acessos de *Passiflora setacea* DC., *Passiflora suberosa*, *Passiflora alata*, *Passiflora coccinea* e *Passiflora gibertii*, vêm apresentando resistência à morte precoce e à fusariose (Menezes et al. 1994; Oliveira et al., 1994).

Yamashiro (1987) observou em campo, que, em frutos *Passiflora cincinnata* e *Passiflora nítida*, a verrugose dos frutos (*Cladosporium herbarum* Link) causa danos severos e mais leves em *Passiflora edulis* e *Passiflora laurifolia*. Já em frutos de *Passiflora setacea* DC., *Passiflora gibertii* e *Passiflora alata*, raramente observou-se esta doença.

Com relação ao melhoramento de plantas visando resistência a pragas, Boiça Júnior et al. (1996) avaliaram a preferência alimentar de *Epicauta atomaria* por genótipos de maracujazeiro, em condições de laboratório, em testes com e sem chance de escolha. Concluíram que o genótipo preferido para alimentação pelo inseto foi a *Passiflora caerulea*, enquanto que, entre os menos

preferidos, destacaram-se *Passiflora setacea* DC., *Passiflora cincinnata*, *Passiflora alata*, *Passiflora coccínea*, *Passiflora nitida*, *Passiflora edulis*, híbrido *Passiflora alata*<sub>2</sub> x *Passiflora macrocarpa* e híbrido *Passiflora edulis* x *Passiflora alata*.

Boiça Júnior (1991), avaliando a infestação de maracujazeiro com *Dione juno juno* em condições de campo, constatou que os genótipos menos afetados pela praga foram *Passiflora alata*, *Passiflora setacea*, *Passiflora coccinea*, *Passiflora nitida*, híbrido *Passiflora edulis* x *Passiflora setacea* DC. e híbrido *Passiflora alata*<sub>2</sub> x *Passiflora macrocarpa*, enquanto *Passiflora edulis* x *Passiflora gibertii* e *Passiflora caerulea* foram os mais infestados.

Segundo Ruggiero (1998), existe bom intercâmbio entre instituições de ensino e pesquisa no fornecimento de sementes de *Passiflora*. Entre as espécies cujo comportamento é pouco conhecido, observou que *Passiflora nitida*, *Passiflora incarnata*, *Passiflora cincinnata*, *Passiflora setacea* DC., *Passiflora gibertii*, *Passiflora laurifolia*, *Passiflora alata*, *Passiflora serrato digitata* e *Passiflora coccinea* são espécies vigorosas e apresentam ampla adaptação.

Essas observações são de suma importância para a propagação da cultura do maracujazeiro. Por meio da técnica de cultura de tecidos, haverá maior produção de mudas de porta-enxerto *Passiflora setacea* DC. com qualidade fitossanitária e genética, principalmente pelas características favoráveis de tolerância a pragas e doenças.

## **2.5 Micropropagação do maracujazeiro**

A cultura de tecidos é um procedimento asséptico de laboratório em que partes de uma planta são cultivadas em ambiente controlados, em pequenos recipientes, com todos os nutrientes requeridos para o crescimento. Reguladores específicos de crescimento são adicionados para controlar o crescimento e o

desenvolvimento. Por meio desse procedimento é possível realizar propagação de clones em larga escala, obtenção de plantas isentas de vírus, preservação de germoplasma e produção de mudas durante o ano todo (Bruckner et al., 2002; Hartmann et al., 1997).

A micropropagação pode ser útil, tanto na produção de plantas matrizes quanto na produção direta de porta-enxertos e de mudas das cultivares-copa sem enxertia (Fráguas, 2003)

De acordo com Barbosa (1998), o gênero *Passiflora* tem despertado o interesse crescente por parte da comunidade científica em desenvolver trabalhos em várias áreas do conhecimento, dentre elas genética, botânica, fisiologia vegetal e biotecnologia. Nesse sentido, o conhecimento e o domínio das técnicas de cultura de tecidos e de morfogênese *in vitro* serão de grande importância como técnica auxiliar no desenvolvimento de estudos de clonagem, caracterização e incorporação de genes relacionados à resistência a viroses, a bacterioses e doenças fúngicas.

Em espécies frutíferas, desde o início de sua utilização, técnicas de cultura de tecidos vêm proporcionando maior disponibilidade de plantas de boa qualidade fitossanitária, sendo utilizadas já em escala comercial para várias espécies de frutíferas, como morangueiro, bananeira, citros, macieira, mangueira e mamoeiro, entre outras (Caldas & Grattapaglia, 1986). Além da cultura de meristemas e micropropagação clássica, técnicas como a embriogênese somática permitem uma propagação rápida do material superior e sadio. A cultura de tecidos pode contribuir para o melhoramento de frutíferas por meio de técnicas como cultura de embriões ou de anteras, fusão de protoplastos, assim como pela possibilidade de aproveitamento de variação somaclonal observadas em culturas *in vitro*.

Vaz (1991) cita o maracujazeiro, entre as frutíferas que podem se beneficiar grandemente das técnicas biotecnológicas. Algumas das contribuições

imediatas citadas pelo autor são a propagação clonal a partir de matrizes superiores, a micropropagação de porta-enxertos, a limpeza fitossanitária de clones, entre outras.

Para manipulação *in vitro*, em são necessários de explantes vegetativos, é interessante que as plantas doadoras de explantes já tenham sido introduzidas *in vitro*, mantendo-se assim por meio da clonagem. Essa introdução pode ser feita pela germinação de sementes em condições assépticas e a partir de ápices caulinares e ou segmentos nodais. Entretanto, se o interesse é a introdução ou multiplicação rápida de genótipos elites e ou resistentes a doenças, há necessidade de se obter um protocolo para a introdução *in vitro* de explantes a partir das plantas adultas ou matrizes selecionadas.

A regeneração de plantas por meio de organogênese e a micropropagação de espécies de *Passiflora* vêm sendo obtidas por vários autores, por meio de diversos tipos de explantes. A maioria dos reguladores vegetais utilizados é do grupo das citocininas, principalmente 6-benzilaminopurina (BAP), cinetina (KIN) e zeatina, podendo ser acrescidas pequenas concentrações de auxinas como ácido naftalenoacético (ANA), ácido indoacético (AIA) ou 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) (Monteiro-Hara, 2000).

Kantharajah & Dodd (1990) descreveram um protocolo para micropropagação de *Passiflora edulis* a partir de explantes nodais. Aparentemente, houve formação de gemas adventícias sem produção de calos. A adição de água de coco (20%) e de 2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP no meio MS (Murashige & Skoog, 1962) foram efetivas na produção de brotação.

Moran Robles (1979) cultivou gemas axilares e entrenós de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* e *Passiflora mollissima*, respectivamente, e obteve sucesso no desenvolvimento de calos e multiplicação vegetativa. Os explantes foram cultivados em meio de Nitsch (1968), em presença de 2,0 mg.L<sup>-1</sup> de cinetina. Para a primeira espécie, o cultivo foi seguido de transferência para

meio com AIA. As plantas regeneradas apresentaram número de cromossomos  $2n=18$ , mantendo as características genéticas das plantas de origem.

Drew (1991) promoveu o desenvolvimento de gemas axilares de plantas de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* em meio de cultura contendo 6-isopenteniladenina (2iP) e AIA. A multiplicação das plantas foi realizada em meio contendo citocininas (BAP, cinetina) e auxina (AIA).

A micropropagação de *Passiflora edulis* (maracujá-roxo) foi obtida com sucesso por Kantharajah & Dodd (1990). Segmentos nodais foram cultivados em meio MS contendo  $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$  de BAP e 2% de sacarose durante 4 semanas, seguido de cultivo em meio similar, sem regulador vegetal, por 1 a 2 semanas. O enraizamento das plântulas foi feito em meio acrescido de  $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$  de ANA, durante 5 semanas. Em estudos posteriores, trabalhando com a mesma espécie, os autores obtiveram somente calo e raízes quando introduziram discos de folha em meio MS com diferentes concentrações de ANA e BAP.

Propagação *in vitro* foi obtida utilizando como explantes meristemas apicais de plântulas de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa*. Os explantes foram cultivados em meio MS contendo doses de BAP, sob 16 horas de fotoperíodo. O crescimento das gemas foi observado em todos os tratamentos testados, tendo a presença do BAP (2 ou  $5 \mu\text{M}$ ) promovido a multiplicação das gemas axilares. O efeito das concentrações de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  também foi avaliado. A proliferação das gemas foi reduzida semente em proporções muito baixas entre esses sais (16:1 ou 1:16). O enraizamento de plântulas foi feito em meio sem adição de auxina e a aclimatização foi facilmente obtida, com taxa de sobrevivência entre 95% e 100% (Faria & Segura, 1997).

O cultivo *in vitro* de gemas axilares de plantas juvenis e adultas de espécies de *Passiflora*, incluindo *Passiflora alata*, foi estudado por Drew (1991). Os explantes de plantas adultas iniciaram o crescimento em meios MS, contendo 2iP ( $30,6 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e AIA ( $3,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ). A redução da concentração dos

reguladores promoveu aumento acentuado no crescimento das gemas axilares, mantendo a dominância apical. Nos explantes juvenis, o crescimento foi obtido com cinetina ( $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e AIA ( $0,9 \text{ mg.L}^{-1}$ ). A multiplicação foi obtida em meio MS com  $4,5 \text{ mg.L}^{-1}$  BAP,  $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$  cinetina e  $0,9 \text{ mg.L}^{-1}$  AIA. O autor relata a importância do cultivo no escuro durante uma semana, permitindo ação do AIA no estímulo ao crescimento das gemas, pois este regulador sofre oxidação na presença de luz.

Passos (1999), estudando o comportamento *in vitro* de *Passiflora nítida*, observou que a utilização da citocinina BAP, adicionada ao meio MS, foi essencial para a introdução e estabelecimento *in vitro* de ápices caulinares e segmentos nodais a partir de plantas adultas de *Passiflora nitida*. Não houve interferência da cultura de tecidos na estabilidade mitótica das plantas de *P. nítida* introduzidas *in vitro* por meio de ápices caulinares e segmentos nodais.

A introdução *in vitro* de diversas espécies de *Passiflora* (*Passiflora gibertii*, *Passiflora amethystina*, *Passiflora mollissima*, *Passiflora maliformis* e *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) foi descrita por Dornelas & Vieira (1994). As plantas doadoras de explantes possuíam 20 dias de idade e os explantes constaram de ápices de caule de 0,5 mm de comprimento. Nenhum regulador de crescimento foi necessário para o estabelecimento *in vitro* no meio 50% MS acrescido de  $15 \text{ g.L}^{-1}$  de sacarose.

## **2.6 Meios de cultura**

Os meios de cultura, por constituírem parte essencial da cultura de tecidos, têm evoluído juntamente com a própria ciência da biotecnologia.

Na cultura de tecidos, os meios de cultura geralmente são compostos de uma fonte de carboidratos, macro e micronutrientes e outras substâncias, como vitaminas, aminoácidos, açúcares, agente solidificante e reguladores de crescimento (George & Sherrington, 1984).

Inicialmente, foram utilizados os mais diferentes tipos de meios e componentes até o estabelecimento do meio 'MS' de Murashige & Skoog (1962). Este meio contém 40 mM de  $\text{NO}_3^-$  e 20 mM de  $\text{NH}_4^+$  e o crescimento das células e tecidos da plantas está relacionado à alta concentração de amônia e nitrato.

Monteiro-Hara (2000), estudando um meio de cultura para micropropagação de maracujá-azedo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.), concluiu que o MSM (meio de cultura modificado) foi definido para o cultivo *in vitro* de maracujá-azedo e que o processo utilizado para definir o meio de cultura MSM pode ser também utilizado para a definição de meio adequado para outras espécies ou mesmo cultivares.

De acordo com Brum (2001), o meio mais adequado e eficiente é variável para cada tipo de espécie, cultivar e explante. A extrapolação pura e simples, em geral, não traz os melhores resultados. Para determinar o melhor meio para cada caso, deve-se recorrer a diversos ensaios.

O meio de cultura deve suprir tecidos e órgãos cultivados *in vitro* com nutrientes necessários ao crescimento. Basicamente, o meio de cultura fornece não só macro e micronutrientes, mas também carboidratos (normalmente a sacarose) para substituir o carbono que a planta normalmente fixa na atmosfera pela fotossíntese. Para proporcionar melhor desenvolvimento, normalmente incluem-se certos componentes orgânicos, como vitaminas, aminoácidos e reguladores de crescimento. Diversos outros produtos, a exemplo de sucos de frutas, leite de coco, extratos de leveduras e proteínas hidrolisadas, foram usados no passado, substituindo vitaminas e aminoácidos ou mesmo como suplementos adicionais. Como é importante que o meio seja o mesmo em todas as vezes que for preparado, componentes que podem variar em sua composição devem ser evitados, mesmo que proporcionem resultados positivos (Pasqual, Hoffman e Ramos, 1997).

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKAMINE, E. K.; BEUMONT, J. H.; BOWERS, F. A. I.; HAMILTON, R. A.; NISHIDA, T.; SHERMEN, G. D.; SHOJI, K.; STOREY, W. B. **Passion fruit culture in Hawaii**. Hawaii: University of Hawaii, 1956. 35 p. (Extension Circular, 245).

AGUIAR, D. R. D.; SANTOS, C. C. F. Importância econômica mercado. In: BRUCKNER, C. H.; PIÇANVO, M. C.; MANICA, I. (Ed.). **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001. 472 p.

ALEXANDRE, R. S.; WAGNER JUNIOR, A.; NEGREIROS, J. R. S.; PARIZZOTTO, A.; BRUCKNER, C. H. Germinação de sementes de genótipos de maracujazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 12, p. 1239-1245, dez. 2004.

BARBOSA, L. V. **Citologia de híbridos somáticos de *Passiflora* spp. obtidos por fusão de protoplastos**. Piracicaba, 1998. 127 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo.

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

BOIÇA JUNIOR, A. L. **Resistência de maracujazeiro (*Passiflora* spp) a *Dione juno juno* (Cramer, 1779) (Lepidóptera, Nymphalidae) e determinação dos tipos envolvidos**. Jaboticabal, 1991. 218 p. Tese (Livre – Docência) – Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

BRUCKNER, C. H. Perspectivas do melhoramento genético do maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A. R.; BRUCKNER, C. H.; MANICA, I.; HOFFMANN, M. (Ed.). **Maracujá: temas selecionados (1): melhoramento, morte prematura, polinização, taxonomia**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 1997. p. 7-24.

BRUCKNER, C. H.; MELETTI, L. M. N.; OTONI, W. C.; ZERBINI JUNIOR, F. M. Maracujazeiro. In: BRUCKNER, C. H. (Ed.). **Melhoramento de fruteiras tropicais**. Viçosa: UFV, 2002. 422 p.

BRUM, G. R. **Micropropagação da figueira (*Ficus carica* L.) ‘Roxo de Valinhos’**. 2001. 43 p. Dissertação (Mestrado) – UFLA. Universidade Federal de Lavras.

CALDAS, L. S.; GRATTAPAGLIA, D. Aplicações da biotecnologia na fruticultura: presente e futuro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 8, n. 1, p. 7-17, 1986.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Ed. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424 p.

CHAVES, R. C.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; BELLON, G.; PEIXOTO, J. R.; BARROS, A. M.; BORGES, T. A.; ALMEIDA, D. A.; COSTA, B. Enxertia de maracujzeiro-azedo em estacas herbáceas enraizadas de espécies de passifloras nativas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 120-123, abr. 2004.

DIAS, D. C. F. S.; MARCOS FILHO, J. Testes de vigor baseados na permeabilidade das membranas celulares: I. Condutividade elétrica. **Informativo Abrates**, Londrina, v. 5, n. 1, p. 26-33, abr. 1995.

DORNELAS, M. C.; VIEIRA, M. L. C. Tissue culture studies on species of *Passiflora*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 36, n. 2, p. 211-217, Feb. 1994.

DREW, R. A. In vitro culture of adult and juvenile bud explants of *Passiflora* species. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 26, n. 1, p. 23-27, July 1991.

FARIA, J. L. C.; SEGURA, J. In vitro control of adventitious bud differentiation by inorganic médium components and silver thiosulfate in explantes of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. **In vitro Cell Development Biology** – Plant, Largo, v. 33, n. 3, p. 209-212, July/Sept. 1997.

FISCHER, I. H. **Seleção de plantas resistentes e de fungicidas para o controle da “morte prematura” do maracujazeiro, causada por *Nectria haematococca* e *Phytophthora parasítica***. 2003. 48 p. Tese (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba- SP.

FNP CONSULTORIA & AGROINFORMATIVOS. **Agrianual 2003**: anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo, 2003. p. 399-405: maracujá.

FRÁGUAS, C. B. **Micropropagação e aspectos da anatomia foliar da figueira ‘Roxo de Valinhos’ em diferentes ambientes.** 2003. 110 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant propagation by tissue culture:** handbook and directory of commercial laboratories. Eversley: Exegetics Limited, 1984. 593 p.

GRATTAPAGLIA, D.; CALDAS, L. S.; SILVA, J. R. da.; MACHADO, M. A. Cultura de tecidos de maracujá. In: SÃO JOSÉ, A. R.; FERREIRA, F. R.; VAZ, R. L. **A cultura do maracujá no Brasil.** Jaboticabal: FUNEP, 1991. p. 61-77.

HARTMANN, H. et al. **Plant propagation:** principles and practices. 6. ed. New Jersey: Prentice hall, 1997. p. 98-349.

KANTHARAJAH, A. S.; DODD, W. A. *In vitro* micropropagation of *Passiflora edulis* (purple passionfruit). **Annals of Botany**, London, v. 63, n. 3, p. 337-339, Mar. 1990.

KUHNE, F. A. Cultivation of granadillas. **Farming in South Africa**, Pretoria, v. 43, n. 1, p. 29-32, 1968.

LOPES, S. C. Citogenética do maracujá, *Passiflora* spp. In: SÃO JOSÉ, A. R. **A Cultura do Maracujá do Brasil.** Jaboticabal: Funep, 1991. p. 201-209.

LUNA, J. V. U. **Instruções para a cultura do maracujá.** Salvador: Epaba, 1984. 25 p. (Circular Técnica).

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, pós-coeita, mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2005. 198 p.

MELETTI, L. M. M.; MAIA, M. L. **Maracujá:** produção e comercialização. Campinas: IAC, 1999. 64 p. (IAC Boletim Técnico, 181).

MELO, M. O.; MELO, M.; APPEZATTO-DA-GLÓRIA, B. Histological of the callogenesis and organogenesis form root segments of *Curcuma zedoaria* Roscoe. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 44, n. 2, p. 197-203, Apr./June 2001.

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.

MONTEIRO-HARA, A. C. B. A. **Cultivo *in vitro* de três espécies do gênero *Passiflora***. 2000. 82 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo, Piracicaba.

MORAN ROBLES, M. J. Potentiel morphogénétique des entrenoeuds de *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener e *P. molissima* Bailey em culture *in vitro*. **Turrialba**, San José, v. 29, n. 3, p. 224-228, jul./set. 1979.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

NITSCH, J. P. Réalisation expérimentale de l'androgénèse chez divers Nicotiana. **Compte Rendus de la Société Biologique**, Paris, v. 162, p. 369-372, 1968.

OLIVEIRA, E. J.; PÁDUA, J. G.; ZUCCHI, M. I.; CAMARGO, L. E. A.; FUNGARO, M. H. P.; VEIRIA, M. L. C. Development and characterization of microsatellite markers from the yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v. 5, n. 2, p. 331-333, June 2005.

OLIVEIRA, J. C. de; RUGGIERO, C. Espécies de maracujá com potencial agrônômico. 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. et al. Avaliação de Passifloráceas quanto à morte prematura de plantas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13., 1994, Salvador, BA. **Resumos...** Salvador: SBF, 1994. v. 3, p. 827. Resumo 347).

OLIVEIRA, J. C.; FERREIRA, F. R. Melhoramento genético do maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A. R.; FERREIRA, F. R.; VAZ, R. L. (Coords.). **A cultura do maracujá no Brasil**. Jabotical: FUNEP, 1991. p. 211-239.

PASQUAL, M.; HOFFMANN, A.; RAMOS, J. D. **Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações – introdução: fundamentos básicos.** Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 159 p.

PASSOS, I. R. S. **Comportamento *in vitro* em *Vitis* ssp., e em *Passiflora nítida* H. B. K.** 1999. 112 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

PASSOS, I. R. S.; MATOS, G. V. C.; MELETTI, L. M. M.; SCOTT, M. D. S.; BERNACCI, L. C.; VIEIRA, M. A. R. Utilização do ácido giberélico para a quebra de dormência de sementes de *Passiflora nítida* Kunth germinadas *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v. 26, n. 1, p. 120-123, abr. 2004.

RAMOS, J. D.; CHALFUN, N. N. J.; PASQUAL, M.; RUFINI, J. C. M. Produção de mudas de plantas frutíferas por semente. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 216, p. 64-72, 2002.

RONCATTO, G.; NOGUEIRA FILHO, G. C.; RUGGIERO C.; OLIVEIRA, J. C. de; MARTINS, A. B. G. Avaliação do comportamento de diferentes espécies de maracujazeiro (*Passiflora* spp.) propagadas por estaquia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2002, Belém. **Anais...** Belém, 2002. p. 379-381.

RUGGIERO, C. Maracujá: do plantio à colheita. SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 5., 1998, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 1998. 388 p.

RUGGIERO, C.; OLIVEIRA, J. C. Enxertia do maracujazeiro. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIROS, 5., 1998, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 1998. p. 70.

RUGGIERO, C.; OLIVEIRA, J. C.; NOGUEIRA FILHO, G. C. Enxertia do maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.) **Maracujá: produção e mercado.** Vitória da Conquista: Departamento de Fitotecnia e Zootecnia/Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 1994. p. 49-57.

RUGGIERO, C.; SÃO JOSÉ, A. R.; VOLPE, C. A.; ALIVEIRA, J. C. de; DURIGAN, J. F.; BAUGARTNER, J. G.; SILVA, J. R.; NAKAMURA, K.; FERREIRA, M. E.; KAVATI, R.; PEREIRA, V. P. **Maracujá para exportação: aspectos técnicos da produção.** Brasília: FRUPEX, 1996. 64 p.

SANTOS, M. R. A.; PAIVA, R.; GOMES, G. A. C.; PAIVA, P. D. O.; PAIVA, L. V. Estudos sobre superação de dormência em sementes de *Smilax japecanga* Grisebach. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 319-324, mar./abr. 2003.

SÃO JOSÉ, A. R.; SOUZA, I. V. B.; DUARTE FILHO, J.; LEITE, M. J. N. Formação de mudas de maracujazeiros. In: **Maracujá: produção e mercado**. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 1994. p. 41-48.

SOARES-SCOTT, M. D.; MELETTI, L. M. M.; BENACCI, L. C.; PASSOS, I. R. S.; RECCO-PIMENTEL, S. M. Análise citogenética molecular em *Passiflora* L. : Caracterização cromossômica e identificação de genomas parentais em híbridos interespecíficos. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO, 3., 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 2002. p. 138-141.

SOUSA, J. S. I. de; MELETTI, L. M. M. **Maracujá: espécies, variedades, cultivo**. Piracicaba: FEALQ, 1997. v. 3, 179 p.

TSUBOI, H.; NAGAKAGAWA, J. Efeito da escarificação por lixa, ácido sulfúrico e água quente na germinação de sementes de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.). **Científica**, São Paulo, v. 20, n. 1, 63-72, 1992.

VANDERPLANCK, J. **Passion flower**. Cambridge Press: MIT, 1996. 224p.

VAZ, R. L. A biotecnologia aplicada à fruticultura: necessidades e perspectivas potenciais. In: SÃO JOSÉ, A. R.; FERREIRA, F. R.; VAZ, R. L. (Ed.). **A cultura do maracujá no Brasil**. Jaboticabal: FUNEP, 1991. p. 241-247.

VAZ, R. L. A biotecnologia aplicada à fruticultura: necessidades e perspectivas potenciais. In: SÃO JOSÉ, A. R.; FERREIRA, F. R.; VAZ, R. L. (Ed.). **A cultura do maracujá no Brasil**. Jaboticabal: FUNEP, 1991. p. 241-247.

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

## CAPÍTULO 2

SANTOS, Flávia Carvalho. **Características físico-químicas do maracujazeiro silvestre *Passiflora setacea* DC.** Lavras: UFLA, 2006. 10p. (Dissertação-Mestrado em Agronomia/Fitotecnia)\*.

### 1 RESUMO

As características físico-químicas do fruto do maracujazeiro são de grande importância para o melhoramento genético dessa frutífera, pois permitem avaliar as propriedades organolépticas e de sabor dos frutos, garantindo sua qualidade para o mercado *in natura* ou para a indústria. Objetivou-se caracterizar química e fisicamente frutos de *Passiflora setacea* DC., selecionados no centro de pesquisa da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, visando verificar o padrão de qualidade físico-química e a que tipo de mercado os frutos se enquadrariam, indústria ou mercado de frutas *in natura*. Em dez amostras contendo quatro frutos cada, foram analisadas as seguintes características: peso do fruto (g), rendimento de polpa (%), peso da casca (g), teor de sólidos solúveis totais (°Brix), diâmetro longitudinal (cm) e transversal (cm), índice de conformidade do fruto, número de sementes por fruto, pH, ácido cítrico (%), relação entre o teor de sólidos solúveis e acidez total titulável (SST/ATT). Observou-se que o comprimento e o diâmetro apresentaram valores médios de 5,38 cm e 4,30 cm, o peso de frutos foi de 47,26 g (21,94 g de casca e 25,32 g de polpa + casca), o rendimento de polpa representa 53,6% e o índice de conformidade de 1,25. O maracujá-do-sono apresentou, em média, 205 sementes por fruto. Quanto às características químicas, a espécie estudada apresentou teor de acidez do suco de 2,61%, um teor de °Brix de 16,8 e pH de 3,04. Os frutos do maracujazeiro *Passiflora setacea* DC. da região do Distrito Federal apresentam valores relacionados às características físico-químicas adequadas às exigências da indústria.

---

\* Orientador: José Darlan Ramos - UFLA

## 2 ABSTRACT

SANTOS, Flávia Carvalho. **Physical-chemical characteristics of the wild passion fruit plant *Passiflora setacea* DC.** Lavras: UFLA, 2006. 10p. (Dissertation – Master's Degree in Agronomy/Plant Science).\*

The physical-chemical characteristics of the fruit of the passion fruit plant are of great importance for the genetic improvement of that plant because they allow one to evaluate the organoleptic properties and flavor of the fruits, guaranteeing their *in natura* quality for the market or for industry. It was aimed to chemically and physically characterize fruits of *Passiflora setacea* DC., selected at the EMBRAPA Cerrados Research Center, Planaltina, DF, seeking to verify the pattern of physical-chemical quality and what type of market the fruits fit in, the industrial market or fresh fruit. In ten samples containing four fruits each, the following characteristics were analyzed: weigh of the fruit (g), pulp yield (%), weight of the peel(g), level of total soluble solids (°Brix), longitudinal and transversal diameter (cm), fruit conformity index, number of seeds per fruit, pH, citric acid (%), relationship between the soluble solids level and total titratable acidity (SST/ATT). It was observed that the length and the diameter presented average values of 5.38 cm and 4.30 cm, the fruit weight was 47.26 g (21.94 g of peel and 25.32 g of pulp + peel), the pulp yield represented 53.6% and the conformity index was 1.25. The passion fruit *Passiflora setacea* DC. presented, on average, 205 seeds per fruit. With respect to the chemical characteristics, the studied species presented juice acidity level of 2.61%, a °Brix level of 16.8 and pH of 3.04. The fruits of the passion fruit plant *Passiflora setacea* DC. from the area of the Federal District present values related to the physical-chemical characteristics appropriate to the demands of the industry.

---

\* Major Professor: José Darlan Ramos – UFLA

### 3 INTRODUÇÃO

O maracujazeiro está entre as frutíferas tropicais com grande potencial de cultivo no Brasil, apresentando acentuada expansão e proporcionando grande popularização no mercado interno, entre os diferentes segmentos de consumo (Rossi, 1998).

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 sua qualidade para o mercado “in natura” ou para a indústria. Atualmente, busca-se, por meio de pesquisas, selecionar genótipos de maracujá-amarelo e maracujá-doce mais produtivos e mais resistentes a doenças. Uma das alternativas é a hibridação interespecífica, ou seja, cruzamentos convencionais de seleção ou cultivares comerciais com as espécies silvestres. Dessa forma, torna-se essencial conhecer as características agrônômicas, físicas e químicas das espécies nativas utilizadas nos cruzamentos.

O maracujá pode ser utilizado para consumo *in natura*, entretanto, sua maior importância econômica está na utilização para fins industriais, processado para fabricação de suco integral a 14 °Brix, néctar e suco concentrado a 50 °Brix. Seu suco é muito consumido por possuir valor nutritivo e excelentes características organolépticas, fato que o coloca no segundo lugar em vendas no mercado nacional (Araújo et al., 1974).

Os consumidores, em geral, preferem frutos maiores, de aparência atraente, mais doces e menos ácidos, quando destinados ao consumo *in natura*. Na indústria de suco, há preferência por frutos de alto rendimento em suco e com maior teor de sólidos solúveis totais. Altos teores de ácidos no suco revelam uma característica importante no que diz respeito ao processamento,

pois é interessante que os frutos possuam elevada acidez, visto que isso diminuiria a adição de acidificantes no suco (Nascimento, 1996).

Dentre as passifloráceas silvestres pouco conhecidas, destaca-se o maracujá-sururuca ou maracujá-do-sono (*Passiflora setacea* DC.). É uma espécie silvestre pouco estudada, em especial com relação à caracterização físico-química, propagação, germinação e condições de armazenamento. Alguns autores citam que essa espécie silvestre possui tolerância a moléstias, resistência à morte precoce e à fusariose, constituindo-se numa importante alternativa potencial para porta-enxertos. Algumas características fisiológicas já são conhecidas, a exemplo ao seu longo período de dormência e dificuldade no enraizamento de estacas. Assim, os trabalhos realizados com essa espécie até o presente momento são direcionados ao melhoramento genético e uso na enxertia, havendo pouca exploração do potencial para a utilização do fruto de *Passiflora setacea* DC. *per se* e como alternativa para a indústria de sucos, tendo em vista o sabor exótico de sua polpa.

Objetivou-se verificar o padrão de qualidade físico-química e a que tipo de mercado os frutos se enquadrariam, indústria ou mercado de frutas *in natura* de *Passiflora setacea* DC., selecionados no centro de pesquisa da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF.

#### 4 MATERIAL E MÉTODOS

Frutos de *Passiflora setacea* DC. - código CPAC MJ-12-01 – provenientes do banco de germoplasma de *Passiflora* spp. do Centro de Pesquisa EMBRAPA Cerrados, Planaltina, DF, foram transportados para o Laboratório de Pós-colheita do Departamento de Ciências dos Alimentos da UFLA. Em dez amostras contendo quatro frutos cada, foram analisadas as seguintes características: peso do fruto (g), rendimento de polpa (%), peso da

casca (g), teor de sólidos solúveis totais (°Brix), diâmetro longitudinal (cm) e transversal (cm), índice de conformidade do fruto, número de sementes por fruto, pH, ácido cítrico (%), relação entre o teor de sólidos solúveis e acidez total titulável (SST/ATT).

Para as análises físicas, procederam-se as avaliações de comprimento (diâmetro do fruto do ponto inserção do pecíolo no fruto até o ápice do fruto) e largura (maior medida do diâmetro do fruto, perpendicular ao seu comprimento), peso do fruto, com auxílio de um paquímetro e balança de precisão 0,01 g.

O índice de conformidade foi calculado por meio da relação entre diâmetro longitudinal e transversal.

O rendimento de polpa foi obtido da seguinte maneira:

$$\% \text{ rendimento de polpa} = \frac{\text{PF (peso dos frutos)} - \text{PC (peso das cascas)}}{\text{PF}} \times 100$$

A acidez total titulável (ATT) foi determinada em 6 mL de suco, usando-se fenolftaleína como indicador, seguido de titulação com NaOH a 0,1 N expressa em porcentagem de ácido cítrico. O teor de sólidos solúveis (°Brix) foi avaliado por meio de um refratômetro digital com compensação automática de temperatura. O pH do suco foi obtido por meio do pHmetro, segundo técnicas preconizadas pela A.O.A.C. (Association..., 1990). Por último, foram determinados os valores da relação SST/ATT.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a Tabela 1, se observa que o comprimento e o diâmetro apresentaram valores de 5,38 cm e 4,30 cm, respectivamente, refletindo o pequeno tamanho dos frutos em relação ao maracujá-amarelo. Neste último, este valor pode variar, segundo Veras et al. (1998), de 7,21 a 8,66 e de 6,24 a 7,20 cm em diâmetros longitudinal e transversal, respectivamente.

TABELA 1- Análises físicas dos frutos de maracujá-do-sono (*Passiflora setacea* DC.) provenientes da EMBRAPA Cerrados. UFLA, Lavras, 2006

Análises	Valores Médios*
Diâmetro longitudinal (cm)	5,38 ( $\pm$ 0,2)
Diâmetro transversal (cm)	4,30 ( $\pm$ 0,2)
Índice de conformidade	1,25 ( $\pm$ 0,2)
Peso do fruto (g)	47,26 ( $\pm$ 5,92)
Peso da casca (g)	21,94 ( $\pm$ 3,14)
Rendimento da polpa (%)	53,6
Peso de 100 sementes (g)	1,51 ( $\pm$ 0,3)
Número de sementes por fruto	205 ( $\pm$ 65)

(\*) Médias de dez amostras

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. Essa característica é importante para aqueles destinados, principalmente, à indústria, que prefere frutos oblongos por apresentarem cerca de 10% a mais de suco que os redondos. Ainda na Tabela 1 nota-se, por meio do índice de

conformidade, que a espécie em estudo tende a ter os frutos com formato redondo-ovalado.

O peso dos frutos foi de 47,26 g (21,94 g de casca e 25,32 g de polpa + casca), valor muito baixo quando comparado ao material comercial do maracujá-amarelo. De acordo com Meletti et al. (1994), os frutos de maracujá-amarelo, genótipo Marília, SP, apresentaram peso de 138,6 gramas. Existem seleções capazes de produzir frutos com mais de 300 gramas (Junqueira et al., 1999). Entretanto, esse baixo peso de *Passiflora setacea* justifica-se por se tratar de uma espécie nativa que não sofreu qualquer tipo de melhoramento.

Pode-se afirmar que o *Passiflora setacea* DC., provavelmente, não proporciona boa aceitação no mercado de frutos *in natura*, como possível substituto do maracujá-amarelo, uma vez que os consumidores, na maioria das vezes, procuram frutos de excelentes características físicas visuais.

O rendimento de polpa foi de 53,6%, valor alto quando comparado com o maracujá-amarelo. Tittoto (1999) observou que o rendimento de polpa no maracujá-ácido variou entre 26,50% e 30,60%.

O maracujá-do-sono apresentou, em média, 205 sementes por fruto. Segundo Fortaleza et al. (2005), a massa de um fruto é normalmente proporcional ao número de sementes viáveis e, no maracujá, ao rendimento de suco, pois cada semente é envolta por um arilo. Segundo os autores, por meio da análise de correlação realizada entre a variável número médio de sementes por fruto e as variáveis peso do fruto e rendimento de polpa, confirmou-se a influência do número de sementes sobre essas características, apresentando uma correlação média entre elas.

Quanto às características químicas, a espécie estudada apresentou teor de acidez do suco de 2,61 (Tabela 2), alto valor quando comparado com o maracujá-amarelo. Veras et al. (1998) encontraram acidez natural para os

genótipos de maracujá-amarelo variando entre 2,65% e 5,18%. A acidez natural do fruto, relacionada com o Brix, é importante para a indústria, na qualidade do suco concentrado, principalmente aquele suco direcionado à exportação. O resultado médio obtido para o teor de °Brix em *Passiflora setacea* DC. foi de 16,8, um valor ideal em relação a outras espécies do gênero *Passiflora*. Para pH, *Passiflora setacea* DC. proporcionou um valor baixo que foi de 3,04.

TABELA 2- Análises químicas do suco de *Passiflora setacea* DC. provenientes da EMBRAPA Cerrados. UFLA, Lavras, 2006.

Análises	Suco
Sólidos solúveis totais (°Brix)	16,8
pH	3,04 ( $\pm$ 0,04)
Acidez total titulável (%)	2,61 ( $\pm$ 0,03)

Médias de cinco amostras.

## 6 CONCLUSÕES

Os frutos do maracujazeiro *Passiflora setacea* DC. da região do Distrito Federal apresentam valores relacionados às características físico-químicas dos frutos adequadas às exigências da indústria.

Os resultados desta pesquisa também enfatizam ainda mais o uso desta espécie no melhoramento do maracujazeiro-amarelo, tendo em vista que *Passiflora setacea* DC. é uma planta que floresce em dias curtos, fato que, aliado às boas qualidades físico-químicas, seria de grande valia para os melhoristas.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, C. M. et al. Características industriais do maracujá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) e maturação do fruto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 9, n. 9, p. 65-69, set. 1974. (Série Agronomia).

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (Washington, Estados Unidos). **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15. ed. Washington, 1990. v. 1, p. 685-1213.

FORTALEZA, J. M.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. J. V.; OLIVEIRA, A. T. de; 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 - SP, v. 27, n. 1, p. 124-127, Abr. 2005.

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. **Magistra**, Cruz das Almas - BA, v. 15, n. 2, p. 229-233, jul./dez. 2003. Especial.

MELETTI, L. M. M.; AMBROSIO, L. A.; BERTON, R. S.; MARTINS, A. L. M. Efeitos de diferentes fontes de matéria orgânica no desenvolvimento e produtividade do maracujazeiro amarelo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13., 1994, Salvador. **Anais...** Salvador: SBF, 1994. v. 3, p. 812-813.

NASCIMENTO, T. B. do. **Qualidade do maracujá-amarelo produzido em diferentes épocas no sul de Minas Gerais**. 1996. 56 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ROSSI, A. D. Comercialização do maracujá. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 5., 1998, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 1998. p. 279-290.

TITTOTO, K. M. **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, Brasília.

VERAS, M. C. M.; PINTO, A. C. Q.; LIMA, M. M.; MENEZES, J. B. Variação do teor de vitamina C dos maracujazeiros doce (*P. alata dryand*) e ácido (*P. edulis* f. *flavicarpa* Deg.) nas condições de Cerrado de Brasília, em diferentes épocas de produção e estádios de maturação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 15., Poços de Caldas. **Anais...** Poços de Caldas: SBF, 1998. p. 593.

### CAPÍTULO 3

SANTOS, Flávia Carvalho. **Estabelecimento de plântulas de *Passiflora setacea* DC. via germinação de sementes *in vitro***. Lavras: UFLA, 2006. 12p. (Dissertação-Mestrado em Agronomia/Fitotecnia).\*

#### 1 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito de diferentes doses de ácido giberélico (0; 20; 40 mg.L<sup>-1</sup>) combinadas com presença de escarificação (corte na ponta da semente, no meio e ausência) e ausência, na germinação *in vitro* de sementes de *Passiflora setacea*. O meio de cultura utilizado foi 50% do meio MS, acrescido diferentes doses de GA<sub>3</sub>, distribuídos em tubos de ensaio e autoclavados a 121°C, por 20 minutos. Sementes foram escarificadas de acordo com os tratamentos assepticamente em câmara de fluxo laminar. Após o processo de inoculação, o material foi transferido para sala de crescimento com temperatura de 26 ± 1°C, intensidade luminosa de 35 μmol.m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas, permanecendo nessas condições durante a avaliação do experimento. Obteve-se melhor resultado utilizando-se 20 mg. L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> e realizando-se a escarificação na ponta da semente, tanto para porcentagem de germinação quanto para índice de velocidade de germinação. Comprova-se, então, que a espécie *Passiflora setacea* DC. possui dormência exógena, pois não houve germinação na ausência de escarificação, mesmo com a presença do GA<sub>3</sub> no meio de cultura.

---

\* Orientador: José Darlan Ramos - UFLA

## 2 ABSTRACT

SANTOS, Flávia Carvalho. **Establishment of seedling of *Passiflora setacea* DC. via *in vitro* germination of seeds.** Lavras: UFLA, 2006. 12p. (Dissertation-Agronomy/Plant Science)\* .

The objective of this work was to verify the effect of different doses of gibberellic acid (0; 20; 40 mg.L<sup>-1</sup>) combined with scarification presence (cut on the tip of the seed , in the middle and absence) on the *in vitro* germination of *Passiflora setacea* DC. seeds. The culture medium used was 50% MS medium, supplemented with different doses of GA<sub>3</sub>, distributed in test tubes and autoclaved at 121°C, for 20 minutes. Seeds were scarred aseptically, in agreement with the treatments, in a laminar flow chamber. After the inoculation process, the material was transferred to a growth room with a temperature of 26 ± 1°C, luminous intensity of 35 μmol.m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> and a fotoperiod of 16 hours, remaining under those conditions during the evaluation of the experiment. The better result was obtained using 20 mg. L<sup>-1</sup> of GA<sub>3</sub> and with scarification on the tip of the seed, for germination percentage as well as for germination speed index. It is proven, then, that the species *Passiflora setacea* DC. possesses exogenous dormancy, because there was no germination in absence of scarification, even with the presence of GA<sub>3</sub> in the culture medium.

---

\* Major Professor: José Darlan Ramos – UFLA

### 3 INTRODUÇÃO

O maracujazeiro pertence ao gênero *Passiflora*, que possui 465 espécies tropicais, das quais cerca de 200 são originárias do Brasil (Cunha et al., 2004). O gênero *Passiflora* apresenta ampla variabilidade, com inúmeras espécies conhecidas. Além das duas espécies de maior importância comercial, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. e *Passiflora alata* Curtis, diversas outras espécies de *Passiflora* merecem mais estudos (Monteiro-Hara, 2000).

Muitos estudos têm sido feitos sobre vários aspectos da cultura *in vitro* de maracujazeiro. Esses estudos incluem desenvolvimento de protocolos para o estabelecimento de plantas *in vitro*, clonagem, organogênese e cultura de células em suspensão, visando dar sustentação para que outras técnicas biotecnológicas, como transformação genética, possam ser aplicadas com sucesso.

De acordo com Passos & Barnaci (2005), o estabelecimento *in vitro* de plantas para diversas espécies de maracujazeiro é essencial quando se deseja fazer a manutenção de germoplasma de *Passiflora* usando procedimentos biotecnológicos. Para tanto, devem estar disponíveis, na literatura, protocolos de assepsia para explantes obtidos de: sementes, folhas, gemas, segmentos nodais etc., bem como protocolos para germinação de sementes das diversas espécies.

O conhecimento sobre os aspectos da germinação de sementes das diversas espécies de *Passiflora* é fundamental para a propagação e para a manutenção de bancos de germoplasma, visando evitar a erosão genética (Passos et al., 2004). Segundo Santos (2003), a propagação de espécies nativas é muita das vezes, imitada pela ocorrência de dormência nas sementes, retardando a sua germinação.

A aplicação de reguladores de crescimento, tais como auxinas, citocininas, giberelinas, etileno e outros, tem sido efetuada com resultados positivos na quebra de dormência de sementes (Koller et al., 1962). Desses

reguladores, as giberelinas estão diretamente relacionadas à germinação de muitas sementes, uma vez que sua aplicação exógena, além de contrabalançar a inibição imposta pelo ácido abscísico, provoca um aumento endógeno de GA<sub>3</sub>, induzindo o crescimento do embrião e estimulando o processo germinativo, o que torna evidente sua participação na superação da dormência das sementes (Seshu & Dadlani, 1991; Taylorson & Hendricks, 1977; van Beckum et al., 1993; Wang et al., 1998).

Segundo Villiers (1975), a dormência devido à impermeabilidade ou à resistência mecânica do tegumento pode ser superada naturalmente por danos mecânicos causados por insetos, decomposição microbiana do tegumento ou, ainda, pelo fogo.

As técnicas mais comumente utilizadas para a superação da dureza das sementes são escarificação mecânica por meio de ruptura ou abrasão do tegumento, o choque térmico e a escarificação química com ácidos concentrados (Cohn, 1996; Ferreira et al., 1992).

Dentre as espécies pouco conhecidas, destaca-se o maracujá-sururuca ou maracujá-do-sono (*Passiflora setacea* DC.). É uma espécie silvestre pouco estudada em aspectos gerais, em especial com relação a características como propagação, germinação e condições de armazenamento. Em detrimento da desuniformidade e dificuldade de germinação do *Passiflora setacea* DC., as técnicas de cultura de tecidos tornam-se viáveis para a sua propagação.

Objetivou-se promover a germinação *in vitro* de sementes de *Passiflora setacea* DC. utilizando diferentes doses de ácido giberélico no meio de cultura e formas de escarificação.

#### 4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

As sementes de maracujá-do-sono (*Passiflora setacea*) – código CPAC MJ-12-01 - eram provenientes de frutos da coleção do banco de germoplasma de *Passiflora* spp., da EMBRAPA Cerrados.

As sementes foram colocadas em béquer contendo 50 mL de água com 2 gotas de detergente, para a primeira lavagem. A seguir, foram enxaguadas em água corrente, utilizando-se de uma peneira plástica para ampará-las. Estas foram mergulhadas em álcool 70% por 40 segundos. Visando à retirada do arilo remanescente, utilizou-se o tecido Perfex<sup>®</sup>.

As sementes foram imersas em solução de hipoclorito de sódio 2%, durante 20 minutos e sofreram três lavagens em água destilada autoclavada.

O meio de cultura utilizado foi 50% do MS suplementado com 0, 20 e 40 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>. O pH do meio foi ajustado para 5,8 antes da colocação de 6,0 mg.L<sup>-1</sup> de ágar. Os meios foram distribuídos em tubos de ensaio (15 ml/tubo), Os quais foram vedados com tampas plásticas e levados para autoclavagem à temperatura de 121°C por 20 minutos.

O ensaio foi instalado, em condições assépticas, em câmara de fluxo laminar horizontal desinfestadas com álcool 70%. Os instrumentos (pinças, bisturis e placas de Petri) foram autoclavados e flambados. Após a introdução das sementes, o material foi colocado em sala de crescimento com luminosidade em torno de 35  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , temperatura de 26  $\pm$  1°C e fotoperíodo de 16 horas. Assim que germinaram, as plântulas foram transferidas para tubos de ensaio contendo meio de cultura MS (completo).

Os tratamentos constituíram-se de três concentrações de GA<sub>3</sub> (0, 20 e 40 mg.L<sup>-1</sup> no meio de cultura) combinadas com ausência de escarificação,

escarificação na ponta da semente (próximo ao embrião) e escarificação no meio da semente. A escarificação foi realizada fazendo-se cortes com bisturi.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x3, quatro repetições e 15 sementes por parcela. Os fatores (porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação) foram comparados quantitativamente por meio de regressão polinomial, pelo programa Sisvar (Ferreira, 2000). Os dados da porcentagem de germinação foram transformados em arco seno  $\sqrt{x/100}$ . As avaliações do IVG foram realizadas diariamente até a estabilização da germinação.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo da análise de variância encontra-se na Tabela 1, em que se verifica a significância dos fatores estudados para as variáveis analisadas. Para todas variáveis analisadas, houve interação significativa entre modo de escarificação e concentração de GA<sub>3</sub>,

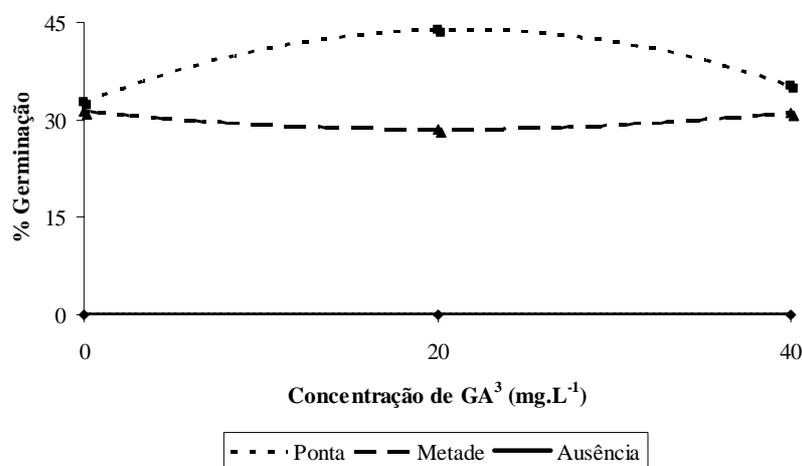
TABELA 1- Resumo da análise de variância dos dados relativos às variáveis porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação para o estabelecimento de plântulas de *Passiflora setacea* DC. via germinação de sementes *in vitro*. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Fonte de variação	GL	QM	
		%Germinação	IVG
Escarificação (E)	2	4709,748433	4,939675
GA <sub>3</sub>	2	25,766533	0,580133
ExGA <sub>3</sub>	4	61,659367*	0,467558*
Resíduo	27	14,432319	0,090260
CV (%)		16,86	38,75

\*Significativo a 5%, pelo teste F.

Para a variável porcentagem de germinação, obteve-se melhor resultado utilizando-se 20 mg. L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> e realizando-se a escarificação na ponta da semente. A porcentagem de germinação foi de 58,3% (Figura 1).

FIGURA 1- Porcentagem de sementes germinadas de *Passiflora setacea* DC. utilizando-se 0, 20 e 40 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>, combinados com ausência de escarificação, escarificação na ponta e no meio da semente. UFLA, Lavras, MG, 2006.



\* Dados transformados em arco seno  $\sqrt{x/100}$

$$Y_{\text{Ponta}} = 32,62 + 1,0635x - 0,025x^2 \quad R^2 = 1,00$$

$$Y_{\text{Metade}} = 31,31 - 0,27x + 0,0067x^2 \quad R^2 = 1,00$$

$$Y_{\text{Ausência}} = 0 \quad R^2 = 1,00$$

Observou-se que, mesmo com a presença do GA<sub>3</sub> no meio de cultura para sementes que não foram escarificadas, não houve germinação, podendo assim, concluir que a espécie possui algum tipo de dormência física. Esse resultado discorda da afirmação de Hooley (1994) de que o GA<sub>3</sub> promove a germinação de sementes, estimulando o crescimento do embrião e induzindo a produção de hidrolases para enfraquecer as estruturas ao redor do embrião

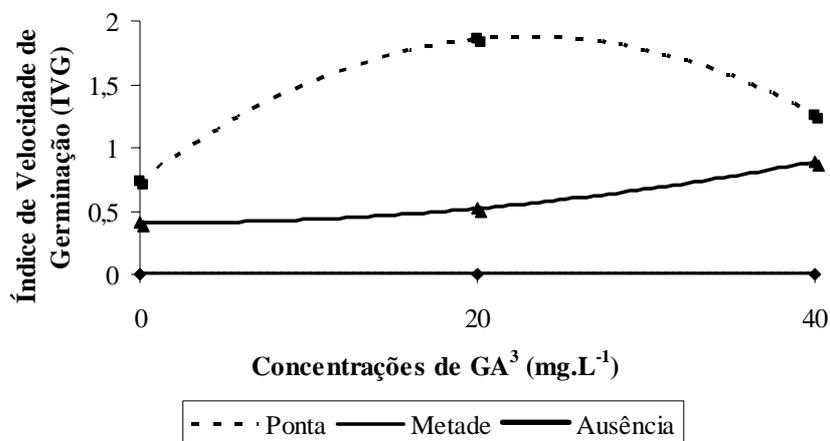
Algumas espécies apresentam dormência em suas sementes. Essa dormência consiste em mecanismo de sobrevivência, pois pode retardar a germinação, que não ocorre quando as condições para o estabelecimento das plântulas são limitantes, além de permitir a distribuição das sementes germinadas ao longo do tempo, favorecendo sua sobrevivência (Ramos et al., 2002).

De acordo com Hartmann et al. (1997) existe a dormência exógena, que pode ser física ou química, que ocorre devido à impermeabilidade do tegumento ou devido à presença de inibidores; a dormência endógena que pode ser morfológica ou fisiológica; a dormência causada pela combinação de fatores e a dormência secundária como a termodormência.

Comprova-se, então, que a espécie *Passiflora setacea* DC. possui dormência exógena, pois não houve germinação na ausência de escarificação. Morley-Bunker (1980) menciona que algumas espécies de *Passiflora* spp. apresentam dormência em suas sementes, ocasionada pelo mecanismo de controle da entrada de água, devido à dureza do tegumento, necessitando de tratamento para sua superação.

O maior índice de velocidade de germinação (IVG) (Figura 2) foi obtido também com a utilização de  $20 \text{ mg.L}^{-1}$  GA<sub>3</sub> e escarificação da ponta da semente (1,86). Assim, supõe-se um certo grau de correlação entre a percentagem de germinação e o IVG.

FIGURA 2- Índice de velocidade de germinação de sementes de *Passiflora setacea* DC. utilizando 0, 20 e 40 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>, combinados com ausência de escarificação, escarificação na ponta e no meio da semente. UFLA, Lavras, MG, 2006.



$$Y_{\text{Ponta}} = 0,73 + 0,0997x - 0,0022x^2 \quad R^2 = 1,00$$

$$Y_{\text{Metade}} = 0,41 - 0,001x + 0,0003x^2 \quad R^2 = 1,00$$

$$Y_{\text{Ausência}} = 0 \quad R^2 = 1,00$$

De acordo com Melo et al. (2000), a baixa germinação de espécies não domesticadas é muito comum. Até que se chegue ao ponto expressivo de germinação, é necessário avaliar e desenvolver técnicas, daí a grande importância de realizarem-se pesquisas com estas espécies. A médio e longo prazos, o melhoramento genético vegetal deverá selecionar plantas dentro das populações, considerando a taxa de germinação das sementes, juntamente com outras características agronômicas.

## 6 CONCLUSÕES

A espécie silvestre *Passiflora setacea* DC. possui dormência exógena.

O método de corte na ponta da semente com bisturi (escarificação na ponta da semente), juntamente com a utilização de  $20 \text{ mg.L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  no meio de cultura, mostra-se efetivo na quebra parcial da dormência e antecipa a emergência.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COHN, M.A. Chemical mechanisms of breaking seed dormancy. In: LANG, G.A. (Ed.) **Plant dormancy: physiology, biochemistry and molecular biology**. Wallingford: CAEB International, 1996. p.257-265.

CUNHA, M.A.P. da; BARBOSA, L.V.; FARIA, G.A. Melhoramento Genético. In: LIMA, Adelise de Almeida; CUNHA, Mario Augusto Pinto da (Org.). Maracujá: produção e qualidade na passicultura. Brasília, 2004, p. 67-93.

FERREIRA, A.G.; JOÃO, K.H.L.; HEUSER, E.D. Efeitos de escarificação sobre a germinação e do pH no crescimento de *Acacia bonariensis* Gill e *Mimosa bimucronata* (D.C.) O.K. **Revista Brasileira de fisiologia Vegetal**, Londrina, v.4, n.1, p.63-65, Jul. 1992.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Wiows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar. 2000.p.255-258.

HARTMANN, H. et al. **Plant propagation: principles and practices**. 6.ed. New Jersey: Prentice hall, 1997. p.98-349.

HOOLEY, R. Gibberellins: perception transduction and responses. **Plant Molecular Biology**. Dordrecht, v. 26, n. 5, p. 1529-1555, Dec. 1994.

KOLLER, D.; MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A.; KLEIN, S. Seed germination. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.13, p.437-464, 1962.

MELO, A.L.; OLIVEIRA, J.C.; VIEIRA, R.D. Superação de dormência em sementes de *Passiflora nítida* H. B. K. com hidróxido de cálcio, ácido sulfúrico e ácido giberélico. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v.22, n. 2 p.260-263, Ago. 2000.

MONTEIRO-HARA, A.C.B.A. **Cultivo in vitro de três espécies do gênero *Passiflora***. Piracicaba, 2000. 82p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidade de São Paulo.

MORLEY-BUNKER, M.J.S. Seed coat dormancy in *Passiflora* species. **Annual Journal of the Royal New Zeland Institute of Horticulture**. Wallingford, v.8, p.72-84, 1980.

PASSOS I.R.S.; BERNACCI, L.C. Cultura de tecidos aplicada à manutenção de germoplasma *in vitro* e ao melhoramento genético do maracujá (*Passiflora* spp.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**, Planaltina, DF: embrapa Cerrados, 2005, p. 361-283.

PASSOS, I.R.S.; MATOS, G.V.C.; MELETTI, L.M.M.; SCOTT, M.D.S.; BERNACCI, L.C.; VIEIRA, M.A.R. Utilização do ácido giberélico para a quebra de dormência de sementes de *Passiflora nítida* Kunth germinadas *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v.26, n.1, p.120-123, Abr. 2004.

RAMOS, J.D.; CHALFUN, N.N.J.; PASQUAL, M.; RUFINI, J.C.M. Produção de mudas de plantas frutíferas por semente. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v. 23, n. 216, p.64-72, 2002.

SANTOS, M.R.A.; PAIVA, R.; GOMES, G.A.C.; PAIVA, P.D.O.; PAIVA, L.V. Estudos sobre superação de dormência em sementes de *Smilax japecanga* Grisebach. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.27, n.2, p.319-324, 2003.

SESHU, D.V.; DADLANI, M. Mechanism of seed dormancy in rice. **Seed Science Research**, Wallingford, v.1, n.2, p.187-194, June 1991.

TAYLORSON, R.B.; HENDRICKS, S.B. Dormancy in seeds. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.28, p.331-354, 1977.

Van BECHUN, J.M.M.; LIBBENGA, K.R.; WANG, M. Abscise acid and gibberellic acid-regulated responses of embryos and aleurone layers isolated from dormant and nondormant barley grains. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.89, n.3, p.483-489, Nov. 1993.

VILLIERS, T.A. **Dormancy and the survival of plants**. London: Institute of Biology, 1975. 68p. (Studies in Biology, 57).

WANG, M.; van der MEULEN, R.M.; VISSER, K.; van SCHAIK, H.P.; van DUIJN, B. de BOER, A.H. Effects fo dormancy-breaking chemicals on ABA in barley grain embryos. **Seed Science Research**, Wallingford, v.8, n.2, p.129-137, June 1998.

## CAPÍTULO 4

SANTOS, Flávia Carvalho. **Efeito de diferentes meios nutritivos associados a várias concentrações de sacarose na multiplicação *in vitro* de *Passiflora setacea* DC.** Lavras: UFLA, 2006. 11p. (Dissertação-Mestrado em Agronomia/Fitotecnia)\*.

### 1 RESUMO

A multiplicação *in vitro* é uma técnica viável para a obtenção de grande número de plantas, com qualidade genética e fitossanitária. Dessa forma, os meios de cultura, por consistirem parte essencial da cultura de tecidos, têm evoluído juntamente com a própria ciência da biotecnologia. Objetivou-se avaliar o efeito do meio de cultura MS, MSM, BDS, DSD1 e WPM e da concentração de sacarose (0, 15, 30, 45 g.L<sup>-1</sup>) no desenvolvimento *in vitro* de plântulas de *Passiflora setacea* DC., visando à multiplicação *in vitro*. Após acrescidos os tratamentos para preparo do meio de cultura, estes foram distribuídos em tubos de ensaio e autoclavados a 121°C por 20 minutos. Segmentos nodais oriundos de sementes germinadas foram inoculados assepticamente em câmara de fluxo laminar. Após o processo de inoculação, o material foi transferido para sala de crescimento, com temperatura de 26 ± 1°C, intensidade luminosa de 35 μmol.m<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas, permanecendo nestas condições por 60 dias. O emprego do meio de cultura MSM associado com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose promoveu maior comprimento da parte aérea e número de gemas. O meio MSM acrescido e 45 g. L<sup>-1</sup> de sacarose proporcionou maior peso da matéria seca das plântulas. Não houve presença de raízes e de brotações laterais em todos os tratamentos do ensaio.

---

\* Orientador: José Darlan Ramos – UFLA

## 2 ABSTRACT

SANTOS, Flávia Carvalho. **Effect of different nutrient mediums associated to several sucrose concentrations in the *in vitro* multiplication of *Passiflora setacea* DC.** Lavras: UFLA, 2006. 11p. (Dissertation- Agronomy/Plant Science)\*.

The *in vitro* multiplication is a viable technique for the obtaining of a large number of plants with genetic quality and health. Therefore, the culture mediums, which are an essential part of tissue culturing, have been developing together with the very science of biotechnology. The object was to evaluate the effect of the culture mediums MS, MSM, BDS, DSD1 and WPM and of the sucrose concentrations (0, 15, 30, 45 g.L<sup>-1</sup>) in the *in vitro* development of plantlets of *Passiflora setacea* DC., looking towards *in vitro* multiplication. After having added the treatments for preparation of the culture medium, they were distributed in test tubes and autoclaved at 121°C for 20 minutes. Nodal segments originating from germinated seeds were inoculated aseptically in a laminar flow chamber. After the inoculation process, the material was transferred to a growth room, with a temperature of 26 ± 1°C, luminous intensity of 35 μmol.m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> and fotoperíodo of 16 hours, staying under these conditions for 60 days. The employment of the MSM culture medium associated with 30 g.L<sup>-1</sup> of sucrose promoted longer length of the aerial part and higher number of buds. The MSM medium supplemented with 45 g. Sucrose L<sup>-1</sup> provided a higher dry matter weight of the plantlets. There was no presence of roots nor lateral shoots in any of the treatments of the assay.

---

\* Major Professor: José Darlan Ramos – UFLA

### 3 INTRODUÇÃO

O maracujazeiro apresenta grande importância pelo valor ornamental de suas flores, pelas qualidades gustativas de seus frutos e pelas propriedades fármaco-alimentares do suco, cascas e sementes. Segundo Hunghans et al. (2005), a conservação do maracujazeiro no campo exige áreas extensas para cultivo e proteção constante contra patógenos e pragas que englobam os principais problemas dos plantios da fruteira, sendo as doenças responsáveis pelo caráter nômade do maracujá. Além disso, muitas vezes, a manutenção de acessos, adaptados a ambientes distintos daquele onde a coleção é mantida, torna-se impossível em longo prazo. Por essas razões, a conservação *in vitro* de certas espécies é uma alternativa para reduzir os custos de manutenção e tornar o processo de conservação da coleção mais eficiente.

Os meios de cultura, por consistirem parte essencial da cultura de tecidos, têm evoluído juntamente com a própria ciência da biotecnologia. Inicialmente, foram utilizados os mais diferentes tipos de meios e componentes. Um grande passo foi dado em 1962, com a publicação de um trabalho por Murashige & Skoog (1962) que determinaram a concentração de sais, estabelecendo o tão conhecido meio 'MS'. Usa-se também o meio básico WPM (Wood Plant Medium) de Lloyd & McCown (1980), o meio básico MSM (meio MS modificado por Monteiro-Hara, 2000), BDS (Dunstan & Shortk, 1977) e o meio DSD1 (Silva & Doazan, 1995), entre outros.

O meio de cultura deve suprir tecidos e órgãos cultivados *in vitro* com nutrientes necessários ao crescimento. Basicamente, o meio de cultura fornece não só macro e micronutrientes, mas também carboidratos (normalmente a sacarose) para substituir o carbono que a planta normalmente fixa na atmosfera pela fotossíntese.

A sacarose tem sido a fonte de carboidratos mais usada no cultivo *in vitro* de várias espécies vegetais. A energia gerada pelo metabolismo da sacarose também é utilizada nos processos de absorção de compostos orgânicos estruturais ou metabólicos e de outros íons presentes no meio (Nagao et al., 1994). Segundo Caldas et al. (1990), a sacarose é o carboidrato mais utilizado nos meios nutritivos, e o açúcar proporciona as mais altas taxas de crescimento da maioria das espécies.

Dessa forma, objetivou-se avaliar o desenvolvimento *in vitro* de plântulas de *Passiflora setacea* DC., sob diferentes meios de cultura e concentração de sacarose

#### 4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Para a realização dos experimentos, foram utilizados segmentos nodais já estabelecidos *in vitro*, oriundos de sementes germinadas *in vitro*.

Os meios testados foram MS (Murashige & Skoog, 1962), MSM (Monteiro-Hara, 2000), BDS (Dunstan & Shortk, 1977), DSD1 (Silva & Doazan, 1995) e WPM (Lloyd & Mccown, 1980), cada um associado a quatro concentrações de sacarose (0, 15, 30, 45 g.L<sup>-1</sup>).

O pH do meio foi ajustado para 5,8 antes da colocação de 6,0 mg.L<sup>-1</sup> de ágar. Após o preparo, 15 ml de meio de cultura foram distribuídos em tubos de ensaio, os quais foram vedados com tampas de polipropileno, identificados e autoclavados a 121°C, por 20 minutos.

Os ensaios foram instalados em condições assépticas em câmara de fluxo laminar horizontal desinfestadas com álcool 70%. Os instrumentos

(pinças, bisturis e placas de Petri) foram autoclavados e flambados. Os segmentos nodais foram obtidos uniformemente.

Após a inoculação dos explantes, o material foi mantido por 60 dias em sala de crescimento com luminosidade em torno de  $35 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , temperatura  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 16 horas. Os parâmetros avaliados foram os seguintes: comprimento da parte aérea, número de gemas, massa seca da plântula, número de raízes e número de brotações laterais.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, num esquema fatorial  $4 \times 4$ , com quatro repetições e três plantas por parcela, sendo os dados comparados quantitativamente por meio de regressão polinomial pelo programa Sisvar (Ferreira, 2000)

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliando o efeito em diferentes meios de cultura (Tabela 1), observa-se que houve efeito significativo para a interação meio de cultura x sacarose nas características comprimento da parte aérea, número de gemas e peso da matéria seca das plântulas.

TABELA 1- Resumo da análise de variância dos dados relativos às variáveis:

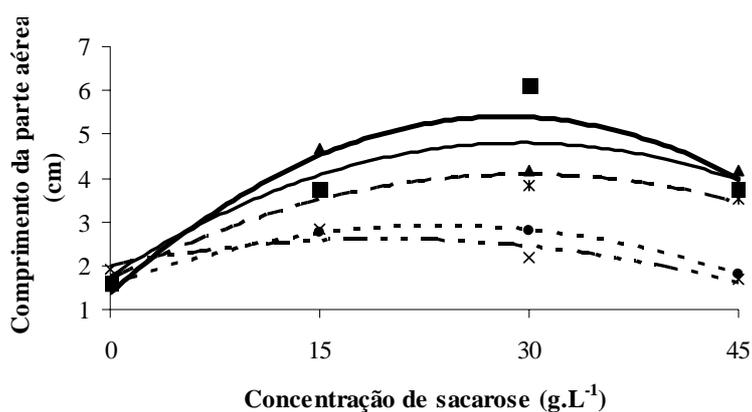
comprimento da parte aérea (CPA), número de gemas (NG) e peso da matéria seca (PMS) das plântulas oriundas de segmentos nodais de *Passiflora setacea* DC. cultivados em diferentes meio de cultura e concentrações sacarose. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Fonte de variação	GL	QM		
		CPA	NG	PMS
Meio de cultura (M)	4	9,651424	46,174851	0,000139
Sacarose (S)	3	18,880355	90,844695	0,002363
MxS	12	2,484409*	27,573511*	0,000054*
Resíduo	60	0,292042	0,741750	0,000013
CV (%)		17,97	14,69	21,09

\*Significativo a 5%, pelo teste F.

Para a variável comprimento da parte aérea e número de gemas, melhores resultados foram obtidos com a utilização do meio de cultura MSM associado com 28,51 g.L<sup>-1</sup> de sacarose para comprimento da parte aérea e 28,74 para número de gemas, promovendo um comprimento de 5,44 cm e 11,47 gemas, conforme apresentados nas Figuras 1 e 2, respectivamente.

FIGURA 1- Comprimento da parte aérea obtido de segmentos nodais oriundos de plântulas de *Passiflora setacea* DC. nas combinações dos fatores estudados. UFLA, Lavras, MG, 2006.



--- WPM    - - - DSD1    - - - BDS    — MS    — MSM

$Y_{WPM} = 2,0035 + 0,062x - 0,0016x^2$	$R^2 = 0,7799$
$Y_{DSD1} = 1,558 + 0,1156x - 0,0025x^2$	$R^2 = 0,999$
$Y_{BDS} = 1,6858 + 0,1618x - 0,0027x^2$	$R^2 = 0,9566$
$Y_{MS} = 1,7558 + 0,2071x - 0,0035x^2$	$R^2 = 0,8596$
$Y_{MSM} = 1,3714 + 0,2851x - 0,005x^2$	$R^2 = 0,8788$

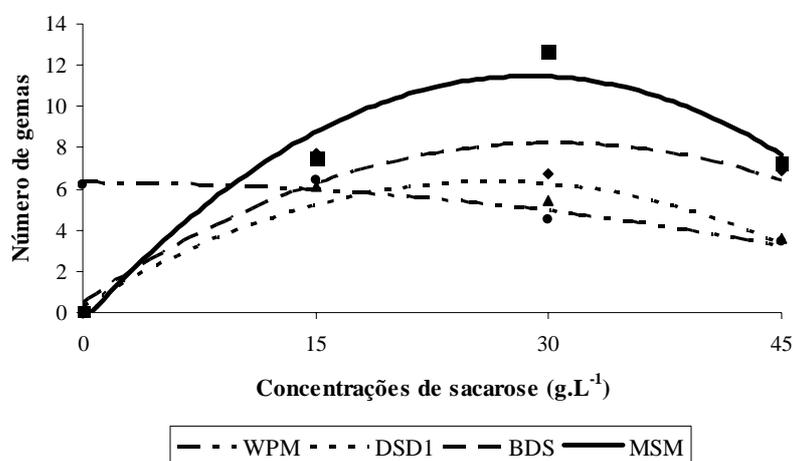
O aumento das concentrações de sacarose proporcionou incremento no comprimento da parte aérea dos explantes até um ponto em que se verificou decréscimo desta variável, provavelmente devido ao aumento excessivo do potencial osmótico do meio de cultura, dificultando o desenvolvimento dos explantes.

Tendência similar foi observada em estudos com figueira 'Roxo de Valinhos', realizados por Brum (2001), em que elevadas concentrações de sacarose desfavoreceram o crescimento *in vitro*, afetando o desenvolvimento e o crescimento das mudas.

A ausência de sacarose fez com que as plântulas ficassem com uma coloração amarelada. Para muitas espécies, a sacarose é empregada nos meios de cultura em uma concentração entre 2% e 4% (Nagao et al., 1994). Abaixo desta faixa, pode ocorrer clorose generalizada da cultura e acima dela podem ocorrer problemas de excessivo potencial osmótico do meio, o que leva a uma deteriorização das culturas (Grattapaglia & Machado, 1990).

O uso de 45 g.L<sup>-1</sup> de sacarose combinados com todos os meios de culturas testados, proporcionou uma redução no comprimento das plântulas, mostrando que 45 g.L<sup>-1</sup> de sacarose para a espécie de *Passiflora setacea* DC. é uma dosagem alta.

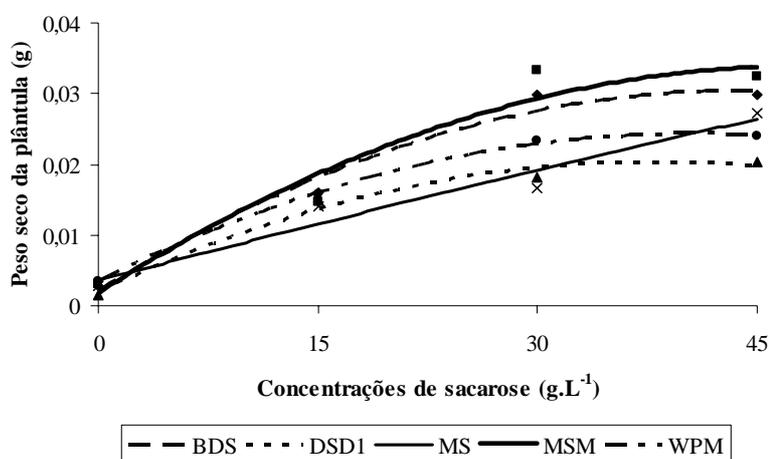
FIGURA 2- Número de gemas obtidas de segmentos nodais oriundos de plântulas de *Passiflora setacea* DC. nas combinações dos fatores estudados. UFLA, Lavras, MG, 2006.



$$\begin{aligned}
 Y_{WPM} &= 6,3153 + 0,001x - 0,0015x^2 & R^2 &= 0,9255 \\
 Y_{DSD1} &= 0,281 + 0,4618x - 0,0087x^2 & R^2 &= 0,9292 \\
 Y_{BDS} &= 0,4958 + 0,5109x - 0,0084x^2 & R^2 &= 0,8733 \\
 Y_{MSM} &= -0,4186 + 0,8276x - 0,0144x^2 & R^2 &= 0,9572
 \end{aligned}$$

O meio MSM acrescido e 45 g. L<sup>-1</sup> de sacarose proporcionou maior peso da matéria seca das plântulas.

FIGURA 3- Peso da matéria seca de plântulas oriundas de segmentos nodais oriundos de plântulas de *Passiflora setacea* DC. nas combinações dos fatores estudados. UFLA, Lavras, MG, 2006.



$$Y_{BDS} = 0,002 + 0,0013x - 0,00005x^2 \quad R^2 = 0,9798$$

$$Y_{DSD1} = 0,002 + 0,001x - 0,00005x^2 \quad R^2 = 0,9811$$

$$Y_{MS} = 0,0036 + 0,0005x - 0,000001x^2 \quad R^2 =$$

Não houve presença de raízes e de brotações laterais em todos os tratamentos do ensaio. Junghans et al. (2002) observaram que microplântas de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg. atingiram máximo de enraizamento quando se reduziu a concentração do meio de cultura. O mesmo autor relatou sobre a ação benéfica de maiores concentrações de sacarose no enraizamento do

maracujazeiro. A partir desses resultados são necessários mais estudos para que se obtenham plântulas capazes de passar pelo processo de regeneração.

## 6 CONCLUSÕES

Segmentos nodais do maracujazeiro silvestre *Passiflora setacea* DC. em meio MSM suplementado com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose obtiveram maior crescimento do explante sem, no entanto, haver formação de raízes.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRUM, G. R. **Micropropagação da figueira (*Ficus carica* L.) ‘Roxo de Valinhos’**. 2001. 43 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CALDAS, L. S.; HARIDASSAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/ EMBRAPA- CNPH, 1990. p. 37-63.

DUNSTAN, D. T.; SHORTK, K. C. Improved growth of tissue cultures of the onion *Allium cepa*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 41, n. 1, p 70-72, 1977.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Wiows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S.; ALMEIDA, A. Q.; VIDAL, A. M. Meios de cultura e tipos de explantes no desenvolvimento in vitro do maracujazeiro-amarelo, acesso BGM 38. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISAS EM MARACUZEIRO, 4., 2005. **Anais...** Planaltina, DF, 2005. p. 201-205.

JUNGHANS, T. G.; VIDAL, A. M.; SOUZA, A. da S. Cultivo in vitro de ápices caulinares de maracujazeiro amarelo em função do meio de cultura e temperatura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2002, Belém. **Anais...** Belém, 2002. 1CD-ROM.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/ EMBRAPA- CNPH, 1990. p. 99-160.

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel *Kalmia latifolia* by use of shoot-tip culture. **Proceedings of International Plant Propagation Society**, Wallingford, v. 30, p. 421-427, 1980.

MONTEIRO-HARA, A. C. B. A. **Cultivo in vitro de três espécies do gênero *Passiflora***. 2000. 82 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo, Piracicaba.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

NAGAO, E. O.; PASQUAL, M.; RAMOS, J. D. Efeitos da sacarose e do nitrogênio inorgânico sobre a multiplicação *in vitro* de brotações de porta-enxerto de citros. **Bragantia**, Campinas, v. 53, n. 1, p. 25-31, 1994.

SILVA, A. L. da; DOAZAN, J. P. Une méthode d'irradiation aux rayons gamma appliquée à des porte-greffes de vigne *in vitro*. **Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin**, Bordeaux, v. 29, n. 1, p. 1-9, 1995.