



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE MARACUJAZEIRO-DOCE  
CARACTERIZADA POR MARCADORES RAPD E AVALIAÇÃO DA  
RESISTÊNCIA À BACTERIOSE E À VIROSE DO ENDURECIMENTO DOS  
FRUTOS**

**GRACIELE BELLON**

**ORIENTADOR: JOSÉ RICARDO PEIXOTO**  
**CO-ORIENTADOR: FÁBIO GELAPE FALEIRO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**PUBLICAÇÃO : 282/2008**

**BRASÍLIA-DF**  
**MARÇO/2008**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE MARACUJAZEIRO-DOCE**  
**CARACTERIZADA POR MARCADORES RAPD E AVALIAÇÃO DA**  
**RESISTÊNCIA À BACTERIOSE E À VIROSE DO ENDURECIMENTO DOS**  
**FRUTOS**

**GRACIELE BELLON**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA À FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE, EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS NA ÁREA DE CONCENTRAÇÃO DE DISCIPLINAS DE PRODUÇÃO VEGETAL.**

---

**Co-orientador- Eng.Agrônomo Fábio Gelape Faleiro, Doutor (EmbrapaCerrados)**  
**CPF: 739.634.706-82 E-mail: ffaleiro@cpac.embrapa.br**

**APROVADA POR:**

---

**Eng. Agrônomo José Ricardo Peixoto, Doutor (Universidade de Brasília – FAV).**  
**(Orientador) CPF: 354.356.236-34 E-mail: peixoto@unb.br**

---

**Eng. Agrônomo Nilton Tadeu Vilela Junqueira, Doutor (Embrapa Cerrados).**  
**(Examinador Interno) CPF: 309.620.646-53. E-mail: junqueir@cpac.embrapa.br**

---

**Eng<sup>a</sup>. Agrônoma Marília Santos Silva, PhD (Embrapa Cerrados).**  
**(Examinador Externo) CPF: 647.662.171-87 . E-mail: marília@cpac.embrapa.br**

**Brasília/ DF, 13 de Março de 2008.**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Bellon, Graciele

VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE MARACUJAZEIRO-DOCE CARACTERIZADA POR MARCADORES RAPD E AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA A BACTERIOSE E A VIROSE DO ENDURECIMENTO DOS FRUTOS/ Graciele Bellon, orientação de José Ricardo Peixoto e Co-orientação, Fábio Gelape Faleiro-Brasília, 2008.

101 p. il.

Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2008

1. *Passiflora alata* Curtis. 2. Marcadores moleculares 3. *Xanthomonas axonopodis* pv. *Passiflorae* 4. Vírus do Endurecimento dos frutos

I. Peixoto, J. R. II. Doutor.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

BELLON, G. **Variabilidade genética de acessos de maracujazeiro-doce caracterizada por marcadores RAPD e avaliação da resistência a bacteriose e a virose do endurecimento dos frutos.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2008, 101 p. Dissertação de Mestrado.

## CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Graciele Bellon

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO: Variabilidade genética de acessos de maracujazeiro-doce caracterizada por marcadores RAPD e avaliação da resistência a bacteriose e a virose do endurecimento dos frutos

GRAU: Mestre ANO: 2008

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

---

Graciele Bellon

CPF: 993485941-68

Condomínio Portal do Amanhecer conj. A casa 07- Planaltina DF

E-mail: gracibellon@yahoo.com.br

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as conquistas alcançadas.

À Universidade de Brasília e ao Departamento de agronomia pela oportunidade de realização do mestrado.

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

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

Ao Dr. Fábio Gelape Faleiro, pela dedicação desses 5 anos de Embrapa Cerrados. Obrigada por toda ajuda que me alcançou quando precisei, por todos os ensinamentos, que não foram poucos, pelo exemplo de profissionalismo e simplicidade.

Ao Dr. Nilton Tadeu Vilela Junqueira, pelos ensinamentos e pelo exemplo de profissionalismo.

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

A você Guilherme, por fazer parte da minha vida, por compartilhar todas as alegrias e tristezas, todas as vitórias e as derrotas. Obrigada pela compreensão, pelo amor, respeito e cumplicidade.

Ao meu irmão Tiago pelo apoio.

Aos grandes amigos amigos: Keize, Erivanda, Kenia, João, Giovana, Carol, Cris, Luciana, Dalvilmar, Daniela, Ana Paula, Ivanilson, Jansen, Marcela, pela amizade, apoio e pela valiosa ajuda na execução dos experimentos.

À grande amiga Keize, pela eterna amizade, por ser esta pessoa tão especial em minha vida. Sempre quis ter uma irmãzinha, demorou, mas acabei ganhando. Obrigada por todos os ensinamentos. Te admiro muito, sou sua fã.

Ao grande João essa pessoa maravilhosa, que sempre está pronto pra tudo, obrigada pela amizade e pela colaboração nos experimentos.

À Erivanda e Kenia, as duas anjinhas que vieram pra me cuidar, obrigada por me fazerem rir, por me consolarem e principalmente por me ouvirem. Obrigada pela amizade.

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

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

*Aos meus pais, Aléxio e Renati, pelo amor, compreensão, dedicação  
e por todos os ensinamentos de vida.*

*As duas pessoas mais importantes da minha vida*

**DEDICO**

## SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Maracujá no Brasil- Aspectos econômicos.....	3
2.2. Gênero <i>Passiflora</i> .....	5
2.3. <i>Passiflora alata</i> Curtis.....	6
2.4. Doenças do maracujazeiro.....	9
2.4.1. Bacteriose.....	9
2.4.2. Virose do endurecimento dos frutos.....	11
2.5. Quantificação de doenças.....	13
2.6. Resistência de espécies silvestres de maracujazeiro a doenças.....	14
2.7. Melhoramento genético do maracujazeiro.....	17
2.7.1. Variabilidade genética no gênero <i>passiflora</i> .....	17
2.7.2. Marcadores moleculares e biotecnologia.....	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23

### **CAPÍTULO I - DIVERSIDADE GENÉTICA DE ACESSOS OBTIDOS DE POPULAÇÃO CULTIVADA E SILVESTRES DE MARACUJAZEIRO DOCE COM BASE EM MARCADORES RAPD**

RESUMO.....	37
ABSTRACT.....	38
INTRODUÇÃO.....	39
MATERIAL E MÉTODOS.....	40
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
CONCLUSÕES.....	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

**CAPITULO II –RESISTÊNCIA DE ACESSOS DE MARACUJAZEIRO DOCE À BACTERIOSE EM CONDIÇÕES DE CAMPO E CASA DE VEGETAÇÃO**

RESUMO.....	54
ABSTRACT.....	55
INTRODUÇÃO.....	56
MATERIAL E MÉTODOS.....	57
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
CONCLUSÕES.....	77
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

**CAPITULO III – RESISTÊNCIA DE ACESSOS DE MARACUJAZEIRO DOCE AO VÍRUS DO ENDURECIMENTO DOS FRUTOS EM CONDIÇÕES DE CAMPO E CASA DE VEGETAÇÃO**

RESUMO.....	81
ABSTRACT.....	82
INTRODUÇÃO.....	83
MATERIAL E MÉTODOS.....	84
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	88
CONCLUSÕES.....	99
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	100
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	101

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

- Figura-1** Análise de agrupamento de 19 acessos de maracujazeiro com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 140 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008..... 47
- Figura-1.1** Dispersão gráfica em 3D de 19 acessos de maracujazeiro com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 140 marcadores RAPD. Os números correspondem aos acessos da Tabela 1. Acessos com o mesmo símbolo ficaram agrupados no dendrograma a uma distância genética relativa de 0,15. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008..... 48

### CAPÍTULO II

- Figura-2** Mudanças de maracujazeiro doce, após o desbaste. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008..... 58
- Figura-2.1** Escala de avaliação de bacteriose em condições de campo. Diâmetros de vários tamanhos (0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0, 5,0) desenhados em uma folha de transparência. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008..... 60
- Figura-2.2** Avaliação da bacteriose em casa de vegetação. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008..... 65
- Figura-2.3** Porcentagem de plantas com maior nível de resistência à bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* em condições de campo, no mês de fevereiro de 2006. Foram avaliadas 24 plantas de cada família, utilizando a escala de diâmetros em cm (0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0, 5,0). Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008..... 69
- Figura-2.4** Área lesada média por folha (cm<sup>2</sup>) avaliada no campo (A) e Área lesada média (mm<sup>2</sup>) avaliada em casa-de-vegetação (B) 10 dias após a inoculação de nove famílias de meio-irmãos de maracujazeiro doce. Foram analisadas 24 e 12 plantas de cada família em campo e casa-de-vegetação, respectivamente. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008..... 72

### CAPÍTULO III

- Figura-3** Escala de notas utilizada na avaliação do Vírus do Endurecimento dos Frutos, referenciados na tabela 3.1: A -nota 1, B –nota 2, C – nota 3, D – nota 4. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008..... 85
- Figura-3.1** Avaliação do Vírus do Endurecimento dos frutos, em condições de campo. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008..... 86
- Figura-3.2** Procedimentos de inoculação do Vírus do Endurecimento dos Frutos. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008..... 87
- Figura-3.3** Porcentagem de plantas com nota 1, em condições de campo, no mês de janeiro de 2005 e janeiro de 2006. Foram avaliadas 24 plantas de cada acesso avaliado. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008..... 91



<b>Figura-3.4</b>	Severidade do Vírus do endurecimento dos frutos em condições de campo, avaliado no mês de dezembro de 2005. Foram avaliadas 24 plantas dos 9 acessos estudados, totalizando 216 plantas avaliadas utilizando a escala de notas de 1 a 4 para planta. <b>Nota 1</b> -Plantas sem sintomas de mosaico (Resistente –R), <b>Nota 2</b> - Planta apresentando mosaico leve visível em menos de 50% das folhas (Medianamente Suscetível – MS), <b>Nota 3</b> - Plantas com mosaico leve em todos os ramos (Suscetível – S), <b>Nota 4</b> - Plantas cujas folhas apresentarem mosaico intenso, redução no tamanho ou deformações foliares e bolhas (Altamente suscetível - AS). <b>Nota 0</b> - Plantas mortas. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília,DF, 2008.....	93
<b>Figura-3.5</b>	Severidade da virose do endurecimento dos frutos em condições de campo, avaliado no mês de janeiro de 2006 . Foram avaliadas 24 plantas dos 9 acessos estudados, totalizando 216 plantas avaliadas utilizando a escala de notas de 1 a 4 para planta. Nota1-Plantas sem sintomas de mosaico (Resistente –R), Nota 2- Planta apresentando mosaico leve visível em menos de 50% das folhas (Medianamente Suscetível – MS), Nota 3- Plantas com mosaico leve em todos os ramos (Suscetível – S), Nota 4- Plantas cujas folhas apresentarem mosaico intenso, redução no tamanho ou deformações foliares e bolhas (Altamente suscetível - AS). Nota 0- Plantas mortas. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	94
<b>Figura-3.6</b>	Severidade da virose do endurecimento dos frutos em condições de campo, avaliado no mês de outubro de 2006. Foram avaliadas 24 plantas dos 9 acessos estudados, totalizando 216 plantas avaliadas utilizando a escala de notas de 1 a 4 para planta. Nota1-Plantas sem sintomas de mosaico (Resistente –R), Nota 2- Planta apresentando mosaico leve visível em menos de 50% das folhas (Medianamente Suscetível – MS), Nota 3- Plantas com mosaico leve em todos os ramos (Suscetível – S), Nota 4- Plantas cujas folhas apresentarem mosaico intenso, redução no tamanho ou deformações foliares e bolhas (Altamente suscetível - AS). Nota 0- Plantas mortas. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	95
<b>Figura-3.7</b>	Severidade da virose do endurecimento dos frutos em condições de campo, avaliado no mês de outubro de 2006. Foram avaliadas 24 plantas dos 9 acessos estudados, totalizando 216 plantas avaliadas utilizando a escala de notas de 1 a 4 para folha. Nota.1-Folha sem sintoma de mosaico (Resistente –R), Nota 2- Folha apresentando mosaico leve e sem deformações foliares (Medianamente Suscetível – MS), Nota 3- Folha apresentando mosaico intenso (Suscetível – S), Nota 4- Folha apresentando mosaico intenso, redução no tamanho, deformações, bolhas (Altamente suscetível - AS). Nota 0- Plantas mortas. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	96

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

<b>Tabela-1</b>	Espécies de maracujazeiro e respectivos acessos. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	41
<b>Tabela-1.1</b>	<i>Primers</i> utilizados para obtenção dos marcadores RAPD para acessos de <i>Passiflora alata</i> e respectivos número de bandas polimórficas e monomórficas. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	43
<b>Tabela-1.2</b>	Matriz de distâncias entre 19 acessos de maracujazeiro, baseada em 140 marcadores RAPD. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	46

### CAPÍTULO II

<b>Tabela-2</b>	Acessos de maracujazeiro avaliados nos experimentos. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	58
<b>Tabela 2.1</b>	Esquema da análise de variância do modelo inteiramente casualizado. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	61
<b>Tabela-2.2</b>	Análise de variância de características relacionadas à resistência à bacteriose de 9 famílias de meio irmãos (FMI) de maracujazeiro doce, avaliadas em condições de campo. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	66
<b>Tabela-2.3</b>	Valores médios, mínimos e máximos, parâmetros genéticos e coeficiente de variação (CV) de características relacionadas à resistência à bacteriose em 9 famílias de meio irmãos (FMI) de maracujazeiro doce, avaliadas em condições de campo. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	67
<b>Tabela-2.4</b>	Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre cinco caracteres estudados na avaliação da bactéria <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> em maracujazeiro doce em condições de campo. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	70
<b>Tabela-2.5</b>	Análise de variância e parâmetros genéticos de características relacionadas à resistência à bacteriose de família de meio irmãos (FMI) de maracujazeiro doce, avaliadas em condições de casa-de-vegetação aos, 10 dias. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	71
<b>Tabela-2.6</b>	Valores médios, mínimos e máximos, coeficiente de variação (CV) e variância para diâmetro longitudinal médio, diâmetro transversal médio, diâmetro médio e área lesada média em família de meio irmãos (FMI) de maracujazeiro doce inoculadas artificialmente com <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> em casa de vegetação, avaliadas aos 10 dias. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	71
<b>Tabela-2.7</b>	Análise de variância e parâmetros genéticos de características relacionadas à resistência à bacteriose de família de meio irmãos (FMI) de maracujazeiro doce, avaliadas em condições de casa-de-vegetação aos, 15 dias. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008 .....	73

<b>Tabela 2.8</b>	Valores médios, mínimos e máximos, coeficiente de variação (CV) e variância para diâmetro longitudinal médio, diâmetro transversal médio, diâmetro médio e área lesada média em Famílias de meio irmãos (FMI) de maracujazeiro doce inoculadas artificialmente com <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> em casa de vegetação, avaliadas aos 15 dias. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.....	73
<b>Tabela-2.9</b>	Diâmetro Longitudinal Médio (DLM), Diâmetro Transversal Médio (DTM), Diâmetro Médio (DM) e Área Lesada Média (ALM) avaliados em nove famílias de meio-irmãos (FMI) de maracujazeiro doce, após 10 e 15 dias da inoculação com <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>Passiflorae</i> . Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	74
<b>Tabela-2.10</b>	Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre cinco caracteres estudados na avaliação da bactéria <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> em maracujazeiro doce avaliados em casa de vegetação, considerando os dados de todas as plantas. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	75
<b>Tabela- 2.11</b>	Escala proposta. Níveis de resistência a bacteriose em condições de casa de vegetação. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.....	76

### CAPÍTULO III

<b>Tabela-3</b>	Escala de notas utilizadas para avaliação de virose em plantas de maracujazeiro doce, conforme proposto por JUNQUEIRA et al. (2003), com modificações. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	84
<b>Tabela-3.1</b>	Escala de notas utilizadas para avaliação de virose em folhas de maracujazeiro doce, conforme proposto por Junqueira et al. (2003) com modificações. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	85
<b>Tabela-3.2</b>	Porcentagem de plantas de acessos de maracujazeiro-doce expressando sintomas de virose em condições de campo, janeiro de 2005. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	88
<b>Tabela-3.3</b>	Porcentagem de plantas de acessos de maracujazeiro-doce expressando sintomas de virose em condições de casa-de-vegetação após inoculação artificial. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	89
<b>Tabela-3.4</b>	Análise de variância e parâmetros genéticos de características relacionadas à resistência à virose do endurecimento do fruto em Família de meio irmãos (FMI) de maracujazeiro doce, avaliadas em condições de campo. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	90
<b>Tabela-3.5</b>	Valores médios, mínimos e máximos, coeficiente de variação (CV) e variância para severidade de virose em FMI de maracujazeiro doce em condições de campo. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	90
<b>Tabela-3.6</b>	Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre quatro caracteres estudados na avaliação do Vírus do Endurecimento dos frutos em <i>Passiflora alata</i> em condições de campo. Embrapa Cerrados/Unb, Brasília, DF, 2008.....	98

## VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE MARACUJAZEIRO-DOCE CARACTERIZADA POR MARCADORES RAPD E AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À BACTERIOSE E À VIROSE DO ENDURECIMENTO DOS FRUTOS.

**Resumo geral-** O maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis), devido a preços diferenciados, vem ganhando importância dentro do mercado de frutas *in natura*. O melhoramento genético é fundamental para elevar a qualidade e produtividade da cultura, sendo a identificação de fontes de resistência a doenças uma etapa relevante de todo programa de melhoramento. Objetivou-se, neste trabalho analisar a variabilidade genética de acessos comerciais e silvestres de *P. alata* e avaliar a resistência de acessos de maracujazeiro-doce a bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*) e a virose do endurecimento dos frutos (*Cowpea aphid-borne mosaic virus* - CABMV ou *Passionfruit woodiness virus* – PWV) em condições de campo e casa de vegetação. No presente trabalho, analisou-se a variabilidade genética de 17 acessos de maracujazeiro-doce, sendo nove obtidos de população cultivada e oito silvestres, por meio de marcadores moleculares RAPD (“*Random Amplified Polymorphic DNA*”). O DNA (Ácido Desoxiribonucléico) genômico de cada acesso foi extraído e *primers* decâmeros foram utilizados para a obtenção de marcadores moleculares RAPD. Os marcadores foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os acessos e realizadas análises de agrupamento. Entre os acessos analisados constatou-se que existe variabilidade genética entre os acessos obtidos de população cultivada e silvestres de *P. alata*, sendo que os acessos silvestres foram os que mais contribuem na amplitude da base genética dos materiais estudados. Ademais, avaliou-se a resistência de nove acessos de maracujazeiro-doce (sete acessos obtidos de população cultivada e dois acessos silvestres) à bacteriose em condições de campo e em casa de vegetação. Em condições de campo, foram analisadas cinco folhas por planta, selecionadas aleatoriamente, nas quais se avaliou o número médio de lesões por folha, o diâmetro médio das lesões, a média da área lesada por folha, a % de folhas sadias e a % de folhas sintomáticas. Em casa de vegetação, realizou-se a inoculação com o isolado 767 (UnB) de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* e avaliou-se o diâmetro longitudinal médio da lesão, diâmetro transversal médio da lesão, diâmetro médio da lesão e área lesada média aos 5, 10 e 15 dias após inoculação. Os resultados foram significativos apenas para o experimento em casa de vegetação, em que o acesso com maior nível de resistência foi o acesso tipo J, seguido do

acesso tipo D. Ainda, estudou-se a resistência de tais acessos à virose do endurecimento dos frutos também em condições de campo e casa de vegetação. Em condições de campo, foi avaliado incidência e severidade da doença. Para avaliação da severidade utilizou-se escala de notas para planta e para folha. Em condições controladas de casa de vegetação, a inoculação foi feita mecanicamente em cada acesso. Avaliou-se a porcentagem de plantas com sintomas da infecção viral (incidência). O maior nível de resistência foi verificado nos acessos silvestres N1 e N2. Em condições de campo, a incidência e a severidade de virose aumentaram ao longo do tempo, possivelmente devido à maior disseminação do vírus pelo afídio. Houve diferenças de nível de resistência entre plantas da mesma família ressaltando a importância da avaliação e da seleção de plantas individuais.

Sendo assim a presença de alta variabilidade genética entre os acessos estudados refletida também na resistência a virose e bacteriose, geram perspectivas promissoras para o melhoramento desta espécie, possibilitando o lançamento futuro de variedades com caracteres desejáveis.

**Palavras chaves:** *Passiflora alata*, biotecnologia, pré- melhoramento, base genética.

## GENETIC VARIABILITY OF SWEET PASSION FRUIT ACCESSES CHARACTERIZED BY RAPD MARKERS AND EVALUATION OF RESISTANCE TO BACTERIAL BLIGHT AND PASSION FRUIT WOODINESS VIRUSES.

**Overall Abstract** - Sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis) is gaining importance in the *in natura* fruit market due to differential pricing. Genetic breeding is crucial to improve crop quality and productivity, and identification of sources resistance a relevant stage for any breeding program. The objective the present work was to analyze the genetic variability of accesses of *P. alata* obtained from cultivated population and of wild accesses and to evaluate resistance sweet passion fruit accesses the to bacterial blight caused by (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*) and to passion fruit woodiness viruses. (caused by PWV or CABMV) under greenhouse and field conditions. Unthe present work, genetic variability of 17 sweet passion fruit accesses was analyzed, nine of them from a cultivated population and eight wildones, was analyzed by using RAPD (“*Random Amplified Polymorphic DNA*”) molecular markers. The genomic DNA of each access was extracted and decamers primers were used to obtain RAPD molecular markers. The markers have been converted into a matrix of binary data, used as base to estimate genetic distances between accesses and to produce grouping analysis. Among the studied accesses, genetic variability was observed between accesses from cultivated and wild population of *P. alata*, the wild accesses contributing the most to the range of the genetic basis of the studied materials. Moreover, resistance to bacterial blight of nine sweet passion fruit accesses (seven obtained from cultivated population and two wild accesses) under greenhouse and field conditions was assessed. Under field conditions, five leaves randomly selected from each plant, were analyzed. The average number of lesions per leaf, the average diameter of lesions, the average lesioned area per leaf and the percentage of healthy and sick leaves were evaluated. Under greenhouse conditions, inoculation with the isolate 767 (UnB) of *Xanthomonas axonopodis* pv. *Passiflorae* was performed and the average longitudinal diameter, the average transverse diameter, the average diameter of the lesion and the average lesioned area were evaluated 5, 10 and 15 days after inoculation. Results were significant only for the greenhouse experiment, where the access with higher resistance level was the J-type, followed by the D-type. Furthermore, the resistance to passion fruit woodiness viruses. of such accesses was studied, under greenhouse and field conditions, likewise. Under field conditions, incidence and severity were evaluated. For evaluation of

the severity it was used a scale for plant and leaf. Under controlled greenhouse conditions, the inoculation was produced mechanically in each access. The incidence of plants presenting viral infection symptoms (incidence) was measured. The highest resistance level to fruit was observed on wild accesses N1 and N2. Under field conditions, the incidence and severity of passion fruit woodiness viruses increased over time, possibly due to the dissemination of virus by the vector aphid. It was verified differences is possible to verify resistance levels in between plants of the same family, stressing the importance of evaluation and selection of individual plants. Thus, the presence of high genetic variability among the studied accesses, also reflected in the resistance to passion fruit woodiness viruses and bacterial blight, generate promising perspectives for the breeding of this species, enabling the future release of varieties with desirable characteristics.

**Key words:** *Passiflora alata*, biotechnonology, pre-breeding, genetic basis.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis), conhecido popularmente por maracujá refresco, maracujá de comer, maracujá-alado, maracujá-guaçu, e em outros países é chamado de “fragrant granadille”, e mais recentemente de “sweet maracujá” (JUNQUEIRA et al., 2005a), é uma trepadeira que apresenta o caule quadrangular e frutos ovais a piriformes, de coloração amarelo ou laranja, comestíveis e adocicados pertencentes a família *Passifloraceae*.

A família *Passifloraceae* apresenta uma expressiva diversidade, com 18 gêneros e 630 espécies, sendo o gênero *Passiflora* o maior, constituído por 22 subgêneros e 485 espécies, das quais 150 a 200 espécies são nativas do Brasil (VANDERPLANK, 2000).

O Brasil é considerado o centro de dispersão de muitas espécies do gênero *Passiflora* (Ferreira, 1994), oferecendo ao país uma condição privilegiada com relação aos recursos genéticos dessas espécies. Acessos de *Passiflora alata* podem ser encontrados em estado silvestre nos Estados da Bahia, Mato Grosso, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Amazonas e Pará, sendo encontrado também no Peru (CUNHA & BARBOSA., 2002). Segundo JUNQUEIRA et al. (2005a) tais acessos podem ser encontrados no estado silvestre no Espírito Santo, Rondônia, Maranhão, Piauí, Tocantins, Goiás e Distrito Federal. Além da utilização do fruto para consumo *in natura*, o maracujá doce pode ser utilizado como planta ornamental, pelas suas flores grandes e vistosas, e como planta medicinal, por produzir passiflorina e maracujina, ambas com propriedades tranquilizantes (VASCONCELOS & CEREDA, 1994; OLIVEIRA et al., 1994).

A espécie de maracujá mais cultivada no País é *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, também conhecida como maracujá-amarelo ou azedo, representando 95% dos pomares comerciais de maracujazeiro (RUGGIERO et al., 1996). Entretanto, devido aos preços diferenciados, a espécie de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis), vem ganhando importância dentro do mercado de frutas *in natura*. Segundo KAVATI & PIZA JR. (2002), o volume comercializado em São Paulo tem aumentado significativamente desde o início da década de 1980, chegando a 1,7 mil t em 2002, sendo Mogi-Guaçu e Mogi - Mirim os principais municípios produtores do Estado (BRAGA et al. 2005). Outros Estados como Paraná, Santa Catarina, Minas Gerais, Espírito Santo, Bahia e Pará também têm entrado nesse mercado, contribuindo para a disseminação da cultura. O aumento da área plantada e



o crescente interesse pela cultura criam novas demandas de cultivares superiores e de tecnologias de produção.

Com a expansão da cultura do maracujazeiro no país, várias doenças se tornaram economicamente importantes. Algumas dessas, como a bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*), a virose do endurecimento do fruto (CABMV) e o nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.), são limitantes ao seu cultivo, podendo provocar perdas totais (JUNQUEIRA et al., 2004).

Considerando que o maracujá é uma cultura em franca expansão e pouco estudada, programas de melhoramento genético são cada vez mais necessários para equacionar problemas como baixa produtividade, falta de adaptação a certos ecossistemas, não atendimento a exigências do consumidor e indústria e, principalmente, suscetibilidade a várias doenças.

A variabilidade genética das atuais variedades comerciais para resistência a doenças é reduzida, sendo que a busca de fontes de resistência é uma atual demanda para a pesquisa (FALEIRO et al. 2006). Espécies silvestres de maracujá nativas e espontâneas no Cerrado são alternativas para a ampliação da base genética da resistência a diversas doenças, que podem ser combinadas com características de produtividade e qualidade de frutos em programas de melhoramento genético.

Os estudos de diversidade genética inter e intra específica são de grande importância nestes estudos sobre espécies do gênero *Passiflora*, devido a rapidez e acurácia das técnicas que detectam as variações diretamente no DNA. Tais informações podem ser diretamente utilizadas para o direcionamento de cruzamentos em programas de melhoramento, além de outras aplicações dentro dos programas de conservação e uso de recursos genéticos (FALEIRO, 2007), os marcadores do tipo RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), por constituírem uma metodologia mais simples e relativamente mais barata, têm sido intensamente utilizados para diferentes estudos genéticos de diversos acessos, incluindo importantes trabalhos sobre a variabilidade genética do maracujazeiro (FALEIRO et al., 2005; PIO VIANA et al., 2003; BELLON et al., 2005; JUNQUEIRA et al., 2005c; PAULA et al., 2005) e na identificação rápida de seleções interespecíficas provenientes ou não de cruzamentos controlados (JUNQUEIRA et al., 2006)

Neste trabalho objetivou-se analisar a variabilidade genética de acessos de *Passiflora alata* Curtis por meio de marcadores RAPD, e avaliar a resistência de tais acessos à bacteriose e à virose do endurecimento do fruto.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Maracujá no Brasil – Aspectos econômicos

O maracujazeiro tem adquirido grande importância no contexto mundial, notadamente a partir das últimas três décadas, sendo que o Brasil ocupa uma situação de destaque no ranking mundial.

O Brasil é o maior produtor da espécie *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. No ano de 2005, a produção nacional brasileira foi de 479813 t em 35.820 ha, (IBGE, 2007). As regiões Nordeste e Sudeste destacam-se como as maiores produtoras.

Atualmente, o maracujazeiro vem sendo plantado em quase todos os estados brasileiros, proporcionando economia e renda em inúmeros municípios, se destacando como uma cultura com uso intensivo de mão-de-obra. Os dez maiores estados produtores da cultura do maracujá são: Bahia, Espírito Santo, São Paulo, Rio de Janeiro, Ceará, Sergipe, Para, Minas Gerais, Goiás e Alagoas (AGRIANUAL, 2006).

Os primeiros cultivos surgiram na década de 1960, e a produção, em torno de 1.444 t/ano, era suficiente apenas para atender às necessidades da família e do pequeno mercado regional (ARAÚJO, 1978). O mesmo autor destaca que no período de 1960 a 1970, a cultura do maracujazeiro passou a assumir importância em termos econômicos, fato que, provavelmente, representou o início de sua exploração para fins industriais.

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

Em 1990, a área cultivada totalizava 25.329 ha. A ampliação média dos pomares no país estavam ocorrendo a uma taxa de 5,29 % ao ano (FNP, 2000). A partir de 1998, foi instituída a realização da Reunião Técnica de Pesquisas em Maracujazeiro (RTPM), tendo, até 2005, sido realizadas quatro reuniões, respectivamente, na Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, BA; IAPAR, em Londrina, PR; UFV, em Viçosa, MG, e Embrapa Cerrados, em Planaltina, DF (FALEIRO & SOUSA, 2005).

Desde 1995, o Brasil vem se destacando como o maior produtor mundial de maracujá, apresentando, naquele ano, área colhida de 38.522 hectares e produção na ordem de 405.535 toneladas (AGRIANUAL, 2006; MELETTI, 2000). Os maiores produtores

mundiais são Brasil, Equador, Colômbia, Peru, África do Sul, Austrália, Nova Zelândia, Estados Unidos (Havaí), Papua Nova Guiné, Ilhas Fiji, Formosa e Quênia que, juntos, são responsáveis por 80% a 90% da produção total (MANICA & OLIVEIRA JR., 2005).

De acordo com estimativas da ITI Tropicals (2007), a produção mundial de maracujá é de 640 mil toneladas e a brasileira é próxima de 75% deste valor. O volume de frutas frescas e suco exportado pelo Brasil é pequeno quando comparado com o de outras frutas. O Equador foi o maior exportador de suco concentrado (50° Brix), exportado em 2006, em torno de 170 mil toneladas métricas (ITI Tropicals, 2007). O maracujá produzido no Brasil tem sido exportado para países europeus e latino americanos, embora de forma incipiente. Devido a esse cenário, em 2005, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento estabeleceu e aprovou a Instrução normativa N° 3 sobre as Normas Técnicas específicas para a produção Integrada de Maracujá (PIF-Maracujá) com o objetivo principal de elevar padrões de qualidade e de competitividade da fruticultura brasileira ao patamar de excelência requerido pelo mercado internacional (ANDRIGUETO et al., 2005).

Nesse contexto, explorar a diversidade do germoplasma brasileiro de maracujazeiro-doce visando o desenvolvimento de cultivares produtivas e resistentes a doenças é de fundamental importância para elevar a competitividade da passicultura doce do Brasil.

## 2.2. Gênero *Passiflora*

O gênero *Passiflora* é o mais importante da família *Passifloraceae*, apresentando maior importância econômica de espécies. O centro de distribuição geográfica do gênero localiza-se no Centro-Norte do Brasil (LOPES, 1991). As espécies da família *passifloraceae* têm origem em regiões tropicais, sendo que o número de espécies da família é muito discutida na literatura.. ESCOBAR (1988) considerou que a família teria pouco menos de 600 espécies, BERNACCI et al. (2003) consideraram 530 espécies. Segundo SOUZA & MELLETI. (1997), há mais de 580 espécies, a maioria oriundas da América tropical e, principalmente, do Brasil. Com relação ao número de gêneros da família, segundo BERNACCI et al (2005), não existe consenso entre os autores. KILLIP (1938) e SACCO (1980) listam 12 gêneros. ESCOBAR (1988) e CERVI (1997) listaram 20 gêneros, enquanto BRUMMITT (1992) considerou apenas 17 gêneros na família. Segundo VANDERPLANK (1996), a família *Passifloraceae* é formada por 630 espécies dentro de 18 gêneros. BERNACCI et al.(2003) consideram 530 espécies e 19 gêneros.

Muitas das espécies do gênero *Passiflora* são cultivadas pelas propriedades alimentícias, ornamentais e medicinais, mas principalmente pela qualidade de seus frutos (SOUZA E MELLETI, 1997; TOCCHINI et al., 1994). Os frutos, além de consumidos *in natura*, são usados para fazer sucos, doces, refrescos, sorvetes, etc. O valor ornamental é conferido pelas belas flores que a planta produz, que exercem atração pelo seu tamanho, pela exuberância de suas cores e pela originalidade de suas formas (PEIXOTO, 2005). O uso medicinal, bastante difundido, baseia-se nas propriedades calmantes, sendo um sedativo natural encontrado nos frutos e nas folhas (SOUZA & MELLETI,1997), nas propriedades como vermífugo e febrífugo e também nos efeitos diuréticos, antiblenorrágicos, hipnóticos entre outros (OLIVEIRA, 1987; COSTA & TUPINAMBÁ, 2005).

Vários autores, entre eles BERNACCI et al. (2005) e FERREIRA & OLIVEIRA (1991), relatam a grande variabilidade genética a ser explorada dentro do gênero *Passiflora*. FERREIRA (1998) e CASTELLEN et al. (2005) destacam que grande parte dessa variabilidade está dispersa no território brasileiro, o que coloca o país entre um dos principais centros de diversidade genética desse gênero. Nesse contexto, programas de conservação, caracterização e uso de germoplasma de maracujazeiro são de extrema importância, visando ampliar a base genética do maracujazeiro-doce e do amarelo e explorar o potencial ornamental e medicinal dessas espécies.

### 2.3 *Passiflora alata* Curtis

O maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) é uma espécie de ocorrência bastante generalizada no Brasil, onde é também conhecido vulgarmente como maracujá-grande, maracujá-de-refresco, maracujá-guaçu, maracujá-alado e maracujá-de-comer (INGLEZ DE SOUZA & MELETTI, 1997). É cultivado no Brasil pela sua elevada cotação no mercado de frutas frescas, pois a polpa é muito saborosa e doce. A planta é utilizada também como ornamental, pelas suas flores grandes e vistosas, além de sua utilização como planta medicinal (VASCONCELOS & CEREDA 1994; OLIVEIRA et al.,1994).

Segundo ROSSINI (1977), o maracujá-doce pertence ao subgênero *Granadilla*, série Quadrangulares e tem como seu classificador Dryander, mas BERNACCI et al. (2002) atribuem a W. Curtis (Bot. Mag. 2: pl. 66. 1788) a classificação dessa espécie.

É uma planta escandente, glabra, caule quadrangular de arestas aladas, gavinhas axilares robustas, estípulas lanceoladas, pecíolos com 2 a 4 glândulas e folhas ovaladas inteiras (7 a 15 cm de comprimento e 5 a 10 cm de largura). Os botões florais são pilosos e as flores são grandes (10 a 12 cm de diâmetro), com sépalas e pétalas carmin na face adaxial e corona com filamentos bandeados de branco e de roxo (BRAGA et al., 2005).

O maracujá-doce é uma espécie polimorfa, apresentando nos frutos variações no formato, peso, coloração da casca, teor de suco, número de sementes e qualidades degustativas (OLIVEIRA et al.,1982). Trata-se de uma espécie alógama, com número de cromossomos  $2n=18$  (SOARES-SCOTT et al., 2002).

A flor é hermafrodita, homoclamídea pentâmera. Cada flor apresenta uma única antese, sendo que, na Região Sudeste, é necessário 1 hora para a antese completa, iniciando a partir das 4 horas da manhã. O fechamento da flor ocorre por volta das 19h. A curvatura do estilete demora em média 113 minutos para ser completada, sendo que nem todas as flores apresentam curvatura completa. Em média, numa planta, 62% das flores apresentam curvatura completa (TC), 30% apresentam curvatura parcial (PC) e 8% apresentam-se sem curvatura (SC). As flores TC apresentaram 73% de pegamento de frutos, as PC, 44%, e as SC não apresentaram nenhum fruto. Entretanto, o índice de curvatura pode variar conforme o indivíduo avaliado sendo um fator de interesse para programas de melhoramento (VASCONCELLOS & CEREDA, 1994).

Na Região Sudeste, o florescimento ocorre durante todo o ano, apresentando picos de abundância no verão e picos de escassez no inverno (VASCONCELLOS & CEREDA,

1994). Os estames, em número de cinco, são unidos pela base, inseridos no topo do androginóforo, junto à inserção do ovário. Os três estiletos iniciam do centro superior do ovário. O ovário é súpero e unilocular com três placentas parietais (CERVI, 1997). O androginóforo apresenta altura em torno de 1,2 cm indicando que o polinizador natural deva ter um tórax com altura superior a 1 cm, sendo o principal polinizador, provavelmente, as espécies de abelhas do gênero *Xylocopa*, comumente denominadas como mamangavas. Depois da polinização, os estigmas precisam permanecer sem umidade excessiva, durante pelo menos 2 horas, para que haja fecundação. Não ocorre autopolinização natural nem compatibilidade na mesma flor ou flores diferentes de uma mesma planta, indicando ser uma espécie autocompatíveis. Mesmo entre plantas, podem existir diferenças de incompatibilidade quando doadora ou receptora de pólen (VASCONCELLOS & CEREDA, 1994; VASCONCELLOS et al., 1994).

O tempo necessário entre a fecundação e a colheita dos frutos varia de 71 e 96 dias, sendo a variação inversamente proporcional à temperatura e radiação solar médias. Também poderá haver essa variação entre indivíduos e entre frutos com menor ou maior exposição ao sol (VASCONCELLOS & CEREDA, 1994).

Os frutos são ovóides, de coloração amarela a laranja quando maduros, com grande variação no formato e tamanho. As sementes são cordadas e faveoladas, em geral de 7 a 8 mm de comprimento (VANDERPLANK, 1996; CERVI, 1997). O arilo é sulcoso de coloração bege e de sabor doce, com baixa acidez.

O número de sementes e, conseqüentemente, o tamanho e a quantidade de polpa no fruto depende do número de pólenes viáveis aderidos ao estigma. Segundo KAVATI & PIZA JÚNIOR, (2002) um fruto pode render de 150 a 300 sementes. Dessa forma, a polinização artificial pode ser utilizada, visando à produtividade e ao tamanho dos frutos e ao aumento do número de sementes. Além disso, aumenta também o número de pegamento de frutos, já que muitas vezes, o número de mamangavas, inseto polinizador, do local pode não ser suficiente para polinizar todas as flores.

Na Região do Cerrado, o porcentual de pegamento de frutos é de aproximadamente 66% das flores polinizadas artificialmente. Da polinização da flor à colheita do fruto, podem decorrer em torno de 69 dias durante o período primavera/verão ou 86 dias para o período outono/inverno (VERAS, 1997).

A propagação do maracujazeiro pode ser feita por meio de sementes (MELETTI et al., 2002; BRAGA & JUQUEIRA, 2003) e por clonagem, por meio da estaquia

(SALOMÃO et al., 2002), enxertia e cultura de tecidos (MANICA, 2005).

A propagação em escala comercial do maracujazeiro é realizada principalmente por via sexuada. Devido às características inerentes à propagação por sementes, considerando a carência de híbridos ou variedades selecionadas para maior uniformidade, a maioria dos pomares de maracujazeiro é desuniforme em termos de produção e qualidade dos frutos obtidos, o que contribui para a baixa produtividade nacional, de  $10 \text{ t ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$  (ALMEIDA et al., 1991). Dessa forma, plantas-matrizes com características desejáveis, como elevada produtividade e frutos com teores elevados de suco e de sólidos solúveis, podem ser reproduzidas por meio da propagação vegetativa, aumentando sensivelmente a produtividade dos pomares e conferindo maior uniformidade às características das plantas e dos frutos. No Brasil, esse método de propagação não é utilizado em escala comercial, ao contrário do que ocorre na África do Sul, onde o principal método de propagação é a enxertia (GRECH & RIJKENBERG, 1991). Além da enxertia, outro tipo de propagação vegetativa que pode ser utilizado comercialmente é a estaquia, cuja principal vantagem em relação à enxertia é o menor requerimento de mão-de-obra. Por esse método, é possível a clonagem tanto de variedades-copa como de porta-enxertos com características agronômicas superiores.

A clonagem é um sistema importante de propagação, principalmente, quando se encontram indivíduos superiores para as características que determinado programa de melhoramento deseja. Como são indivíduos de alta heterozigose, a clonagem manterá suas características nas descendências geradas, o que é importante na manutenção de matrizes, coleções de trabalhos e bancos de germoplasma, com grande potencial para utilização na propagação comercial de cultivares (BRAGA et al., 2005). A cultura de tecidos vegetais, também assume um papel importante, pois além de poder proporcionar a clonagem de indivíduos e sua produção em biofábricas, pode contribuir para a recombinação genética pela fusão de protoplastos e da transformação (BRAGA et al., 2005).

Portanto a incorporação, quer por melhoramento genético, quer por transgenia de caracteres interessantes, como resistência a doenças no maracujazeiro-doce é uma estratégia para promover o produto comercialmente.

## 2.4. Doenças do maracujazeiro

Nas últimas décadas, a área cultivada com maracujá aumentou consideravelmente no País, sem que os cuidados técnicos necessários, como tratamentos culturais adequados e uso de variedades melhoradas fossem devidamente observados. Tal aumento tem propiciado o aumento de problemas fitossanitários a ponto de reduzir a exploração econômica da cultura, até mesmo inviabilizar o cultivo em determinadas regiões. A cultura do maracujazeiro é afetada por várias doenças causadas por diversos microrganismos entre fungos, bactérias, vírus e fitoplasmas, que causam sérios problemas para a cultura (SOUSA, 2005).

As doenças que estão causando grandes prejuízos na produção do maracujazeiro, de importância nacional, são a verrugose ou cladosporiose (*Cladosporium herbarum* Link.), a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) e a murcha causada pela septoriose (*Septoria passiflora* Lown.), de origem fúngicas, e a bacteriose causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, além da principal virose do endurecimento do fruto, causado por duas espécies de vírus, *Passionfruit woodiness virus* – PWV e *Cowpea aphid-borne mosaic virus* – CABMV (ZERBINE et al., 2005). Devido aos grandes prejuízos que causam, a bacteriose e a virose do endurecimento dos frutos têm sido consideradas doenças de grande relevância para a cultura do maracujazeiro.

### 2.4.1. Bacteriose

A bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* é a que causa grandes prejuízos a cultura do maracujazeiro no Brasil e na Austrália, sendo classificada, até o ano de 2000, como *X. campestris* pv. *passiflorae* (Pereira) Dye. Esta bactéria apresenta forma de bastonete, é gram negativa e monótrica, ou seja, possui um único flagelo, cuja finalidade é a de locomoção em meios aquosos, facilitando sua disseminação por toda a planta, tanto de forma epífita quanto sistêmica. Forma colônias amareladas em meio de cultura, sendo esta coloração conferida pela substância xanthomonadina (GONÇALVES & ROSATO, 2000).

Segundo PIO-RIBEIRO & MARIANO (1997), os sintomas iniciais nas folhas, principalmente as mais internas, são lesões pequenas, encharcadas, oleosas, translúcidas, freqüentemente localizadas próximas às nervuras, com halos visíveis, podendo ocorrer o enegrecimento vascular a partir dos bordos. Essas lesões tornam-se marrons, deprimidas,



sobretudo na face dorsal da folha, de formato variado, raramente circulares, com tamanho médio de 3 a 4 mm de diâmetro, podendo coalescer em grandes áreas necrosadas e causando seca total da folha. Já nos frutos, os sintomas são lesões pardas ou esverdeadas, oleosas, circulares ou irregulares, com margens bem definidas, podendo coalescer. São geralmente superficiais, mas podem atingir as sementes, inutilizando o fruto para o consumo.

A partir das lesões foliares, a infecção pode se tornar sistêmica e atingir os ramos, que sofrem uma seca progressiva, apresentando caneluras longitudinais acompanhadas de escurecimento dos feixes vasculares. Cortes transversais de ramos e pecíolos infectados, se comprimidos, apresentam exsudação de pus bacteriano (MALAVOLTA JUNIOR, 1998).

Segundo JUNQUEIRA et al. (2003), esta doença, uma vez instalada no pomar, torna-se de difícil controle, sendo requeridas medidas como tratamentos culturais, controle químico e genético. Utilizando-se essas três medidas de controle tem-se obtido resultados satisfatórios para o maracujazeiro-amarelo cultivado no Cerrado, porém não para o maracujazeiro-doce. Os mesmos autores observaram que a bactéria pode sobreviver em restos culturais em condições de Cerrado, ela pode ser observada de forma endêmica em várias espécies de *Passifloras* nativas, entre elas *P. alata*, *P. cincinnata* e *P. amethystina*.

A bactéria *X. axonopodis* pv. *passiflorae* pode sobreviver em sementes (VILLANOVA et al., 2007) e material vegetativo infectados, sendo estes veículos para sua disseminação. Entre as condições favoráveis estão ambientes chuvosos com alta umidade e temperatura em torno de 35°C.

TORRES et al. (1993), com vistas ao controle da bacteriose causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, realizaram experimentos com fungicidas, em dois intervalos de aplicação, cujos resultados mostraram que Oxícloreto de cobre a 30% e a 50% e Oxícloreto de Cobre + Maneb + Zineb, quando aplicados quinzenalmente, foram os mais eficientes, apresentando os melhores índices de controle e maiores volumes de produção. Em contrapartida, nas aplicações mensais, não ocorreram diferenças significativas entre os fungicidas testados e a testemunha. Já em outro experimento, em que se avaliou a influência da poda associada ao controle químico em um plantio de maracujá onde a doença se encontrava largamente difundida, concluíram que a mesma nada acrescentou ao controle, sendo uma prática contraproducente.

Outras medidas de controle podem ser adotadas, devendo-se evitar a instalação dos pomares próximo a plantios contaminados; realizar adubações equilibradas, tendo em vista

que os macro e os micronutrientes exercem papel importante na manifestação da resistência ou suscetibilidade aos agentes causais de doenças; implantar barreiras vivas como quebra-vento para diminuir ferimentos e a entrada da bactéria; realizar higienização das mãos e desinfecção de implementos como canivete e tesoura de poda com hipoclorito de sódio.

#### **2.4.2. Virose do Endurecimento dos Frutos**

A virose endurecimento dos frutos, que pode ser causado por duas espécies de vírus (*Passionfruit woodiness virus*, PWV e *Cowpea aphid-borne mosaic virus*, CABMV), é a principal doença de etiologia viral do maracujazeiro no Brasil e atualmente está disseminada na maioria das regiões produtoras (KITAJIMA & REZENDE, 2001; BUENO et al., 2004; NASCIMENTO et al., 2004).

Há relatos de pelo menos nove espécies de vírus vem infectando o maracujazeiro em condições naturais, dos quais, cinco foram relatados no Brasil: o vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro (*Passion fruit woodiness potyvirus*– PWV), o vírus do mosaico do pepino (*Cucumber mosaic cucumovirus* – CMV); o vírus do mosaico amarelo do maracujazeiro (*Passion fruit yellow mosaic tymovirus* - PFYMV); o vírus do mosaico do maracujá-roxo (*Purple Granadilla mosaic virus* – GMV) e o vírus do enfezamento do maracujazeiro (*Passion fruit vein-clearing rhabdovirus* – PFVCV (ANJOS et al.,2001).

O primeiro relato da virose do endurecimento dos frutos do maracujazeiro foi feito na Austrália há mais de cem anos (COBB, 1901). Tanto o (PWV) quanto o (CABMV) da família *Potyviridae*, do gênero *Potyvirus* sendo ambos descritos como agentes causadores do endurecimento dos frutos. SHUKLA & WARD (1988) determinaram a seqüência de aminoácidos da proteína capsidial (CP) de três isolados de PWV provenientes da Austrália. BRAND et al. (1993) clonaram e seqüenciaram o gene da proteína capsidial de uma estirpe de PWV da África do Sul e, ao compará-la com a seqüência de estirpes de PWV da Austrália, concluíram que se tratava de uma nova espécie viral, por eles denominada *South African Passiflora virus* (SAPV). Essa denominação não foi aceita pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV), uma vez que o SAPV apresentava alta identidade na seqüência de sua proteína capsidial com isolados de CABMV (MCKERN et al., 1994). Estudos adicionais identificaram o SAPV como uma estirpe do *Cowpea aphid-*

*borne mosaic virus* (CABMV) (SITHOLE-NIANG et al., 1996). Assim, o ICTV reclassificou-o como da espécie CABMV (VAN REGENMORTEL et al., 2000), como relatado por ZERBINI et al.(2005). Dessa forma, reconhece-se atualmente que o endurecimento dos frutos do maracujazeiro pode ser causado pelo PWV ou pelo CABMV (VAN REGENMORTEL et al., 2000).

No Brasil, o endurecimento dos frutos já foi relatado nos principais Estados produtores de maracujá, incluindo Bahia (CHAGAS et al., 1981), Ceará (LIMA et al., 1985; BEZERRA et al., 1995), Minas Gerais (COSTA, 1996) e São Paulo (CHAGAS et al., 1992). Em todos os casos, o PWV foi identificado como agente etiológico da doença, com base em características biológicas e sorológicas. Entretanto, estudos realizados por BRAZ et al. (1998) e SANTANA et al. (1999), baseados em análise comparativa da seqüência de aminoácidos da CP de diversos isolados brasileiros de potyvírus causadores de endurecimento dos frutos do maracujazeiro, previamente identificados como PWV, apontaram alta identidade das seqüências desses isolados com isolados de CABMV, e baixa identidade com isolados de PWV.

Os potyvírus possuem partícula alongada e flexuosa, com 690-760 nm de comprimento por 11-16 nm de largura. O genoma é constituído por um RNA de fita simples, sentido positivo, com aproximadamente 10.000 nucleotídeos (VAN REGENMORTEL et al., 2000).

Nas plantas afetadas são observados mosaicos, clareamento das nervuras, manchas anelares, rugosidade, distorção e mosqueado amarelo. BEZERRA et al. (1995) isolaram um vírus de *P. edulis* f. *flavicarpa* (maracujá amarelo) no estado do Ceará, determinaram suas características sorológicas, propriedades físicas “*in vitro*”, peso molecular da proteína capsidial, transmissibilidade pelo vetor afídio, sintomatologia e gama de hospedeiros, graus de severidade dos sintomas em condições de campo, e identificaram-no como uma estirpe do PWV capaz de induzir sintomas de mosaico em maracujá amarelo, sem causar endurecimento dos frutos. Testes sorológicos mostraram que esta estirpe do PWV foi relacionada com alguns potyvírus: vírus do mosaico do caupi, da clitoria e do siratro

O vírus do endurecimento reduz significativamente a área foliar e o peso da parte aérea e do sistema radicular da planta. Como a produção do maracujazeiro está diretamente relacionada ao enfolhamento da planta, os efeitos são drásticos. Quanto mais cedo a planta é infectada, maior o efeito negativo. O vírus causa danos quantitativos e qualitativos à produção, reduzindo número, peso e valor comercial dos frutos (GIORIA, 1999).

Os sintomas nos frutos infectados são redução do tamanho, deformação e endurecimento o que torna o fruto inviável para o comércio, além de mosaico e distorção foliar. O vírus é facilmente transmissível mecanicamente e por afídeos, de maneira não persistente (KITAJIMA et al., 1986). A sua transmissão não se dá por sementes (VILLANOVA et al., 2007), porém podendo haver transmissão mecânica (KITAJIMA et al. 1986). A transmissão pelo afídio *A. gossypii* ocorre no momento das picadas de prova do inseto, o que caracteriza a relação vírus-vetor como sendo do tipo não-persistente e não circulativa. Outras espécies relatadas como vetoras do PWV no Brasil são *Aphis fabae* Scopoli, *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe, *Myzus nicotianae* Blackman e *Myzus persicae* (Sulzer) (COSTA 1998). Apesar de esses afídeos serem vetores do vírus a maioria dos relatos não os inclui como pragas do maracujazeiro.

O controle do vírus tem sido preventivo, evitando-se disseminação do vírus em áreas onde ele não ocorre. Há pesquisadores empenhados em desenvolver métodos de controle por meio de resistência ou tolerância e pré-imunização com estirpes fracas (KITAJIMA et al., 1986), de forma que as estirpes fracas que não afetem o desenvolvimento das plantas, a produção e a qualidade dos frutos, poderão vir a ser úteis no controle por pré-imunização (REZENDE, 1994). Plantas transgênicas de maracujazeiro com resistência o CABMV, apresentam potencial para o controle adequado da virose do endurecimento dos frutos (ALFENAS et al., 2005).

## **2.5. Quantificação de doenças de plantas**

A quantificação de doenças é considerada uma das fases mais importantes no manejo de plantas (KRANZ, 1998), sendo necessário tanto para estudos de medida de controle e de caracterização de resistência varietal como para estudos epidemiológicos e estimativas de danos por ela provocados (AMORIM, 1995; BERGAMIN FILHO & AMORIM, 1996).

A incidência é a porcentagem (frequência) de plantas doentes em uma amostra ou população (AMORIM, 1995). Apresenta como vantagens, a facilidade e rapidez de execução, a reprodutibilidade dos resultados obtidos e o fato de ser um parâmetro satisfatório na fase inicial da epidemia. Como desvantagem apresenta pouca precisão para doenças foliares, mostrando uma correlação duvidosa com a severidade em fases avançadas da epidemia (MORAES, 2007).

A severidade (porcentagem de área ou volume de tecido da planta coberto por sintomas) é a variável mais utilizada para quantificar doenças foliares (BERGAMIN FILHO & AMORM 1996). A severidade da doença é geralmente avaliada visualmente o que faz com que sejam geradas estimativas subjetivas. Para auxiliar o avaliador a minimizar a subjetividade de cada avaliação, escalas diagramáticas são ferramentas bastante úteis.

A avaliação da severidade da mancha bacteriana em maracujazeiro tem sido feita com escalas de notas (KURODA, 1981; WENDLAND et al., 1997; BERIAM et al., 2000), a maioria de natureza qualitativa e de pouca precisão, que faz com que sejam produzidos resultados variáveis quando diferentes avaliadores utilizam.

A avaliação da virose do endurecimento dos frutos também tem sido feita por escalas de notas (NOVAES & REZENDE, 1999). Outras possibilidades na avaliação da virose do endurecimento dos frutos, é a quantificação de partículas virais por métodos indiretos como Elisa ou PCR. O uso da incidência acoplada com quantificação de danos e da densidade do patógeno pode ser bem eficiente na discriminação de genótipos ..( LARANJEIRA et al, 2005).

## **2.6. Resistência de espécies silvestres de maracujazeiro a doenças e pragas**

Com o crescimento da cultura do maracujazeiro no País, muitas doenças como a bacteriose causada por (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*), a virose do endurecimento do fruto causada pelo (PWV e CABMV) e o nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.) apareceram e se tornaram limitantes ao seu cultivo, podendo provocar perdas totais. Até o momento, não tem sido observada, em níveis práticos, resistência ou tolerância a esses patógenos nas populações cultivadas. Em populações nativas no Cerrado, tem sido observada alguma tolerância à bacteriose, mas não ao vírus do endurecimento dos frutos nem ao nematóide das galhas (JUNQUEIRA et al., 2004).

OLIVEIRA & RUGIEIRO (1998) citam as espécies *P. giberti*, *P. maliformis*, *P. cincinnata*, *P. laurifolia*, *P. caerulea* e *P. setacea* como promissoras fontes de resistência à bacteriose e as espécies *P. edulis*, *P. laurifolia*, *P. setacea*, *P. giberti* e *P. alata* à verrugose.

LEITE JR. (2002) relatam *P. cincinnata*, *P. molissima* e *P. foetida* como resistentes a bacteriose, *P. maliformis* como altamente resistente e *P. alata* e *P. quadrangulares* como altamente suscetíveis a bacteriose. Tais fatos indicam haver variabilidade no germoplasma

de *Passiflora* spp., o que possibilita a obtenção de materiais comerciais de maracujazeiro com resistência a doenças.

No Distrito Federal, o uso de espécies selvagens como fonte de resistência as plantas de *P. coccinea* e de seu híbrido F1, com *P. edulis* f. *flavicarpa* comercial não exibiram sintomas, mas os híbridos (RC1, RC2 e RC3) do genitor *P. edulis* f. *flavicarpa* foram altamente suscetíveis a bacteriose como as plantas de *P. caerulea*, *P. giberti*, *P. mucronata*, *P. actinia* e de alguns acessos de *P. nitida* e *P. laurifolia* também não mostraram sintomas. Por outro lado, *P. amethystina*, *P. cincinnata*, *P. quadrangulares* e *P. alata* selvagens mostraram-se altamente susceptíveis para os isolados da região (JUNQUEIRA et al., 2005b).

WENDLAND (1997), avaliando diferentes acessos de maracujazeiro azedo quanto à resistência a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, verificou diversos graus de resistência dentro da espécie. No entanto, entre plantas de uma mesma cultivar, há indivíduos que não mostraram sintomas da doença, mas suas sementes têm gerado somente plantas susceptíveis, possivelmente devido ao cruzamento com plantas suscetíveis de outras cultivares. Algumas dessas plantas foram clonadas e multiplicadas por estaquia e continuam mantendo o nível de resistência. Resultados similares foram obtidos por FRANCO et al. (2002).

Com relação a vírose do endurecimento dos frutos, não há relatos de fontes de imunidade em plantas do gênero *Passiflora*, embora diferentes níveis de resistência tenham sido verificados mesmo dentro da espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* (LEÃO, 2001).

Outras doenças como a fusariose ou murcha (*Fusarium oxysporum* f.sp. *passiflorae*), podridão-do-pé causada por (*Fusarium solani*) e antracnose causada por (*Colletotrichum gloeosporioides*) também vêm provocando perdas expressivas, porém não são limitantes a passicultura (JUNQUEIRA et al., 2004).

Existem perspectivas de controle dessas doenças causadas por patógenos do solo com o uso de enxertia em porta-enxertos resistente de *Passiflora alata* ou de outras espécies como *P. setacea*, híbridos F1 de *P. setacea* x *P. edulis*, *P. setacea* x *P. coccinea*, *P. nitida*, *P. coccinea* e outras (JUNQUEIRA et al., 2004). YAMASHIRO & LANDGRAFF (1979) verificaram a resistência das espécies *P. alata*, *P. macrocarpa* e *P. quadrangularis* à fusariose e recomendam as mesmas como porta-enxerto para maracujazeiro azedo.

OLIVEIRA & RUGGIERO (1998) observaram que as espécies *P. alata*, *P. nitida*, *P. macrocarpa*, *P. setacea*, *P. gibertii*, *P. laurifolia* e *P. suberosa*, cultivadas em

Jaboticabal, em local com histórico de ocorrência de doenças do sistema radicular, apresentaram alta frequência de plantas resistentes. Os autores citam estas espécies como potenciais fontes de resistência a doenças em porta-enxerto do maracujá azedo ou uso em programas de melhoramento genético. Estes mesmos autores citam as espécies *P. gibertii*, *P. maliformis*, *P. cincinnata*, *P. laurifolia*, *P. caerulea* e *P. setacea* como promissoras fontes de resistência à bacteriose e as espécies *P. edulis*, *P. laurifolia*, *P. setacea*, *P. gibertii* e *P. alata* à verrugose.

OLIVEIRA et al. (1994a), analisando o comportamento de várias espécies de maracujazeiro em relação à morte prematura, verificaram que *Passiflora. alata*, *P. nitida*, *P. laurifolia* e alguns acessos de *P. suberosa*, *P. caerulea*, *P. gibertii* e *P. setacea* mostraram-se resistentes a doença. JOSÉ et al. (1996), após estudarem três espécies de maracujá quanto a morte prematura, concluíram que *P. alata* apresentou maior tolerância. Estudos realizados por FISCHER (2003) mostraram que as espécies *P. alata*, *P. nitida* e *P. laurifolia* apresentaram as menores médias de lesões provocadas por *Nectria haematococca*, um dos prováveis causadores da morte prematura do maracujazeiro.

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

Algumas espécies de maracujá podem interferir no comportamento ou desenvolvimento do insetos praga, sendo essas informações úteis em programas de melhoramento de plantas para a obtenção de variedades promissoras, com características agrônômicas adequadas e resistência a pragas, além da resistência a doenças. Segundo estudo realizado por LARA et al. (1999), citados por FANCELLI & LIMA (2004), *Passiflora nitida*, *P. alata*, *P. setacea* e o híbrido *P. alata* x *P. macrocarpa* apresentam resistência do tipo não-preferência para alimentação a *Dione junio junio*. Trabalhos realizados por CAETANO & BOIÇA JÚNIOR (2000), citados por FANCELLI & LIMA (2004), mostraram que, com relação a *Leptoglossus gonagra*, *P. nitida* apresentou o mais alto grau de antibiose dentre os hospedeiros avaliados (*P. nitida*, *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. alata*, *P. laurifolia* e *P. gibertii*).

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

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

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

Existe, portanto, grande diversidade genética entre as diferentes espécies de *passiflora* quanto a resistência a pragas e doenças a ser explorada por programas de melhoramento de maracujazeiro.

## **2.7. Melhoramento Genético do maracujazeiro**

### **2.7.1. Variabilidade genética no gênero *Passiflora***

À semelhança das demais culturas de interesse econômico, os principais procedimentos em um programa de melhoramento do maracujazeiro são: caracterização e avaliação de germoplasma (silvestre e cultivado); estudo da herança dos principais caracteres agrônômicos; melhoramento intra e interpopulacional e seleção de genitores para hibridação. Além das características citadas, o programa de melhoramento do maracujazeiro possui algumas particularidades no que diz respeito à auto-incompatibilidade, com implicações não somente nos procedimentos de melhoramento, como também na recomendação de cultivares, se clonal ou seminal, na multiplicação e conservação dos genótipos-elite, especialmente, quando são via seminal (PEREIRA et al., 2005).

O maracujazeiro apresenta grande variabilidade genética natural para as diversas características da planta e do fruto. A caracterização e a avaliação das espécies de interesse



são ferramentas indispensáveis aos trabalhos de fitomelhoramento. Devido ao fato do maracujá ser uma planta alógama, vários são os métodos de melhoramento aplicados a essa cultura. Métodos de melhoramento de plantas alógamas baseiam-se, principalmente, no aumento da frequência de genes favoráveis ou na exploração do vigor híbrido (MELETTI & BRUCKNER, 2001).

Os principais métodos de melhoramento genético utilizados em *Passiflora* são introdução de plantas, seleção massal, hibridação sexual interespecífica, hibridação sexual intervarietal e a seleção por teste de progênies (BRUCKNER & OTONI, 1999). MELETTI et al. (2000) e NASCIMENTO et al. (2003) trabalhando com seleção massal em *P. edulis* f. *flavicarpa*, têm logrado êxito em selecionar progênies promissoras, resultando inclusive no lançamento de cultivares comerciais.

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

Grande variabilidade genética também é observada dentro da mesma espécie. Diferenças na morfologia dos frutos como comprimento, diâmetro, pesos da polpa, semente, casca, do próprio fruto, espessura da casca e °Brix são comuns, a exemplo das verificadas por FERREIRA et al. (1976) em *P. edulis* f. *flavicarpa* e por MELETTI et al. (2003) e MARTINS et al. (2003) em *P. alata*.

MARTINS et al. (2003) avaliaram, em cinco populações de *P. alata* obtidas por seleção massal, as características de número de frutos por planta, massa do fruto, número de sementes por fruto, espessura da casca e rendimento de polpa. Os autores verificaram alta variabilidade nessas características, exceto para espessura da casca e rendimento de polpa. Portanto, são para essas características de alta variabilidade que se têm as melhores possibilidades de obtenção de plantas superiores via melhoramento genético.

JUNG (2003), trabalhando com *P. alata*, utilizando o esquema de cruzamento dialélico parcial, envolvendo gerações F1 e genitores, verificou predominância de variabilidade para efeitos gênicos aditivos, conseguindo selecionar três genitores promissores.

JUNQUEIRA et al. (2005a) avaliaram dez procedências de *P. alata* e as classificaram em função do formato dos frutos em dez categorias denominando-as de A à J. Para cada procedência, encontraram diferenças significativas nas características do fruto

relacionadas ao pescoço, comprimento, diâmetro, brix e acidez, além de diferentes matrizes de coloração da casca, entre amarelo e laranja. Já para rendimento de polpa, percentual de casca e de sementes, não houve diferenças significativas entre as procedências avaliadas.

A seleção com teste de progênies de irmãos completos ou de meios-irmãos obtidos a partir de cruzamentos inter e intraespecíficos pode ser eficiente no processo de seleção do maracujazeiro, uma vez que apenas um fruto pode gerar mais de 100 indivíduos geneticamente heterogêneos.

JUNQUEIRA et al. (2006b) propõem que a propagação das matrizes selecionadas teria que ser feita por métodos assexuados (enxertia ou estaquia), o que permitiria reproduzir características agrônômicas desejáveis e aumentar a homogeneidade dos frutos, por outro lado aumentaria a chance de disseminação do vírus do endurecimento do fruto e da bacteriose, presentes nos materiais propagativos contaminados.

Espécies silvestres de maracujá nativas e espontâneas no Centro-Norte brasileiro são alternativas para a ampliação da base genética da resistência. Entretanto, trabalhos de melhoramento genético são necessários para combinar a resistência com características de produtividade e qualidade de frutos. Os métodos de melhoramento baseado em hibridações interespecíficas têm sido citados como promissores, embora possam existir alguns problemas dos híbridos F1 relacionados a macho esterilidade, viabilidade de pólen, falta de adaptação e suscetibilidade às doenças de parte aérea (OLIVEIRA & RUGGIERO, 1998). Na Embrapa Cerrados, método de retrocruzamento tem sido utilizado para incorporação de genes de resistência em variedades comerciais (JUNQUEIRA et al., 2005b, FONSCCECA, K.G. da, 2008).

COPPENS D'EECKENBRUGGE (2005) cita vários autores que conseguiram sucesso no cruzamento de *P. alata* com outras passifloras, o que amplia ainda mais as possibilidades de uso do *P. alata* nos programas de melhoramento genético. JUNQUEIRA et al. (2005a) também relatam a obtenção de híbridos interespecíficos de *P. alata* com outras passifloras. Cruzamentos de *P. alata* e *P. edulis* f. *flavicarpa* comercial produziram na geração F1 plantas pouco produtivas, com folha e flores similares as de *Passiflora alata*, porém com frutos arredondados, muito ácidos e com casca grossa, portanto sem valor comercial (JUNQUEIRA et al., 2005a).

SOUZA et al. (2006) avaliaram o índice de cruzabilidade entre espécies de *Passiflora* nas condições do Cerrado, e verificaram que pode-se obter frutos com sementes

férteis entre *P. alata* com: *P. setacea*; *P. mucronata* (acesso CPAC MJ 10-03); *P. galbana* (acesso CPAC MJ 06-01) X; *P. quadrangulares* (acesso CPAC MJ 07-02)..

A espécie *P. laurifolia* apresenta resistência a bacteriose e a podridão do pé, além de ter casca fina e bom rendimento em polpa. Nas condições de Cerrado, esta espécie floresce no mesmo horário e época de *Passiflora alata*, possibilitando cruzamentos artificiais entre essas duas espécies, apresentando, no entanto, frutos pequenos na geração F1 (JUNQUEIRA et al., 2005b).

Nesse contexto, os programas de melhoramento do maracujazeiro, enfrentam enormes desafios, e ainda há muito o que fazer. Assim sendo é preciso agregar os procedimentos clássicos de melhoramento genético, a uma poderosa ferramenta como os marcadores moleculares, para que se possa acelerar a busca dos resultados.

### **2.7.2. Marcadores moleculares e biotecnologia**

Os avanços das pesquisas na área da biologia molecular, o desenvolvimento de equipamentos cada vez mais automatizados e da bioinformática têm possibilitado a geração de um número virtualmente ilimitado de marcadores, permitindo a cobertura completa do genoma de interesse. Tais avanços vêm potencializar a incorporação dos marcadores moleculares nas diferentes etapas dos programas de melhoramento genético. Tratando-se de plantas semiperenes, como é o caso do maracujazeiro, a utilização desses marcadores se reveste ainda de maior importância (PEREIRA et al., 2005).

Os marcadores podem ser utilizados para acelerar a recuperação do genoma recorrente por meio da metodologia de genótipos gráficos (YOUNG & TANKSLEY, 1989). O potencial desta metodologia foi levantado por OPENSHAW et al., (1994) e vem sendo utilizada com sucesso no melhoramento do feijoeiro (FALEIRO et al., 2001; SOUZA et al., 2003) e do maracujazeiro (FALEIRO et al., 2004), visando resistência a doença. A diminuição do tempo necessário para a recuperação do genoma recorrente é feita reduzindo o número de retrocruzamentos de oito ou nove para três ou quatro. Os marcadores moleculares também pode ser úteis na elaboração de mapas genéticos visando à identificação de QTL ( Quantitative trait loci) para resistência à bacteriose (BRAGA et al., 2005), além de inúmeras aplicações em programas de conservação e uso de recursos genéticos (FALEIRO et al., 2007)

Diversas técnicas de marcadores moleculares têm permitido indicar, com precisão, as variações genéticas presentes no DNA de um determinado organismo. Entre os

marcadores moleculares mais usados atualmente estão o RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) ou polimorfismo do DNA amplificado ao acaso, o SSR (*Single Sequence Repeat*) ou polimorfismo de microssatélite (pequenas seqüências com um a quatro nucleotídeos de comprimento repetidas em tandem) e o AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) ou polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados.

No gênero *Passiflora*, são vários os trabalhos realizados onde se faz uso de marcadores moleculares. O uso de marcadores moleculares é altamente viável, por permitir um rápido estudo da variabilidade presente (PEREIRA et al., 2005; STEPHEN et al., 1997, PIO VIANA et al., 2003; VIEIRA et al., 2005). Alguns autores realizaram trabalhos referentes à diversidade genética no gênero *Passiflora*, utilizando marcadores RAPD (ANGEL et al., 1998; CASSIANO et al., 1998; PIO VIANA et al., 2003; VIEIRA et al., 1997, FALEIRO et al. 2004, BELLON et al. 2007, JUNQUEIRA et al. 2007).

Trabalhos envolvendo genótipos de maracujazeiro azedo cultivados no Rio de Janeiro, baseados em características morfo-agronômicas e marcadores RAPD não evidenciaram expressiva variabilidade genética (PIO VIANA et al., 2002a; 2002b). Por outro lado, espécies silvestres do gênero *Passiflora* (*P. laurifolia*, *P. nitida*, *P. tenuifolia*, *P. mucronata*, *P. gibertii*, *P. amethystina*, *P. quadrangularis*, *P. setacea*, *P. coccinea*, *P. caerulea*, entre outras) têm apresentado, com base em estudos preliminares, variabilidade para resistência às principais doenças do maracujazeiro (CUNHA et al., 2002) e também variabilidade no DNA (AUKAR et al., 2002; CROCHEMORE, 2002; FALEIRO et al., 2004, 2005; PIO VIANA et al., 2003).

PIO VIANA et al. (2003) avaliaram a diversidade genética entre acessos de várias espécies do gênero *Passiflora* via RAPD e observaram que há grande variabilidade genética entre as espécies *P. foetida*, *P. alata*, *P. gibertii*, *P. suberosa*, *P. cincinnata*, *P. maliformis* e *P. edulis* f. *edulis*, sendo que as espécies *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. gibertii* foram as mais distantes entre as espécies estudadas. *P. cincinnata* e *P. edulis* f. *edulis* formaram um mesmo grupo, sugerindo que elas compartilham uma similaridade genética.

GANGA et al. (2004) avaliaram a diversidade genética entre 36 acessos de maracujazeiro amarelo provenientes de 18 estados da federação utilizando marcadores AFLP. Esses autores verificaram uma grande diversidade genética entre os acessos e uma não estruturação geográfica entre aqueles derivados de um mesmo estado ou região. Assim, a diversidade genética revelada por tais marcadores pode auxiliar na definição de estratégias mais eficientes a serem utilizadas em programas de melhoramento de maracujá-amarelo.

CARNEIRO et al. (2002) construíram um dos primeiros mapas em maracujá-amarelo usando marcadores RAPD em uma população de 90 indivíduos F<sub>1</sub> oriundos do cruzamento entre os acessos IAPAR-06 e IAPAR-123. LOPES et al. (2003), utilizando marcadores AFLP, construíram outro mapa usando 117 plantas oriundas dessa mesma população. Em ambos os mapas, foram encontrados nove grupos de ligação para cada genitor, que corresponde aos nove pares de cromossomos da espécie. Em outro trabalho, LOPES (2003) mapeou um QRL (“Quantitative Resistance Loci”) na posição 39,57 cM do grupo de ligação 2, explicando 15,8% da variação fenotípica relacionada à resistência à *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*.

MORAES (2005) gerou mapas de ligação em maracujazeiro-amarelo e mapeou QTLs (“Quantitative Trait Loci”) para características ligadas à produção como: velocidade de produção, produção total, número total de frutos, peso médio de fruto, comprimento e largura média de fruto, porcentagem de polpa, teor de sólidos solúveis totais e formato médio de frutos. O mapeamento de QTL, utilizando mapeamento por intervalo composto, permitiu a identificação de várias regiões associadas ao controle desses caracteres nos mapas individuais, sendo mapeados QTL para todos os caracteres que apresentaram variabilidade genética na população.

A transformação genética tem sido utilizada no melhoramento visando à introgressão de genes de resistência à bacteriose e ao PWV ou CABMV (VIEIRA & CARNEIRO, 2004). BRUCKNER & OTONI (1999) consideram que pela introgressão de genes da capa protéica do PWV (vírus do endurecimento dos frutos), pode-se levar a obtenção de cultivares resistentes a essa virose. A fusão protoplastos permitiria a hibridização somática, principalmente, entre espécies de passifloras não compatíveis sexualmente, ampliando ainda mais o leque de possibilidade (BRUCKNER & OTONI, 1999; VIEIRA & CARNEIRO, 2004).

Tendo em vista as dificuldades inerentes ao melhoramento de frutíferas tropicais e semiperenes, como é o caso do maracujazeiro, torna-se necessário reunir os procedimentos clássicos de melhoramento genético com a tecnologia dos marcadores de DNA, para acelerar e aumentar a eficiência na geração de cultivares superiores e mais adaptados aos diferentes sistemas de produção (PEREIRA et al., 2005).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL.2006: - Anuário estatístico da agricultura brasileira. **Maracujá**. São Paulo: FNP- Consultoria e Comercio, 2006.p.370-375.

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

ALMEIDA, L.P.; BOARETTO, M.A.C.; de SANTANA, R.G. Estaquia e comportamento de maracujazeiros (*Passiflora edulis* SIMS F. *flavicarpa* DEG.) propagados por vias sexual e vegetativa. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 1, p.153-156, 1991.

AMORIM, L. Avaliação de doenças. In: BERGAMIN FILHO, A; KIMATI, H.; AMORIM L. (ed.) Manual de fitopatologia: Princípios e conceitos. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda., 1995, v. 1, cap. 32, p. 645-671.

ANDRIGUETO, J. R.; KOSOSKI, A. R.; OLIVEIRA, D. de A. Maracujá no contexto do desenvolvimento e conquistas da produção integrada de frutas no Brasil. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 509- 556..

ANGEL, E. O.; FARJADO, D.; GRUM, M.; TOHME, J.; LOBO, M. Genetic variation analysis of the genus *Passiflora* L. using RAPD markers. **Euphytica**, Dordrecht, v. 101, n. 3, p. 341-347, 1998.

ANJOS, J.R.N.; JUNQUEIRA, N.T.V.; CHARCHAR, M.J.A. **Incidência e distribuição do vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro do cerrado do Brasil Central**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2001. 17 p.

ARAÚJO, B. C. Maracujá em Sergipe – situação atual e perspectivas. In: ENCONTRO ESTADUAL DA CULTURA DO MARACUJÁ, 1., 1978, Aracaju, SE. **Anais...** Aracaju, SE, 1978. p. 67-76.

AUKAR, A. P. A.; LEMOS, E. G. M.; OLIVEIRA, J. C. Genetic variations among passion fruit species using RAPD markers. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 738-740, dez. 2002.

BALDIN, E. E. L.; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; LARA, F. M. Atratividade e consumo de *Holymenia clavigera* (HEMIPTERA: COREIDAE) por genótipos de maracujazeiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16., 1997, Salvador, BA. **Anais...** Salvador, BA, 1997. p. 235.

BALDIN, E. E. L.; LARA, F. M. Atratividade e preferência alimentar de adultos de *Epicauta atomaria* (Germar, 1821) (Coleoptera: Meloidae) em maracujazeiros (*Passiflora*

spp.) sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 68-71, abr. 2002.

BELLON, G.; FALEIRO, FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, K. P.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SANTOS, E. C. dos.; BRAGA, M. F.; GUIMARÃES, C. T. *Genetic variability of wild and commercial passion fruit (Passiflora edulis Sims.) accessions using RAPD markers*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 2007, vol.29, n. 1, ISSN 0100-2945.

BELLON, G.; FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, K.P.; PAULA, M.S.; BRAGA, M.F.; JUNQUEIRA, N.T.V.; PEIXOTO, J.R. Diversidade genética de acessos comerciais e silvestres de maracujazeiro-doce com base em marcadores RAPD. *In* : Faleiro, F.G.; Junqueira, N.T.V.; Braga, M.F.; Pinto, A.C.Q.; Sousa, E.S. (Eds.) **IV Reunião Técnica de Pesquisas em Maracujazeiro** – Trabalhos apresentados. Planaltina,DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 118-121.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Ceres, 1996. 229p.

BERIAM, L.O.S., MALAVOLTA JUNIOR, V.A., MELETTI, L.M.M. **Avaliação de híbridos de maracujazeiro amarelo a Xanthomonas Campestris pv. Passiflorae**. *Revista*, V.26 , n 1, p. 125, 2000.

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

BERNACCI, L.C. (Coord.) Passifloraceae. *In*: WANDERLEY, M.G.L.; SHEPHERD, G.J.; GIULIETTI, A.M.; MELHEM, T.S. (Ed.) *Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo*. São Paulo: RiMa/FAPESP, 2003. v.3, p. 247-274

BERNACCI, L.C.; MELETTI, L.M.M.; SOARES-SCOTT, M.D. O autor a obra e a data da publicação efetiva de passiflora alata (Passifloraceae), o maracujá-doce. *In*: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO, 3., 2002, Viçosa. Anais. Viçosa: UFV, 2002. p.133-135.

BEZERRA, D.R.; LIMA, J.A.A.; FILHO, J.X. **Purificação e caracterização de um isolado cearense do vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro**. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.20, p.553-560, 1995.

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

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

BRAGA, M. F.; JUNQUEIRA, N. T. V. Produção de mudas de maracujá-doce. Planaltina

DF: Embrapa Cerrados, 2003. 28 p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 93).

BRAGA, M.F.; JUNQUEIRA, N.T.V.; FALEIRO, F.G.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, K.P. **Maracujá-doce: melhoramento genético e germoplasma.** In: Faleiro, F.G.; Junqueira, N.T.V.; Braga, M.F. (Eds.) *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético.* Planaltina,DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 601-617.

BRAND, R.J.; BURGER, J.T.; RYBICKI, E. P. Cloning, sequencing, and expression in *Escherichia coli* of the coat protein gene of a new potyvirus infecting South African passiflora. *Archives of Virology*, v. 128, p.29-41, 1993.

BRAZ, A.S.K., SANTANA, E.N., ZAMBOLIM, E.M., COSTA, A.F., OTONI, W.C. & ZERBINI, F.M. **Molecular characterization of two isolates of South African Passiflora virus infecting passionfruit in Brazil.** *Virus Reviews and Research* 3:146. 1998. (Abstract).

BRUCKNER, C. H.; OTONI, W. C. H. **Hibridação em maracujá.** In: BORÉM, A (Ed). *Hibridação artificial de plantas.* Viçosa: UFV, 1999. p. 379-399.

BRUMMITT, R.K. *Vascular plant families and genera.* Kew: Royal Botanic Gardens, 1992. 804 p.

BUENO, P. A. de O.;MIRANDA, H. A.; PEIXOTO, J. R. JUNQUEIRA, N. T. V.; SOUZA, M. A. de F.; PIRES, M de C. Incidência e severidade de *passionfruit woodiness virus* ( PWV) em 50 genótipos de maracujazeiro azedo, sob condições de campo no Distrito Federal. In: CONGRESSO BRASIELIRO DE FRUTICULTURA , n 18, 2004, Fortaleza. Anais....Fortaleza: SBF, 2004. 1 CD-ROM.

CARNEIRO, M. S.; CAMARGO, L. E. A; COELHO, AS. G.; VENCOVSKY, R.; LEITE, R. P.; STENZEL, N. M. C.; VIEIRA, M. L. C. RAPD-based genetic linkage maps of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.). **Genome**, v. 45, p. 670-678, 2002.

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

CASTELLEN, M. S.; CERVI, A. C.; AMARAL, W. A. N. O gênero *Passiflora* L. nos Tabuleiros Costeiros. In: SILVA Jr., J. F. (Org.). **Recursos genéticos dos tabuleiros e seus ecossistemas associados- fruteiras.** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2005. 32 p. No prelo.

CERVI, A. C. *Passifloraceae* do Brasil: estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. Madrid: Fontqueria XLV, 1997. p. 16-18.

CHAGAS, C.M., KITAJIMA, E.W. & LIN, M.T. **Grave moléstia em maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) no Estado da Bahia causada por um isolado do vírus do "woodiness" do maracujá.** *Fitopatologia Brasileira* 6:259-268. 1981.



CHAGAS, C.M., REZENDE, J.A.M., COLARICCIO, A., PIZA Jr., C.T., LOPES, L.C., FERRARI, J.T. & BELLUZI, B.M. **Ocorrência do endurecimento do fruto do maracujazeiro no Estado de São Paulo**. Revista Brasileira de Fruticultura 14:187-190. 1992.

COBB, N. A. Woodiness of the passionfruit. Agric. Gaz. N. S. W. 12: 407-418, 1901. In: KITAJIMA, E. W.; CHAGAS, C. M. & CRESTANI, O. A. Enfermidades de etiologia viral e associadas a organismos do tipo micoplasma em maracujazeiros no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, 11: 409-432, 1986.

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

COSTA, C.L. 1998. Vetores de vírus de plantas 1. Insetos. Rev. An. Patol. Plantas 6: 103-171.[[Links](#)]

COSTA, A. F. Comportamento de *Passiflora* spp. Diante do vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro e a relação entre a nutrição mineral e a interação vírus-*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. Tese D.S., Dep. de fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, MG.1996.

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

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

ESCOBAR, L.K. A new subgenus and five new species in *Passiflora* (Passifloraceae) from South America. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 76, p. 877-885, 1998

FALEIRO, F.; Marcadores moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos . Planaltina –DF, Embrapa Cerrados , 102 p, 2007.

FALEIRO, F. G. ; JUNQUEIRA, Nilton Tadeu Vilela ; BRAGA, Marcelo Fideles . Importância e avanços do pré-melhoramento de *Passiflora*.. In: Maurício Antônio Lopes; Alessandra P Fávero; Maria Aldete J F Ferreira; Fábio Gelape Faleiro. (Org.). Curso Internacional de pré-melhoramento de plantas. 1 ed. Brasília: Embrapa, 2006, v. , p. 138-142

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

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; BELLON, G.; LAGE, D. A. C.; FERREIRA, U. O. C.; SANTOS, J. B. Caracterização molecular e morfológica da espécie *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* silvestre no cerrado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 3., 2005, Gramado. **Anais...** Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2005. 1CD-ROM. (Artigo 7398).

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

FALEIRO, F.G.; RAGAGNIN, V.A., CARVALHO, G.A.; PAULA Jr., T.J.; MOREIRA, M.A. & BARROS, E.G. Development of common bean lines resistant to rust and anthracnose by molecular markers-assisted backcrossing. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v.44, p.109-110. 2001.

FANCELLI, M.; LIMA; A. A. Insetos – Praga do Maracujazeiro. In: LIMA, A. A.; CUNHA, M. A. P. (Ed.). **Maracujá: produção e qualidade na passicultura**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 181-209.

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

FERREIRA, E. R. Germoplasma de maracujá. In: Reunião técnica de pesquisa em maracujazeiro no Brasil. Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMP, 1998. p. 48-53. (**EMBRAPA/CNPME Documentos 77**).

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

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

FONSECA, K.G. **Retrocruzamentos visando à obtenção de resistência do maracujazeiro azedo à virose do endurecimento do fruto, auxiliados por marcadores moleculares**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2008, 79p. Dissertação de Mestrado.

FNP Consultoria e Comércio. Agriannual 2000: **Anuário estatístico da Agricultura Brasileira**. São Paulo: Argos Comunicação, 2000. p. 398-406.

FRANCO, M.M.; TAKATSU, A.; SILVA, J.R. Avaliação de seleções de maracujá quanto à resistência à bacteriose. In: **REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO**, 3., Viçosa : UFV/DFT, 2002. p. 132.

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

GIORIA, R. **Viroses do maracujazeiro**: incidência na Alta Paulista, SP, danos causados pelo “passion fruit woodness vírus” (PWV) e sintomatologia do “ cucumber mosaic vírus” (CMV). Piracicaba, SP: ESALQ, 1999. 67p. (Dissertação de Mestrado).

GONÇALVES, E. R.; ROSATO, Y.R. Genotypic characterization of Xanthomonad stains isolated from passion fruit plants (*Passiflora* sp.) and their relatedness to different Xanthomonas species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 50, p. 811-821, 2000.

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

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística: Consulta eletrônica com dados agregados em 2007, para a cultura de maracujá. <http://www.sidra.ibge.gov.br/>.

INGLEZ DE SOUSA, J.S.; MELETTI, L.M.M. Maracujá espécies, variedades e cultivo. Piracicaba: FEALQ, v.3, 1997. 150p.

ITI Tropicals. Disponível em: <[www.passionfruitjuice.com](http://www.passionfruitjuice.com)> Acesso em 24 de agosto de 2007.

JOSÉ, A.R. S.; ATAÍDE, E.M. **Comportamento de três espécies de maracujazeiro em relação à morte prematura**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 14., 1996, Curitiba. Resumos...p. 328.

JUNG, M. S. **Análise da base genética do rendimento da polpa e resistência da casca do maracujazeiro doce (*Passiflora alata*) e seleção de progênies superiores..** 2003. 98 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2003.

JUNQUEIRA, K. P. ; Faleiro, F, G ; RAMOS, J. D. ; BELLON, G. ; JUNQUEIRA, N,T,V ; BRAGA, M,F . Confirmação de hibridações interespecíficas no gênero *Passiflora* por meio de marcadores RAPD. In: XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2006a, Cabo Frio, RJ. p.384.

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

JUNQUEIRA, N. T. V.; PEIXOTO, J. R.; BRANCHER, A.; JUNQUEIRA, K. P.; FIALHO, J. F. Melhoramento genético do maracujá-doce. In: MANICA, I. et al. (Ed.). Maracujá doce: tecnologia de produção, pós-colheita e mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2005a. p. 39-46.

JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; BERNACCI, L. C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005b. p. 81-106.

JUNQUEIRA, K.P.; FALEIRO, F.G.; RAMOS, J.D.; BELLON, G.; PAULA, M.S.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. Variabilidade genética de acessos de maracujá-suspiro (*Passiflora nitida* Kunth.) com base em marcadores moleculares. In: Faleiro, F.G.; Junqueira, N.T.V.; Braga, M.F.; Pinto, A.C.Q.; Sousa, E.S. (Eds.) IV Reunião Técnica de Pesquisas em Maracujazeiro – Trabalhos apresentados. Planaltina,DF: Embrapa Cerrados, 2005c. p. 122-127.

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

JUNQUEIRA, N.T.V.; SHARMA, R.D.; RITZINGER, C.H.S.P. Manejo da bacteriose e de nematóides em maracujazeiro ( compact disc). In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO**, 6., Campos dos Goyatacazes, 2003. Palestras. Campo dos Goyatacazes: Cluster Informática, 2003.

KAVATI, R.; PIZA JUNIOR, C. T. Cultura do maracujá-doce. Campinas: CATI, 2002. p. 10-12. (Boletim Técnico, 244).

KILLIP, E. P. **The American species of *Passifloraceae***. Chicago, Field Museum of Natural History, 1938. 613p. (Bot. Series, 19, Part I).

KRANZ, J. Measuring plant disease. In: KRANZ, J.; ROTEM, J. (ed.) *Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology*, Heidelberg, Springer, 1998, p.35-50.

KITAJIMA, E. W. ; REZENDE, J. A. M. Enfermidades de etiologia viral e fitoplasmática. In: BRUCKENER, C. H.; PICANÇO, C. Maracujá: Tecnologia de produção, pós colheita, agroindústria e mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001. p. 85 - 137.

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

KURODA, N. **Avaliação do comportamento quanto a resistência de espécies e progênies de maracujazeiro a *Xanthomonas campestris* pv. *Passiflorae***. Jaboticabal, SP: FCAV/UNESP, 1981. 45p.

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

LARANJEIRA, F. F. Problemas e perspectivas da avaliação de doenças como suporte ao melhoramento do maracujá. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 161-184.

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

LEITE JR., R.P. Bacteriose do maracujazeiro e estratégias para seu controle. In: **REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DO MARACUJAZEIRO**, 3., Viçosa, 2002. Anais, Viçosa: UFV/DFT, 2002. p. 97-98.

LIMA, J.A.A., SANTOS, C.D.G. & KITAJIMA, E.W. Isolamento de um potyvírus de plantas de maracujá com sintomas de mosaico. *Fitopatologia Brasileira* 10: 305. 1985 (Resumo).

LOPES, R.; LOPES, M. T. G.; OLIVEIRA, A. V.; CAMARGO, L. E. A; FUNGARO, M. H. P.; CARNEIRO, M. S.; VIEIRA, M. L. C. Marcadores moleculares dominantes (RAPD e AFLP). **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 29, p. 64-68, 2003.

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

MALAVOLTA Jr. V. A. Bacteriose do maracujazeiro. In: **Maracujá do plantio à colheita**, Jaboticabal: Funep, 1998. P. 217-229.

MANICA, I. Propagação das mudas. In: MANICA, I. et al. (Ed.). **Maracujá-doce: tecnologia de produção, pós-colheita e mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2005. p. 47-63.

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

MCKERN, N. M.; STRIKE, P. M.; BARNETT, O.W.; DIJKSTRA, J.; SHUKLA, D. D.; WARD, C. W. Cowpea aphid borne mosaic virus- Morocco and South African Passiflora virus are strains of the same potyvirus. *Archives of virology*, v. 136, p.207- 217, 1994.

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

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

MELETI, L. M. M.; SANTOS, R. R.; MINAMI, K. Melhoramento do maracujazeiro amarelo: obtenção do cultivar 'COMPOSTO IAC-27'. Scientia agricola, v. 57, n. 3, 2000. p. 491-498.

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

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

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

MELETTI, L.M.M.; BERNACI, L.C.; SOARES-SCOTT, M.D.; AZEVEDO FILHO, J.A.; MARTINS, A.L.M. Variabilidade genética em caracteres morfológicos, agronômicos e citogenéticos de populações de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, p. 275-278. 2003.

MORAES, M. C. Mapas de ligação e mapeamento de QTL ("Quantitative Trait Loci") em maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.). 2005. 141 f. **Tese (Doutorado)** Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2005.

MORAES, S.A. de. Quantificação de doenças de plantas. 2007. Artigo em Hypertexto. Disponível em: [HTTP://www.infobibos.com/artigos/2007\\_1/doencas/index.html](http://www.infobibos.com/artigos/2007_1/doencas/index.html). Acesso em 20/12/ 2007.

NASCIMENTO, A. V. S.; SANTANA, E. N.; BRAZ, A. S. K.; ALFENAS, ANDRADE, G. F.; CARVALHO, M. G.; PIO-RIBEIRO, G.; ZERBINE, M. Análise filogenética de potyvírus causando endurecimento dos frutos do maracujazeiro no nordeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, p. 378-338, 2004.

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

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

OLIVEIRA J.C.; NAKAMURA,K.; MAURO,A.O.; CENTURION, M.A.P. da C. Aspectos gerais do melhoramento do maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A.R. (Ed.). **Maracujá: produção e mercado**. Vitória da Conquista-BA: UESB-DFZ, 1994b. p. 27-28.

OLIVEIRA, J. C.; SALOMÃO, I. A.; RUGGIERO, C.; ROSSINI, A. C. Variações observadas em frutos de *Passiflora alata* Ait. Proceedings of the Tropical Region - American Society for Horticultural Science, v.25, p.343-345, 1982.

OLIVEIRA, J.C. e RUGGIERO, C. Aspectos sobre o melhoramento do maracujazeiro amarelo. In: RUGGIERO, C. (Ed.) **Maracujá: do plantio à colheita**. Jaboticabal: FUNEP. Anais do 5º Simpósio Brasileiro sobre a cultura do maracujazeiro, 1998. p. 291-310.

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

OPENSHAW, S.J.; JARBOE, S.G.; BEAVIS, W.D. Marker-assisted selection in backcross breeding. In: R. LOWER (ed.). **ASHS/CSSA Joint Plant Breeding Symposium on Analysis of Molecular Marker Data**, Oregon State University, Corvallis, 1994. p. 41-43.

PAULA, M.S.; FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, K.P.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.; PEIXOTO, J.R. Diversidade genética de espécies de passiflora, potenciais fontes de resistência a doenças, com base em marcadores RAPD. In : Faleiro, F.G.; Junqueira, N.T.V.; Braga, M.F.; Pinto, A.C.Q.; Sousa, E.S. (Eds.) **IV Reunião Técnica de Pesquisas em Maracujazeiro** – Trabalhos apresentados. Planaltina,DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 100-104.

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

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

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

PIO RIBEIRO, G.; MARIANO, R. de L.R.D. Doenças do maracujazeiro (*Passiflora* spp.) In: KIMATI, L.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, I.E.A.; REZENDE, J.A. (ed.) **Manual de fitopatologia** : doenças das plantas cultivadas. 3. ed. São Paulo: Agrônoma Ceres, 1997. v.2, p.525-534.

PIO VIANA, A.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SOUZA, M. M.; MALDONADO, F.; AMARAL JÚNIOR, A. T. Diversidade entre genótipos de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de passifloras determinada por marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 489-493, dez. 2003.

PIO VIANA, A.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SOUZA, M. M.; MALDONADO, F.; AMARAL JÚNIOR, A. T. Diversidade em maracujazeiro amarelo

(*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e *Passiflora* spp. por marcadores RAPD. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO, 3., 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa, 2002a. p. 160-163.

PIO VIANA, A.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SOUZA, M. M.; MALDONADO, F.; AMARAL JÚNIOR, A. T. Diversidade morfo-agronômica em populações de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO, 3., 2002, Viçosa. **Anais...** Viçosa, 2002b. p. 156-159.

REZENDE, J.A.M. Doenças de vírus e micoplasma do maracujazeiro no Brasil. In: SÃO JOSÉ, A.R. (Ed.). **Maracujá, produção e mercado**. Vitória da Conquista, BA, DFZ, UESB, 1994. p. 116-125.

ROSSINI, A.C. Características botânicas e agronômicas de plantas de *Passiflora alata* Ait. (Maracujá-Guaçu) cultivadas em Jaboticabal. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 1977. 46p. ( Monografia de graduação).

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

SACCO, J.C. **Passifloráceas**. In: Flora Ilustrada Catarinense, I. Itajaí, 1980. 131p.

SALOMÃO, L. C. C.; PEREIRA, W. E.; DUARTE, R. C. C.; SIQUEIRA, D. L. Propagação por estaquia dos maracujazeiros doce (*Passiflora alata* Dryand.) e amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa* Deg.). Revista Brasileira de Fruticultura, v. 24, n. 1, p. 163-167, 2002.

SANTANA, E.N., BRAZ, A.S.K., TORRES, L.B., ZAMBOLIM, E.M. & ZERBINI, F.M. **Molecular characterization of Potyvirus isolates causing passionfruit woodiness in Brazil**. Virus Reviews and Research 4(Supplement):153. 1999 (Abstract).

SHUKLA, D.D. & WARD, C.W. **Amino acid sequence homology of coat protein as a basis for identification and classification of the potyvirus group**. Journal of General Virology 69:2703-2710. 1988.

SITHOLE-NIANG, I.; NYATHI, T.; MAXWELL, D.P.; CANDRESSE, T. Sequence of the 3'- terminal of a Zimbabwe isolate of *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). **Archives of Virology**, v.141, p. 935-943. 1996.

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.

SOUZA, M. A. F. **Avaliação da produtividade, incidência e severidade de doenças em frutos de 17 genótipos de maracujazeiro-amarelo, cultivados no Distrito Federal**. Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília; 2005, 120p. Dissertação de Mestrado.



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

SOUZA, L.S.; JUNQUEIRA, N.T.V.; LIMA, C.A.; BERNACCI, L.C.; VAZ, C.F.; SILVA, D.G.P.; BRAGA, M.F.; FALEIRO, F.G.; SANTOS, E.C. . Índice de cruzabilidade entre espécies de passifloras nas condições do Distrito Federal. In: Carvalho, A.J.C.; Vasconcellos, M.A.S.; Marinho, C.S.; Campostrini, E. (Eds.) **XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura, Frutas do Brasil: Saúde para o mundo**, Palestras e Resumos Cabo Frio, RJ, 2006. Pág 244.

SOUZA, T.L.P.O.; RAGAGNIN, V.A., ALZATE-MARIN, A.L.; FALEIRO, F.G.; MOREIRA, M.A. & BARROS, E.G. Backcross assisted by RAPD markers to Develop common bean lines with carioca type grains containing the *Ur-11* rust resistance gene. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, v.46, p.195-196. 2003.

TOCCHINI, R.P.; NISIDA, A.L.A.C.; HASHIZUME, T.; MEDINA, J.C.; TURATTI, J.M. Processamento: produtos, caracterização e utilização. In: **Maracujá: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos**. 2ª ed. rev. e ampl. Campinas: ITAL, 1994. p. 161-195. (Série Frutas Tropicais, 9).

TORRES, F.J.; PONTE, J.J. **Estudo sobre o controle da bacteriose ou “morte precoce” (*Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*) do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*)**. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.18, p.34-38, 1993.

VAN REGENMORTEL, M.H.V., FAUQUET, C.M., BISHOP, D.H.L., CARSTENS, E., ESTES, M.K., LEMON, S., MANILOFF, J., MAYO, J.A., McGEOCH, D.J., PRINGLE, C.R. & WICKNER, R. (Eds.) Virus taxonomy. **Classification and nomenclature of viruses. Seventh report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses**. New York: Academic Press. 2000.

VANDERPLANK, J. **Passion flowers**. Massachusetts: MIT Press, 1996. 224p.

VANDERPLANK, J. **Passion flowers**. 3ª ed. Cambridge: The MIT Press, 2000. 224p.

VASCONCELLOS, M. A. das; CEREDA, E. O cultivo do maracujá doce. In: SÃO JOSÉ. A .R. (Ed.). Maracujá: produção e mercado. Vitória da Conquista: UESB, 1994. p. 71-83.

VASCONCELLOS, M. A. S.; CEREDA, E.; BUSQUE, R. N. B.; PACE, C. A. M. Observações sobre a incompatibilidade floral no maracujazeiro doce (*P. alata*) - CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13., 1994, Salvador. Anais Salvador: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1994. v. 3, p. 830.

VERAS, M. C. M. Fenologia, produção e caracterização físico-química dos maracujazeiros ácido (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) e doce (*Passiflora alata* Dryand) nas condições de cerrado de Brasília-DF. 1997. 105 f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Lavras, lavras, 1997.

VIEIRA, M. L. C.; CARNEIRO, M. C. Passionfruit. In: LITZ, R (Ed.): **Biotechnology of Fruit and Nut Crops**. Oxford: CABI, 2004. p. 436-453.

VIEIRA, M. L. C.; OLIVEIRA, C. A.; MAYEDA, L. Y.; DORNELAS, M. C.; FUNGARO, M. H. P. Estudo do cariótipo e da variabilidade genética detectada por RAPD

em espécies de maracujazeiro (*Passiflora* L.). **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v. 20, n. 3, p. 88, 1997. Suplemento.

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

WESDLAND, A. **Avaliação de espécies de maracujazeiro ( *Passiflora* spp.) à bacteriose e caracterização de *Xanthomonas* sp. pv. *Passiflorae***. Londrina, 1997. 87 p. Monografia(Graduação)- Universidade Estadual de Londrina.

VILLANOVA, A. C. C.; SILVA, D. G.P. D.;CASTIGLIONI, G. L.; JUNQUEIRA, N. T.V.; BRAGA, M. F.; SANTOS, E. C. dos.; SOBRAL, L.; LIMA, C. A. D.; Trasmisão via semente da virose do Endurecimento do Fruto e da bacteriose do maracujazeiro. XL Congresso Brasileiro de Fitopatologia.Maringá-Paraná.Vol. 32, Suplemento, ISSN 0100-4158. p. 312, 2007.

YAMASHIRO, T., LANDGRAFF, J. H. Maracujá-açú (*Passiflora alata* Ait), porta-enxerto resistente à fusariose do maracujazeiro (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA , 5 , Pelotas, 197. **Anais...** Pelotas, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1979. p. 918-921.

YOUNG, N.D.; TANKSLEY, S.D. Restriction fragment length polymorphism maps and the concept of graphical genotypes. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.77, p. 95-101. 1989.

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

## **CAPÍTULO I**

### **VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS OBTIDOS DE POPULAÇÃO CULTIVADA E SILVESTRES DE MARACUJAZEIRO-DOCE COM BASE EM MARCADORES RAPD**

## VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS OBTIDOS DE POPULAÇÃO CULTIVADA E SILVESTRES DE MARACUJAZEIRO-DOCE COM BASE EM MARCADORES RAPD

**Resumo-** O maracujazeiro doce (*Passiflora alata* Curtis), devido a preços diferenciados, vem ganhando importância dentro do mercado de frutas *in natura*. O melhoramento genético é fundamental para elevar a qualidade e produtividade da cultura. Os marcadores moleculares do DNA têm sido muito úteis por permitirem a obtenção de um número praticamente ilimitado de polimorfismo genético sem influência do ambiente. A base do melhoramento é a identificação e caracterização da variabilidade genética dentro da espécie. Objetivou-se neste trabalho estudar a variabilidade genética de 17 acessos de maracujá doce, sendo nove obtidos de população cultivada e oito silvestres, com base em marcadores moleculares RAPD. Um acesso de *P. quadrangularis* e um de *P. edulis* foram utilizados como *outgroups*. Amostras de DNA genômico de cada acesso foram extraídas e 11 *primers* decâmeros (OPD 04, 07, 08 e 16; OPE 18 e 20; OPF 01 e 14; OPG 08; OPH 12 e 16) foram utilizados para a obtenção dos marcadores. Os marcadores obtidos foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os acessos e realizadas análises de agrupamento e de dispersão gráfica. Os 11 *primers* decâmeros geraram um total de 140 marcadores RAPD, perfazendo uma média de 12,7 marcadores por *primer*. Do total de marcadores, considerando-se apenas os acessos de *P. alata*, observou-se 87 (62,12%) bandas polimórficas, evidenciando a grande variabilidade intraespecífica. A análise de agrupamento realizada com base nas distâncias genéticas, permitiu subdividir os 19 acessos em, pelo menos, sete grupos de similaridade genética. Os acessos silvestres foram os que mais contribuíram para ampliação da base genética dos materiais estudados, abrindo perspectivas para o uso destes materiais em programas de melhoramento.

**Palavras chaves:** *Passiflora alata* Curtis., biotecnologia, melhoramento genético.

## GENETIC DIVERSITY OBTAINED FROM CULTIVATED POPULATION AND NATIVE ACCESSES OF SWEET PASSION FRUIT BASED ON RAPD MARKERS

**Abstract** - Sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis) is gaining importance in the *in natura* fruit market due to differential pricing. Genetic breeding is crucial to improve crop quality and productivity. Molecular markers of DNA have been very useful by allowing to obtain a virtually unlimited number of genetic polymorphism without environment influence. The breeding basis is the identification and characterization of the genetic variability within the species. This work's objective was to study the genetic variability of 17 sweet passion fruit accesses, nine of them from a cultivated population and eight wild, using RAPD molecular markers. One access of *P. quadrangularis* and another of *P. edulis* were used as outgroups. Genomic DNA samples of each one of them were extracted in 11 decamers primers (OPD 04, 07, 08 e16; OPE 18 and 20; OPF 01 and 14; OPG 08; OPH 12 and 16) were used to obtain the markers. The markers have been converted into a matrix of binary data, used as base to estimate genetic distances between accesses and to performed grouping and graphic dispersion analysis. The 11 decamers primers generated a total of 140 RAPD markers, making an average of 12.7 markers per primer. From the total amount of markers, considering only *P. alata* accesses, it was observed 87 (62.12%) polymorphic bands, showing great intraspecific variability. Grouping analysis based on genetic distances allowed to subdivide 19 accesses in, at least, seven groups of genetic similarity. The wild accesses contributed the most to the genetic basis expansion of the studied materials, opening good prospects for their use in breeding programs.

**Key words:** *Passiflora alata* Curtis, biotechnology, genetic breeding.

## 1.INTRODUÇÃO

O maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis), conhecido popularmente por maracujá de refresco, maracujá de comer, maracujá-alado ou maracujá-guaçu, apresenta importância econômica como fruto para consumo *in natura*. Pode ser comercializado em embalagem especial ou vendido em unidades nos locais de melhor poder aquisitivo do Brasil, mas representa uma pequena parcela, quando comparado ao maracujazeiro-azedo (JUNQUEIRA et al., 2005). A cultura apresenta potencial de cultivo econômico aceitável e sua demanda vem crescendo a cada dia no mercado consumidor. As características do maracujá-doce quanto ao tamanho, à coloração externa, aroma e qualidades gustativas o tornam bastante aceitável pelos consumidores, sendo uma alternativa interessante para o mercado externo.

Apesar da grande importância econômica do maracujá doce atual e potencial, ainda não há nenhum cultivar comercial lançado no mercado com características definidas e garantia de origem. Os plantios comerciais têm-se limitado simplesmente ao emprego de sementes obtidas de forma não controlada pelos próprios agricultores, sem garantia de origem, possíveis problemas fitossanitários e de endogamia. Espécies silvestres de maracujazeiro apresenta ampla diversidade genética, disponibilizando grande potencial de genes e alelos de interesse para programas de melhoramento. Dentro da espécie *P. alata*, espera-se grande variabilidade de alelos, em função da sua ampla distribuição geográfica, com acessos encontrados em várias condições ambientais não só no País, como também no Peru e na Argentina (BRAGA et al., 2005).

Segundo CUNHA (1998), estudos acurados e detalhados da variabilidade genética do maracujazeiro poderão indicar recursos genéticos valiosos, sejam novas espécies nos sistemas de produção como opções adicionais ao maracujazeiro doce, sejam genes de espécies silvestres úteis ao melhoramento das atuais espécies cultivadas, como *P. edulis* e *P. alata*. Para tais estudos o uso de marcadores moleculares do DNA têm sido muito úteis por permitirem a obtenção de um número praticamente ilimitado de polimorfismo genético sem influência do ambiente a detecção de tais polimorfismos em qualquer estágio do desenvolvimento da planta ou a partir de cultura de células ou tecidos (FALEIRO, 2007)

Para complementar estudos de caracterização morfológica e agrônômica objetivou-se neste trabalho, realizar o estudo da variabilidade de 17 acessos de *P. alata* mantidos no banco de germoplasma da Embrapa Cerrados utilizando-se marcadores moleculares RAPD (“*Random Amplified Polymorphic DNA*”).

## 2.MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Embrapa Cerrados. Foram utilizados 17 acessos de maracujá-doce (9 acessos obtidos de população cultivada e 8 acessos silvestres). Um acesso de *P. quadrangularis* e um de *P. edulis* foram utilizados como *out groups* (Tabela 1).

Os acessos obtidos de população cultivada apresentam um histórico onde seus progenitores foram adquiridos em estado nativo e em mercados da Central de Abastecimento de São Paulo- CEAGESP, estes foram classificados por JUNQUEIRA et al, 2003, em função do formato dos frutos em dez categorias, nominando-as de A a J. As procedências (A, B, C), foram obtidas de frutos adquiridos em mercados da CEAGESP, a procedência (E) foi adquirida de plantações comerciais de Tomé-Açu- PA. As demais foram coletadas em estado nativo. A procedência (D) foi oriunda de Viçosa- MG, procedência (F) Itacoatiara – AM, procedência (G) Ouro Preto d'Oeste- RO, procedência (H) Domingo Martins- ES, procedência (I) Pontes e Lacerda- MT, procedência (J) Rondonópolis- MT. Estas procedências foram implantadas no Distrito Federal através da propagação via semente, avaliadas com base no tamanho e formato do fruto , coloração da polpa, espessura da casca. Após um ano de produção foram selecionadas as melhores plantas de cada procedência e reproduzidas por estaquia. Frutos das melhores plantas foram selecionados e suas sementes utilizadas para a implantação de um experimento na Fazenda Água Limpa, na Unb (Universidade de Brasília) Os materiais obtidos de população cultivada utilizados nesse experimento, foram obtidos do experimento instalado na FAL- UnB, Distrito Federal. Foram selecionados alguns frutos de acordo com o formato dos frutos classificados por JUNQUEIRA et al., 2003, e reclassificados como “Tipo” ao invés de procedência. Foram selecionados os “Tipos”( A, D, E, F, G, I, J ).As mudas foram feitas por sementes

**Tabela 1.** Espécies de maracujazeiro e respectivos acessos. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

Nº	Espécie	Acesso	Estado	Código
1	<i>Passiflora alata</i> Curtis	"Progenitor – Tipo I"	DF	CPAC MJ-02-01
2	<i>Passiflora alata</i> Curtis	"Progenitor – Tipo J"	DF	CPAC MJ-02-02
3	<i>Passiflora alata</i> Curtis	"Tipo A"	DF	CPAC MJ-02-03
4	<i>Passiflora alata</i> Curtis	"Tipo D"	DF	CPAC MJ-02-04
5	<i>Passiflora alata</i> Curtis	"Tipo E"	DF	CPAC MJ-02-05
6	<i>Passiflora alata</i> Curtis	"Tipo F"	DF	CPAC MJ-02-06
7	<i>Passiflora alata</i> Curtis	"Tipo G"	DF	CPAC MJ-02-07
8	<i>Passiflora alata</i> Curtis	"Tipo I"	DF	CPAC MJ-02-08
9	<i>Passiflora alata</i> Curtis	"Tipo J"	DF	CPAC MJ-02-09
10	<i>Passiflora alata</i> Curtis.	"Brinco"	BA	CPAC MJ-02-10
11	<i>Passiflora alata</i> Curtis	"4 nectários"	DF	CPAC MJ-02-12
12	<i>Passiflora alata</i> Curtis.	"Alto Paraíso"	GO	CPAC MJ-02-13
13	<i>Passiflora alata</i> Curtis	"Santa Catarina"	SC	CPAC MJ-02-14
14	<i>Passiflora alata</i> Curtis	"Mato Grosso do Sul"	MS	CPAC MJ-02-18
15	<i>Passiflora alata</i> Curtis	"Silvestre 1"	DF	CPAC MJ-02-16
16	<i>Passiflora alata</i> Curtis	"Silvestre 2"	DF	CPAC MJ-02-17
17	<i>Passiflora alata</i> Curtis	"Cerradão"	DF	CPAC MJ-02-15
18	<i>Passiflora quadrangularis</i>	"Comunidade Krahó"	TO	CPAC MJ-07-01
19	<i>Passiflora edulis</i>	"GA-2"	DF	CPAC MJ-21-02

1-9 (acessos obtidos de população cultivada); 10-17 (acessos silvestres); 18 e 19 (*out group*)

Folhas em estágio intermediário de maturação foram coletadas e o DNA genômico de cada acesso foi extraído utilizando o método do CTAB, com modificações (FALEIRO et al., 2003) validado para diferentes espécies, incluindo alguns do gênero *Passiflora* (BELLON, et al., 2005). Amostras de DNA de cada material genético foram amplificadas para obtenção de marcadores RAPD.

As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 13 µL, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, MgCl<sub>2</sub> 3 mM, 100 µM de cada um dos desoxiribonucleotídios (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 0,4 µM de um *primer* (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA), uma unidade da enzima Taq polimerase e, aproximadamente, 15 ng de DNA. Para obtenção dos marcadores RAPD foram utilizados 16 *primers* decâmeros: OPD (04, 07, 08 e 16), OPE (18 e 20), OPF (01, 14), OPG (08), OPH (12 e 16). As amplificações foram efetuadas em termociclador programado para 40 ciclos, cada um constituído pela seguinte seqüência: 15 segundos a 94 °C, 30 segundos a 35 °C e 90 segundos a 72 °C. Após os 40 ciclos, foi feita uma etapa de extensão final de seis minutos a 72 °C, e finalmente, a temperatura foi reduzida para 4 °C. Após a



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

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

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 11 *primers* decâmeros geraram um total de 140 marcadores RAPD, perfazendo uma média de 12,7 marcadores por *primer*. Do total de marcadores, considerando-se apenas os acessos de *P. alata*, observou-se 87 (62,12%) de bandas polimórficas (Tabela 1.1). A alta média de marcadores por *primer* e a alta porcentagem de marcadores polimórficos dentro da espécie *P. alata* evidenciam a presença de alta variabilidade genética intra-específica. A alta variabilidade genética interespecífica foi verificada ao analisarem-se as bandas polimórficas do acesso de *P. edulis* f. *flavicarpa* (*outgroup*) em relação aos acessos de *P. alata*. FALEIRO et al. (2004), PIO VIANA et al. (2003), JUNQUEIRA et al. (2006) e BELLON et al. (2007), já haviam relatado a alta variabilidade genética interespecífica no gênero *Passiflora* com base em marcadores RAPD.

**Tabela 1.1.** *Primers* utilizados para obtenção dos marcadores RAPD para acessos de *Passiflora alata* e respectivos número de bandas polimórficas e monomórficas. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

<b>Primer</b>	<b>Seqüência 5'→3'</b>	<b>Nº de bandas polimórficas</b>	<b>Nº de bandas monomórficas</b>
OPD-04	TCTGGTGAGG	8	11
OPD-07	TTGGCACGGG	12	2
OPD-08	GTGTGCCCCA	2	5
OPD-16	AGGGCGTAAG	7	5
OPE-18	GGA CTGCAGA	4	6
OPE-20	AACGGTGACC	4	5
OPF-01	ACGGATCCTG	6	5
OPF-14	TGCTGCAGGT	11	6
OPG-08	TCACGTCCAC	9	1
OPH-12	ACGCGCATGT	12	5
OPH-16	TCTCAGCTGG	12	2
<b>TOTAL</b>		<b>87</b>	<b>53</b>

De acordo com LOPES (1991), o gênero *Passiflora* é originário da América do Sul, com o Centro-Norte do Brasil, seu maior centro de dispersão geográfica, fato que pode explicar a grande variabilidade dos acessos estudados. CROCHEMORE et al. (2003), estudando características agromorfológicas de *Passiflora edulis*, *P. alata*, *P. coccinea*, *P. caerulea*, *P. foetida*, *P. gibertii*, *P. macrocarpa*, *P. macrocarpa* x *P. alata*, *P. serrato-digitata*, *P. suberosa* e um acesso de *Passiflora* spp., observaram ampla divergência genética entre as espécies.

PIO VIANA et al. (2003) avaliaram a diversidade genética entre acessos de espécies do gênero *Passiflora* via RAPD e observaram que há grande variabilidade genética entre as espécies *P. foetida*, *P. alata*, *P. gibertii*, *P. suberosa*, *P. cincinnata*, *P. maliformis* e *P. edulis* f. *edulis*, tendo as espécies *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. gibertii* sido as mais distantes entre as espécies estudadas. *P. cincinnata* e *P. edulis* f. *edulis* formaram um mesmo grupo, sugerindo que elas compartilham uma similaridade genética. O mesmo foi observado entre as espécies *P. foetida* e *P. suberosa*.

Esta diversidade genética inter-específica com base em marcadores RAPD também foi verificada por PAULA et al. (2005) e FAJARDO et al. (1998). A variabilidade genética intra-específica também tem sido observada com base em marcadores RAPD.

JUNQUEIRA et al. (2007) avaliou a diversidade genética de acessos de maracujá suspiro (*Passiflora nitida* Kunth.) com base em marcadores RAPD e verificou ampla variabilidade genética. As distâncias genéticas entre os 19 acessos de maracujá variaram entre 0,031 e 0,614. Foi verificado que acessos procedentes do mesmo estado apresentavam menor variabilidade, principalmente entre acessos procedentes de diferentes tipos fitofisionômicos.

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

Segundo GANGA et al. (2004), um dos fatores que podem explicar a elevada diversidade genética existente é o fato da maioria das espécies de maracujá serem alógamas, com presença de um sistema genético de auto-incompatibilidade que favorece a polinização cruzada e, conseqüentemente, o fluxo gênico entre genótipos distintos, inclusive entre espécies.

As distâncias genéticas entre os 17 acessos de maracujá doce variaram entre 0,086 e 0,324 (Tabela 1.2). Considerando apenas os acessos de população cultivada de *P. alata*, as

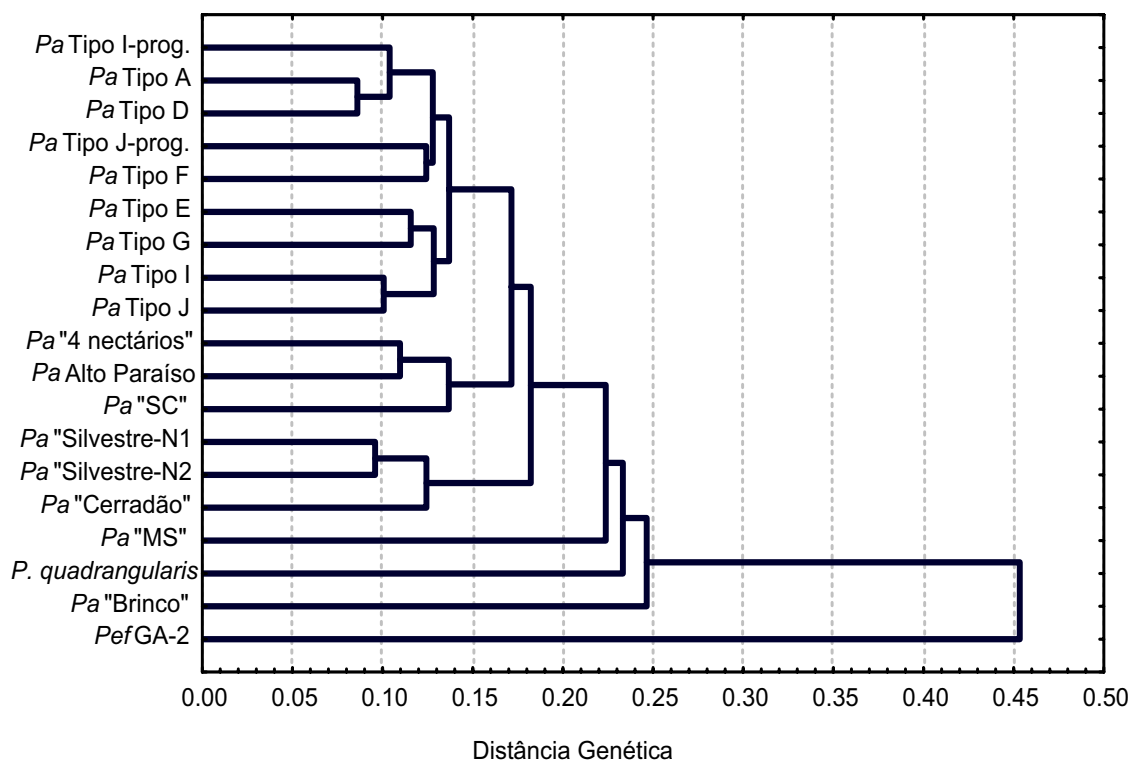
distâncias genéticas variaram entre 0,086 a 0,171. As menores distâncias genéticas foram verificadas entre os acessos “Tipo A” e “Tipo D” e entre “Tipo I” e “Tipo J”, sendo de 0,086 e 0,101, respectivamente. Já nos acessos silvestres as distâncias variaram entre 0,096 e 0,324. A maior distância genética intra-específica (0,324) foi verificada entre os acessos silvestres “Brinco” e “Mato Grosso do Sul”. Taxonomistas da equipe envolvida no melhoramento genético do maracujazeiro suspeitam que o acesso “Brinco” pertence possivelmente a espécie *Passiflora phoenicia* Lindd. e não a espécie *Passiflora alata*.

**Tabela 1.2.** Matriz de distâncias entre 19 acessos de maracujazeiro, baseada em 140 marcadores RAPD. Embrapa Cerrados/UnB, Brasília, DF, 2008.

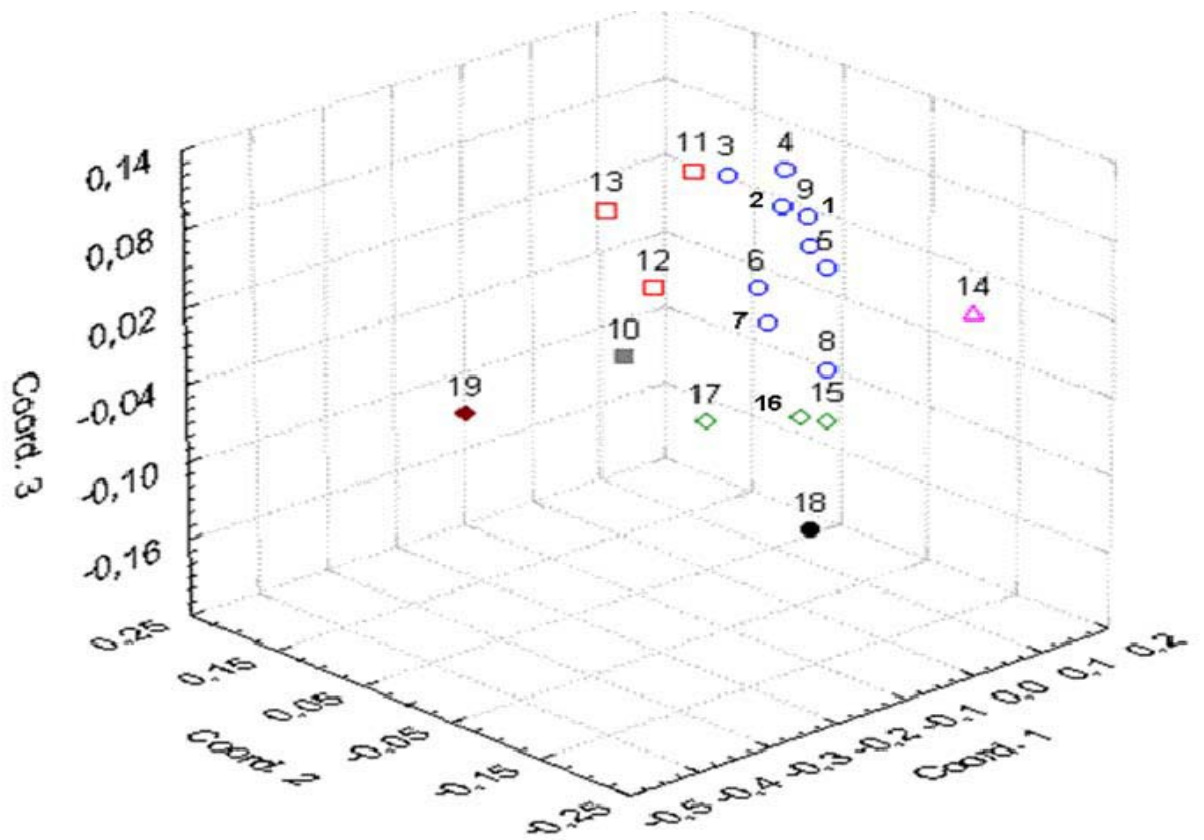
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
1	-																			
2	0,114	-																		
3	0,103	0,134	-																	
4	0,105	0,139	0,086	-																
5	0,128	0,145	0,122	0,123	-															
6	0,129	0,124	0,103	0,148	0,120	-														
7	0,123	0,157	0,152	0,152	0,116	0,153	-													
8	0,135	0,162	0,171	0,145	0,151	0,146	0,118	-												
9	0,111	0,156	0,119	0,095	0,125	0,124	0,120	0,101	-											
10	0,250	0,264	0,250	0,226	0,229	0,228	0,226	0,231	0,218	-										
11	0,129	0,179	0,110	0,143	0,164	0,195	0,155	0,173	0,120	0,231	-									
12	0,162	0,195	0,146	0,180	0,189	0,169	0,141	0,195	0,166	0,216	0,110	-								
13	0,175	0,193	0,166	0,182	0,195	0,195	0,205	0,213	0,195	0,222	0,150	0,123	-							
14	0,176	0,224	0,240	0,238	0,211	0,206	0,228	0,234	0,200	0,324	0,267	0,221	0,246	-						
15	0,156	0,183	0,189	0,154	0,186	0,155	0,165	0,119	0,176	0,277	0,225	0,193	0,210	0,181	-					
16	0,147	0,190	0,197	0,186	0,227	0,160	0,184	0,168	0,200	0,290	0,248	0,173	0,233	0,228	0,096	-				
17	0,176	0,160	0,186	0,169	0,197	0,175	0,185	0,157	0,169	0,239	0,190	0,177	0,192	0,256	0,119	0,129	-			
18	0,221	0,242	0,259	0,257	0,179	0,205	0,224	0,219	0,246	0,269	0,240	0,227	0,274	0,250	0,217	0,254	0,220	-		
19	0,421	0,435	0,415	0,457	0,466	0,433	0,433	0,448	0,496	0,493	0,462	0,474	0,442	0,500	0,439	0,453	0,415	0,479	-	

Os números dos acessos correspondem aos da tabela 1.

A partir da análise de agrupamento realizada com base nas distâncias genéticas, subdividiram-se os 19 acessos em, pelo menos, sete grupos de similaridade genética, considerando o ponto de corte a uma distância genética de 0,15 (Figura 1). As distâncias entre os acessos e a distribuição dos mesmos nos grupos de similaridade podem ser também observadas no gráfico de dispersão (Figura1.1). Observa-se que os acessos de população cultivada selecionados no Distrito Federal ficaram no mesmo grupo de similaridade . Por outro lado, acessos do DF, GO e SC também se agruparam, não havendo uma clara relação entre a localização geográfica e distância genética.



**Figura 1.** Análise de agrupamento de 19 acessos de maracujazeiro com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 140 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.



**Figura 1.1.** Dispersão gráfica em 3D de 19 acessos de maracujazeiro com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 140 marcadores RAPD. Os números correspondem aos acessos da Tabela 1. Acessos com o mesmo símbolo ficaram agrupados no dendrograma a uma distância genética relativa de 0,15. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

GANGA et al. (2004) estudando a diversidade genética de 18 acessos de *P. edulis* f. *flavicarpa* por meio de marcadores AFLP também não observaram relação entre as distâncias genéticas e a geográfica exceto para dois materiais provenientes de Rondônia. Para estes acessos, os autores já esperavam a proximidade genética observada, tendo em vista que os materiais foram coletados na mesma propriedade.

No maior grupo de similaridade formado por 9 acessos de população cultivada de *P. alata*, todos procedentes do Distrito Federal, pode-se verificar maior similaridade entre os acessos *P. alata* “Tipo D” e *P. alata* “Tipo A” (0,086) e entre *P. alata* “Tipo J” e *P. alata* “Tipo D” (0,095). A similaridade desse grupo é explicada pela mesma origem genética dos acessos. Entretanto, observa-se uma variabilidade genética dentro do grupo, a qual pode ser explicada pela seleção prévia dos acessos com base no formato dos frutos (Tipos A, D, E, F, G, I e J).

Também foram formados grupos envolvendo acessos silvestres, procedentes de regiões geográficas distintas. Os acessos “Mato Grosso do Sul” e “Brinco” foram os mais divergentes entre si (0,324). O acesso que mais se distanciou geneticamente dos demais foi o *P. edulis* GA-2, utilizado como *out group*. A espécie *P. quadrangularis*, também utilizada como *out group*, apresentou-se mais próxima geneticamente dos acessos de *P. alata* explicando a existência de compatibilidade genética com *P. alata*, o que permite a utilização de cruzamentos interespecíficos para ampliar ainda mais a base genética do maracuja-doce.



#### 4. CONCLUSÕES

Verificou-se ampla variabilidade genética entre os acessos obtidos de população cultivada e silvestres de *Passiflora alata*;

Os acessos silvestres foram os que mais podem contribuir para a ampliação da base genética dos materiais estudados;

A maior distância genética intra-específica foi verificada entre os acessos silvestres “Brinco” e “Mato Grosso do Sul”. Taxonomistas da equipe envolvida no melhoramento genético do maracujazeiro suspeitam que o acesso “Brinco” pertence a espécie *Passiflora phoenicia* Lindl. e não a espécie *Passiflora alata*.

Foi verificada uma similaridade genética entre os acessos de *Passiflora quadrangulares* e *Passiflora alata*, evidenciando a existência de compatibilidade genética entre essas duas espécies.;

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELLON, G.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, K. P.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SANTOS, E. C. dos.; BRAGA, M. F.; GUIMARÃES, C. T. *Genetic variability of wild and commercial passion fruit (Passiflora edulis Sims.) accessions using RAPD markers*. Revista Brasileira de Fruticultura, 2007, vol.29, n. 1, ISSN 0100-2945.

BELLON, G.; FALEIRO, F.G.; BARROS, A.M.; KARIA, C.T.; ANDRADE, R.P.; CORDEIRO, M.C.R.; PINTO, A.C.Q.; JUNQUEIRA, N.T.V.; PEREIRA, A.V.; PEREIRA, E.B.C.; FERNANDES, F.D.; FERREIRA, M.E. Extração de DNA e obtenção de marcadores moleculares para diferentes espécies de interesse para o cerrado. In: 3º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, Passo Fundo, 2005. **Anais...2005**. (Artigo 7657).

BRAGA, M.F.; JUNQUEIRA, N.T.V.; FALEIRO, F.G.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, K.P. **Maracujá-doce: melhoramento genético e germoplasma**. In: Faleiro, F.G.; Junqueira, N.T.V.; Braga, M.F. (Eds.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina,DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 601-617.

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

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

CUNHA, M.A.P. da. Prioridades de pesquisa por subárea e objetivo. In: REUNIÃO - TÉCNICA: PESQUISA EM MARACUJAZEIRO NO BRASIL, 1997, Cruz das Almas, BA: EMBRAPA/CNPMPF, 1998. p.11-14 (EMBRAPA-CNPMPF. Documentos, 77).

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

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

FALEIRO, F.; Marcadores moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos . Planaltina –DF, Embrapa Cerrados , 102 p, 2007.

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

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

JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F. G.; RAMOS, J. D.; BELLON, G. .; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. Variabilidade genética de acessos de maracujá-suspiro (*passiflora nitida* Kunt) com base em marcadores RAPD. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 2007, vol.29, n. 3, p.571-575. ISSN 0100-2945.2007.

JUNQUEIRA, K. P. ; Faleiro, F, G ; RAMOS, J. D. ; BELLON, G. ; JUNQUEIRA, N,T,V ; BRAGA, M,F . Confirmação de hibridações interespecíficas no gênero *Passiflora* por meio de marcadores RAPD. In: XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2006, Cabo Frio, RJ. p.384.

JUNQUEIRA, N.T.V; PEIXOTO, J.R; BRANCHER, A ; JUNQUEIRA, K.P; FIALHO, J.de F. **Melhoramento genético do maracujazeiro**: In: Maracujá-doce:Tecnologia de produção e pós-colheita, mercado. Ivo Manica et al – Porto alegre. Editora cinco continentes, 2005, cap. 4, pág. 39 a 46.

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

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

PIO VIANA, A.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SOUZA, M. M.; MALDONADO, F.; AMARAL JÚNIOR, A. T. Diversidade entre genótipos de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de passifloras determinada por marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 489-493, dez. 2003.

SAS INSTITUTE. SAS/STAT user`s guide. Version 6, 4<sup>th</sup>. Ed. Cary, North Caroline, 1989. 846 p.

STATSOFT INC. **Statistica for Windows [Computer program manual]** Tulsa, OK. StatSoft Inc. 2300 Ecast 14<sup>th</sup> Street, Tulsa. 1999.

## **CAPÍTULO II**

### **RESISTÊNCIA DO MARACUJAZEIRO DOCE À BACTERIOSE EM CONDIÇÕES DE CAMPO E CASA DE VEGETAÇÃO**

## RESISTÊNCIA DO MARACUJAZEIRO-DOCE À BACTERIOSE EM CONDIÇÕES DE CAMPO E CASA DE VEGETAÇÃO

**Resumo-** Com a exploração comercial do maracujazeiro-doce (*Passiflora alata*. Curtis), várias doenças apareceram, dentre elas a bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*), considerada uma das principais doenças da parte aérea. Objetivou-se, nesse trabalho, avaliar a resistência de nove acessos de maracujazeiro-doce (sete acessos obtidos de população cultivada e dois silvestres) à bacteriose em condições de campo e em casa de vegetação. Cada acesso foi representado por uma família de meio-irmãos. Em condições de campo, foi montado um experimento em blocos casualizados com quatro repetições e seis plantas por parcela. Foram avaliadas cinco folhas por planta selecionadas aleatoriamente. Foram avaliados o número médio de lesões por folha, o diâmetro médio das lesões, a média da área lesada por folha, a % de folhas sadias e a % de folhas doentes. Não foi verificado efeito significativo da Família de meio irmãos ( FMI ) a 5% de probabilidade. Verificou-se uma alta fonte de variação dentro das parcelas, devido à alta variabilidade genética entre as plantas da mesma família e uma grande amplitude de valores fenotípicos. Observou-se altas correlações entre as características relacionadas à resistência, sendo altamente significativa a correlação negativa de -0,9433 entre o número médio de lesões por folha e o diâmetro médio da lesão. Em condições controladas, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com 12 repetições. A inoculação foi feita 50 dias após o plantio, com o isolado 767 (UnB) de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, numa concentração de  $10^8$  Ufc/ml. Foram avaliados o Diâmetro Longitudinal Médio, Diâmetro Transversal Médio, Diâmetro Médio da Lesão e Área Lesada Média. As avaliações foram feitas aos 5, 10 e 15 dias após inoculação. Aos 10 dias foi verificado um efeito altamente significativo das famílias para todas as características avaliadas. Foi verificada uma alta fonte de variação dentro das famílias, como observado nas condições de campo. Os acessos com maior nível de resistência foram os tipos J e D e os acessos com maior susceptibilidade foram, tipo N1, seguido dos tipos F e G.

**Palavras chaves:** *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, *Passiflora alata* Curtis, variabilidade genética.

## BACTERIOSES RESISTANCE OF SWEET PASSION FRUIT UNDER GREENHOUSE AND FIELD CONDITIONS

**Abstract** - With sweet passion fruit (*Passiflora alata. curtis*) commercial exploitation, several diseases appeared, among them the bacterioses (*Xanthomonas axonopodis pv. Passiflorae*), considered one of the major diseases of the shoot. This work's objective is to evaluate bacterioses resistance of nine access of sweet passion fruit (seven from cultivated population and two wild) under greenhouse and field conditions. Each access was represented by a family of half-siblings. Under field conditions, an experiment was put together in randomized blocks with four replications and six plants per plot. Five leaves randomly selected from each plant were evaluated. The average number of injuries per leaf, the average diameter of injuries, the average lesioned area per leaf and the incidence of healthy and sick leaves were assessed. No significant effect of family of half-siblings (FMI) was observed at probability level of 5%. There was a high source of variation within the plots, due to high genetic variability among plants of the same family and to a wide range of phenotypic values. There were high correlations between characteristics related to resistance, being highly significant the negative correlation of - 0.9433 between the average number of lesions per leaf and the average diameter of the lesion. A completely randomized design with 12 replications was used, in controlled conditions. The inoculation occurred 50 days after planting, with the isolate 767 (UnB) from *Xanthomonas axonopodis pv. passiflorae*, in a concentration of  $10^8$ Ufc / ml. The average longitudinal diameter, the average transverse diameter, the average diameter of the lesion and the average lesioned area were assessed. Evaluations were performed 5, 10 and 15 days after inoculation. At the 10th day, it was verified a highly significant effect of families for all evaluated characteristics. A great source of variation within the families was evidenced, as observed under field conditions. The accesses with higher resistance level were the types J and D, and the access with higher susceptibility were the type N1, followed by the types F and G.

**Key words:** *Xanthomonas axonopodis pv. passiflorae*, *Passiflora alata* Curtis., genetic variability.

## 1. INTRODUÇÃO

O maracujazeiro é uma espécie nativa do Brasil e de ocorrência bastante generalizada, podendo ser cultivada em todos os estados do país JUNQUEIRA et al., 2005).

A exploração comercial do maracujazeiro-doce no Brasil teve início no final da década de 1960 e começou se expandir na década de 1970. Nos últimos anos tem-se observado uma redução na produtividade (FRUTISÉRIES, 2002), o que se deve, principalmente, à ocorrência de doenças nessa cultura. Entre estas, destaca-se a bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*), considerada uma das mais importantes doenças da cultura, depreciando a qualidade dos fruto diminuindo o valor comercial e reduzindo a produtividade e a longevidade da cultura de 3 a 4 anos para 12 a 18 meses (PONTES, 1996).

No Brasil, a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* é a única bacteriose de importância econômica para o maracujazeiro-doce causando sintomas que podem incluir cloroses, necroses, murcha, hipertrofia, cancro, podendo resultar na morte da planta (CHAN & GOODWIN, 1990). Até o momento, não tem sido observada, em níveis práticos, resistência ou tolerância à bacteriose nas populações cultivadas de maracujazeiro-doce.

A resistência genética é o método mais eficiente, econômico e ecologicamente correto para o controle desta doença. A identificação de fontes de resistência é uma demanda para as pesquisas (FALEIRO et al., 2006) e a primeira etapa quando pensamos na obtenção da resistência genética via programas de melhoramento, os quais são estratégicos, considerando que o maracujá-doce é uma cultura em expansão, pouco estudada e ainda em fase de domesticação (FALEIRO et al., 2005).

A Embrapa Cerrados e parceiros iniciaram um trabalho de melhoramento genético do maracujazeiro doce na década de 1990. Coleta de acessos silvestres e seleções de acessos comerciais com base no formato do fruto e aspectos agrônômicos tem sido realizadas com sucesso.

Para completar os trabalhos de avaliação agrônômica, objetivou-se neste trabalho avaliar, em condições de campo e casa de vegetação, acessos comerciais e silvestres de maracujazeiro doce quanto à resistência à *X. axonopodis* pv. *Passiflorae*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### **Avaliação da bacteriose em condições de campo**

Os experimentos foram conduzidos na Embrapa Cerrados, em Planaltina, em latossolo vermelho de textura franco-argilo-arenosa, com fertilidade previamente corrigida, 1050 metros de altitude. Os materiais analisados constituíram-se de sete acessos de *Passiflora alata* obtidos de população cultivada e dois acessos silvestres coletados no Núcleo Rural Tabatinga- Planaltina-DF (Tabela 2)

Os acessos obtidos de população cultivada apresentam um histórico onde seus progenitores foram adquiridos em estado nativo e em mercados da Central de Abastecimento de São Paulo- CEAGESP, estes foram classificados por JUNQUEIRA et al, 2003, em função do formato dos frutos em dez categorias, nominando-as de A a J. As procedências (A, B, C), foram obtidas de frutos adquiridos em mercados da CEAGESP, a procedência (E) foi adquirida de plantações comerciais de Tomé-Açu- PA. As demais foram coletadas em estado nativo. A procedência (D) foi oriunda de Viçosa- MG, procedência (F) Itacoatiara – AM, procedência (G) Ouro Preto d' Oeste- RO, procedência (H) Domingo Martins- ES, procedência (I) Pontes e Lacerda- MT, procedência (J) Rondonópolis- MT. Estas procedências foram implantadas no Distrito Federal através da propagação via semente, avaliadas com base no tamanho e formato do fruto , coloração da polpa, espessura da casca. Após um ano de produção foram selecionadas as melhores plantas de cada procedência e reproduzidas por estaquia. Frutos das melhores plantas foram selecionados e suas sementes utilizadas para a implantação de um experimento na Fazenda Água Limpa, na Unb (Universidade de Brasília) Os materiais obtidos de população cultivada utilizados nesse experimento, foram obtidos do experimento instalado na FAL- UnB, Distrito Federal. Foram selecionados alguns frutos de acordo com o formato dos frutos classificados por JUNQUEIRA et al., 2003, e reclassificados como “Tipo” ao invés de procedência. Foram selecionados os “Tipos”( A, D, E, F, G, I, J ).As mudas foram feitas por sementes



**Tabela 2-** Acessos de maracujazeiro avaliados nos experimentos. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

Nº	Espécie	Acesso	Estado	Código
1	<i>Passiflora alata</i> Curtis	“Tipo A”	DF	CPAC MJ-02-03
2	<i>Passiflora alata</i> Curtis	“Tipo D”	DF	CPAC MJ-02-04
3	<i>Passiflora alata</i> Curtis	“Tipo E”	DF	CPAC MJ-02-05
4	<i>Passiflora alata</i> Curtis	“Tipo F”	DF	CPAC MJ-02-06
5	<i>Passiflora alata</i> Curtis	“Tipo G”	DF	CPAC MJ-02-07
6	<i>Passiflora alata</i> Curtis	“Tipo I”	DF	CPAC MJ-02-08
7	<i>Passiflora alata</i> Curtis	“Tipo J”	DF	CPAC MJ-02-09
8	<i>Passiflora alata</i> Curtis	“Silvestre N1”	DF	CPAC MJ-02-16
9	<i>Passiflora alata</i> Curtis	“Silvestre N2”	DF	CPAC MJ-02-17

Acessos de 1-7 (obtidos de população cultivada), Acessos 8 e 9 (acessos silvestres).

As mudas foram obtidas em agosto de 2005 em bandejas de poliestireno estendido de 72 células contendo substrato (120 ml por célula) a base de vermiculita e casca de *Pinus* sp. (Plantmax<sup>®</sup>). Foram semeadas 3 sementes por célula, deixando 1 muda/célula após o desbaste (Figura 2).



**Figura 2-** Mudas de maracujazeiro doce, após o desbaste. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

As mudas foram transplantadas para o campo em novembro de 2005. Foi utilizando o delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições e seis plantas por parcela, totalizando 24 plantas por acesso ou família de meio-irmãos. O espaçamento utilizado foi de 2,5 entre linhas e 2,0 entre plantas. Os tratos culturais foram aqueles comumente utilizados na cultura, havendo suplementação de água com sistema de irrigação por microaspersão, com 1 microaspersor por planta, numa vazão de 35 litros por hora. As adubações foram realizadas de acordo com o recomendado para a cultura do maracujazeiro doce (SANZONOWICZ et al , 2005)

O experimento foi conduzido utilizando o sistema de sustentação de espaldeira vertical, com os mourões distanciados de 5 m e 2 fios de arame liso na altura de 1,4 e 1,8 metro, em relação ao solo. Um mês após o plantio, foi realizada a poda para eliminação dos ramos laterais, sendo esta realizada semanalmente. As plantas foram conduzidas em haste única, tutoradas por barbante, deixando duas brotações laterais em sentido contrário uma da outra.

Para controlar as ervas daninhas, foi realizada uma roçagem em fevereiro de 2006 nas entrelinhas. Posteriormente, realizaram-se três aplicações de herbicidas nas entrelinhas seguidas pela capina manual em volta de cada planta. Foram realizadas duas aplicações de Carbofuran (Furadan®) na dosagem de 1 g/cova para o controle de cupins, sendo a primeira aplicação realizada em março de 2006 e a segunda em agosto de 2006.

A avaliação da resistência à bacteriose foi feita em fevereiro de 2006. Foram analisadas cinco folhas por planta, selecionadas aleatoriamente, avaliando-se as seguintes características: Número médio de lesões por folha; diâmetro médio das lesões; média da área lesada por folha; índice de folhas saudáveis e índice de folhas doentes;

O diâmetro médio das lesões foi estimado com base em uma escala de diâmetros em cm<sup>2</sup> ( 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0, 5,0 ), desenhados em uma folha de transparência, o qual era sobreposta às lesões (figura 2.1). Com base no diâmetro médio estimado e no número de lesões, calculou-se a média da área lesada por folha.



**Figura 2.1-** Escala de avaliação de bacteriose em condições de campo. Diâmetros de vários tamanhos (0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0 5,0 ) desenhados em uma folha de transparência. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

Foram realizadas análises de variância e estimados parâmetros genéticos com o auxílio do Programa Genes (CRUZ et al.,1997).

A análise de variância foi feita para cada um dos caracteres estudados. O modelo estatístico adotado foi o seguinte:

$$Y_{ijk} = \mu + g_i + b_j + \varepsilon_{ij} + \delta_{ijk}$$

Em que:

$Y_{ijk}$  = observação no k-ésimo indivíduo, avaliado no i-ésimo genótipo da j-ésima repetição;

$\mu$  = média geral do ensaio;

$g_i$  = efeito do genótipo i;

$b_j$  = efeito do bloco j;

$\varepsilon_{ij}$  = efeito da parcela ij;

$\delta_{ijk}$  = efeito do indivíduo k, do i-ésimo genótipo no j-ésimo bloco

Na tabela 2.1, encontra-se o esquema da análise de variância desse modelo.

**Tabela 2.1-** Esquema da análise de variância do modelo inteiramente casualizado.

FV	GL	QM	E (QM)	F
Blocos	$r - 1$	QMB	$\hat{\sigma}_d^2 + n\hat{\sigma}_e^2 + ng\hat{\sigma}_b^2$	
Famílias	$g - 1$	QMT	$\hat{\sigma}_d^2 + n\hat{\sigma}_e^2 + nr\hat{\sigma}_g^2$	QMT/QME
Entre parcelas	$(r - 1)(g - 1)$	QME	$\hat{\sigma}_d^2 + n\hat{\sigma}_e^2$	QME/QMD
Dentro de parcelas	$(n - 1)Gr$	QMD	$\hat{\sigma}_d^2$	
Total	$Grn - 1$			

Foram obtidas as estimativas da variância genotípica entre e dentro família, variância fenotípica entre e dentro família e da variância ambiental média e herdabilidade, representados abaixo.

Variância fenotípica entre médias de tratamento

$$\hat{\sigma}_f^2 = \frac{QMT}{rn}$$

Variância fenotípica dentro

$$\hat{\sigma}_d^2 = QMD$$

Variância genotípica entre médias de tratamentos

$$\hat{\sigma}_g^2 = \frac{QMT - QME}{rn}$$

Variância genotípica dentro da família

$$\hat{\sigma}_{gd}^2 = \frac{\theta_d}{\theta_e} \hat{\sigma}_g^2 \text{ (Para família de meio irmãos } \theta_d = 3/4 \text{ e } \theta_e = 1/4)$$

Variância ambiental entre parcelas

$$\hat{\sigma}_e^2 = \frac{QME - QMD}{r}$$

Herdabilidade (unidade de seleção= média família )

$$h^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{(QMT / nr)}$$

Foram calculadas medidas de tendência central e de dispersão com base nas médias e nos valores máximos e mínimos no coeficiente de variação. Também foram calculados, coeficiente de variação experimental, coeficiente de variação genético entre família, coeficiente de variação genético dentro família e a razão do CVg/CVe, para cada uma das características analisadas nas famílias de meio irmão(FMI), utilizando-se o programa Genes (Cruz, 1997).

Coefficiente de variação experimental

$$CVe(\%) = CV2 = 100 \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_e^2}}{m}$$

Coefficiente de variação genético entre famílias

$$CVe(\%) = CV3 = 100 \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_g^2}}{m}$$

Coefficiente de variação genético dentro de famílias

$$CVg(\%) = CV4 = 100 \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_{gd}^2}}{m}$$

Relação CVg/CVe

$$CVg/CVe = \frac{CVg3}{CV2} \quad \text{e} \quad CVg/CVe = \frac{CVg4}{CV2}$$

Foram também calculadas coeficiente de correlação fenotípica com base no coeficiente de correlação de Pearson. Inicialmente, foram obtidos os produtos médios entre os vários caracteres analisados, utilizando o método relatado por KEMPTHORNE (1966). A partir destas análises, foram obtidas as estimativas da covariância fenotípica entre os caracteres dois a dois e finalmente os coeficientes de correlação de Pearson, como segue:

Coefficiente de correlação fenotípica ( $r_f$ )

$$r_f = \frac{C\hat{o}v_f(X, Y)}{\hat{\sigma}_f^2(X) \cdot \hat{\sigma}_f^2(Y)}$$

em que:

$C\hat{o}v_f$  = Estimador da covariância fenotípica entre dois caracteres X e Y;

$\hat{\sigma}_f^2(X)$  = Estimador da variância fenotípica do caráter X;

$\hat{\sigma}_f^2(Y)$  = Estimador da variância fenotípica do caráter Y.

O procedimento utilizado para se testar a significância do  $r$  amostral foi baseado no teste  $t$ , sendo que:

$$t = \frac{r}{\sqrt{1-r^2}} \cdot \sqrt{n-2}$$

Onde:

$n$  = número de observações

Neste caso, testa-se a hipótese de que a correlação seja “0”.

O programa estatístico utilizado foi o Genes (Cruz, 1997). A classificação de intensidade da correlação foi muito forte ( $r \pm 0,91$  a  $\pm 1,00$ ), forte ( $r \pm 0,71$  a  $\pm 0,90$ ), média ( $r \pm 0,51$  a  $\pm 0,70$ ) e fraca ( $r \pm 0,31$  a  $\pm 0,50$ ), de acordo com Gonçalves e Gonçalves (1985), citados por Guerra e Liveira (1999).

### **Avaliação da bacteriose em casa de vegetação**

O experimento foi conduzido de setembro de 2006 a janeiro de 2007. Para cada acesso, foram produzidas mudas a partir de sementes, representando dessa forma, famílias de meio-irmãos.

A semeadura foi feita em bandejas de poliestireno estendido de 72 células contendo substrato (120 ml por célula) a base de vermiculita e casca de *Pinus* sp. (Plantmax<sup>®</sup>). Vinte dias após a germinação, as mudas foram transferidas para copos plásticos de 250 ml, preenchidos com substrato base de vermiculita e casca de *Pinus* sp. (Plantmax<sup>®</sup>). Após transplante, as mudas foram adubadas a cada 20 dias com osmocote na formulação 14:14:14.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com 12 repetições, onde cada planta representava uma repetição. Doze plantas de cada acesso foram inoculadas, aos 3 meses de idade, com o isolado 767 (UnB) de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, da coleção de bactérias fitopatogênicas do laboratório de Fitopatologia da Universidade de Brasília, numa concentração estimada de  $10^8$  Ufc/ml. Foram inoculadas duas folhas, completamente desenvolvidas, de cada planta. Na parte mediana da folha, lateralmente à nervura central, foram feitos dois orifícios de 3 mm de diâmetro com o auxílio de uma pipeta Pasteur adaptada, a qual foi previamente imersa na suspensão bacteriana. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em câmara úmida (>90% UR).

Foram avaliados o Diâmetro Longitudinal (DL), Diâmetro Transversal (DT), Diâmetro da Lesão (DL) e Área Lesada (AL).

As avaliações foram feitas aos 5, 10 e 15 dias após inoculação, com o auxílio de um paquímetro digital, onde foram medidos os diâmetros das lesões a partir da área clorótica (Figura 2.2). Foram realizadas as análises de variância, medidas de tendência central e de dispersão e estimativa de parâmetros genéticos, como descritos na avaliação da bacteriose em campo. As médias foram comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.



**Figura 2.2**– Avaliação da bacteriose em casa de vegetação. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.



### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Avaliação da bacteriose em condições de campo

Não foi verificado efeito significativo entre as famílias a 5% de probabilidade. Foi constatada uma alta variância entre parcelas para todas caracteres avaliados (tabela 2.2). A obtenção de informações a respeito do controle genético dos caracteres auxilia os melhoristas na tomada de decisão. No caso dos caracteres quantitativos, essas informações podem ser obtidas utilizando componentes de média ou de variância (CRUZ et al., 2004). Os componentes da variância têm a vantagem de os efeitos genéticos não se anularem, como pode ocorrer com médias, e possibilitam também estimar a herdabilidade e o ganho esperado com a seleção.

A grande amplitude dos valores das características avaliadas acarretou elevados coeficientes de variação (CV) no número de lesões por folha (42,28%), diâmetro da lesão (62,69%), média da área lesada por folha (47,28%) e incidência de folhas doentes (33,56) (tabela 2.2).

**Tabela 2.2-**Análise de variância de características relacionadas à resistência à bacteriose de 9 Família de meio irmão (FMI) de maracujazeiro doce, avaliadas em condições de campo. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

Fonte de Variação	GL	Média do nº de lesões por folha	Média do diâmetro da lesão (cm)	Média da Área lesada por folha (cm <sup>2</sup> )	Índice de folhas sadias	Índice de folhas doentes
		QM (prob)	QM (prob)	QM (prob)	QM (prob)	QM (prob)
Blocos	3	514,5	6,21	57,7	662,9	330,5
Famílias	8	16,2 (1,00)ns	2,06 (1,00)ns	63,6 (0,27)ns	640,3 (0,24)ns	386,8 (1,00)ns
Entre	24	46,76	2,11	47,30	454,71	516,30
Dentro	180	35,00	1,60	41,40	606,80	452,30
CV (%)	-	42,28	62,69	47,28	12,60	33,56

A grande amplitude de valores fenotípicos observada pode ser atribuída à variabilidade genética das plantas e/ou controle deficiente das condições experimentais, levando-se em conta a ocorrência de uma chuva de granizo no mês de dezembro de 2005, durante a condução do experimento. Para CAMPOS (1984), que realizou ensaios agrícolas de campo, CVs entre 10% e 20% são considerados normais, podendo-se também sugerir, segundo PIMENTEL-GOMES (1987), que valores menores que 10% seriam considerados baixos, entre 10% e 20%, médios, entre 20% e 30%, altos, e maiores que 30%, muito altos.

Entretanto, nestas sugestões não há especificidade quanto à natureza do ensaio, quanto à cultura estudada, e quanto à variável utilizada, o que pode ser relevante no momento da interpretação de tal medida.

As estimativas da herdabilidade no sentido amplo ao nível de médias das famílias foram inferiores a 30% para área lesada por folha e incidência de folhas sadias, (tabela 2.3) Estimativas altas de herdabilidade possibilitam maior eficiência no processo seletivo, de modo que tais caracteres, nas condições em questão, não foram bons indicadores para a seleção de famílias mais promissoras quanto a resistência a bacteriose. Não foi possível a estimativa deste parâmetro para os demais caracteres, uma vez que o quadrado médio da fonte de variação entre famílias foi maior que o quadrado médio da fonte de variação dentro das famílias, gerando estimativas negativas das variâncias genotípicas (tabela 2.3).

A média do valor observado para o número de lesões por folha foi de 6,6, sendo que os valores variaram de 0 a 44 lesões por folha. Os diâmetros de lesões oscilaram de 0 a 6,5 cm, com média de 0,94 cm, gerando uma área lesada média de 5,93 cm<sup>2</sup>. A média da incidência de folhas sadias e doentes constatadas foi de 69,08 e 27,73%, respectivamente, sendo observadas variações de 0 a 100% entre os materiais avaliados (tabela 2.3).

**Tabela 2.3.-** Valores médios, mínimos e máximos, parâmetros genéticos e coeficiente de variação (CV) de características relacionadas à resistência à bacteriose em 9 família de meio irmão (FMI) de maracujazeiro doce, avaliadas em condições de campo. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

	Caracteres avaliados				
	Média do nº de lesões por folha	Média do diâmetro da lesão (cm)	Área lesada por folha (cm <sup>2</sup> )	Incidência de folhas sadias	Incidência de folhas doentes
Média Geral	6,6	0,94	5,93	69,08	27,63
Mínimo por planta	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00
Máximo por planta	44,0	6,5	37,2	100,00	100,00
Var. Gen. entre famílias	-	-	0,67	7,73	-
Var. Gen. dentro famílias	-	-	2,03	23,20	-
Var. Fen. dentro famílias	35,00	1,60	41,40	606,8	452,3
Var. Ambiental	1,95	0,08	0,98	-	10,66
Herd. (US= média famílias)	-	-	0,25	0,29	-
CV genético entre famílias	-	-	13,85	4,02	-
CV genético dentro de famílias	-	-	24,00	6,97	-
CV Gen. Entre/CV Experimental	-	-	0,82	-	-
CV Gen. Dentro/CV Experimental	-	-	1,43	-	-

( - ) Não foi possível estimar: O quadrado médio da fonte de variação entre parcelas foi maior que o quadrado médio da fonte de variação das famílias.

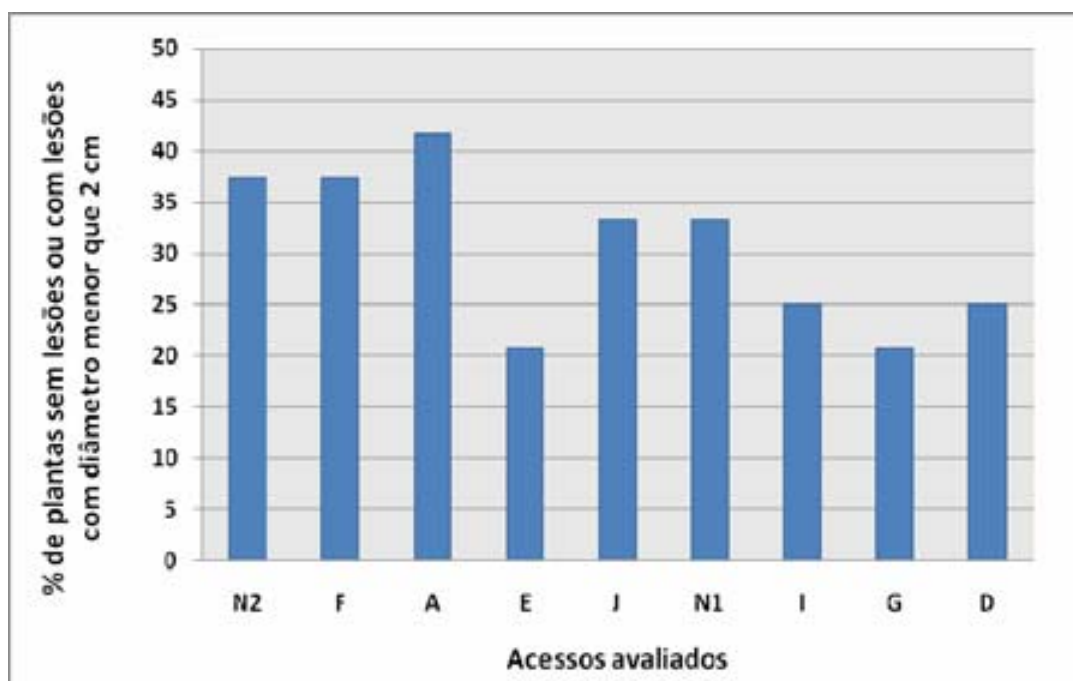
Além disso, em trabalhos nos quais procuraram avaliar o uso do CV em várias culturas, ESTEFANEL et al. (1987) observaram que culturas anuais naturalmente tendem a apresentá-lo em menores valores, ao contrário de plantas frutíferas, que, por suas limitações quanto ao dimensionamento das parcelas e número de repetições, possuem geralmente valores maiores de CV.

Com base nos resultados da análise de variância e parâmetros genéticos, pode-se deduzir que para a obtenção de ganhos genéticos será necessário melhorar a acurácia fenotípica e também trabalhar a seleção dentro da família de meio-irmãos, identificando as plantas mais resistentes.

Com relação aos coeficientes de variação ambiental (C<sub>Ve</sub>), que permitem avaliar a precisão do experimento, as estimativas entre os caracteres avaliados: diâmetro médio da lesão e porcentagem de plantas doentes, variaram de 0,08% a 10,66%, respectivamente (tabela 2.3).

A utilização do coeficiente de variação genético (C<sub>Vg</sub>) permite a comparação da variabilidade genética dos diferentes caracteres analisados. Observou-se elevado (CV) genético dentro de família, para a característica média da área lesada por folha (24,00), gerando uma razão entre C<sub>Vg</sub>/C<sub>Ve</sub> de 1,43. Visando o melhoramento genético em maracujá-doce, esse dado ressalta a importância da avaliação e da seleção de plantas individualmente (tabela 2.3).

Apesar do experimento em campo não ser significativo entre as famílias, mesmo assim, pode-se destacar as famílias com maior porcentagem de plantas com lesões de diâmetro inferior a 2 cm e sem lesões (figura 2.3).



**Figura 2.3-** Porcentagem de plantas com maior nível de resistência à bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* em condições de campo, no mês de fevereiro de 2006. Foram avaliadas 24 plantas de cada família, utilizando a escala de diâmetros em cm (0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0, 5,0). Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

A formação de lesões de pequeno diâmetro é uma informação importante, levando-se em consideração que é uma característica marcante da resistência que leva a uma menor taxa de desenvolvimento da doença (GONÇALVES-VIDIGAL & POLENTINE, 1999).

O nome resistência horizontal foi dado por VANDERPLANK, em 1968. Esse autor demonstrou que a resistência horizontal é mais durável e confere resistência a todas as raças do patógeno, não havendo interação planta x patógeno. Como regra geral a resistência horizontal fornece uma proteção incompleta, porém mais durável e efetiva para diferentes raças do patógeno (TOKESHI, 2006). Assim, a presença de lesões de pequeno tamanho podem ser indicativo de um maior nível de resistência das famílias N2, F e A.

Observa-se que houve uma correlação negativa muito forte entre o número de lesões e o diâmetro das mesmas (-0,9433), significativa a 1% de probabilidade (quanto maior o número de lesões na folha, menor são os diâmetros das lesões). Os demais caracteres não apresentaram correlações significativas (tabela 2.4).

Segundo DEGENHARDT et al. (2005), as correlações simples são utilizadas com frequência em plantas de ciclo longo, principalmente nas nativas. Seu conhecimento é útil, principalmente quando há dificuldade na seleção de um caráter, em razão de sua baixa herdabilidade ou se este for de difícil mensuração ou identificação (FALCONER, 1987).

Em alguns casos, estas análises são consideradas suficientes para esclarecer relações entre caracteres de importância econômica para estas culturas.

**Tabela 2.4-** Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre cinco caracteres estudados na avaliação da bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* em maracujazeiro doce em condições de campo. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

Caracteres	NL	DL	AL	IPS	IPD
NL	-	-0,9433**	-0,5608	-0,6343	-0,1842
DL		-	0,4815	-0,5842	-0,1901
AL			-	0,2974	-0,189
IPS				-	-0,5948
IPD					-

\*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste de t.

NL (número de lesões), DL (diâmetro da lesão), AL (área lesada), IPS (incidência de plantas sadias), IPD (incidência de plantas doentes).

#### **Avaliação da bacteriose em casa-de-vegetação**

Diferentemente do experimento de campo, foi verificado um efeito altamente significativo das famílias para todas características avaliadas aos 10 e 15 dias (tabela 2.5).

Aos 10 dias, os valores para diâmetro longitudinal da lesão variaram de 0 a 32 mm, com média de 11,9, enquanto o diâmetro transversal oscilou de 0 a 25,7, com média de 12,83 mm. O diâmetro médio das lesões foi 12,38, gerando uma área lesada média de 73,90 mm<sup>2</sup> (tabela 2.6).

Aos 10 dias as estimativas da herdabilidade no sentido amplo ao nível de médias foram superiores a 70% para três das quatro características avaliadas. A menor estimativa da herdabilidade foi obtida para o caráter área lesada média, sendo de 68% (tabela 2.6). Apesar de inferior às demais, esta estimativa pode ser considerada satisfatória para o sucesso na seleção deste caráter. As estimativas de herdabilidade foram superiores àquelas observadas para o experimento em campo. Os coeficientes de variação para os caracteres diâmetro transversal médio e área lesada média variaram de 29,02% a 74,06%, respectivamente (tabela 2.5). Esse fato pode ser atribuído a alta variabilidade genética entre os acessos, como verificado no capítulo 1.

Sabe-se, no entanto, que grandes variações nas estimativas de parâmetros genéticos dos caracteres podem ocorrer e são descritas na literatura para algumas espécies

(FALEIRO, 2000). Deve-se considerar, portanto, que tais variações podem ser consequência dos diferentes métodos utilizados na estimação, dos distintos materiais genéticos analisados, das diferentes condições ambientais e da época de plantio, dentre outros fatores (FALCONER, 1987, VENCOVSKY & BARRIGA, 1992).

**Tabela 2.5-**Análise de variância e parâmetros genéticos de características relacionadas à resistência à bacteriose de famílias de meio irmão (FMI) de maracujazeiro doce, avaliadas em condições de casa-de-vegetação aos, 10 dias. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

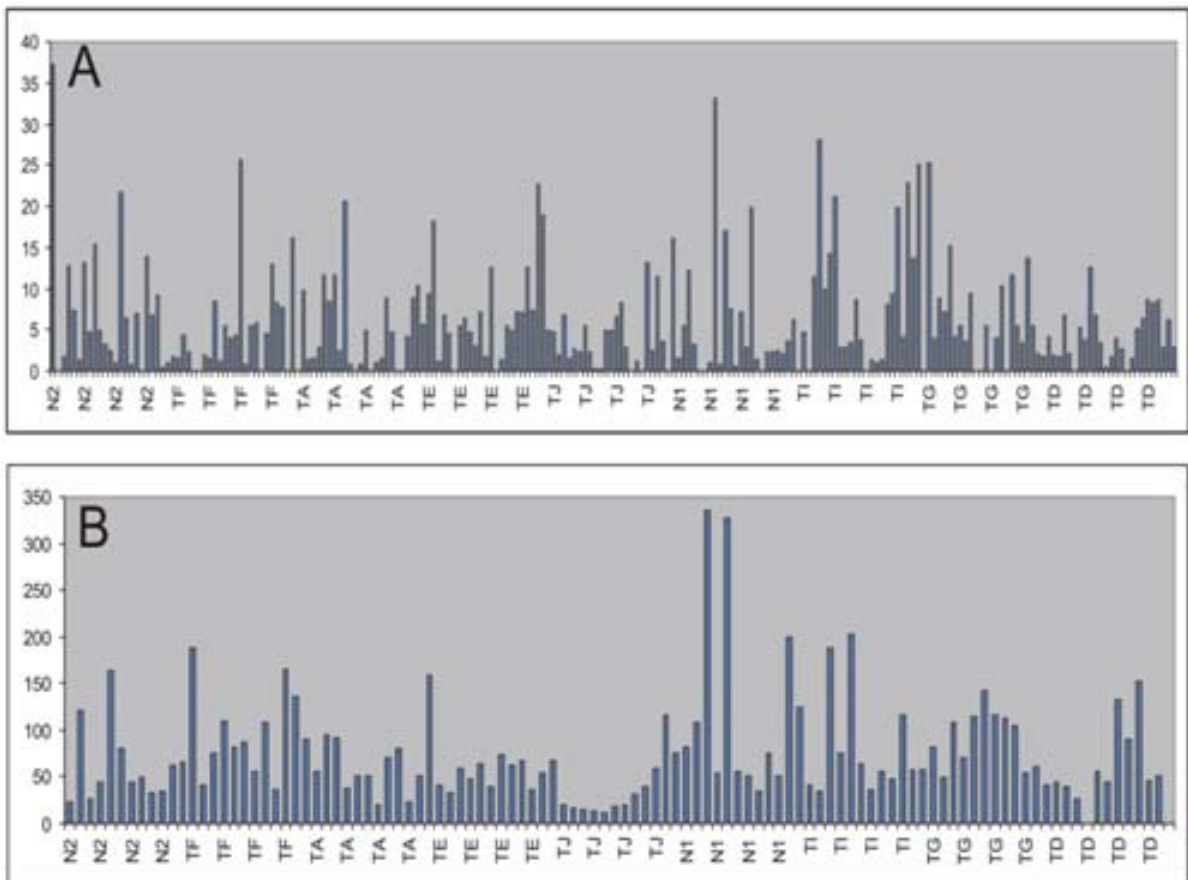
		Caracteres avaliados			
		Diâmetro Long. Médio (mm)	Diâmetro Transv. Médio (mm)	Diâmetro Médio (mm)	Área Lesada Média (mm <sup>2</sup> )
Fonte de Variação	GL	QM (prob)	QM (prob)	QM (prob)	QM (prob)
Famílias	8	80,14 (0,0016)**	59,19 (0,0002)**	67,82 (0,0003)**	8588,0 (0,003)**
Resíduo	99	23,48	13,88	16,64	2734,2
CV (%)		40,62	29,02	70,75	74,06

\*\* Significativo pelo teste F a 1% de probabilidade

**Tabela 2.6-** Valores médios, mínimos e máximos, coeficiente de variação (CV) e variância para diâmetro longitudinal médio, diâmetro transversal médio, diâmetro médio e área lesada média em famílias de meio irmão(FMI) de maracujazeiro doce inoculadas artificialmente com *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* em casa de vegetação, avaliadas aos 10 dias. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

		Caracteres avaliados			
		Diâmetro Long. Médio (mm)	Diâmetro Transv. Médio (mm)	Diâmetro Médio (mm)	Área Lesada Média (mm <sup>2</sup> )
	Média Geral	11,9	12,83	12,38	73,90
	Mínimo	0,0	0,0	0,0	0,0
	Máximo	32,0	25,7	28,9	335,5
	Var. Fenotípica	6,67	4,93	5,65	715,67
	Var. Ambiental	1,95	1,15	1,38	227,85
	Var. Genotípica	4,72	3,77	4,26	487,81
	Herd. (US= média famílias)	0,71	0,77	0,75	0,68
	CV genético(%)	18,21	15,13	16,67	29,88

Em virtude da grande variabilidade genética entre plantas, oriundas de sementes, alta variação dentro das famílias foi observada em casa-de-vegetação assim como no campo. Tal observação pode ser verificada na análise comparativa da área lesada média por folha ( $\text{cm}^2$ ) avaliada no campo e área lesada média ( $\text{mm}^2$ ) avaliada em casa-de-vegetação (Figura 2.4). Como exemplo, pode-se verificar as diferenças destas características nas plantas da família N1. Em casa de vegetação, para algumas famílias, tais diferenças não foram tão evidentes, a exemplo das verificadas nas plantas da família J.



**Figura 2.4.-** Área lesada média por folha ( $\text{cm}^2$ ) avaliada no campo (A) e Área lesada média ( $\text{mm}^2$ ) avaliada em casa-de-vegetação (B) 10 dias após a inoculação de nove famílias de meio-irmãos de maracujazeiro doce. Foram analisadas 24 e 12 plantas de cada família em campo e casa-de-vegetação, respectivamente. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

Os resultados das análises de variância aos 15 dias após a inoculação, estão apresentados na tabela 2.7 e 2.8. Os resultados obtidos, foram semelhantes à análise aos 10 dias com o efeito altamente significativo das famílias.a 5% de probabilidade.

**Tabela 2.7-** Análise de variância e parâmetros genéticos de características relacionadas à resistência à bacteriose de famílias de meio irmãos (FMI) de maracujazeiro doce, avaliadas em condições de casa-de-vegetação aos, 15 dias. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

		Caracteres avaliados			
		Diâmetro Long. Médio (mm)	Diâmetro Transv. Médio (mm)	Diâmetro Médio (mm)	Área Lesada Média (mm <sup>2</sup> )
Fonte de Variação	GL	QM (prob)	QM (prob)	QM (prob)	QM (prob)
Famílias	8	228,58(0,046)*	67,24(0,023)*	133,26(0,026)*	45133,00(0,029)*
Resíduo	99	76,00	20,52	41,31	14172,69
CV (%)	44,93	26,29	35,07	73,24	74,87

\* Significativo pelo teste F a 5% de probabilidade

**Tabela 2.8-** Valores médios, mínimos e máximos, coeficiente de variação (CV) e variância para diâmetro longitudinal médio, diâmetro transversal médio, diâmetro médio e área lesada média em Famílias de meio irmãos (FMI) de maracujazeiro doce inoculadas artificialmente com *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* em casa de vegetação, avaliadas aos 15 dias. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

		Caracteres avaliados			
		Diâmetro Long. Médio (mm)	Diâmetro Transv. Médio (mm)	Diâmetro Médio (mm)	Área Lesada Média (mm <sup>2</sup> )
Média Geral		19,40	17,22	18,32	162,53
Mínimo		6,5	8,0	7,25	20,86
Máximo		58	30,75	44,38	793,62
Var. Fenotípica		19,04	5,60	11,10	3761,08
Var. Ambiental		6,33	1,71	3,44	1181,05
Var. Genotípica		12,71	3,89	7,66	2580,03
Herd. (US= média famílias)		66,74	69,48	69,00	68,59
CV genético(%)		18,37	11,45	15,10	31,25

Aos 15 dias observou-se um aumento dos diâmetros,com isso os materiais suscetíveis, a lesão atingiu a nervura central e lateral da folha.Nesse sentido a avaliação aos 10 dias permitiu uma maior diferenciação entre os materiais, como verificado na tabela 2.9.



**Tabela 2.9-** Diâmetro Longitudinal Médio (DLM), Diâmetro Transversal Médio (DTM), Diâmetro Médio (DM) e Área Lesada Média (ALM) avaliados em nove famílias de meio-irmãos (FMI) de maracujazeiro doce, após 10 e 15 dias da inoculação com *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

FMI	Características Avaliadas							
	DLM (mm)		DTM (mm)		DM (mm)		ALM (mm <sup>2</sup> )	
	10 dias	15 dias	10 dias	15 dias	10 dias	15 dias	10 dias	15 dias
Tipo J	7,63 a	14,31 a	9,46 a	14,13 a	8,54 a	14,22 a	36,17 a	100,19 a
Tipo D	10,15 b	16,04 ab	10,44 a	15,33 ab	10,29 b	15,69 ab	56,89 b	110,94 a
Tipo E	10,54 b	16,67 ab	11,9 bc	15,52 bc	11,22 bc	16,17 bc	53,64 b	118,83 ab
Silvestre N2	11,01 b	17,45 b	11,73 b	16,65 bc	11,37 bc	17,05 bc	62,14 b	136,69 ab
Tipo A	11,13 b	16,48 ab	13,00 c	16,1 bc	12,06 cd	16,3 bc	65,31 b	118,67 ab
Tipo I	12,65 c	18,71 b	12,88 c	16,81 c	12,76 d	17,76 c	80,82 c	152,56 b
Tipo G	13,58 cd	25,02 c	14,65 d	20,35 de	14,12 e	22,69 d	87,85 cd	234,45 c
Tipo F	14,42 d	25,75 c	15,69 de	19,38 d	15,05 ef	22,56 d	97,61 d	238,8 c
Silvestre N1	16,27 e	24,2 c	15,8 e	20,77 e	16,04 f	22,49 d	124,75 e	251,69 c

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Duncan

A família ou acesso tipo J possui o maior nível de resistência com base em todas características avaliadas aos 10 dias após a inoculação, entretanto não diferiu do tipo D quanto ao DTM. Após 15 dias da inoculação, os acessos tipo J e tipo D apresentaram maior nível de resistência com base no DTM e DM. Considerando-se a ALM, aos 15 dias após a inoculação, as médias dos acessos tipo J, D, A, E e N2 não diferiram estatisticamente.

Com relação aos acessos mais suscetíveis, destaca-se o tipo N1 com base em todas as características avaliadas aos 10 dias após a inoculação. Entretanto, o mesmo não diferiu significativamente do tipo F quanto a DTM e DM. Com base nas características avaliadas após 15 dias da inoculação, os acessos N1, F e G foram os mais suscetíveis.

Um aspecto que deve ser considerado foi relatado por TOKESHI (2006). Segundo este autor, é nos centros de origem das plantas que estão concentrados os mais altos graus de resistência horizontal a doenças e, segundo LEITÃO FILHO & ARANHA (1974), citado por MELETTI & BRUCKENER (2001).

No presente trabalho, entretanto, um dos acessos nativos mostrou alta suscetibilidade a bacteriose, fato que demonstra que, em alguns casos, acessos nativos podem não proporcionar ganhos em resistência a alguns patógenos quando utilizados no melhoramento genético.

Observa-se que todos os caracteres avaliados foram altamente significativos a 1% de probabilidade. Constatou-se correlações positivas fortes ou muito fortes entre todas as características avaliadas. Cabe ressaltar que a correlação observada entre a área lesada média e o diâmetro longitudinal médio (0,98) foi maior que aquela observada entre esta característica e o diâmetro transversal médio (0,9048). Portanto, os resultados indicam uma

maior importância do diâmetro longitudinal na estimativa da área lesada e, conseqüentemente, na inferência da severidade da doença ( tabela 2.10).

**Tabela 2.10-** Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre cinco caracteres estudados na avaliação da bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv.*passiflorae* em maracujazeiro doce avaliados em casa de vegetação, considerando os dados de todas as plantas. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

Caracteres	DLM	DTM	DML	ALM
DLM	-			
DTM	0,8861**	-		
DML	0,9865**	0,9498**	-	
ALM	0,98**	0,9048**	0,9795**	-

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

DLM(diâmetro longitudinal média), DTM(diâmetro transversal média), DML(diâmetro médio da lesão),ALM(área lesada média).

É importante ressaltar as diferenças dos resultados obtidos em campo e em casa-de-vegetação. Em primeiro lugar, deve-se considerar que as avaliações em campo foram realizadas em plantas jovens com um mês após seu transplântio, não se realizou inoculação artificial a disseminação da doença foi feita de maneira natural. Dessa forma é possível que alguns acessos não tenham apresentado lesões em função da velocidade de dispersão da bactéria,e não devido a um maior nível de resistência. Em segundo lugar deve-se considerar o método de inoculação artificial utilizado em casa de vegetação. A penetração da bactéria em condições de campo ocorre em ferimentos ou aberturas naturais, tais como estômatos e hidatódios. O método de inoculação artificial baseado em ferimentos mecânicos compromete integralmente a resistência física ou estrutural pré-existente na planta.

Os fatores que se têm atribuído os mecanismos de resistência das plantas às doenças são inúmeros. Esses fatores podem agrupar-se em barreiras físicas e químicas. Segundo RODRIGUES JÚNIOR (1980), a espessura e dureza da cutícula e da parede externa das células epidérmicas, a presença e distribuição de esclerênquima, dentre outros, são considerados como barreiras estruturais ou físicas a entrada do patógeno. Portanto, é importante esclarecer, como algumas famílias podem ter se comportado como suscetíveis em casa de vegetação, ao contrário do observado em campo a exemplo dos acessos N1, F e G.

Deve-se considerar que a seleção de materiais de maracujazeiro doce promissores não envolve somente a análise de resistência a doenças, mas também parâmetros relacionados a qualidade de frutos e produtividade. Outros estudos relacionados a estes aspectos, complementando as análises de resistência, são de grande valia para o melhoramento genético desta espécie e estão sendo alvo de outros trabalhos conduzidos na Embrapa Cerrados.

De acordo os resultados obtidos na tabela 2.9, para característica Área Lesada Média, aos 10 dias após a inoculação, sugere-se uma escala de níveis de resistência a bacteriose para condições de casa de vegetação (tabela 2.11), segundo a metodologia adotada no presente trabalho.

**Tabela 2.11-** Escala sugerida. Níveis de resistência a bacteriose em condições de casa de vegetação. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

<i>Área lesada média em mm<sup>2</sup></i>	<i>Níveis de resistência</i>
0	Assintomático
1mm <sup>2</sup> a 25 mm <sup>2</sup>	Resistente – R
26 mm <sup>2</sup> a 50 mm <sup>2</sup>	Moderadamente Suscetível – MS
51 mm <sup>2</sup> a 75 mm <sup>2</sup>	Susceptível – S
76 mm <sup>2</sup> a >100 mm <sup>2</sup>	Altamente Susceptível – AS

Fazendo-se uma análise comparativa entre as famílias, utilizando-se informações do teste de médias, podemos inferir que o acesso tipo J foi o menos susceptível, os acessos tipo D, E, N2 e A foram susceptíveis, os acessos tipo I, G , F e N1 foram altamente susceptíveis.

#### 4. CONCLUSÕES

Com base na avaliação a campo, não foi verificado efeito significativo das famílias de meio irmãos sobre a resistência à bacteriose, contudo houve uma alta fonte de variação entre plantas dentro das famílias, com a presença de plantas menos suscetíveis.

Em condições controladas de casa-de-vegetação, além da alta variação entre plantas dentro das famílias, houve efeito significativo das famílias com base nas características avaliadas aos 10 e 15 dias após a inoculação.

Os acessos com maior grau de resistência foi o tipo J, seguido do acesso tipo D.

O acesso com maior grau de suscetibilidade foi o tipo N1, seguido dos acessos tipos F e G.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAMPOS, H. de. **Estatística aplicada à experimentação com cana-de-açúcar**. Piracicaba: FEALQ, 1984. 292p.
- CHAN, J.W.Y.F.; GOODWIN, P.H. The molecular genetics of virulence of *Xanthomonas campestris*. **Biotechnology Advances**, v.17, p.489-508, 1990.
- CRUZ, C.D. Programa GENES – **Aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa, MG: UFV, 1997. 442p.
- DEGENHARDT, J.; DUCROQUET, J.; GUERRA, M.P.; NODARI, R.O. Variação fenotípica em plantas de duas famílias de meios-irmãos de goiabeira-serrana (*Acca sellowiana* Berg.) em um pomar comercial em São Joaquim-SC. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.27, n.3, p.462-466, 2005.
- ESTEFANEL, V.; PIGNATARO, I.A.B.; STORCK, L. Avaliação do coeficiente de variação de experimentos com algumas culturas agrícolas. In: SIMPÓSIO DE ESTATÍSTICA APLICADA À EXPERIMENTAÇÃO AGRONÔMICA, 2., 1987, Londrina. **Anais...** Londrina: Univ. Estadual de Londrina / Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 1987. p.115-131.
- FALCONER, D.S. **Introdução à genética quantitativa**, Viçosa: UFV, 1987. 279p.
- FALEIRO, F. G. ; JUNQUEIRA, Nilton Tadeu Vilela ; BRAGA, Marcelo Fideles . Importância e avanços do pré-melhoramento de Passiflora.. In: Maurício Antônio Lopes; Alessandra P Fávero; Maria Aldete J F Ferreira; Fábio Gelape Faleiro. (Org.). Curso Internacional de pré-melhoramento de plantas. 1 ed. Brasília: Embrapa, 2006, v. , p. 138-142
- FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. **Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro – desafios da pesquisa** In: Faleiro, F.G.; Junqueira, N.T.V.; Braga, M.F. (Eds.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina,DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 187-210.
- FALEIRO, F. G. **Melhoramento e mapeamento genético do feijoeiro-comum**: análise de características quantitativas, morfológicas, moleculares e de resistência a doenças. 2000. 177 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2000.
- FRUTISÉRIES 2, Maracujá. Brasília: MI/SIN/DDH, 2002. 8 p.
- GONÇALVES-VIDIGAL, M. C. & POLETINE, J. P. **Resistência às doenças**. In: DESTRO, D. Melhoramento Genético de Plantas, 1999. p.
- GUERRA, N.B.; LIVERA, A.V.S. Correlação entre o perfil sensorial e determinações físicas e químicas do abacaxi cv. pérola. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.21, n.1, p.32-35, 1999.

JUNQUEIRA, N.T.V; ANJOS, J.R.N.; JUNQUEIRA, L.P.; SHARMA,D.R.; Maracujá-doce: Tecnologia de produção, pós-colheita, mercado. **Doenças do maracujazeiro-doce** . Editora cinco continentes,2005. pág 113-149.

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

PIMENTEL GOMES, F. Curso de estatística experimental 12.ed. São Paulo, Nobel, 1987. 446p.

PONTE,J.J.da . Clínica de doenças de plantas.Fortaleza:Editora UFC,1996.871 p.

RODRIGUES JÚNIOR, C. J. **Mecanismos de resistência das plantas aos agentes patogênicos**. Oeiras: Centro de Investigação Científica das Ferrugens do Cafeeiro, 1980. 67p.

SANZONOWICZ, C.; ANDRADE, L.R.M. de. Nutrição, Adubação e Irrigação. Maracujá-doce: Tecnologia de produção, pós colheita, mercado.Ivo Manica et al. Porto Alegre. Editora Cinco Continentes, 2005. 198p.

TOKESHI, H. Importância dos centros de origem das plantas e sua resistência a pragas e doenças.(Palestra) Anais do III Congresso Brasileiro de Defensivos Agrícolas Naturais (III COBRADAN), Belém- PA p.69-81, 2006.

VAN der PLANK, J. E. **Disease resistance in plants**. New York: Academic Press, 1968. 206p

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. Genética biométrica no fitomelhoramento. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 486p.

### **CAPÍTULO III**

#### **RESISTÊNCIA DE ACESSOS DE MARACUJAZEIRO-DOCE A VIROSE DO ENDURECIMENTO DOS FRUTOS EM CONDIÇÕES DE CAMPO E CASA DE VEGETAÇÃO**

## **RESISTÊNCIA DE ACESSOS DE MARACUJAZEIRO-DOCE A VIROSE DO ENDURECIMENTO DOS FRUTOS EM CONDIÇÕES DE CAMPO E CASA DE VEGETAÇÃO**

**Resumo** - O endurecimento dos frutos pode ser causado por duas espécies de vírus (*Passionfruit woodiness virus*, PWV e *Cowpea aphid-borne mosaic virus*, CABMV) e é considerada a principal virose da cultura do maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis). A identificação de fontes de resistência é a etapa básica de todo programa de melhoramento genético. Nesse sentido, objetivou-se, nesse trabalho, avaliar a resistência de nove acessos de maracujazeiro-doce (sete acessos obtidos de população cultivada e dois silvestres) a virose do endurecimento do fruto em condições de campo e casa-de-vegetação. Em condições de campo, o delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições e seis plantas por parcela, totalizando 24 plantas por acesso. A avaliação da infecção viral foi feita pela leitura da expressão dos sintomas do vírus expressos na planta através de uma escala de notas para planta e para folha. A incidência variou de 41,7 a 91,7% em condições de campo e 60 a 100% em casa-de-vegetação com coeficientes de variação de 24,2% e 15,9%, respectivamente. Em condições controladas, em cada acesso, a inoculação foi feita mecanicamente em 20 plantas com duas folhas expandidas, utilizando-se um isolado coletado no Distrito Federal. Considerando-se apenas a incidência, os acessos com maior nível de resistência tanto em campo quanto em casa-de-vegetação foram os dois acessos silvestres N1 e N2. Entre os comerciais, os acessos com maior resistência foi o acesso tipo F em condições de campo e o acesso A em condições de casa-de-vegetação. Em condições de campo, a incidência e a severidade da virose aumentaram ao longo do tempo, possivelmente devido a maior disseminação do vírus pelo vetor. Com base na primeira avaliação, foi verificado em condições de campo um nível de resistência superior ao verificado em casa-de-vegetação, havendo uma correlação positiva e significativa de 0,58 entre esses dados. Observou-se diferenças do nível de resistência entre plantas de mesma família. A maior resistência dos acessos silvestres evidencia a importância desses materiais para programas de melhoramento genético do maracujazeiro-doce.

**Palavras chaves:** *Passiflora alata* Curtis, *Passionfruit woodiness virus*, (PWV) e *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV), incidência, severidade.



## RESISTANCE OF SWEET PASSION FRUIT ACCESSES TO THE WOODINESS VIRUSES UNDER GREENHOUSE AND FIELD CONDITIONS

**Abstract** - The woodiness of the fruit can be caused by two types of viruses (Passion fruit Woodiness Virus, PWV, and Cowpea Aphid-Borne Mosaic Virus, CABMV), and is considered sweet passion fruit (*Passiflora alata Curtis*) main viruses. The identification of resistance sources is the basic stage of any breeding program. Therefore, this study's objective was to evaluate the resistance of nine sweet passion fruit accesses (seven obtained from cultivated population and two wild accesses to the woodiness viruses under greenhouse and field conditions. Under field conditions, the experimental design was in randomized blocks with four replications and six plants per plot, totaling 24 plants per access. The viral infection was evaluated by the reading of the expression of virus symptoms in the plant, through a scale of grades for plant and leaf. The incidence ranged from 41.7 to 91.7% under field conditions and from 60 to 100% in the greenhouse with variation coefficients of 24.2% and 15.9% respectively. Under controlled conditions, in each access, the inoculation was produced mechanically in 20 plants with two expanded leaves, using an isolate collected in Distrito Federal. Taking in consideration only the incidence, the access with higher resistance level, either under greenhouse and at the field, were the two wild accesses N1 and N2. Among the commercial samples, the access with higher resistance was the type F, under field conditions, and the A, under greenhouse conditions. Under field conditions, viruses incidence and severity increased over time, possibly due to a greater virus dissemination by the vector. Based on the initial assessment, it was verified under field conditions, a resistance level superior to the one in the greenhouse, with a positive and significant correlation of 0.58 between these data. There were observed differences in the resistance level between plants of the same family. The highest resistance of wild accesses highlights the importance of such materials for sweet passion fruit genetic breeding programs.

**Key words:** *Passiflora alata Curtis*, *Passionfruit woodiness virus*, (PWV), *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV), incidence, severity.

## 1. INTRODUÇÃO

A cultura do maracujazeiro ocupou no Brasil, em 2006, uma área superior a 44.363 ha. (IBGE, 2008) havendo produção comercial em praticamente todos os estados (FNP, 2006). A produção apresenta tendência de expansão devido ao aumento de demanda e preços considerados atraentes (AGUIAR & SANTOS, 2001; PIRES & MATA, 2004).

De 1990 a 2000, a produtividade média do maracujá azedo no Brasil diminuiu, passando de 12,5 t/ ha para 9,9 t/ha, ou seja, uma redução de 21%. A explicação dos especialistas para essa redução na produtividade está relacionada com a ocorrência de patógenos como a virose do endurecimento do fruto.

O endurecimento dos frutos pode ser causado por duas espécies de vírus (*Passionfruit woodiness virus*, PWV, e *Cowpea aphid-borne mosaic virus*, CABMV) e é considerada a principal virose da cultura do maracujazeiro, podendo atingir 100% das plantas em pomares afetados. O PWV e o CABMV são espécies do gênero *Potyvirus* transmitidos por afídeos e mecanicamente (ZERBINI et al, 2005). Plantas infectadas apresentam mosaico foliar que pode ser acompanhado ou não de bolhosidade e deformação. Os frutos podem apresentar-se deformados, pequenos e duros, ocorre redução significativa da área foliar e do peso da parte aérea e do sistema radicular da planta. Como a produção do maracujazeiro está diretamente relacionada ao enfolhamento, os efeitos são nítidos.(GIORIA, 1999).

A identificação de fontes de resistência é a etapa básica de todo programa de melhoramento genético. As linhas de pesquisa atualmente desenvolvidas, concentram-se principalmente na obtenção de cultivares com resistência a moléstia, seja incorporando genes de resistência nas cultivares-elite, seja no desenvolvimento de novas cultivares. A identificação de fontes de resistência é uma demanda para as pesquisas e a primeira etapa quando pensamos na obtenção da resistência genética via programas de melhoramento. Nesse sentido, objetivou-se, nesse trabalho, avaliar a resistência de nove acessos de maracujazeiro-doce (sete acessos obtidos de população cultivada e dois silvestres) a virose do endurecimento dos frutos em condições controladas de campo e em casa-de-vegetação.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### Avaliação da virose em condições de campo

Os experimentos para avaliação de resistência ao vírus em condições de campo foram implantados conforme a metodologia descrita no capítulo anterior. O material genético utilizados na avaliação da virose são os mesmos materiais utilizados no capítulo anterior, (sete acessos obtidos de população cultivada e dois acessos silvestres) O experimento foi estabelecido em novembro de 2005, utilizando o delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições e seis plantas por parcela, totalizando 24 plantas por família de meio irmãos (FMI). As avaliações da infecção viral em plantas foram realizadas em dezembro de 2005, janeiro de 2006 e outubro de 2006 e outubro de 2006 (avaliação aleatória de folhas).

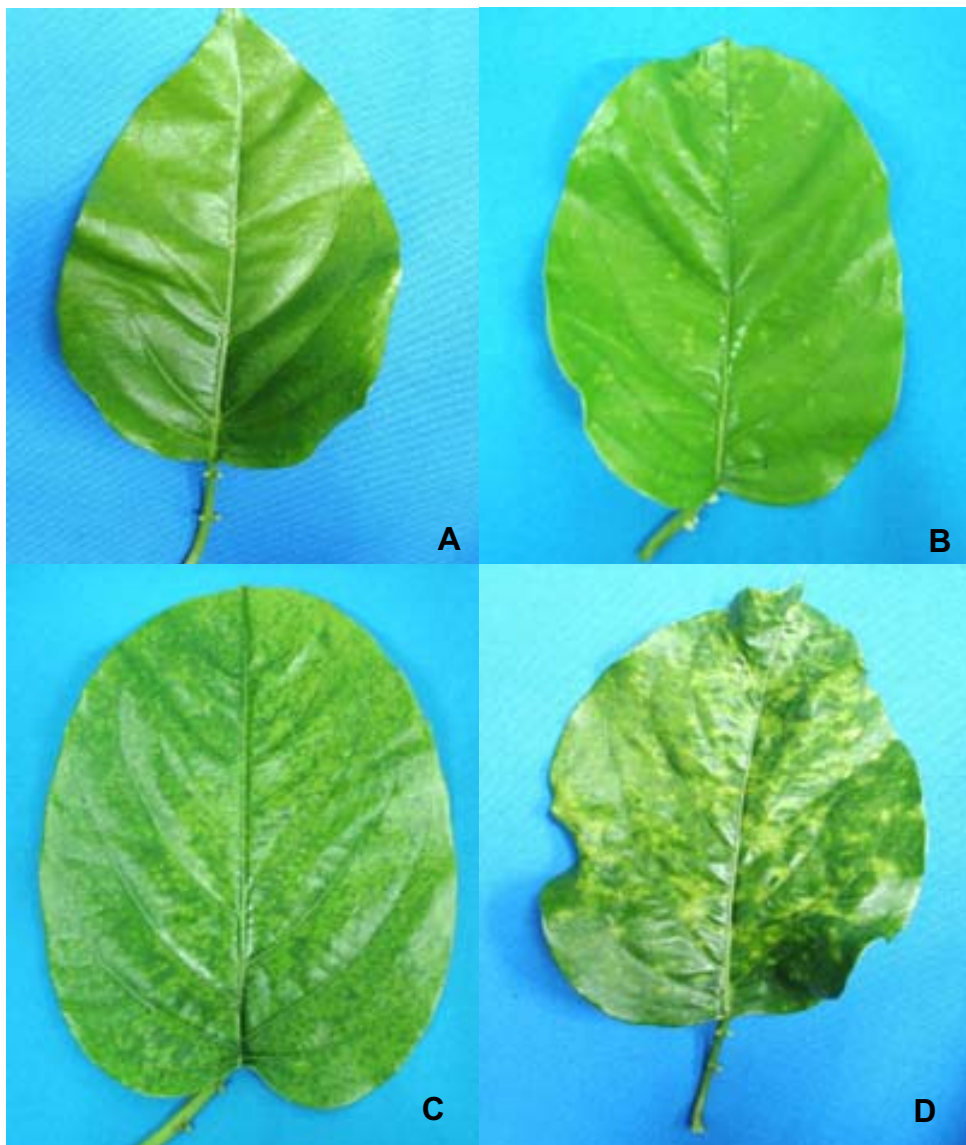
A leitura da expressão dos sintomas do vírus expressos na planta foi realizada através da escala de notas apresentada na tabela 3. Nas avaliações de outubro de 2006, também foi analisado 10 folhas por planta, coletadas aleatoriamente, colocadas em sacos de papel identificados e levadas ao laboratório para análise dos sintomas da infecção do vírus, que foram determinadas através da escala de notas apresentadas na Tabela 3.1.

**Tabela 3.** Escala de notas utilizadas para avaliação de virose em plantas de maracujazeiro doce, conforme proposto por JUNQUEIRA et al. (2003), com modificações. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

Nota	Sintomatologia Visual da Planta
1	Plantas sem sintomas de mosaico (Resistente –R)
2	Planta apresentando mosaico leve visível em menos de 50% das folhas (Medianamente Suscetível – MS)
3	Plantas com mosaico leve em todos os ramos (Suscetível – S)
4	Plantas cujas folhas apresentarem mosaico intenso, redução no tamanho ou deformações foliares e bolhas (Altamente suscetível - AS)

**Tabela 3.1.** Escala de notas utilizadas para avaliação da virose em folhas de maracujazeiro doce, conforme proposto por JUNQUEIRA et al. (2003) com modificações. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

Nota	Sintomatologia Visual da Folha
1	Folha sem sintoma de mosaico (Resistente –R)
2	Folha apresentando mosaico leve e sem deformações foliares (Medianamente Suscetível – MS)
3	Folha apresentando mosaico intenso (Suscetível – S)
4	Folha apresentando mosaico intenso, redução no tamanho, deformações, bolhas (Altamente suscetível - AS)



**Figura 3-** Escala de notas utilizada na avaliação do Vírus do Endurecimento dos Frutos, referenciados na tabela 3.1: A -nota 1, B –nota 2, C – nota 3, D – nota 4. Embrapa Cerrados/ UnB, Brasília, DF, 2008.

