

SÍLVIA PAULA DE OLIVEIRA

**DISSOMIA UNIPARENTAL EM HÍBRIDO INTERESPECÍFICO DE *Passiflora edulis*
x *Passiflora mucronata*, SEU POTENCIAL COMO PORTA-ENXERTO E RESISTÊNCIA A
FUSARIOSE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2019

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa

T

O48d
2019
Oliveira, Silvia Paula de, 1989-
Dissomia uniparental em híbrido interespecífico de *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata*, seu potencial como porta-enxerto e resistência a fusariose / Silvia Paula de Oliveira. - Viçosa, MG, 2019. xviii, 103f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Cláudio Horst Bruckner.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Maracujá - Melhoramento genético. 2. Dissomia Uniparental. 3. Hibridação. 4. Fusariose. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento. II. Título.

CDD 22 ed. 634.4252

SILVIA PAULA DE OLIVEIRA

DISSOMIA UNIPARENTAL EM HÍBRIDO INTERESPECÍFICO DE *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata*, SEU POTENCIAL COMO PORTA-ENXERTO E RESISTÊNCIA A FUSARIOSE.

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.


APROVADA: 27 de fevereiro de 2019.



Ana Claudia Costa



Wellington Ronaldo Clarindo



Eveline Teixeira Caixeta
(Coorientadora)



Oleno Espirino Pereira
(Coorientador)



Claudio Horst Bruckner
(Orientador)

*A Deus e minha mãe Maria
que sempre foram minha
força e amparo em todos os
momentos.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por seu imenso amor e misericórdia, sem o qual eu não seria capaz de completar essa jornada. Por iluminar meus caminhos e colocar diante dele todas as pessoas, provas e expiações pelas quais deveria passar para meu crescimento pessoal e profissional.

À minha mãe Maria por sempre estar ao meu lado dando todo apoio, força e paciência nos momentos em que me sentia fraca para continuar, minha companheira e conselheira.

Aos meus irmãos Liliane, Lilian e Cláudio, pela amizade e carinho. Aos meus sobrinhos Elaine, Wallacy e Isabella, que são minha alegria e meu orgulho a cada dia.

Ao orientador, professor Cláudio Horst Bruckner, pelos ensinamentos e oportunidades dadas a mim desde a graduação e agora na pós-graduação.

Aos coorientadores Carlos Eduardo Magalhães dos Santos e Olinto Liparini Pereira pela disponibilidade em apoiar o meu projeto e me orientar diante das dificuldades encontradas.

À coorientadora Eveline Teixeira Caixeta pelo apoio e por me ensinar a ter coragem mesmo nos momentos que achei que estava tudo perdido e ser meu exemplo em muitos momentos durante esse período.

À Rachel Soares Ramos que além de examinadora da minha banca de qualificação, ajudando a aprimorar ainda mais meus trabalhos foi uma grande amiga e conselheira durante essa etapa. E aos professores que participaram da banca de defesa Wellington Ronildo Clarindo e Ana Cláudia Costa pelas contribuições ao meu trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de cursar a graduação, Mestrado e o Doutorado nesta instituição e ao Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento.

Ao CNPq e à CAPES pela disponibilidade da bolsa para concessão do meu projeto.

Aos estagiários e colegas de trabalho Ana Carolina, Jocélia, Matheus, Rômulo e aos alunos de pós-graduação Wellington, Wellingson, Jussara, Gener, Denison, Gabriel, Edilson, Ana Cláudia, Valtânia pelo trabalho em equipe e a união que sempre existiu entre todos, e também pelos momentos de descontração, e pela amizade construída durante os anos de convivência.

Aos colegas do Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal, Andressa, Thais, Milene, Geísa, Renata, Marcelle, Victor, Vitor, Leonardo, Uilian, Tia Ivanete, pela

amizade e o companheirismo nas horas de trabalho. Ao Professor Márcio Henrique Pereira Barbosa pela parceria para o uso do laboratório.

Aos colegas do BioCafé, Alexsandra, Dênia, Denise, Rafael, Samila e Tiago, pelo apoio e ajuda nos momentos de dúvida perante as técnicas de biologia molecular e pela amizade construída durante essa etapa.

Ao Laboratório de Citogenética, em especial ao Professor Wellington Ronildo Clarindo e a Jessica pela disponibilidade em me auxiliar nas análises citogenéticas e pelo aprendizado compartilhado.

Ao Laboratório de Patologia de Sementes e de Pós-colheita, por permitir realizar meus trabalhos com fitopatologia e ao André Gomes pelo auxílio na realização dos mesmos.

A Micoteca da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), principalmente em nome da professora Leonarda Grillo Neves e Thalita Neves Marostega, por disponibilizarem os acessos da micoteca para realização deste trabalho.

Aos funcionários do Setor de Fruticultura por colaborar com meus trabalhos Sabino, Romário, Vicente, Ney, Sr, Geraldo, Hugo e todos que ajudaram de forma direta ou indireta na condução deste.

Ao Odilon e Marcos Túlio secretários do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento pelas orientações.

Às amigas de todas as horas Natália Macedo, Denise, Raíra, Giovanna, Jhenyfer, Daiane, que estiveram sempre ao meu lado, pelos conselhos, “puxões de orelha” e risadas.

À Michelle Lelis e Ana Flávia por me ajudarem no processo de conhecimento pessoal e enfrentamento dos momentos pelos quais passei.

Ao meu pequeno “sobrinho” João Pedro por ser minha alegria quando voltava para casa após um dia de UFV, por ser o sorriso que acalmava e dava forças a cada dia.

À “Galera do forró” pelos momentos de descontração e amizade.

Um agradecimento especial à minha família, que sempre foi e será a base de tudo, onde refoço minhas forças, recebo incentivo e amor incondicional e estímulos para correr em busca de todos os meus sonhos.

Por fim, a todos que direta ou indiretamente estiveram presentes nessa etapa e contribuíram para que ela fosse concluída. Sei que todos que passaram em minha vida durante esses 4 anos e meio foram essenciais ao meu crescimento e levarei cada um eternamente presentes em minha história.

Gratidão!

*“Já caí inúmeras vezes, achando que
não iria me reerguer, já me reergui inúmeras
vezes achando que não cairia mais.”*

Clarice Lispector

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	ix
LISTA DE TABELAS	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvii
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
Hibridação interespecífica em maracujazeiro.....	3
Uso de marcadores moleculares em maracujazeiro e citogenética.....	5
Fusariose em maracujazeiro	7
Propagação do maracujazeiro.....	8
Referências bibliográficas	11
CAPÍTULO 1	22
Dissomia uniparental em híbridos interespecíficos de <i>Passiflora edulis</i> x <i>Passiflora mucronata</i>	22
RESUMO	23
ABSTRACT	24
INTRODUÇÃO.....	24
MATERIAL E MÉTODOS.....	27
Material vegetal	27
Genótipo UFV-M7	28
Confirmação da aloploidia por meio da GISH.....	29
Confirmação da hibridação por meio de marcadores microsatélites (SSR).....	31
Mensuramento do conteúdo de DNA nuclear	33
Caracterização morfológica.....	33
RESULTADOS	34
Obtenção da população.....	34

Confirmação da alopoliploidia por meio da GISH.....	34
Confirmação da hibridação por meio de marcadores microssatélites (SSR).....	37
Mensuramento do conteúdo de DNA nuclear	38
Caracterização morfológica.....	40
DISCUSSÃO.....	43
CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
CAPITULO 2	55
Seleção de genótipos de maracujazeiro quanto a resistência a Fusariose.	55
RESUMO	56
ABSTRACT	57
INTRODUÇÃO.....	57
MATERIAL E MÉTODOS.....	60
Cultura monospórica	60
Material vegetal	60
Experimento 1	60
Experimento 2	62
RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
Experimento 1	63
Experimento 2	68
CONCLUSÃO.....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
CAPITULO 3	75
Número de folhas e AIB na estaquia caulinar de híbridos de <i>Passiflora edulis</i> x <i>Passiflora mucronata</i>	75
RESUMO	76
ABSTRACT	77

INTRODUÇÃO.....	77
MATERIAL E MÉTODOS.....	79
RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
CONCLUSÃO.....	87
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
CAPITULO 4	91
Potencial uso de maracujazeiro e híbrido <i>Passiflora edulis</i> x <i>Passiflora mucronata</i> como porta-enxerto.....	91
RESUMO	92
ABSTRACT	92
INTRODUÇÃO.....	93
MATERIAL E MÉTODOS.....	94
RESULTADOS E DISCUSSÃO	96
CONCLUSÃO.....	99
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
CONCLUSÃO GERAL	103

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1: Linha cronológica dos principais marcadores moleculares utilizados no gênero *Passiflora*. Fonte: Adaptado de Cerqueira-Silva et al. (2014a). RFLP – Restriction Fragment Length Polymorphism; PCR – Polymerase Chain Reaction; SSR – Simple Sequence Repeat; RGA – Resistance Genes Analogs; AFLP – Amplified Fragment Length Polymorphism; ISSR – Inter-simple Sequence Repeats; RAPD - Random Amplified Polymorphic DNA; SNP – Single Nucleotide Polymorphism 5

CAPÍTULO 1

Figura 1. Caracterização dos genitores *P. edulis* (UFV-M7) e *P. mucronata* e das sementes do possível Híbrido F1. A) Botão floral de *P. edulis*; B) Flor em antese de *P. edulis*; C) Fruto de *P. edulis*; D) Botão floral de *P. mucronata*; E) Flor em antese de *P. mucronata*; F) Fruto de *P. mucronata*; F) Sementes dos frutos de *P. edulis*, *P. mucronata* e do possível Híbrido F1 (*P. edulis* x *P. mucronata*)..... 27

Figura 2. Cariogramas das metáfases mitóticas em genitores e possíveis híbridos interespecíficos de *P. edulis* x *P. mucronata*. A: Cariograma da espécie *P. edulis*, B: Cariograma da espécie *P. mucronata*, C: Cariograma do híbrido 3, D: Cariograma do híbrido 5, E: Retrato de família. Os números indicam os pares cromossômicos (9 pares cromossômicos) 36

Figura 3. Produtos de amplificação de amostras de DNA genômico dos genitores femininos (*P. edulis* UFV-M7), genitores masculinos (*P. mucronata*) e possíveis F₁ (*P. edulis* x *P. mucronata*). *Primer* PE18 38

Figura 4. Histogramas representativos da análise via citometria de fluxo de Mensuramento do conteúdo de DNA nuclear 2C. **A:** Pico dos núcleos em G₀/G₁ de *P. mucronata*. **B:** Pico dos núcleos em G₀/G₁ de *P. edulis* e do padrão interno *P. sativum*. **C:** Pico dos núcleos em G₀/G₁ de um dos possíveis híbridos *P. edulis* x *P. mucronata* e do padrão interno *P. sativum* 39

Figura 5. Dendrograma mostrando o agrupamento de um genótipo de *P. edulis*, doze genótipos de *P. mucronata*, e nove possíveis híbridos provenientes dos cruzamentos entre os genótipos de *P. edulis* e os genótipos de *P. mucronata* com base nos descritores morfológicos foliares. Método de agrupamento – Ligação média entre grupos (UPGMA) 41

CAPÍTULO 2

Figura 1: Montagem do experimento 1, inoculação de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* via suspensão. A) Plantas com as raízes cortadas e imersas em 250 ml de suspensão de conídios, por 24 horas; B) Potes para transferência das plantas com solução nutritiva; C) Transferência, após 24 horas..... 61

Figura 2: Montagem do experimento 2 (Testemunha), inoculação de *Fusarium solani*. A) Discos de meio SNA; B) Pequeno ferimento no colo da planta; C) Inserção do disco do meio de cultura; D) Fixação com auxílio de plástico tipo PVC..... 62

Figura 3: Imagem registrando os primeiros sintomas de amarelecimento e podridão das raízes após a inoculação de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* via suspensão. A) Início do amarelecimento aos 18 DAI, B) Formação de gel na solução nutritiva; C) Desenvolvimento de novas raízes adventícias e necrose das raízes velhas.66

Figura 4: Plantas após 50 DAI de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* via suspensão, foco nas raízes e corte transversal da região do colo. A) Testemunha não inoculada, BRS Sol do Cerrado; B) *P. mucronata* inoculado com FOP06; C) S₃ de M7-UFV inoculado com FOP 06; D) Possível híbrido inoculado com FOP06..... 67

Figura 5: Plantas 50 DAI de *Fusarium solani*, genótipos BRS Sol do Cerrado, *P. mucronata*, M7-UFV e possível híbrido, respectivamente para cada inoculo. A) Testemunha; B) Inóculo FS12; C) Inóculo FS13; D) Inóculo FS17..... 70

CAPÍTULO 3

Figura 1. Percentagem de enraizamento, de estacas de *P. edulis* x *P. mucronata*, tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) com uma ou duas folhas por estacas..... 81

Figura 2. Percentagem de mortalidade, de estacas de *P. edulis* x *P. mucronata*, tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) com uma ou duas folhas por estacas..... 83

Figura 3. Percentagem de retenção foliar, de estacas de *P. edulis* x *P. mucronata*, tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) com uma ou duas folhas por estacas..... 84

Figura 4. Número de raízes, de estacas de *P. edulis* x *P. mucronata*, tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) com uma ou duas folhas por estacas..... 84

Figura 5. Comprimento de raiz (cm), de estacas de *P. edulis* x *P. mucronata*, tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) com uma ou duas folhas por estacas..... 85

Figura 6. Percentagem de estacas vivas sem raiz, de estacas de *P. edulis* x *P. mucronata*, tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) com uma (1) ou duas folhas (2) por estacas..... 86

CAPÍTULO 4

Figura 1. Processo de realização de enxertia em fenda cheia em maracujazeiro. A) Realização da toilet, B) Corte transversal na altura de realização da enxertia; C) Fenda perpendicular no porta-enxerto; D) Inserção do garfo de bisel duplo e E) Amarração com clips de enxertia..... 95

Figura 2. Gráfico de barras com a percentagem final de pegamento dos enxertos, 90 dias após a enxertia 96

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Código do loco e sequência de bases dos 26 pares de primers SSR desenhados para *P. edulis* f. *flavicarpa*, tamanho do alelo e temperatura de anelamento (TA)..... 31

Tabela 2. Comportamento dos primers nos genótipos de *P. edulis*, *P. mucronata*, e híbridos oriundos dos cruzamentos entre *P. edulis* x *P. mucronata*. Indicando a presença ou ausência de bandas e polimorfismo 37

Tabela 3. Médias dos valores 2C nuclear determinadas por citometria de fluxo de um genótipo de *P. edulis* (UFV-M7), um genótipo de *P. mucronata*, e dos nove prováveis híbridos *P. edulis* x *P. Mucronata*..... 39

Tabela 4: Análise de variância e estimativas de parâmetros genéticos dos descritores: CF – Comprimento foliar, DF – Diâmetro foliar, CP – Comprimento do pecíolo, DP – Diâmetro do pecíolo, DC – Diâmetro do caule, DR – Diâmetro do ramo em possíveis híbridos entre *P. edulis* e *P. mucronata* e seus parentais 40

Tabela 5. Médias e desvio-padrão dos descritores morfológicos foliares em um genótipo de *P. edulis*, doze genótipos de *P. mucronata*, e nove possíveis híbridos oriundos dos cruzamentos entre *P. edulis* e *P. mucronata* 42

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Análise de variância e estimativas de parâmetros das características avaliadas no experimento 1 (inoculação de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* via suspensão): número de folhas (NF), número de brotos (NB), comprimento da parte aérea (CPA), número de raízes (NR), comprimento de raízes (CR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa fresca de raiz (MFR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR)..... 64

Tabela 2. Médias das características avaliadas no experimento 1 (inoculação de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* via suspensão) nos genótipos avaliados em relação aos isolados..... 65

Tabela 3. Análise de variância e estimativas de parâmetros das características avaliadas no experimento 2 (inoculação de *Fusarium solani*): número de folhas (NF), número de brotos (NB), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento de raízes (CR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa fresca de raiz (MFR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR)..... 69

Tabela 4. Médias das características avaliadas no experimento 2 (inoculação de *Fusarium solani*) nos genótipos avaliados em relação aos isolados..... 69

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Análise de variância do efeito das diferentes concentrações de AIB e número de folhas em estacas do híbrido de *P. edulis* x *P. mucronata* nas variáveis: ERN - % de enraizamento, CALO - % de plantas com calo, VSR - % de plantas vivas sem raiz, MORTAS - % de mortalidade, BROTOS - % de plantas com brotações, RF - % de retenção foliar, NR – Numero de raízes, CR - Comprimento das raízes..... 82

CAPÍTULO 4

Tabela 1. Análise de variância e estimativas de parâmetros genéticos em porta-enxertos de maracujazeiro. DCB - diâmetro de caule abaixo do enxerto; DCE - diâmetro do caule na região do enxerto; DCC - diâmetro do caule acima do enxerto; AE - altura do ponto de enxerto para o ápice; NF - número de folhas do enxerto..... 97

Tabela 2. Médias e desvio-padrão de plantas de maracujazeiro-amarelo enxertadas sobre *P. edulis*/UFV-M7, *P. edulis*/*P. mucronata*, *P. edulis*/Híbrido e *P. edulis*/BRS Sol do Cerrado..... 98

RESUMO

OLIVEIRA, Sílvia Paula de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2019. **Dissomia uniparental em híbrido interespecífico de *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata*, seu potencial como porta-enxerto e resistência a fusariose.** Orientador: Cláudio Horst Bruckner. Coorientadores: Carlos Eduardo Magalhães dos Santos, Olinto Liparini Pereira e Eveline Teixeira Caixeta.

O Brasil é o maior produtor de maracujá do mundo, sendo seus pomares formados principalmente por sementes, o que propicia grande variabilidade genética e desuniformidade. Visando maior uniformidade, assim como a manutenção do material e uso de espécies silvestres e híbridos como fonte de resistência e/ou rusticidade, o uso de propagação vegetativa como estaquia e enxertia pode ser constantemente visto na literatura em diferentes estudos. As espécies de *Passiflora* e seus híbridos são atraentes por suas características exóticas, adaptabilidade natural, potencial de resistência de algumas espécies silvestres e variabilidade genética inter e intraespecífica; existindo espécies de *Passiflora* que se demonstram resistentes a doenças que ocorrem no maracujazeiro tornando-se necessário estudos sobre o uso da enxertia nessas espécies para o uso de tais características. Assim, este trabalho teve como objetivo: realizar a confirmação de híbridos interespecíficos de *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata*; selecionar os genótipos de maracujazeiro quanto à resistência a Fusariose; avaliar a influência do número de folhas e da aplicação de AIB (Ácido Indolbutírico) na estaquia caulinar dos híbridos; e analisar o potencial uso do maracujazeiro e do híbrido interespecífico como porta-enxerto. O presente trabalho visou avaliar as progênies oriundas de cruzamentos interespecíficos entre *P. edulis* x *P. mucronata*, bem como seu potencial uso como porta-enxerto resistente a Fusariose. O trabalho é constituído de quatro capítulos, com o primeiro abordando a caracterização morfológica, mensuração do conteúdo de DNA nuclear, confirmação da hibridação por meio de marcadores microssatélites (SSR) e confirmação da alopoliploidia por meio da hibridização genômica *in situ* (GISH). O segundo capítulo abrange a avaliação quanto à resistência a Fusariose. O terceiro capítulo trata dos testes de enraizamento de estacas caulinares dos híbridos com estacas com uma e duas folhas reduzidas à metade, ambas submetidas à aplicação de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (0, 500, 1000, 1500 e 2000 mg L⁻¹ AIB). E o quarto capítulo versa sobre a viabilidade da enxertia e o desenvolvimento inicial de maracujazeiro-azedo (*P. edulis*) enxertado sobre espécie silvestre *P. mucronata*, híbridos e *P. edulis* UFV-M7. Os resultados obtidos demonstram que os cromossomos dos possíveis híbridos apresentam apenas material paterno. O que é confirmado por meio dos marcadores SSR. Por meio destes, é possível inferir que não houve duplicação do

material genético dos pais, pois em alguns *primers* os híbridos se apresentam em heterozigose. As plantas avaliadas não sofreram alterações em sua ploidia, segundo a análise do conteúdo de DNA. Por fim, morfologicamente, os híbridos apresentam as mesmas características dos genitores paternos (*P. mucronata*) e apresentam esterilidade. Apresentando dissomia uniparental com eliminação seletiva dos cromossomos maternos. As plantas inoculadas com *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* apresentaram um mecanismo de defesa dos genótipos *P. mucronata* e M7-UFV, por meio da formação de géis e novas raízes adventícias que podem auxiliar em sua sobrevivência. Além disso, constatou-se que os possíveis híbridos foram suscetíveis, fato esse dado pela baixa produção de raízes das estacas. Os resultados obtidos pelas inoculações de *F. solani* não permitiram identificar fatores de resistência ou suscetibilidade, pois os tratamentos inoculados não diferiram das testemunhas. O uso de AIB foi significativo apenas nas variáveis número de raízes e percentagem de estacas vivas sem raiz. As estacas com uma folha e com a aplicação de AIB na concentração de 2000 mg L⁻¹ promoveram a maior percentagem de enraizamento. Assim, nas condições estudadas, o uso de AIB foi indispensável para produção de estacas. A percentagem de pegamento da enxertia foi de 100% para as combinações *P. edulis*/UFV-M7 e *P. edulis*/BRS Sol do Cerrado, já as combinações *P. edulis*/*P. mucronata* e *P. edulis*/Híbrido apresentaram menor pegamento. O maior diâmetro do enxerto foi apresentado por *P. edulis*/UFV-M7 e *P. edulis*/BRS Sol do Cerrado, indicando maior compatibilidade de enxertia dentro da mesma espécie.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Sílvia Paula de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2019. **Uniparental disomy in interspecific hybrid of *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata*, its potential as rootstock and resistance to fusariosis.** Adviser: Cláudio Horst Bruckner. Co-advisers: Carlos Eduardo Magalhães dos Santos, Olinto Liparini Pereira and Eveline Teixeira Caixeta.

Brazil is the largest producer of passion fruit in the world, with its orchards mainly composed of seeds, which provides great genetic variability and unevenness. Aiming for greater uniformity, as well as the maintenance of the material and use of wild and hybrid species as a source of resistance and/or rusticity, the use of vegetative propagation such as cutting and grafting can be constantly seen in the literature in different studies. *Passiflora* species and their hybrids are attractive because of their exotic characteristics, natural adaptability, resistance potential of some wild species and inter and intraspecific genetic variability; there are *Passiflora* species that are resistant to diseases that occur in passion fruit, making it necessary to study the use of grafting in these species for the use of such characteristics. Thus, this work had as objective: to carry out the confirmation of interspecific hybrids of *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata*; to select the passion fruit genotypes for resistance to Fusarium; to evaluate the influence of the number of leaves and the application of IBA (Indolbutyric Acid) on the stem cutting of the hybrids; and to analyze the potential use of passion fruit and interspecific hybrid as rootstock. The present work aimed to evaluate the progenies from interspecific crosses between *P. edulis* and *P. mucronata*, as well as their potential use as rootstock resistant to Fusariosis. The work consists of four chapters, the first one dealing with morphological characterization, measurement of nuclear DNA content, confirmation of hybridization by microsatellite markers (SSR) and confirmation of allopolyploidy by genomic in situ hybridization (GISH). The second chapter covers the evaluation of Fusarium resistance. The third chapter deals with the tests of rooting stem cuttings of the hybrids with cuttings with one and two leaves reduced by half, both submitted to the application of different concentrations of indolebutyric acid (0, 500, 1000, 1500 and 2000 mg L⁻¹ AIB). And the fourth chapter deals with the viability of grafting and the initial development of passion fruit sour (*P. edulis*) grafted on wild species *P. mucronata*, hybrids and *P. edulis* UFV-M7. The results obtained show that the chromosomes of the possible hybrids present only paternal material. This is confirmed through the SSR markers. By means of these, it is possible to infer that there was no duplication of the genetic material of the parents, because in some primers hybrids present in heterozygosis. The evaluated plants did not undergo changes in their ploidy, according to the analysis of the

DNA content. Finally, morphologically, the hybrids have the same characteristics of the paternal parents (*P. mucronata*) and present sterility. Presenting uniparental disomy with selective elimination of the maternal chromosomes. Plants inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* presented a mechanism of defense of the genotypes *P. mucronata* and M7-UFV, through the formation of gels and new adventitious roots that can aid in its survival. In addition, it was verified that the possible hybrids were susceptible, fact given by the low production of roots of the cuttings. The results obtained by the inoculations of *F. solani* did not allow the identification of resistance or susceptibility factors, since the treatments inoculated did not differ from the controls. The use of AIB was significant only in the number of roots and percentage of live cuttings without roots. The cuttings with a leaf and with the application of AIB in the concentration of 2000 mg L⁻¹ promoted the greater percentage of rooting. Thus, under the conditions studied, the use of AIB was indispensable for the production of cuttings. The percentage of grafting glue was 100% for the combinations *P. edulis*/UFV-M7 and *P. edulis*/BRS Sol do Cerrado, already the combinations *P. edulis*/*P. mucronata* and *P. edulis*/Hybrid presented smaller glue. The largest diameter of the graft was presented by *P. edulis*/UFV-M7 and *P. edulis*/BRS Sol do Cerrado, indicating greater compatibility of grafting within the same species.

INTRODUÇÃO GERAL

A família Passifloraceae apresenta grande diversidade genética, ainda pouco explorada, em virtude do elevado número de gêneros e espécies que a compõe (Feuillet e MacDougal, 2004). *Passiflora* é o gênero mais importante desta família, com cerca de 576 espécies, as quais apresentam interesse ornamental, farmacêutico, nutricional e industrial (Yockteng et al., 2011).

Atualmente, a Colômbia é o país com a maior diversidade desse gênero com 171 espécies (Ocampo et al., 2010), seguido do Brasil onde são encontradas 150 espécies de *Passiflora*, sendo 87 endêmicas. O Brasil é considerado uma fonte germoplasma com grande diversidade e muito importante para o melhoramento genético do gênero *Passiflora* (Bernacci et al., 2015).

Essa elevada diversidade genética do maracujazeiro pode ser explicada devido a maioria das espécies serem alógamas e autoincompatíveis, o que favorece a polinização cruzada e o fluxo gênico entre diferentes genótipos da mesma espécie ou de espécies diferentes (Ganga et al., 2004).

As espécies de *Passiflora* e seus híbridos são atraentes por suas características exóticas como: flores únicas, com filamentos de coroa coloridos, por sua morfologia diversa, androginóforo proeminente, nectário elaborado, sépalas coloridas, folhagem exuberante e frutos comestíveis, além da sua adaptabilidade natural e variabilidade genética inter e intraespecífica (Calevo et al., 2016). Segundo Junqueira et al. (2005), fatores como a ocorrência de pragas e patógenos, tais como fungos, bactérias e vírus, influenciam a produtividade do maracujazeiro. As doenças fúngicas, principalmente as causadas por Fusariose, são as que mais afetam o maracujazeiro, causando danos desde a fase de sementeira até a fase adulta, afetando não somente a parte aérea (flores, folhas, frutos e caules), mas também o sistema radicular (Santos Filho e Santos, 2003). Por outro lado, a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*), segundo Souza (2005), é uma doença que causa danos de pós-colheita.

No que se refere às doenças bacterianas mais conhecidas no maracujazeiro, destacam-se o cancro-bacteriano (*Xanthomonas campestris* pv. *Passiflorae*) e a murcha e podridão de raízes (*Ralstonia solanacearum*) (Santos Filho e Santos, 2003). Já as doenças virais encontradas no maracujazeiro podem ser exemplificadas a partir de seus três tipos principais: o endurecimento do fruto, o mosaico e o mosaico-amarelo, os quais são causados por CABMV (*Cowpea aphid-borne mosaic virus*), CMV (*Cucumber mosaic virus*) e PYMV (*Passion fruit*

yellow virus), respectivamente (Barbosa e Santos Filho, 2003). Além de fungos, bactérias e vírus, os nematoides das espécies de *Meloidogyne* e *Rotylenchulus reniformis* representam importantes agentes causais de perdas econômicas na cultura do maracujazeiro, e podem estar ligados com os demais patógenos citados, causando limitações de produção dos frutos e redução na longevidade da planta (Sharma et al., 2004).

Diferentes estudos comprovam que na cultura do maracujazeiro há possíveis fontes de resistência à bacteriose e antracnose em acessos de *P. edulis*. As espécies silvestres *P. suberosa*, *P. alata*, *P. coccínea*, *P. gibertii* e *P. setacea*, apresentam resistência à morte prematura de plantas (Silva et al., 2013) e em *P. actinia*, *P. setacea* e *P. coccinea* para resistência a viroses. *P. odontophylla*, *P. gibertii*, *P. caerulea*, *P. actinia* e *P. mucronata* são fontes de resistência à bacteriose e *P. serrato-digitata*, *P. gibertii*, *P. coccinea*, *P. actinia*, *P. setacea*, *P. mucronata*, *P. nitida* e *P. caerulea* à antracnose (Oliveira et al., 2009; Faleiro e Junqueira, 2005, Faleiro et al., 2011).

Atualmente, na fruticultura, o uso de mudas com alto padrão de qualidade genética e sanitária são relevantes para a formação dos pomares. Assim, diversos trabalhos têm demonstrado a importância da escolha de porta-enxertos, para uso na transferência dessas características no campo e também por sua influência no vigor da planta, qualidade do fruto e na produtividade (Ribas et al., 2007; Rocha et al., 2007; Picolotto et al., 2009; Schimitz et al., 2012).

Portanto, este trabalho teve como objetivos: realizar a confirmação da condição homoploide dos possíveis híbridos interespecíficos de *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata*; selecionar os genótipos de maracujazeiro quanto à resistência à Fusariose; avaliar a influência do número de folhas e da aplicação de AIB na estaquia caulinar de híbridos de *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata*; analisar o potencial uso do maracujazeiro e do possível híbrido interespecífico como porta-enxerto.

REFERENCIAL TEÓRICO

Hibridação interespecífica em maracujazeiro

Várias pesquisas no Brasil e no mundo vêm buscando soluções no melhoramento genético por meio da geração de genótipos e híbridos com maior resistência às doenças do maracujazeiro. A hibridação é um método utilizado para transferir características desejáveis entre plantas de potencial, visando lançar variedades que atendam às necessidades do produtor. A hibridação ocorre pela fusão de células reprodutivas geneticamente diferentes, gerando híbridos heterozigóticos, para um ou mais locos (Borém e Miranda, 2013). A denominação híbrido intraespecífico e interespecífico caracteriza, respectivamente, ao cruzamento que ocorre entre a mesma espécie e aqueles que envolvem espécies diferentes.

As hibridações em maracujazeiro, podem ser usadas para melhoria física, química ou sensorial de alguma espécie de interesse para o mercado consumidor (Junqueira et al., 2008). Também segundo os autores, as hibridações podem ser empregadas para a conservação de germoplasma silvestre de difícil manutenção em Bancos de Germoplasma ou em Coleções por serem altamente suscetíveis a doenças e pragas ou ao frio, além de apresentarem potencial ornamental. As espécies silvestres de *Passiflora* constituem um potencial recurso genético para o melhoramento das espécies cultivadas. Tais espécies possuem genes relacionados à adaptação, como tolerância à seca, inundações, calor e frio, ou resistência a pragas e doenças (Yockteng et al., 2011).

De acordo com Fischer (2004), mais de 500 híbridos já foram produzidos artificialmente em *Passiflora*, confirmando a facilidade de hibridação. Tais estudos de compatibilidade interespecífica em *Passiflora* forneceram informações valiosas sobre a compatibilidade cruzada de algumas espécies com valor ornamental e qualidade do fruto (Abreu et al., 2009; Cerqueira-Silva et al., 2014a).

Das hibridações bem-sucedidas na literatura pode-se citar: *P. racemosa* Brot x *P. caerulea* (Sabine 1822, Kugler e Wetschnig, 1991); *P. caerulea* x *P. incarnata* L., *P. alata* x *P. caerulea* e *P. alata* x *P. quadrangularis* (Darwin, 1876); *P. edulis* f. *edulis* x *P. edulis* f. *flavicarpa* (Knight, 1972); *P. edulis* f. *edulis* 'Kahuna' x *P. edulis* f. *flavicarpa* (Knight, 1973); *P. incarnata* e *P. cincinnata*, (Knight, 1973); *P. edulis* x *P. caerulea* (King, 2000); *P. gilbertiana*

J.M. MacDougal x *P. jorullensis* H. B. K (Vanderplank 2000); *Passiflora* «Albo-nigra», *P. «Amethyst»*, *P. «Estrela de Bristol»*, *P. «Estrela de Kingston»* e outros híbridos os quais são comercializados e utilizados na decoração de estufas americanas e europeias (Vanderplank 2000, Ulmer e MacDougal 2004); *P. sublancoolata* x *P. foetida*, e *P. gardneri* x *P. gibertii* (Ulmer e MacDougal, 2004); e *P. edulis* x *P. cincinnata* (Coelho et al., 2016).

Em Queensland, *P. edulis* foi cruzado com *P. incarnata* (Kajewski, 1941) produzindo híbridos altamente estéreis, o que também foi confirmado por Knight (1991), que realizaram duplicações de cromossomo para restaurar a fertilidade parcial. Resultados contrários para o mesmo cruzamento foram citados por Beal (1972, 1975), que produziu alguns híbridos férteis. Outro híbrido estéril foi produzido por Beckett (1960) entre *P. quadrangularis* e *P. racemosa* (denominada *P. x caponii*), cujas plantas foram triploides altamente estéreis.

Apesar da relativa facilidade em realizar cruzamento interespecíficos, a compatibilidade entre os cruzamentos pode ser variável em consequências das diferenças no número de cromossomos, tamanho do genoma, relação filogenética (distância taxonômica entre as espécies), morfologia floral e fatores ecológicos, que podem interferir na formação do fruto (Bugallo et al., 2011, Rego et al., 1999, Van Tuyl e De Jeu, 1997). Existem barreiras pré e pós-zigóticas que impedem a hibridação (Brandvain e Haig, 2005). Essas barreiras ocorrem em três etapas: durante a fertilização, na formação de embriões e no desenvolvimento dos frutos (Brandvain e Haig, 2005). Exemplos de barreiras presentes em cruzamentos, foram relatados em cruzamentos com *P. foetida*, com $2n = 20$ cromossomos quando cruzada com outras espécies ($2n = 18$ cromossomos). Escobar (1985) obteve sementes de tamanho variável nos frutos do cruzamento entre *P. manicata* x *P. molissima*. Resultados semelhantes foram encontrados por Payan e Martin (1975), Bugallo et al. (2011) e Conceição et al. (2011), os quais indicaram que a segunda barreira à hibridação na *Passiflora* é o aborto da semente. Segundo Kinoshita (2007), a última barreira encontrada está relacionada à formação de embriões, causando aborto embrionário e baixa germinação, que podem ocorrer por um erro no desenvolvimento do endosperma ou embrião, incompatibilidade embrião-endosperma ou dormência das sementes.

A obtenção de híbridos em *Passiflora* é uma técnica recentemente adotada, sendo pouco o conhecimento sobre o comportamento produtivo e a qualidade de frutos deste tipo de material (Freitas et al., 2012), havendo a necessidade de pesquisas para liberação de cultivares que combinem essas características com a resistência (Faleiro et al., 2011, Faleiro et al., 2005, Junqueira et al., 2003).

Uso de marcadores moleculares em maracujazeiro e citogenética

A utilização de marcadores moleculares aprimorou os trabalhos de melhoramento, ampliando as metodologias, número e a acurácia na seleção das características, minimizando o tempo gasto para o melhoramento (Cerqueira-Silva et al., 2014a). O uso de marcadores moleculares teve seu marco inicial em 1959, quando Markert e Moller (1959) introduziram o conceito de isoenzimas e aplicaram seu protocolo em trabalhos de variabilidade, dispersão, evolução e análises filogênicas. Iniciaram-se, assim, as pesquisas para obtenção de novas técnicas com marcadores moleculares e sua utilização em planta e animais. Em maracujá, o primeiro registro foi em 1998 com uso de marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), este último foi utilizado para avaliar a diversidade entre 52 acessos de 14 espécies de maracujá (Fajardo et al., 1998). A partir de então novas técnicas vêm sendo utilizadas para os mais diversos fins (Figura 1).

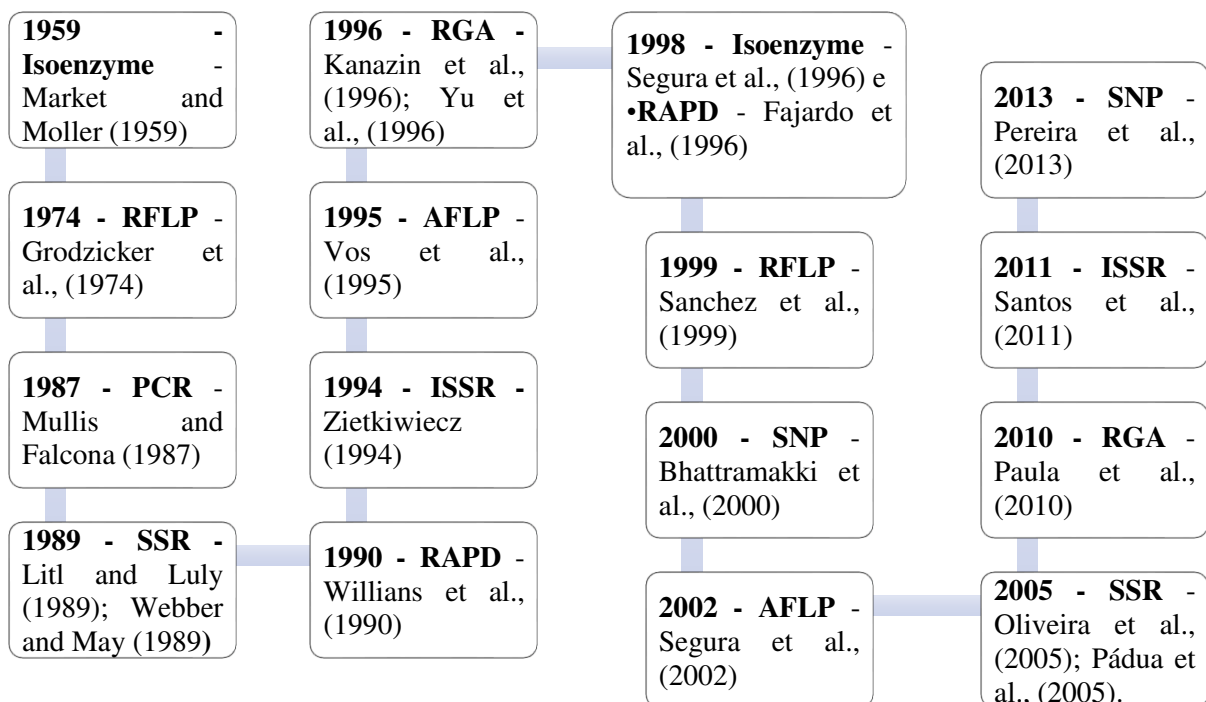


Figura 1: Linha cronológica dos principais marcadores moleculares utilizados no gênero *Passiflora*. Fonte: Adaptado de Cerqueira-Silva et al. (2014a). RFLP – Restriction Fragment Length Polymorphism; PCR – Polymerase Chain Reaction; SSR – Simple Sequence Repeat; RGA – Resistance Genes Analogs; AFLP – Amplified Fragment Length Polymorphism; ISSR – Inter-simple Sequence Repeats; RAPD - Random Amplified Polymorphic DNA; SNP – Single Nucleotide Polymorphism.

Nos últimos anos, trabalhos de diversidade genética e adaptações de protocolos para melhor extração de DNA em espécies como *P. foetida* (Bellon et al., 2014; Lade et al., 2014) e uso de marcadores RAPD foram realizados. Isso ocorre pelo fato da técnica de RAPD empregar *primers* de sequência arbitrária, não necessitando de um conhecimento genético prévio da espécie, além de ter baixo custo, facilidade e rapidez de uso e demandar baixa quantidade de DNA nas análises, podendo ser utilizado em espécies com pequena população ou aquelas em extinção (Lacerda et al., 2002). Sua capacidade de detectar polimorfismo de forma simples e rápida e sua eficiência em identificar marcadores mais proximamente ligados permite utilizá-lo em *fingerprinting*, na distinção de espécies ou clones e no mapeamento de regiões com sequências repetitivas (Brammer, 2000).

Importante ressaltar que os marcadores moleculares RAPD são de caráter dominante, o que impossibilita seu uso para estudos genéticos que necessitam da avaliação de heterozigotos, pois locos heterozigotos e homozigotos dominantes não são diferenciados na amplificação do gel. Outra desvantagem apresentada é a baixa repetibilidade da técnica (Lacerda et al., 2002).

Assim como o RAPD, o marcador molecular de repetições de sequência inter-simples (ISSR) também não necessita do conhecimento prévio da sequência do *primer*, é tipicamente neutro e apresenta caráter dominante, sendo capaz de amplificar vários locos (em média 7 locos). Ao contrário dos marcadores RAPD, os ISSRs são altamente reprodutíveis e bastante informativos. Em maracujazeiro, estão sendo empregados em estudos de diversidade genética (Carmo et al., 2017; Pereira et al., 2015).

Em contrapartida, os microssatélites (SSR – Sequência Simples Repetida) possuem caráter codominante, constituem-se de pequenas sequências de pares de base, identificando apenas um loco no genoma, necessitando do conhecimento prévio da sequência do *primer*. São os marcadores mais polimórficos, com alta taxa de mutação e são multialélicos (Brammer, 2000).

Estes têm sido introduzidos nos trabalhos com maracujazeiro, em estudos de diversidade genética (Silva et al., 2014; Bernal-Parra et al., 2014), amplificação cruzada de *primers* pré-estabelecidos para *P. edulis*, *P. alata* e *P. cincinnata* em espécies silvestres de maracujá (Silva et al., 2014; Cerqueira-Silva et al., 2014b; Cerqueira-Silva et al., 2014c) e genotipagem de híbridos e parentais (Matheri et al., 2016).

Outra técnica que vem sendo amplamente utilizada para a identificação de híbridos é a hibridização genômica *in situ* (GISH), que envolve o uso do DNA genômico total de uma espécie como sonda (Stace e Bailey, 1999), possibilitando a observação dos respectivos

genomas de cada espécie progenitora no cariótipo do híbrido. Essa estratégia permite também analisar se a recombinação cromossômica está ocorrendo em diferentes gerações da progênie híbrida (Silva e Souza, 2013; Türkösi et al., 2016). Este método é eficiente para identificação de híbridos, pois permite a determinação da origem cromossômica, mesmo sem conhecimento prévio da morfologia dos cromossomos (Marasek et al., 2004; Silva e Souza, 2013), permitindo também a observação de recombinação ou alterações entre diferentes genomas (Lim et al., 2004). A falta de informação em relação à aplicação de técnicas citogenéticas moleculares em maracujá resulta em um limitado conhecimento da variação cariotípica de sítios específicos em espécies do gênero (Melo e Guerra, 2003; Viana e Souza, 2012).

Fusariose em maracujazeiro

Entre os fitopatógenos de solo que comprometem o desenvolvimento do maracujazeiro, *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* têm ocasionado grandes danos na cultura, por provocar a morte das plantas e redução da vida útil dos pomares (Silva et al., 2011a).

Ambos patógenos são associados à morte prematura do maracujazeiro, sendo *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* designado na literatura como agente causal da murcha em maracujazeiro (Liberato, 2002; Manicom et al., 2003) e murcha ou fusariose (Viana et al., 2003; Santos Filho e Santos, 2003). *F. solani* está relacionado às doenças de podridão do colo (Liberato, 2002), morte súbita (Ploetz, 1991), murcha súbita, podridão de colo, cancro da coroa (crown canker) e podridão da base (Manicom et al., 2003).

A infecção de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* se dá pela penetração do patógeno nas raízes via ferimentos, causados principalmente por nematoides ou por implementos agrícolas (Liberato e Costa, 2001). A murcha do maracujazeiro inicia-se com o murchamento dos ramos ponteiros, que pode ocorrer em qualquer época do ano ou ciclo da planta, sendo mais comum a partir do primeiro ano (Santos Filho e Santos, 2003). A murcha da planta é a consequência do bloqueio dos vasos do xilema.

No caso de *F. solani*, a infecção pode ocorrer via raiz ou colo. Com a evolução da doença, há o escurecimento da lesão na casca e o tecido esfacela-se, desprendendo-se do câmbio. Ocorre a destruição dos vasos, tanto na região do colo quanto nas raízes, o que causa os sintomas reflexos de murcha, amarelecimento e seca da folhagem (Viana et al., 2003).

O uso de porta-enxertos resistentes aos patógenos responsáveis pela morte prematura tem sido citado por diversos autores como alternativa para o controle da doença. Contudo, o alcance dessa medida depende de seleção baseada em condições controladas e compatibilidade entre os materiais a serem enxertados. Ssekyewa et al. (1999) relataram resistência parcial de *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. maliformis* contra *P. solani*. No entanto, em outros trabalhos, observaram-se resistência em *P. maliformis* (Fischer et al., 2010) para *P. solani*. A avaliação da resistência de *P. alata* quando comparado a *P. edulis* f. *flavicarpa* foi observada por São José et al. (2000) e Cavichioli et al. (2009) em local com histórico da doença.

Genótipos de *P. mucronata* resistentes a *Fusarium solani* foram encontrados por Fischer et al. (2005) e Freitas et al. (2016). Este último realizou trabalhos de hibridação entre *P. mucronata* x *P. edulis* visando a obtenção de progênies resistentes ao patógeno. Esse estudo também provou que o gene de resistência a *F. solani* provavelmente não está presente em todos os acessos da espécie *P. mucronata*, pois acessos susceptíveis foram encontrados em trabalhos de Preisigke et al. (2015).

Propagação do maracujazeiro

A propagação assexuada é definida como o processo de multiplicação que ocorre por meio de mecanismos de divisão e diferenciação celular, por meio da regeneração de partes da planta-mãe; esse processo também recebe a denominação de propagação vegetativa ou agâmica. Por esse mecanismo um vegetal é regenerado a partir de células somáticas, sem alterar o genótipo, por meio da divisão mitótica. A propagação assexuada, realizada através de estaquia e enxertia, apresenta como vantagem plantas-filhas iguais à planta-mãe, o que assegura elevado potencial produtivo, controle de doenças e uniformidade na qualidade e produção de pomares (Ferreira, 2000; Fachinello et al., 2005).

A estaquia é o processo de multiplicação no qual se utilizam segmentos de caules, raízes, brotos apicais e folhas, que ao serem submetidos a condições favoráveis, desenvolvem-se originando novas plantas geneticamente idênticas à planta-mãe. Segundo Loss et al. (2009), a etapa mais difícil da estaquia é o enraizamento. Para que o enraizamento ocorra é necessário que determinado nível de fitohormônios seja produzido pelas plantas, dentre eles pode-se citar as auxinas, citocininas e giberelinas. As auxinas são as principais reguladoras do enraizamento.

Além dos fitohormônios, existem os fatores externos e internos que influenciam o enraizamento, afetando a diferenciação e desenvolvimento das raízes. Em relação aos fatores externos pode-se citar a luz, temperatura, comprimento do dia, quantidade de água disponível no solo e em irrigação, sais minerais. Já os fatores internos são basicamente químicos, substâncias que atuam sobre a divisão, alongação e diferenciação celular (Botin e Carvalho, 2015).

Para muitas espécies, mesmo em condições ideais, o enraizamento só se torna possível após a submersão das estacas em soluções contendo reguladores de crescimento. A utilização de fitorreguladores, como a auxina, tem como principais funções (Taiz et al., 20017):

- i) crescimento do caule e raiz: ocorre através do processo de alongamento das células vegetais, pois plantas com baixa quantidade de auxinas podem apresentar crescimento de raízes, mas sem o alongamento do caule, e em alta concentração o efeito é contrário;
- ii) dominância apical: auxinas formadas pelo meristema apical do caule diminuem a atividade das gemas axilares que ficam perto do ápice, assim, ao extrair a gema apical ocorre o surgimento de ramos, folhas e flores laterais;
- iii) tropismo: consiste na mudança de orientação determinada por estímulos externos, dita positiva quando em direção ao estímulo e negativa quando se afasta do mesmo;
- iv) produção e desenvolvimento de frutos: as auxinas são produzidas nas sementes, possibilitando a formação dos frutos pelo ovário;
- v) queda de folhas velhas: como apresentam baixa concentração de auxinas, as folhas velhas caem da planta;
- vi) formação de raízes: brotação de raízes na base do caule.

O uso de auxinas para o enraizamento de estacas de maracujá ainda apresenta contradições devido a resultados divergentes encontrados na literatura. Essas divergências de dados ocorrem pela influência de fatores internos e externos já citados. Além disso tem-se, as condições das plantas matrizes, época de estaquia, tipo de substrato utilizado, espécies estudadas e condições ambientais, fazendo-se necessário a realização de experimentos específicos a cada espécie ou cultivar utilizada.

Outro método de propagação vegetativa comumente usada em maracujazeiro é a enxertia, que consiste em fazer com que o fragmento de uma planta de pelo menos uma gema, se desenvolva sobre outra planta que lhe sirva de suporte, retirando água e nutrientes do solo.

A planta que servirá de suporte recebe o nome de porta-enxerto, “cavalo” ou hipobioto e o fragmento que será enxertado denomina-se enxerto, “cavaleiro” ou epibioto.

O cultivo comercial do maracujazeiro teve início na década de 70, por meio da propagação via sementes, sendo este o método mais utilizado até o momento. Porém, segundo Silva et al. (2011b), o uso de propagação seminífera nos pomares proporciona elevada variabilidade genética, com baixa uniformidade no desenvolvimento das plantas.

Em cultivos de fruteiras, a propagação vegetativa é indicada para reverter tais problemas citados acima, além de questões como: redução do período juvenil, maior precocidade de produção, redução do porte da planta e propagação de genótipos selecionados. Em maracujazeiro por sua vez, o uso de propagação vegetativa consiste no uso de plantas resistentes às doenças e capazes de prover boa adaptação ao solo. A interação variedade-copa, em caso de enxertias, proporcionando alta produtividade, qualidade de frutos e longevidade da planta (Roncatto et al., 2011a).

No entanto, o Brasil não vem utilizando esse método em escala comercial devido aos elevados custos de produção de mudas e o tempo necessário à sua formação. Segundo Roncatto et al. (2011a), não estão disponíveis no mercado porta-enxertos e plantas com as características mencionadas como desejáveis ao cultivo de maracujá por meio da propagação vegetativa.

A eficiência da enxertia, assim como do processo de estaquia, depende de vários fatores, sendo esses a qualidade do porta-enxerto e dos garfos ou borbulhas, habilidade do enxertador, as condições climáticas, a época de realização e os métodos de enxertia, afetando o pegamento do enxerto (Pio et al., 2008). Em relação ao tipo de enxertia, Roncatto et al. (2011b) citam a garfagem do topo em fenda cheia como o mais eficiente para o maracujazeiro, obtendo até 98% de pegamento.

A maioria dos trabalhos citados na literatura com uso de propagação vegetativa seja por estaquia ou enxertia são realizados com *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* O. Deg, devido seu valor econômico. Os híbridos e *Passifloras* silvestres, em sua grande maioria, visam resistência à doenças e características de rusticidade, empregados como porta-enxertos (Junqueira et al., 2005; Graça, 1990; Araújo et al., 2010; Salomão et al.; 2002, Silva et al., 2005; Meletti et al., 2002; Roncatto et al., 2005; São José et al., 1994; Almeida et al., 1991).

Referências bibliográficas

- ABREU, P. P., SOUZA, M. M., SANTO, E. A., PIRES, M. V., PIRES, M.M., DE ALMEIDA, A. A. Passion flowers hybrids and their use in the ornamental plant market: perspectives for sustainable development with emphasis on Brazil. **Euphytica** v. 166, p. 307-315, 2009.
- ALMEIDA, L. P.; BOARETTO, M. A. C.; de SANTANA, R. G. Estaquia e comportamento de maracujazeiros (*P. edullis* f. DEG.) propagados por via sexual e vegetativa. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, São Paulo, v.13, n.1 p. 153-156, 1991.
- ARAUJO, F. P.; MOUCO, M. A. C.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Substratos e concentrações de ácido indolibutírico no enraizamento de estacas de *Passiflora cincinnata* mast. **Revista Magistra**, Cruz das Almas, v. 22, n. 1, p. 21-27, 2010.
- BARBOSA, C. J.; SANTOS-FILHO, H. P. Doenças causadas por vírus e similares. In: SANTOS FILHO, H. P.; JUNQUEIRA, N. T.V. (Ed.) **Fruta do Brasil: maracujá fitossanidade** Brasília: Embrapa, 2003.
- BEAL, P. R. Two new interspecific hybrids in the genus *Passiflora*. **Sabrao Newsl**, v. 4, n. 2, p.113-115, 1972.
- BEAL, P. R. Hybridization of *Passiflora edulis* Sims and *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Science**, v. 32, n.1, p.101-111, 1975.
- BECKETT, K. A., A hybrid passion flower. **Journal of the Royal horticultural Society of London** v. 85, p. 184-186, 1960.
- BELLON, G.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FUHRMANN, E. Variabilidade genética de genótipos elite de maracujazeiro, obtidos em programas de retrocruzamento envolvendo espécies silvestres e comerciais com base em marcadores RAPD. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 6, p. 1692-1697, 2014,
- BERNACCI, L. C.; CERVI, A. C.; MILWARD-de-AZEVEDO, M. A.; NUNES, T. S.; IMIG, D. C.; MEZZONATO, A. C. *Passifloraceae* in: **Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB182>>. Acesso em: 07 de abril de 2017

BERNAL-PARRA, N.; OCAMPO-PÉREZ, J.; HERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, J. Caracterización y análisis de la variabilidad genética de la granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) em Colombia empleando marcadores microsátélites. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 36, n. 3, p. 598- 611, 2014.

BORÉM, A; MIRANDA, g. V. **Melhoramento de plantas**. Viçosa, MG: ed. UFV, 523p. 2013.

BOTIN, A.A. e CARVALHO, A. Reguladores de crescimento na produção de mudas florestais. **Revista de Ciências Agroambientais**, Alta Floresta, MT, v.13, n.1, p.83-96, 2015

BRAMMER, S. P. Marcadores moleculares: princípios básicos e uso em programas de melhoramento genético vegetal. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2000. 7p.html. **Embrapa Trigo. Documentos online 3**. Disponível: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_do03.htm> Acesso em: 05 de abril de 2017.

BRANDVAIN, Y., HAIG, D. Divergent mating systems and parental conflict as a barrier to hybridization in flowering plants. **The American Naturalist**, v.166, n. 3, p. 330-338, 2005.

BUGALLO, V., CARDONE, S., PANNUNZIO, M., FACCIUTO, G. Breeding advances in *Passiflora* spp. (Passionflower) native to Argentina. **Floricultural Ornamental Biotechnology**, v. 5, n. 1, p.23-34, 2011.

CALEVO, J.; GIOVANNINI, A.; DE BEBEDETTI, L.; BRAGLIA, L.; DELLLA CINA, F. S. R.; TAVA, A. Chemical composition of the volatile oil from flowers and leave of new *Passiflora* hybrids. **International Journal Applied Research in Natural Products**. v. 9, n. 4, p. 21-27, 2016.

CARMO, T. V. B.; MARTINS, L. S. S.; MUSSER, R. DOS S.; SILVA, M. M. DA; SANTOS, J. P.O. Genetic diversity in accesions of *Passiflora cincinnata* Mast. Based on morphoagronomic descriptors and molecular markers. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 30, n. 1, p. 68 – 77, 2017.

CAVICHIOLO, J. C; CORREA, L. de S.; BOLIANI, A. C. Sobrevivência e desenvolvimento de seis especeis de maracujazeiros em área com histórico de morte prematura de plantas. **Cultura Agronômica** – v. 18, n.04, 2009.

CERQUEIRA-SILVA, C. B., ONILDO, N. J., SANTOS, E. S. L., CORRÊA, R. X., SOUZA, A. P. Genetic breeding and diversity of the genus *Passiflora*: progress and perspectives in

molecular and genetic studies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, p.1422-1452, 2014a.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; SANTOS, E. S.L.; VIEIRA, J. G. P.; MORI, G.M.; JESUS, O. N.; CORRÊA, R. X.; SOUZA, A. P. New microsatellite markers or wild and commercial species of *Passiflora* (Passifloraceae) and cross-amplification. **Applications in Plant Sciences**. v. 2, n. 2, p.1-5, 2014b

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; SANTOS, E. S.L.; JESUS, O. N.; VIEIRA, J. G. P.; MORI, G.M.; CORRÊA, R. X.; SOUZA, A. P. Molecular Genetic Variability of Commercial and Wild Accessions of Passion Fruit (*Passiflora* spp.) Targeting ex Situ Conservation and Breeding. **International Journal of Molecular Sciences**. v.15, p.22933-22959, 2014c.

COELHO, M. S. E.; BORTOLETI, K. C. A.; ARAÚJO, F. P.; MELO, N. F. Cytogenetic characterization of the *Passiflora edulis* Sims x *Passiflora cincinnata* Mast. Interspecific hybrid and its parentes. **Euphytica**, v. 210, p. 93-104, 2016.

CONCEIÇÃO, L., SOUZA, M. M., BELO, G. O., SANTOS, S. F., FREITAS, J. Hybridization among wild passionflower species. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 34, n.2, p. 237-240, 2011.

DARWIN, C. The effects of cross and self fertilisation in the vegetable Kingdom. John Murray, London. http://darwin online.org.uk/converted/pdf/1876_Fertilisation_F1249. Pdf De Melo F, Cervi A, Guerra M (2001) **Karyology and cytotax** 1876.

ESCOBAR, L. K. Biología reproductiva de *Passiflora manicata* e hibridación con la curuba, *Passiflora mollissima* (H.B.K) Bailey. **Actual. Biol.** v. 14, n.54, p.111-121, 1985.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 221p. 2005.

FAJARDO, D.; ANGEL, F.; GRUM, M.; TOHME, J.; LOBO, M.; ROCA, W.M.; SANCHEZ, I. Genetic variation analysis of the genus *Passiflora* L. using RAPD markers. **Euphytica**, v.101, p.341–347. 1998

FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V., BRAGA, M. F Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro: Desafios da pesquisa. In **Maracujá: germoplasma e melhoramento**

genético. In: FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V., BRAGA, M. F. (eds) Embrapa Cerrados: Planaltina, p. 187–210, 2005.

FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V., BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. Pré-melhoramento do maracujá. In: LOPES, M. A., FÁVERO, A. P., FERREIRA, M. A. J. F., FALEIRO, F. G., FOLLE, S. M., GUIMARÃES, E. P. (eds). **Pré-melhoramento de plantas**. Estado da arte e experiências de sucesso. Embrapa Informações Tecnológicas, Brasília, Brasil, p. 549–570, 2011.

FEUILLET, C.; MacDOUGAL, J. M. A new infrageneric classification of *Passiflora* L. (*Passifloraceae*) **Passiflora**, v.13, p.34–38, 2004

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

FISCHER, R Hybrids and hybridization. In: ULMER, T., MACDOUGAL, J. M. (eds) *Passiflora: passion flowers of the world*. **Timber Press Portland**, Oregon, p. 362–376, 2004.

FISCHER, I. H., REZENDE, J. A. M., FILHO, N. N., SILVA, J. R. Ocorrência de *Nectria haematococca* em maracujazais no estado do Rio de Janeiro e resistência de *Passiflora mucronata* ao patógeno. **Fitopatologia brasileira**, v. 30, n. 6, p. 671, 2005.

FISCHER, I. H., ALMEIDA A. de.; FILETI, M.; et al. Avaliação de *Passifloraceas*, fungicidas, e *Trichoderma* para o Manejo da Podridão do Colo do Maracujazeiro, causada por *Nectria haematococca*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 3 p. 709-717, 2010.

FREITAS, J. C. O.; VIANA, A. P.; SANTO, E. A.; PAIVA, C. L.; SILVA, F. H. L. AMARARAL JR, A. T.; SOUZA, M. M.; DIAS, V. M. Resistance to *Fusarium solani* and characterization of hybrid from the cross between *P. mucronata* and *P. edulis*. **Euphytica**, v. 208, p. 493-507, 2016.

FREITAS, J. P. X.; OLIVEIRA, E. J.; JESUS, O. N.; CRUZ NETO, A. J.; SANTOS, L. R; Formação de população base para seleção recorrente em maracujazeiro-amarelo com uso de índices de seleção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, p. 393- 401, 2012.

GANGA, M. D. R.; RUGGIERO, C.; LEMOS, E. G.de M.; GRILI, V. G.; GONÇALVES, M.; CHAGAS, E. A.; WICKRT, E. Diversidade genética em maracujazeiro-amarelo utilizando

marcadores moleculares fAFLP. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal – SP, v. 26, p. 494-498, 2004.

GRAÇA, J. **Estudo sobre a propagação do maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener) através de sementes e estacas**. 1990. 92 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 1990.

JUNQUEIRA, N. T. V., ANJOS, J. R. N., SILVA, A. N. P., CHAVES, R. C., GOMES, A. C. Reaction to diseases and yield of eleven cultivars of sour-passion fruit cultivated with no pesticides. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 1005–1010, 2003.

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

KAJEWSKI, S. F., Cross breeding experiments in the Bowen District. **Queensland agric. J.** v. 56, p. 473-476, 1941.

KING, L. A. The *Passiflora* Hybrid P. ‘Excel’: *P. edulis* x *P. caerulea* *Passiflora*, v. 10, n. 2, p. 16-18, 2000.

KINOSHITA, T. Reproductive barriers and genomic imprinting in the endosperm of flowering plants. **Genes & Genetic Systems**, v. 82, p. 177-186, 2007.

KNIGHT, R. J. The potential for Florida of hybrids between the purple and yellow passion fruit. **Florida State Horticultural Society**: p. 288–292, 1972.

KNIGHT, R. J., ‘**New *Passiflora* Hybrid from USDA**’, *Gardeners’Chronicle*, 174, 33, 1973.

KNIGHT, R. J., ‘Development of Tetraploid Hybrid Passionfruit Clones with Potential for the North Temperate Zone’, **Horticultural Science**, 26, 1541, 1991.

KUGLER, E., WETSCHNIG, W. Bibliography and nomenclature of *Passiflora violacea* Loisel and *P. amethystina* J. C. Mikan (*P. violacea* Vell.). **Linzer Biologische Beiträge**, v. 23, p.753-774, 1991.

LACERDA, D. R.; ACEDO, M. D. P.; FILHO, J. P. de L.; LOVATO, M. B. A técnica de RAPD: uma ferramenta molecular em estudos de conservação de plantas. **Lundiana**. v.3, n.2, p.87-92, 2002.

LADE, B. D.; PATIL, A. S.; PAIKRAO, H. M. Efficient genomic DNA extraction protocol from medicinal rich *Passiflora foetida* containing high level of polysaccharide and polypheno. **SpringerPlus**, v.3, p.457, 2014.

LIBERATO, J. C. Controle das doenças Causadas Por Fungos, Bactérias e Nematoides em Maracujazeiro. In: ZAMBOLIM, L. et al. (Eds). **Controle de Doenças de Plantas: fruteiras**. Viçosa, 2002. v. 2, cap. 14, p. 700–715.

LIBERATO, J. C.; COSTA, H. Doenças Fúngicas, Bacterianas e Fitonematoides. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M.C. **Maracujá – Tecnologia de produção, pós colheita, agroindústria, mercado**. Porto Alegre: Ed. Cinco Continentes, 2001. 472 p.

LIM, K. Y., MATYASEK, R., KOVARIK, A., LEITCH, A. R. Genome evolution in allotetraploid Nicotiana. **Biol J Linnean Soc**. v.82, p.599–606, 2004.

LOSS, A., TEIXEIRA, M. B., SANTOS, T. J., GOMES, V. M.; QUEIROZ, L. H. Indução do enraizamento em estacas de *Malvaviscus arboreus* Cav. com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB). **Acta Scientiarum**. Agronomy v. 31, n. 2, p. 269-273. 2009.

MANICOM, B. Q. et al. Diseases of passion fruit. In: PLOETZ, R.C. (Ed.) **Diseases of tropical fruit crop**. Wallingford: CABI Publishing, 2003. p. 413-441, 2003.

MARASEK A, HASTEROK R, WIRJACHA K, ORLIKOWSKA T. Determination by GISH and FISH of hybrid status in *Lilium*. **Hereditas**. v.140, p. 1–7, 2004.

MARKERT, C. L; MOLLER, F. Multiple forms of enzymes tissue, ontogenetic and species-specific patterns. **Proceeding of the National Academy of Science**. v. 45, p.753-63.1959.

MATHERI, F., TEYA, F., KIOKO, F., MAWIA, A. M., MWANGI, M, et al. Genotyping of Kenyan *Passiflora edulis flavicarpa* Hybrid Accessions and their Parents using SSR Markers. **Vegetos** v. 29, n. 4, 2016;

- MELETTI, L. M. M.; FURLANI, P. R.; ÁLVARES, V.; SOARESSCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; AZEVEDO FILHO, J. A. Novas tecnologias melhoram a produção de mudas de maracujá. **O Agrônômico**. Campinas, 2002. v.54, n.1, p.30- 33. 2002.
- MELO, N. F., GUERRA, M Variability of the 5S and 45S rDNA sites in *Passiflora* L. species with distinct base chromosome numbers. **Ann Bot** v.92, p.309–316 2003.
- OCAMPO, J.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; JARVIS, A. Distribution of the genus *Passiflora* L. diversity in Colombia and its potential as an indicator for biodiversity management in the coffee growing zone. **Diversity**, v. 2, p.1158–1180, 2010.
- OLIVEIRA, S. P.; SANTOS, T. M.; PIRES, R. G.; BRUCKNER, C. H. Cruzamentos recíprocos entre *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Sims x *Passiflora mucronata* e avaliação da viabilidade e germinação das sementes. In: **XIX Simpósio de Iniciação Científica** – UFV, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2009.
- PAYÁN, F. R., MARTÍN, F. W. Barriers to the hybridization of *Passiflora* species. **Euphytica**, v. 24, p.709-716, 1975.
- PEREIRA, D. de A.; CORRÊA, R. X.; OLIVEIRA, A. C. de. Molecular genetic diversity and differentiation of populations of ‘somnus’ passion fruit trees (*Passiflora setacea* DC): Implications for conservation and pre-breeding. **Biochemical Systematics and Ecology** v.59, p.12-21; 2015.
- PLOETZ, R. C. Sudden wilt of passion fruit in southern Florida caused by *Nectria haematococca*. **Plant Disease**, Saint Paul, v.75, n.10, p.1071-1073, 1991.
- PICOLOTTO L, MANICA-BERTO R, PAZIN D, PASA M. S, SCHMITZ J.D., PREZOTTO M. E., BETEMPS D, BIANCHI V. J.; FACHINELLO J. C. Características vegetativas, fenológicas e produtivas do pessegueiro cultivar Chimarrita enxertado em diferentes porta-enxertos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.583-589, 2009
- PIO, R., CHAGAS, E. A., BARBOSA, W., SIGNORINI, G., ALVARENGA, A. A. ABRAHÃO, E., ENTELMANN, F. A. Métodos de enxertia por garfagem de cultivares de marmeleiro no porta-enxerto ‘Japonês’. **Revista brasileira de Fruticultura**. v.30, 2008, p. 267-270.

PREISIGKE, S. C., MARTINI, F. V., ROSSI, A. A. B., SERAFIM, N. E., BRELLI, M. A. A. Genetic variability of *Passiflora* spp. against collar rot disease. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n.1, p. 69-74, 2015.

REGO, M. M., BRUCKNER, C. H., DA SILVA, E. A. M., FINGER, F. L., SIQUEIRA, D. L., FERNANDES, A. A. Self-incompatibility in passion fruit: evidence of two locus genetic control. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 98, p. 564-568, 1999.

RIBAS, C. P., GOMES, F. G. D., LEONOR, R., BIASI, L. A.; MARÇALLO, F. A. Ácido indolbutírico no enraizamento de estacas semilenhosas das cultivares de pessegueiro 'della nona' e 'eldorado'. **Scientia agraria**, v. 8, p.439-442, 2007.

ROCHA, M. D. S., BIANCHI, V. J., FACHINELLO, J. C., SCHMITZ, J. D., PASA, M. S.; SILVA, J. B. Comportamento agrônômico inicial da cv. Chimarrita enxertada em cinco porta-enxertos de pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.29, p.583-588, 2007.

RONCATTO, G.; FERREIRA, L. G.; LENZA, J. B.; DAMASCENO, M. A. P. Avaliação preliminar de diferentes métodos de enxertia de maracujazeiros nas condições da depressão Cuiabana. In: 4., 2005. REUNIÃO TÉCNICA SOBRE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO. **Anais...** Planaltina: Embrapa Cerrados, p.64-67, 2005.

RONCATTO, G.; ASSIS, G.M.L. de; OLIVEIRA, T.K. de; LESSA, L.S. Pegamento da enxertia em diferentes combinações de variedades e espécies utilizadas como copa e como porta-enxertos de maracujazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n.3, p. 948-953, 2011a.

RONCATTO, G.; LENZA, J. B.; VALENTE, J. P. Modalidades de enxertia para maracujazeiro: avaliação preliminar nas condições da depressão cuiabana. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v.33, n.1, p.316-320, 2011b.

SABINE, J Account of a newly produced Hybrid *Passiflora*. **Transactions of the Horticultural Society of London**, v. 4, p. 258-268, 1822.

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* O. Deg.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, São Paulo, v.24, n.1, p.163-167, 2002.

SANTOS FILHO, H. P.; SANTOS, C. C. F. Doenças causadas por fungos. In: SANTOS FILHO, H. P.; JUNQUEIRA, N. T.V. (Ed.) **Fruta do Brasil: maracujá fitossanidade**. Brasília: Embrapa, p. 12-21, 2003.

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

SÃO JOSÉ, A. R. et al. Fusariose no semi-árido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 16., 2000, Fortaleza. **Anais..** Fortaleza: SBF, 2000. p.470.

SCHIMITZ, J. D., BIANCHI, V. J., PASA, M. S., KULKAMP, A. L.; FACHINELLO, J. C. Vigor e produtividade do pessegueiro ‘Chimarrita’ sobre diferentes porta-enxertos. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.18, p.01-10, 2012.

SHARMA, R. D.; JUNQUEIRA, N. T. V.; GOMES, A. C. Comportamento do maracujá-doce (*P. alata*) relacionado com nematoides formadores de galha, **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 28, p. 97-100, 2004.

SILVA, A. S.; OLIVEIRA, E. J.; LARANJEIRA, F. F.; JESUS, O. N. Seleção de metodologias para inoculação da fusariose do maracujazeiro causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*. Cruz das Almas: EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, 2011a. 22p. (**Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**).

SILVA, F. M.; CORREA, L. S.; BOLIANI, A. C.; SANTOS, P. C. Enxertia de mesa de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. sobre *Passiflora alata* Curtis, em ambiente de nebulização intermitente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, São Paulo, v. 27, n 1, p. 98-101, 2005.

SILVA, G. S., SOUZA, M. M. Genomic in situ hybridization in plants. **Genet Mol Res**. 2013; 3:2953–65.

SILVA, J. O. C.; OLIVEIRA, E. J.; HADDAD, F.; LARANJEIRA, F.; JESUS, O.; OLIVEIRA, S. A.; CARVALHO, M. A.; FREITAS, P. X. Identification of passion fruit genotypes resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, n. 3, p. 236-242, 2013.

SILVA, M. A. A.; SOUZA, M. M.; SILVA, G. S.; MELO, C. A. F.; CORRÊA, R. X.; ARAÚJO, I. S.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S. Analysis of transferability of microsatellite primers (SSR) in wild *Passiflora* species and intraspecific genetic diversity in *Passiflora alata* **Genetics and Molecular Research** 13 (3): 5908-5918; 2014.

SILVA, R. M.; AGUIAR, A. V. M.; CARDOSO, E. A.; SOUZA, J. O. S.; OLIVEIRA, L. A. A. Enxertia interespecífica do maracujazeiro-amarelo sobre quatro porta-enxertos. **Revista Verde**, Mossoró, v. 6, n. 2, p. 119- 124, 2011b.

SSEKYEWA, C. et al. Sustainable management of collar rot disease of passion fruits in Uganda. **International Journal of Pest Management**, London, v. 45, n.3, p.173-177, 1999.

STACE, C. A., BAILEY, J. P. The value of genomic in situ hybridization (GISH) in plant taxonomic and evolutionary studies. In: Hollingsworth PM, Bateman RM, Gornall RJ, editors. **Molecular systematics and plant evolution**. 1st ed. London: CRC Press; 1999. p. 199–210.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TÜRKÖSI, E., CSEH, A., ÉVA DARKÓ, E., MOLNÁR-LÁNG, M. Addition of Manas barley chromosome arms to the hexaploid wheat genome. **BMC Genet**. 2016; 17:87.

ULMER, T.; MACDOUGAL, J.M. *Passiflora*: passionflowers of the world. **Timber Press**, Portland, 2004.

VANDERPLANK, J. Passion flowers. **The MIT Press**, Cambridge, 2000.

VAN TUYL, J. M., DE JEU, M. J. Methods for overcoming interspecific crossing barriers. In: SAWHNEY, V. K., SHIVANNA, K. R. (eds) **Pollen biotechnology for crop production and improvement**. Cambridge University Press, New York, 1997.

VIANA, F. M. P. et al. Principais Doenças do Maracujazeiro na Região Nordeste e seu Controle. Fortaleza: Embrapa, 2003. 12 p. (**Comunicado Técnico 86**)

VIANA, A. J. C., SOUZA, M. M. (2012) Comparative cytogenetic between the species *Passiflora edulis* and *Passiflora cacaoensis*. **Plant Biol** 14:820–827

YOCKTENG, R.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; SOUZA-CHIES, T.; Passiflora. In: KOLE CHITTARANJAN (ed) **Wild crop relatives: genomic and breeding resources tropical and subtropical fruits**. Springer, Berlin and Heidelberg, 2011.

CAPÍTULO 1

Dissomia uniparental em híbridos interespecíficos de *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata*

RESUMO

A produção de híbridos de *Passiflora*, visando introdução de características desejáveis, teve início há muitos anos com a obtenção de diversas cultivares de grande interesse econômico. No entanto, para garantir o sucesso nesses programas deve-se certificar a condição alopoliploide verdadeira, a fim de evitar desperdícios de recursos e melhor direcionamento de cruzamentos mais adequados a serem executados. Para isso, faz-se necessária a caracterização desses materiais, com possibilidade de utilização de métodos genômicos ou citogenéticos. O objetivo do presente trabalho foi confirmar se possíveis híbridos interespecíficos de *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata*. Para tanto, foram realizados estudos de: confirmação da alopoliploidia por meio da hibridação genômica *in situ* (GISH), confirmação da hibridação por meio de marcadores microssatélites (SSR), mensuramento do conteúdo de DNA nuclear e caracterização morfológica. Os resultados obtidos demonstram que os cromossomos dos possíveis híbridos apresentam apenas material paterno. O que é confirmado por meio dos marcadores SSR. Por meio destes, é possível inferir que não houve duplicação do material genético dos pais, pois em alguns *primers* os híbridos se apresentam em heterozigose. As plantas avaliadas não sofreram alterações em sua ploidia, segundo a análise do conteúdo de DNA. Por fim, morfológicamente, os híbridos apresentam as mesmas características dos genitores paternos (*P. mucronata*) e apresentam esterilidade. Por meio das avaliações realizadas pode concluir que os híbridos obtidos apresentaram dissomia uniparental, com eliminação seletiva dos cromossomos maternos.

Termos para indexação: *Passiflora edulis*, *Passiflora mucronata*, Dissomia uniparental, hibridação.

Uniparental dissymia in interspecific hybrids of *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata*

ABSTRACT

The production of *Passiflora* hybrids, aiming to introduce desirable traits, began many years ago to obtain several cultivars of great economic interest. However, to ensure success in these programs one must certify the true allopolyploid condition in order to avoid wastage of resources and better targeting of more suitable crosses to be performed. For this, it is necessary to characterize these materials, with the possibility of using genomic or cytogenetic methods. The objective of the present work was to confirm if possible interspecific hybrids of *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata*. For this, studies were carried out: confirmation of allopolyploidy by genomic in situ hybridization (GISH), confirmation of hybridization by means of microsatellite markers (SSR), measurement of nuclear DNA content and morphological characterization. The results obtained show that the chromosomes of the possible hybrids present only paternal material. This is confirmed through the SSR markers. By means of these, it is possible to infer that there was no duplication of the genetic material of the parents, because in some *primers* hybrids present in heterozygosis. The evaluated plants did not undergo changes in their ploidy, according to the analysis of the DNA content. Finally, morphologically, the hybrids have the same characteristics of the paternal parents (*P. mucronata*) and present sterility. Through the evaluations carried out, it can be concluded that the hybrids obtained presented uniparental disomy, with selective elimination of the maternal chromosomes.

Index terms: *Passiflora edulis*, *Passiflora mucronata*, uniparental disomy, hybridation.

INTRODUÇÃO

A família Passifloraceae apresenta grande diversidade genética ainda pouco explorada em virtude do elevado número de gêneros e espécies que a compõe. No Brasil são encontradas em torno de 150 espécies de *Passiflora*, das quais 87 são endêmicas. O Brasil é considerado o centro de origem e distribuição de *Passiflora* e fonte de diversidade e germoplasma importantes para o melhoramento genético da espécie (Bernacci et al., 2015).

A hibridação é um método de melhoramento utilizado com o objetivo de transferir características desejáveis entre plantas, representando uma importante estratégia de formação de variedades que atendam às necessidades do produtor e dos programas de melhoramento. A hibridação ocorre pela fusão de células reprodutivas geneticamente diferentes, gerando híbridos heterozigóticos para um ou mais locos (Borém e Miranda, 2013). A denominação híbrido intraespecífico e interespecífico caracteriza, respectivamente, pelo cruzamento que ocorre entre plantas da mesma espécie e aqueles que envolvem cruzamento entre indivíduos de espécies diferentes. Os híbridos interespecíficos são denominados aloploidos verdadeiros ou aloploidos segmentais conforme o padrão de pareamento observado na prófase I da meiose. Diferentemente dos aloploidos verdadeiros, os aloploidos segmentais são formados a partir do cruzamento de espécies distintas que possuem genomas filogeneticamente próximos (Stebbins, 1950). Por este motivo, nos aloploidos segmentais ocorre pareamento entre as porções homólogas que ocorrem entre os cromossomos homeólogos (Sybenga, 1992).

No entanto, para o uso de híbridos interespecíficos no melhoramento, é crucial, além de conhecer o potencial paterno, examinar e caracterizar geneticamente e fenotipicamente os possíveis híbridos interespecíficos para estimar a diversidade genética, a viabilidade e as taxas de fertilidade, bem como identificar barreiras de isolamento pré e pós-zigóticas entre os parentais e entre os híbridos e seus ancestrais. A confirmação de híbridos em programas de melhoramento genético garante a identidade e idoneidade dos mesmos e que estes venham a expressar as características de interesse.

Seu êxito está ligado a vários fatores como a não ocorrência de problemas no sistema reprodutivo, decorrente de barreiras de pré e pós-fertilização, tais como a falta de germinação do grão de pólen, o retardamento ou inibição do crescimento do tubo polínico, a morte do embrião em virtude da degeneração do endosperma, e a esterilidade total ou parcial das plantas híbridas (Pereira et al., 2012).

Existem diferentes metodologias que podem ser utilizadas para confirmação de híbridos, desde as baseadas em características morfológicas, que é uma metodologia simples e de baixo custo, sem a necessidade de grande infraestrutura para a sua realização (Oliveira et al., 2005), até as que são realizadas ao nível molecular e citogenético.

A identificação de híbridos interespecíficos baseada em caracteres morfológicos, é possível quando as características são contrastantes entre as espécies envolvidas. Nessa estratégia, a avaliação dos dados é feita comparando os dados relativos aos genitores e o F₁. A

análise morfológica pode ser aliada e/ou complementada por estudos moleculares, pois o fenótipo pode sofrer alterações, como resultado do efeito ambiental (Oliveira et al., 2005).

Outra ferramenta capaz de contribuir para confirmação de híbridos interespecíficos é a citometria de fluxo. Comparando o nível de ploidia de DNA e/ou o conteúdo de DNA nuclear dos genitores e dos indivíduos F₁ é possível confirmar e determinar a origem de híbridos interespecíficos. A partir da citometria de fluxo, pode-se caracterizar o genoma nuclear das espécies, no que se refere ao valor 2C nuclear e a proporção de bases AT e GC, fornecendo informações que contribuem para estudos de melhoramento, taxonomia e evolução (Miltre et al. 2011). Em maracujazeiro, sua utilização envolvendo a culturas de tecidos foi relatada por Otoni et al. (1995) e por Paim Pinto et al. (2009), na estimativa do conteúdo 2C de DNA nuclear das plantas obtidas da germinação de sementes, avaliando sua ploidia.

O emprego de marcadores moleculares é uma técnica rápida e não sofre efeito do ambiente, aumentando a confiabilidade dos resultados. Segundo Faleiro et al. (2003), para a confirmação ou não da ocorrência da hibridação basta, pelo menos, uma banda informativa de um ou dois *primers* ou combinação destes. Hibridação de *Passiflora* pode ser confirmada por marcadores moleculares, por meio de técnicas como SSR (Santos et al., 2012), que são metodologias mais confiáveis para confirmação de teste de cruzamento em híbridos de maracujá. Recentemente, a hibridação genômica *in situ* (GISH) tem sido usada para confirmar a hibridação dentro do gênero (Melo et al., 2017) e para analisar a recombinação cromossômica em híbridos de retrocruzamento (RC1) (Melo e Guerra, 2003). O GISH é um método de citogenética molecular capaz de distinguir cada conjunto de cromossomos parentais nos híbridos analisados.

A GISH pode ser utilizada para identificar híbridos naturais, confirmar a hibridização artificial (Marasek et al., 2004; Contreras et al., 2012), identificação de cromossomos recombinados em progênies cruzadas em duas gerações de retrocruzamento (BC1 e BC2) (Karlov et al., 1999; Lim et al., 2000b e Marasek-Ciolakowska et al., 2012) e análise de recombinação em cromossomos meióticos (Lim et al., 2000a). A técnica GISH foi aplicada pela primeira vez em *Passiflora* para distinguir os genomas parentais em híbridos ornamentais interespecíficos em estudos realizados por Melo et al. (2015).

O presente trabalho tem por objetivo realizar a confirmação da condição homoploide dos possíveis híbridos interespecíficos de *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Os cruzamentos interespecíficos (hibridação) foram conduzidos no Campo experimental do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), situado no município de Viçosa, localizado na Zona da Mata, Estado de Minas Gerais (20° 45' 14" S, 42° 52' 55" W, 648 m), com clima subtropical úmido, inverno seco/frio e verão quente/úmido, e precipitação anual média de 1200 mm. As hibridações foram realizadas por Santos et al. (2009), entre os meses de março e abril de 2009, envolveram as espécies *P. edulis* f. *flavicarpa* (UFV-M7) e *P. mucronata*. As sementes e plantas matrizes resultantes dos cruzamentos estão depositadas no Banco de Germoplasma do Programa de Melhoramento do Maracujazeiro da Universidade Federal de Viçosa (Figura 1).



Figura 1. Caracterização dos genitores *P. edulis* (UFV-M7) e *P. mucronata* e das sementes do possível Híbrido F1. A) Botão floral de *P. edulis*; B) Flor em antese de *P. edulis*; C) Fruto de *P. edulis*; D) Botão floral de *P. mucronata*; E) Flor em antese de *P. mucronata*; F) Fruto de *P. mucronata*; G) Sementes dos frutos de *P. edulis*, *P. mucronata* e do possível Híbrido F1 (*P. edulis* x *P. mucronata*).

Desta forma, conforme apresentado por Santos et al. (2009), os cruzamentos foram realizados da seguinte maneira:

- i. as flores das plantas parentais foram previamente protegidas com sacos de papel, as vésperas da antese, a fim de evitar contaminação e contato com pólen externo ao botão floral.

- ii. as flores de *P. edulis* f. *flavicarpa*, as quais foram usadas como genitores femininos, foram polinizadas no momento da antese com o pólen de *P. mucronata* proveniente de botões coletados durante a manhã do mesmo dia da polinização.
- iii. a polinização foi feita manualmente, transferindo o pólen para o estigma com a ajuda de cotonetes, esfregando-o suavemente sobre o estigma de cada flor.
- iv. após a polinização, as flores foram novamente ensacadas e identificadas, e sete dias após a polinização determinou-se a porcentagem de frutificação. As flores que iniciaram o desenvolvimento do fruto foram consideradas fecundadas.
- v. as sementes obtidas dos frutos foram lavadas para retirada do arilo. Após secas a temperatura ambiente, o tegumento foi retirado com auxílio de uma mini-morsa, e as sementes foram desinfestadas e colocadas para germinar *in vitro* em meio MS (Murashige e Skoog, 1962), segundo descrito por Oliveira et al. (2009).
- vi. as plântulas obtidas foram aclimatizadas e transplantadas. Dessas, nove possíveis híbridos foram transferidos para estufa com o objetivo de observar o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo de cada indivíduo.

Genótipo UFV-M7

O genótipo UFV-M7 (S₀) foi obtido por Flores et al. (2012) por regeneração *in vitro* de segmentos nodais, submetidos a raios gamas na dose de 20 Gy, com o objetivo de selecionar mutantes insensíveis ao filtrado da cultura de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*. Os explantes sobreviventes à radiação foram regenerados e submetidos à seleção *in vitro* com filtrado do fungo. As plantas selecionadas foram avaliadas em campo com histórico do patógeno, no Setor de Fruticultura do Departamento de Fitotecnia da UFV (Flores et al., 2012).

Dentre as plantas selecionadas o genótipo UFV-M7 apresentou insensibilidade a fotoperíodo para florescimento, sob a latitude de 20°45'14"S, florescendo sob fotoperíodo abaixo de 11 h de luz dia⁻¹ (Lira Junior et al., 2014).

Sucessivas autofecundações utilizando a metodologia descrita por Lira Júnior (2012) foram realizadas nas plantas UFV-M7 (S₀) produziram as plantas das gerações S₁, S₂ e S₃.

As sementes foram plantadas em sacos plásticos com substrato comercial (Plantmax), sendo três sementes por saco. Trinta dias após a germinação fez-se o desbaste das mudas deixando apenas a muda mais vigorosa por saco plástico. Após aproximadamente três meses da sementeira, as mudas foram transplantadas para vasos de 30 L contendo terra, areia e esterco na proporção de 2:1:1, adicionado 100 g de calcário e 300 g de superfosfato simples. Os vasos foram distribuídos por progênes nas bancadas e as plantas foram conduzidas em haste única com desbrotas laterais semanais, mantendo as plantas em uma altura média de 1,8 m. Os demais tratamentos culturais como adubação e eliminação de plantas daninhas foram realizados durante o período de condução do experimento.

Confirmação da alopoliploidia por meio da GISH

Para a GISH, raízes foram coletadas de estacas enraizadas em água e imediatamente tratadas com 4,0 μM do antitubulínico amiprofos-metil (APM, Sigma[®]) por 16h a 4°C ou 4h a 30°C. As raízes foram lavadas em água destilada por três vezes de 10 min, e fixadas em metanol:ácido acético (3:1, Merck[®]). O fixador foi trocado três vezes e as amostras foram armazenadas por 24 h a -20°C. As raízes foram lavadas, e os meristemas radiculares foram excisados e incubados por 2 h a 34°C em pool enzimático (0,5% celulase Yakult + 2% celulase Sigma[®] + 0,5% hemicelulase Sigma[®] + 0,5% macerozyme orozuka R10 Yakult) diluído em tampão citrato (10 mM de ácido cítrico e 10 mM de citrato de sódio tribásico) na proporção de 1:25, 1:30, 1:75 (enzima:tampão) e, após, acrescentado 1 μL de pectinase (Sigma[®]). Em seguida, os meristemas radiculares foram lavados três vezes por 10 min em água destilada, fixados em metanol:ácido acético (3:1, Merck[®]) e armazenados a -20°C. As lâminas foram preparadas por meio das técnicas de dissociação celular e secagem ao ar (Carvalho e Saraiva, 1997). Lâminas foram selecionadas após visualização em microscópio de contraste de fase Olympus BX41. Os critérios adotados para escolha das lâminas foram: prometáfases e metáfases sem vestígios citoplasmáticos, cromossomos sem sobreposições, e cromossomos com as porções telomérica e centromérica bem definidas.

Para realização da GISH, o DNA genômico de *P. edulis* e *P. mucronata* foi extraído, e em seguida a concentração e pureza foram determinadas conforme os procedimentos descritos no item “confirmação da hibridação por meio de marcadores microssatélites (SSR)”. As sondas

genômicas de *P. edulis* e de *P. mucronata* foram construídas por reação de PCR usando 200 ng do DNA genômico de cada espécie. As reações e as condições de reação foram estabelecidas conforme Carvalho et al. (2017), assim como a quantificação e avaliação das sondas genômicas marcadas. Quatro estratégias foram adotadas para os mix de hibridização da GISH: (a) 100 ng da sonda de *P. edulis* marcada com o fluorocromo Rodamina-5-dUTP (Roche Diagnostics®) e 100 ng da sonda de *P. mucronata* marcada com CromaTide™ Alexa Fluor™ 488-5-dUTP (Invitrogen); (b) 100 ng da sonda de *P. edulis* marcada com o fluorocromo CromaTide™ Alexa Fluor™ 488-5-dUTP (Invitrogen) e 100 ng da sonda de *P. mucronata* marcada com Rodamina-5-dUTP (Roche Diagnostics®); (c) 100 ng da sonda de *P. edulis* marcada com o fluorocromo CromaTide™ Alexa Fluor™ 488-5-dUTP (Invitrogen) e 100 ng do DNA genômico competidor de *P. mucronata*; (d) 100 ng da sonda de *P. mucronata* marcada com o fluorocromo CromaTide™ Alexa Fluor™ 488-5-dUTP (Invitrogen) e 100 ng do DNA genômico competidor de *P. edulis*. As lâminas selecionadas para a GISH foram lavadas em solução tampão PBS (tampão fosfato salino) por 5 min, mantidas em solução de formaldeído a 4% em PBS à temperatura ambiente por 15 min e lavadas em PBS. A desnaturação cromossômica foi realizada em 70% de formamida em 2x tampão SSC (tampão citrato de sódio) a 72°C durante 4 min e desidratadas em série alcoólica (70, 85 e 100%). As sondas e o DNA genômico competidor foram desnaturados em termociclador a 85°C por 5 min e transferidos para gelo. Em seguida, o mix de hibridização foi disposto sobre as lâminas, sendo estas cobertas com lamínula e seladas. As hibridizações foram conduzidas em ThermoBrite™ System (ThermoFisher®) a 37°C por 24 h. Após esse período, as lamínulas foram retiradas e as lâminas lavadas em três soluções de 50% de formamida/2x SSC e uma de 2x SSC a 45°C, durante 5 min cada. Posteriormente, as lâminas foram contracoradas com DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol), cobertas com lamínulas e seladas. As imagens das prometáfases e metáfases foram capturadas por uma câmera de vídeo DP-71 em microscópio de fluorescência BX-60 (Olympus®) com filtro WG para Rodamina-5-dUTP, filtro WB para CromaTide™ Alexa Fluor™ 488-5-dUTP e filtro WU para DAPI. As imagens foram digitalizadas usando o Image Pro-Software Plus 6.1 (Media Cybernetics®). As sobreposições e os ajustes finais das imagens foram realizados com ferramentas do mesmo software.

Confirmação da hibridação por meio de marcadores microssatélites (SSR)

Para a análise dos marcadores moleculares, o DNA total foi extraído separadamente de cada uma das nove possíveis plantas híbridas (*P. edulis* x *P. mucronata*), duas plantas genitoras femininas (*P. edulis* f. *flavicarpa*) e dez plantas genitoras masculinas (*P. mucronata* Lam). O DNA genômico foi extraído de folhas jovens liofilizadas por meio do método descrito por Diniz et al. (2005). A quantificação do DNA foi estimada com auxílio do espectrofotômetro Nanodrop 2000 (Thermo Scientific, USA). As amostras foram diluídas em TE pH 8,0 para uma concentração final de 20 ng μL^{-1} . Vinte e seis pares de *primers* SSR desenvolvidos para *P. edulis* foram usados (Tabela 1).

Tabela 1. Código do loco e sequência de bases dos 26 pares de *primers* SSR desenhados para *P. edulis* f. *flavicarpa*, tamanho do alelo e temperatura de anelamento (TA).

Loco	Primer	Alelo(pb)	TA
PE01 UNICAM	F:CCTGTCGGAAAGACTTCTGC R:GGATCGTTGTGGAGTGTGGT	230-232	TD58
PE02 UNICAM	F: TCGAGTGAGATTGGCAGTG R:TTGGCTTCGAGGAGAAGAA	165-178	TD58
PE03	F: GCAGCGAGGGAAGAAAA R: TGAGACATCGTGCGTGAA	156	TD60
PE04	F: ATGCTTTTGGAAATCCGTTT R: TGCTCATGCAAAGTCACTGG	235	TD60
PE05	F: GCGGGATTCTCTTGGCTTAC R: TAATCTCAGCTGGGTTTGGT	211–223	
PE06	F: AGCGGGGAGGAGAGTAGC R: GCCTGATGTCAAAAACACAG	187	TD60
PE07	F: TGCTCATTGATGGTGCTTG R: TCGTCTCTTCTCCTCCTTCA	138	TD60
PE08	F: CCGGATACCCACGCATTA R: TCTAATGAGCGGAGGAAAGC	282	TD56
PE11	F: GCATAAGTTGTTCGGTCTTGG R: CCTCGAACCTCTATCATCCA	178	TD60
PE12	F: CGTAATATTGTTTGGGCACT R: ATCATGGGCGAACTCATTT	150	TD60
PE13	F: AAGCACCCCAATCGTTGA R: CCCCTGCCACCTGAGTA	172	TD60
PE18	F: CCGTGAACCAACCATTTCTC R: TTGCAGCACAAACAAGTCAA	220	TD60
PE20	F: AGGATCACCATAGAAAACCAT R: GTTAGGTTGGCATTGCTCTT	242	TD60

PE23	F: CAATCCCTTGACCCATAGA R: CGTCCATCCTTCTCCTTT	206	TD56
PE24	F: TCAAAGTGAAGTCGTAAAGG R: GTGCTGGGAGACTGATGTT	294	TD60
PE27	F: TTGCTCATTGCACTCATCCT R: GCAGACATTTCTGGAGCA	139	TD60
PE35	F: ATTATGCCTAAAAACCCAAA R: TGATCCAGAGGTTGAGAGG	225	TD60
PE37	F: CAAAAGGATAGGCCTGATGTC R: TGCTTGGTCATCCACTGAAG	232	TD60
PE38	F: GATCGGTCCTCGGTTAGAC R: AGTCACACAGCATGAGAAATC	215	TD56
PE41	F: ATCGGGGTTTCGCTTATTTG R: CGTTCATCCTTTAGTGGGCTA	220	TD60
PE42	F: GTCACTTCATTCTTCCTTTCC R: TTAGCCCACTCAAACACAA	216	TD60
PE54	F: TGGTGTGTGTGGGTGATTAG R: CATTCTCCTGCCACCTGAGT	176	60
PE58	F: GCAATTTACCATCTTCTGCT R: CCACGGTCATGGATGTTT	243	TD60
PE66	F: CCATAGTCCCAACAAGCATC R: GCTGTGGACCCTAACTCAGTC	165	TD60
PE74	F: CCCTCTTATCAATAGCGTTGG R: GCACGAGCACGAGTATTTATT	215	TD56
PE90	F: TCAGGAAGATTGCATGTTAGT R: CTGGGTTTTGTTTATGTTGC	245	TD60

As reações em cadeia da polimerase (PCR) foram realizadas em um volume total de 20 μ L que continham: 20 ng de DNA genômico, 0,3 μ M dos *primers*, 0,6 U de Taq DNA polimerase, 150 μ M de dNTP, 1,5 mM de cloreto de magnésio e tampão de PCR (1X). As amplificações foram efetuadas em termociclador programado para: 94°C por 4 min; 10 ciclos a 94°C por 40s, 61-56°C por 40 s (-0,5°C por ciclo) e 72°C por 40s; 30 ciclos a 94°C por 40s, 61°C por 40s e 72°C por 40s; extensão final a 72°C por 8 min. Os fragmentos amplificados foram separados em gel desnaturante de poliacrilamida 6% e corados com prata. Ao término da corrida, os géis foram fotografados para posterior análise.

Os marcadores moleculares gerados pelos diferentes *primers* foram analisados quanto à presença ou ausência de bandas informativas para a confirmação da fecundação cruzada. Assim, foram consideradas bandas informativas somente aquelas com reprodutibilidade.

Mensuramento do conteúdo de DNA nuclear

Fragmentos de três folhas jovens dos genitores e dos possíveis híbridos foram seccionados em Placa de Petri contendo 500 µL de tampão de extração OTTO-I (Otto, 1990) suplementado com 2 mM de 2-4-ditiotreitol (Sigma®) a pH 2,3. Posteriormente, 500 µL do mesmo tampão foram adicionados e a solução filtrada através de um filtro 30 µm de nylon (Partec®). O pellet foi ressuspendido e incubado por 10 min em 100 µL de tampão de extração OTTO-I. A suspensão nuclear foi corada no escuro com 1,5 mL do tampão OTTO-II (Otto, 1990) suplementado com 75 µM de iodeto de propídio (Sigma®) e 2,0 mM de 2-4-ditiotreitol, pH 7,5. Após 30 min, a suspensão foi filtrada através de um filtro de nylon de 30 µm, e posteriormente analisada em um BD Citômetro de fluxo FACSCanto II (BD Biosciences). Histogramas com coeficientes de variação (CV) maiores que 5% foram desconsiderados. Como padrão interno foram utilizadas plantas germinadas de *Pisum sativum* L. (2C = conteúdo de DNA da espécie). Para determinar a posição do pico G₀/G₁ 2C do padrão, as folhas foram analisadas juntamente em cada repetição. Os histogramas foram analisados em escala logarítmica (log). Neste caso, o número do canal é proporcional ao log da intensidade de emissão de fluorescência, e os valores 2C nuclear foram determinados pelos valores múltiplos do pico diploide padrão.

Caracterização morfológica

O experimento foi conduzido na casa de vegetação no Setor de Fruticultura do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa. O material vegetal foi constituído por nove possíveis híbridos interespecíficos de *P. edulis* x *P. mucronata* cultivados em vasos de 30 L, assim como seus genitores (*P. edulis* e *P. mucronata*).

Os indivíduos foram caracterizados pelos descritores qualitativos e quantitativos presentes na lista do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), criada pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares para registro e proteção de cultivares de maracujá (MAPA, 2008). Os descritores avaliados foram: coloração dos ramos, heterofilia, estípulas, sinus, cor da folha, forma da folha, bordas do limbo, pilosidade, presença de nectário no limbo

(descritores qualitativos); diâmetro do caule, diâmetro dos ramos, comprimento da folha, largura da folha (descritores quantitativos). A metodologia de avaliação foi realizada segundo os indicadores descritos por Jesus et al. (2016).

As variáveis foram analisadas com o auxílio do *software* Genes (Cruz, 2013). Os dados quantitativos obtidos foram submetidos à análise de variância, a qual fornece as estimativas do quadrado médio a partir do qual foram estimados os seguintes parâmetros: variação ambiental, variância fenotípica, variância genotípica, coeficiente de variação genética CVg, coeficiente de variação experimental CVe, índice de variação (IV), e herdabilidade no sentido amplo (h^2). As médias aritméticas foram mensuradas, assim como o erro padrão da média dos valores referentes a cada um dos descritores. Posteriormente, as médias dos traços quantitativos dos indivíduos foram comparadas pelo agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS

Obtenção da população

Oito frutos foram gerados a partir dos 21 cruzamentos realizados. A frutificação foi de 38,1% quando *P. edulis* f. *flavicarpa* foi usado com genitor feminino, em cruzamentos recíprocos não houve frutificação (Santos et al. 2009). Dos frutos gerados, 208 sementes foram obtidas, destas 31,25% eram inviáveis. As viáveis foram avaliadas quanto à capacidade de germinação *in vitro* obtendo 43,5% de germinação (Oliveira et al., 2009). Após o período de aclimatização, apenas nove híbridos apresentaram um bom desenvolvimento vegetativo. As plantas resultantes não apresentaram florescimento.

Confirmação da aloploidia por meio da GISH

Para a GISH, foram testados dois tempos para o tratamento das raízes com 4,0 μ M do antitubulínico amiprofos-metil (APM, Sigma[®]), por 16 h a 4°C ou 4 h a 30°C, sendo o período

mais eficaz por 16 h a 4°C. Durante esse processo também foram testados três diluições do pool enzimático em tampão citrato de 1:25, 1:30, 1:75 (enzima:tampão), sendo a diluição mais adequada a de 1:25.

As análises cariotípicas mostraram que as espécies genitoras, *P. edulis* e *P. mucronata*, e os nove possíveis híbridos interespecíficos analisados apresentaram $2n = 18$, não havendo alteração no número cromossômico (Figura 2). A espécie genitora *P. edulis* apresentou 14 cromossomos metacêntricos, quatro cromossomos submetacêntricos, com constrição secundária presente apenas na porção terminal do braço longo do cromossomo 6 (Figura 2-A). O cariótipo do genitor masculino, *P. mucronata*, apresentou 12 cromossomos metacêntricos. Destes, seis cromossomos são submetacêntricos, com constrição secundária evidente na porção terminal do braço longo do cromossomo 3, e na porção terminal do braço curto do cromossomo 6 (Figura 2-B). Os possíveis híbridos apresentaram 12 cromossomos metacêntricos e seis cromossomos submetacêntricos e constrição secundária evidente apenas na porção terminal do braço longo do cromossomo 3 (Figura 2 C-D).

Na Figura 2-E destacam-se três cromossomos importantes dentro dos cariógramas. Sendo eles: (a) cromossomo 1 submetacêntrico, para ambas as espécies genitoras e para os possíveis híbridos; (b) cromossomo 3, metacêntrico para *P. edulis*, submetacêntrico para *P. mucronata*, apresentando constrição secundária no braço longo, assim como para os possíveis híbridos; (c) cromossomo 9, metacêntrico para *P. edulis* e submetacêntrico para *P. mucronata* e possíveis híbridos.

Em relação às quatro estratégias para os mix de hibridação, na aplicação da técnica de GISH, foi constatado que apenas houve marcação positiva aos cromossomos com a marca do pai (Figura 2. C-D), como mostra o cariógrama do possível híbrido 3 e 5. O possível híbrido 3 representa como estratégia de mix de hibridação, sonda de *P. mucronata* marcada com o fluorocromo CromaTide™ Alexa Fluor™ 488-5-dUTP e DNA genômico competidor de *P. edulis*, apresentando apenas marcação positiva para a sonda do pai (coloração verde). O possível híbrido 5, representa a estratégia sonda-sonda, na qual a sonda de *P. edulis* foi marcada com o fluorocromo Rodamina-5-dUTP e a sonda de *P. mucronata* foi marcada com CromaTide™ Alexa Fluor™ 488-5-dUTP, confirmando a coloração positiva apenas para as marcas do pai (coloração verde).

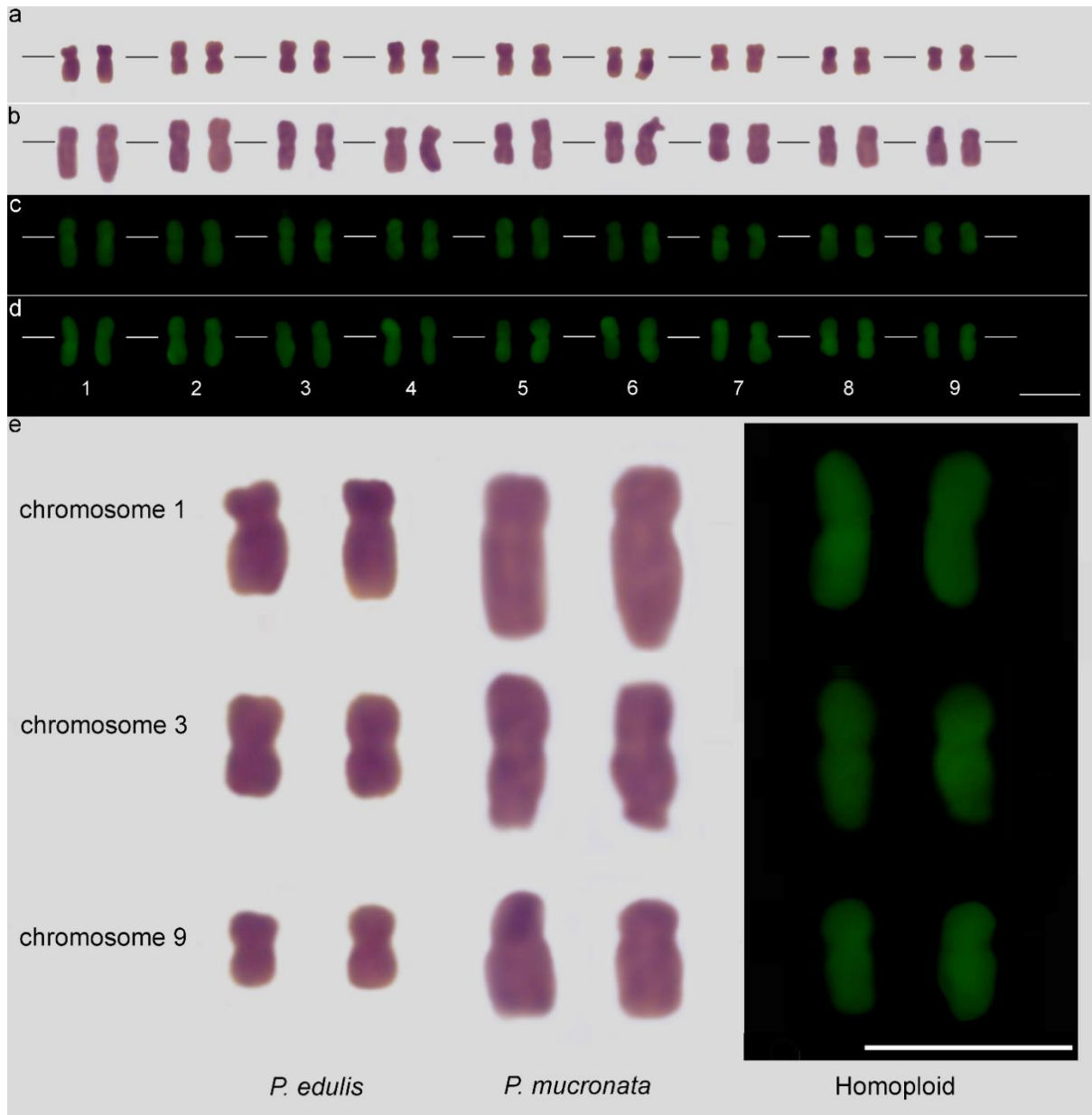


Figura 2. Cariogramas das metáfases mitóticas em genitores e possíveis híbridos interespecíficos de *P. edulis* x *P. mucronata*. **A:** Cariograma da espécie *P. edulis*, **B:** Cariograma da espécie *P. mucronata*, **C:** Cariograma do híbrido 3, **D:** Cariograma do híbrido 5, **E:** Retrato de família. Os números indicam os pares cromossômicos (9 pares cromossômicos).

Para as estratégias sonda a sonda, com a sonda de *P. edulis* marcada com o fluorocromo CromaTide™ Alexa Fluor™ 488-5-dUTP e sonda de *P. mucronata* marcada com Rodamina-5-dUTP, observou-se apenas marcação positiva para pai (coloração vermelha). Quando realizada a sonda de *P. edulis* marcada com o fluorocromo CromaTide™ Alexa Fluor™ 488-5-dUTP e DNA genômico competidor de *P. mucronata* não foi apresentada nenhum tipo de coloração.

Confirmação da hibridação por meio de marcadores microssatélites (SSR)

Dos 26 *primers* SSR analisados, 14 foram transferíveis para *P. mucronata* e desses, seis foram polimórficos e o restante monomórficos (Tabela 2).

Tabela 2: Comportamento dos *primers* nos genótipos de *P. edulis*, *P. mucronata*, e híbridos oriundos dos cruzamentos entre *P. edulis* x *P. mucronata*. Indicando a presença ou ausência de bandas e polimorfismo.

Nome do oligonucleotídeo	<i>P. edulis</i>	<i>P. mucronata</i>	Híbridos	Polimorfismo
PE01 - UNICAM	+	+	+	-
PE02 - UNICAM	+	+	+	+
PE03	+	-	-	-
PE04	+	-	-	-
PE05	-	-	-	-
PE06	+	+	+	+
PE07	+	+	+	+
PE08	+	-	-	-
PE11	+	-	-	-
PE12	+	+	+	-
PE13	+	+	+	-
PE18	+	+	+	+
PE20	+	-	-	-
PE23	+	-	-	-
PE24	+	-	-	-
PE27	+	+	+	-
PE35	-	-	-	-
PE37	+	+	+	-
PE38	+	-	-	-
PE41	+	+	+	-
PE42	+	+	+	-
PE54	+	+	+	+
PE58	+	-	-	-
PE66	+	+	+	+
PE74	+	+	+	-
PE90	-	-	-	-

+ presença; - ausência

A Figura 3 ilustra o padrão de amplificação do DNA e bandas informativas, confirmando a ocorrência ou não da hibridação. Vale ressaltar que a confirmação da fecundação cruzada foi realizada com base nos produtos de amplificação dos seis marcadores *primers*.

O padrão de amplificação do DNA e as bandas informativas para o cruzamento entre *P. edulis* e *P. mucronata* permitem observar que não houve confirmação da hibridação interespecífica (Figura 3). O suposto híbrido entre *P. edulis* e *P. mucronata* não apresenta bandas do material genético materno (*P. edulis*).

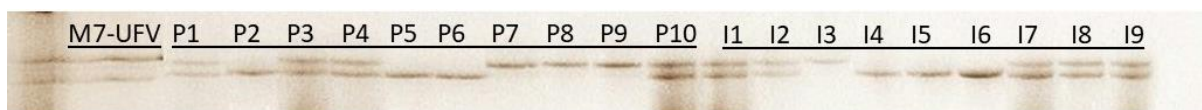


Figura 3. Produtos de amplificação de amostras de DNA genômico dos genitores femininos (*P. edulis* UFV-M7), genitores masculinos (*P. mucronata*) e possíveis F₁ (*P. edulis* x *P. mucronata*). *Primer* PE18.

Mensuramento do conteúdo de DNA nuclear

Dentre as amostras analisadas evidenciou-se que o conteúdo 2C de DNA nuclear das plantas genitoras foi de 3,45 e 3,90 pg (CV entre 3,27 e 4,36%) para *P. mucronata* e *P. edulis*, respectivamente. Para os possíveis híbridos houve uma variação na quantidade de DNA 3,48 a 3,90 pg (com CV entre 3,39 a 3,88%). Os valores médios de quantidades de DNA e CV para cada genótipo estão apresentados na Tabela 3. Os histogramas obtidos a partir da citometria de fluxo do material foliar de plantas obtidas do cruzamento *P. edulis* x *P. mucronata* e dos seus genitores são mostrados na Figura 4 A-C.

Tabela 3. Médias dos valores 2C nuclear determinadas por citometria de fluxo de um genótipo de *P. edulis* (UFV- M7), um genótipo de *P. mucronata*, e dos nove prováveis híbridos *P. edulis* x *P. Mucronata*.

Material vegetal	Genoma amostra (pg)	CV (%)
<i>P. edulis</i> (UFV-M7)	3,90	4,36
<i>P. mucronata</i>	3,45	3,27
I1	3,72	4,07
I2	3,68	5,10
I3	3,68	4,99
I4	3,69	4,40
I5	3,90	3,88
I6	3,48	3,39
I7	3,61	4,16
I8	3,78	4,41
I9	3,82	3,93

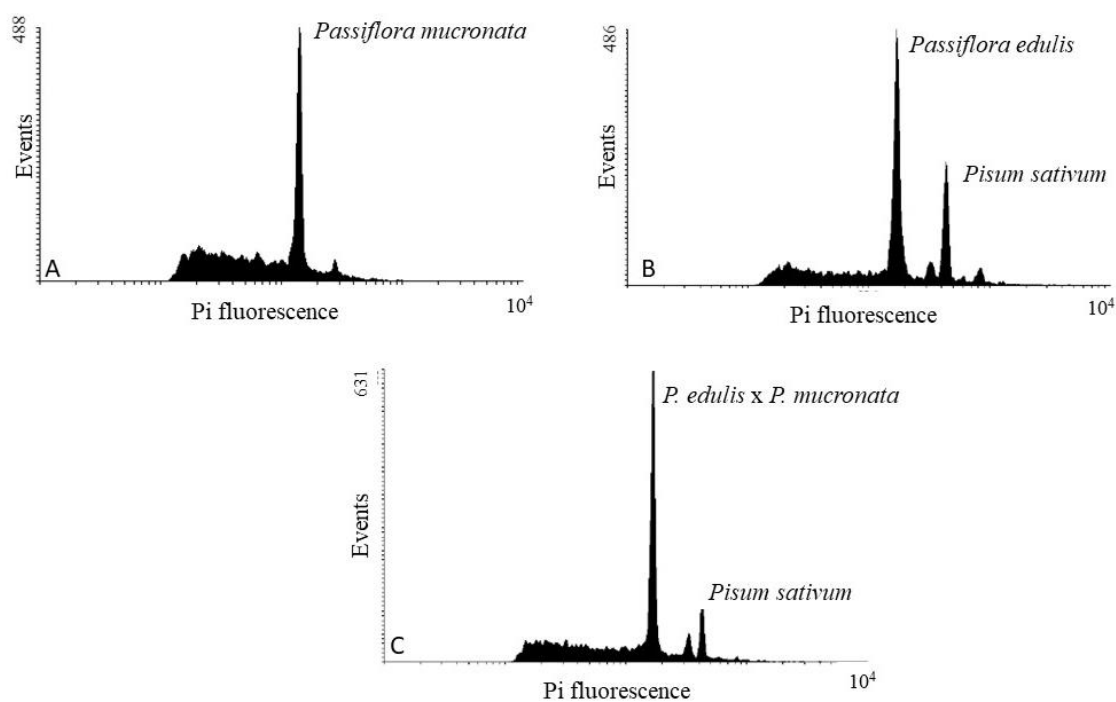


Figura 4. Histogramas representativos da análise via citometria de fluxo de Mensuramento do conteúdo de DNA nuclear 2C. **A:** Pico dos núcleos em G_0/G_1 de *P. mucronata*. **B:** Pico dos núcleos em G_0/G_1 de *P. edulis* e do padrão interno *P. sativum*. **C:** Pico dos núcleos em G_0/G_1 de um dos possíveis híbridos *P. edulis* x *P. mucronata* e do padrão interno *P. sativum*.

Caracterização morfológica

Houve diferença significativa, pelo teste F a 1% de significância, para grande parte dos descritores avaliados, exceto diâmetro do caule (Tabela 4). Os valores relativos a herdabilidade (h^2) variaram entre 76,86 a 93,12, apresentando alta herdabilidade. Os coeficientes de variação do experimento (CV%) variam entre de 15% a 23% (Tabela 4).

Tabela 4. Análise de variância e estimativas de parâmetros genéticos dos descritores: CF – Comprimento foliar, DF – Diâmetro foliar, CP – Comprimento do pecíolo, DP – Diâmetro do pecíolo, DC – Diâmetro do caule, DR – Diâmetro do ramo em possíveis híbridos entre *P. edulis* e *P. mucronata* e seus parentais.

FV	QM						
	GL	CF	DF	CP	DP	DC	DR
Genótipo	21	15,66**	17,16**	2,24**	1,12**	45,31 ^{ns}	6,69**
Resíduo	132	1,37	1,17	0,45	0,08	55,93	1,54
Total	153						

Estimativa dos parâmetros							
σ_f	2,23	2,45	0,32	0,16	6,47	0,95	
σ_e	0,19	0,16	0,06	0,01	7,99	0,22	
σ_g	2,04	2,28	0,25	0,14	0	0,73	
h^2	91,23	93,12	79,55	92,38	-	76,86	
CV _g	15,55	23,70	19,21	22,74	-	18,27	
CV _e	12,76	17,03	25,77	17,27	130,15	26,53	
CV _g /CV _e	1,21	1,39	0,74	1,31	-	0,68	

^{NS} não significativo; **significativo a 1%; *significativo a 5% pelo teste F.

Na Tabela 5 estão apresentados os valores da média e desvio dos descritores morfológicos foliares para *P. edulis*, *P. mucronata* e os possíveis híbridos oriundos dos cruzamentos entre *P. edulis* e *P. mucronata*. Em relação a esses descritores documentados, observou-se que o genótipo UFV-M7 de *P. edulis* foi alocado separadamente dos demais grupos pelo teste de Scott-Knott, diferenciando-se de todos os demais pelas variáveis DF, CP e DP. Os genótipos híbridos foram significativamente semelhantes aos dos genitores correspondentes à espécie *P. mucronata* para essas variáveis. As características que mais contribuíram para a divergência genética entre os genótipos foram DF (36,55%), seguida de DP (25,07%), e as que

menos contribuíram foram CF, CP, DR e DC; com 15,94%, 10,44%, 10,18% e 1,79%, respectivamente.

O genótipo UFV-M7 de *P. edulis* apresentou o maior valor de DF (11,91 cm), e os menores valores foram encontrados entre os possíveis híbridos, genótipos I1, I2, I3, I6, I7, I8 e I9. Os valores de DF encontrados para esses genótipos foram 4,70 cm, 5,42 cm, 3,98 cm, 5,15 cm, 4,75 cm, 5,44 cm e 5,08 cm, respectivamente.

Para DP, o genótipo UFV-M7 de *P. edulis* também se destacou com o maior valor 2,91 cm, sendo os menores valores presentes nos genótipos I1, I3, I6, I8 e I9.

No estudo das características qualitativas, observou-se que todos os possíveis híbridos tinham as características semelhantes ao dos genitores masculinos da espécie *P. mucronata*. Com caule de coloração verde-escura com ausência de antocianina, ausência de heterofilia e presença de estípulas. As folhas não apresentam profundidade de Sinus, sem pilosidade e formato cordato, com as bordas do limbo inteiras, de coloração verde e ausência de nectários.

A Figura 5 representa a estrutura genética existente entre os genitores e os possíveis híbridos. O agrupamento evidenciou a formação de dois grupos. Desta forma, o genitor feminino (*P. edulis*) foi agrupado separadamente dos possíveis híbridos, que se agruparam juntamente com genitores masculinos. A distância genética média verificada foi de 12,16, a maior distância observada foi entre o genitor feminino e indivíduo 3 com valor de 81,02. A menor distância foi entre genitor masculino P6 e P10 com valor de 0,33.

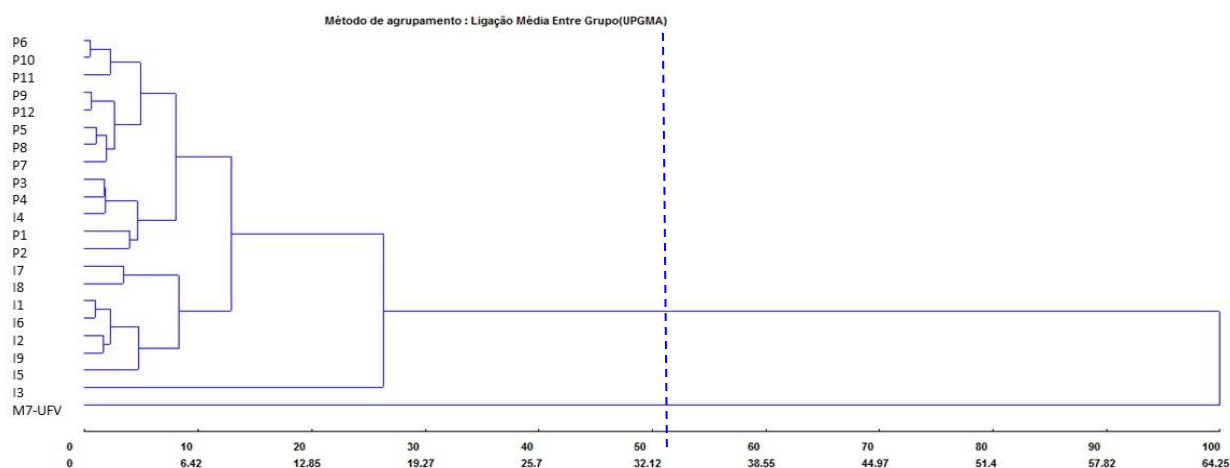


Figura 5. Dendrograma mostrando o agrupamento de um genótipo de *P. edulis*, doze genótipos de *P. mucronata*, e nove possíveis híbridos provenientes dos cruzamentos entre os genótipos de *P. edulis* e os genótipos de *P. mucronata* com base nos descritores morfológicos foliares. Método de agrupamento – Ligação média entre grupos (UPGMA).

Tabela 5. Médias e desvio-padrão dos descritores morfológicos foliares em um genótipo de *P. edulis*, doze genótipos de *P. mucronata*, e nove possíveis híbridos oriundos dos cruzamentos entre *P. edulis* e *P. mucronata*.

TRAT	CF	DF	CP	DP	DC	DR
----- cm -----						
M7-UFV	11,38 ± 2,5 a	11,91 ± 3,0 a	4,54 ± 2,3 a	2,91 ± 0,6 a	13,68 ± 2,7 a	3,57 ± 1,1 b
P1	9,57 ± 0,9 b	7,15 ± 0,8 b	2,68 ± 0,4 b	1,97 ± 0,2 b	3,35 ± 4,2 a	4,93 ± 0,3 b
P2	10,60 ± 1,2 a	7,39 ± 0,9 b	3,18 ± 0,3 b	2,00 ± 0,25 b	3,84 ± 4,9 a	6,20 ± 1,7 a
P3	8,61 ± 0,5 c	5,95 ± 0,25 b	2,27 ± 0,31 c	1,68 ± 0,21 c	3,36 ± 4,2 a	6,00 ± 1,5 a
P4	9,50 ± 0,7 b	6,59 ± 0,31 b	2,88 ± 0,29 b	1,72 ± 0,21 c	2,77 ± 3,61 a	5,57 ± 1,5 a
P5	10,69 ± 0,9 a	6,37 ± 0,64 b	2,44 ± 0,21 b	1,94 ± 0,25 b	3,65 ± 4,7 a	4,55 ± 0,93 b
P6	9,82 ± 0,5 b	6,81 ± 0,97 b	1,93 ± 0,33 c	1,66 ± 0,19 c	2,45 ± 3,2 a	4,56 ± 0,77 b
P7	10,89 ± 0,8 a	7,20 ± 0,65 b	2,47 ± 0,46 b	1,94 ± 0,25 b	3,88 ± 4,9 a	4,73 ± 0,82 b
P8	10,27 ± 0,4 b	6,34 ± 0,61 b	2,57 ± 0,23 b	1,91 ± 0,25 b	5,28 ± 6,7 a	4,07 ± 0,74 b
P9	10,20 ± 1,4 b	6,71 ± 0,5 b	2,75 ± 0,44 b	1,91 ± 0,22 b	8,46 ± 10,87 a	4,68 ± 1,12 b
P10	9,82 ± 0,5 b	6,81 ± 0,9 b	1,93 ± 0,33 c	1,66 ± 0,19 c	5,29 ± 6,78 a	4,04 ± 0,67 b
P11	10,70 ± 0,8 a	7,44 ± 0,62 b	2,37 ± 0,43 b	1,75 ± 0,31 c	7,80 ± 9,91 a	3,56 ± 0,62 b
P12	10,14 ± 1,2 b	6,90 ± 0,9 b	2,65 ± 0,48 b	2,01 ± 0,34 b	7,02 ± 9,02 a	4,90 ± 1,19 b
I1	7,7 ± 1,4 c	4,7 ± 0,79 c	2,21 ± 0,66 c	1,26 ± 0,17 d	6,27 ± 9,43 a	4,02 ± 0,51 b
I2	7,91 ± 1,5 c	5,42 ± 1,59 c	2,64 ± 0,57 b	1,46 ± 0,33 c	7,15 ± 9,98 a	3,83 ± 1,0 b
I3	5,31 ± 0,5 d	3,98 ± 0,68 c	1,67 ± 0,21 c	1,02 ± 0,09 d	5,22 ± 7,32 a	3,47 ± 0,81 b
I4	8,48 ± 1,5 c	5,91 ± 1,35 b	2,74 ± 0,56 b	1,52 ± 0,25 c	5,94 ± 8,03 a	5,93 ± 2,37 a
I5	9,48 ± 1,5 b	6,12 ± 1,3 b	3,21 ± 0,73 b	1,65 ± 0,26 c	5,86 ± 8,28 a	4,33 ± 0,83 b
I6	8,18 ± 0,9 c	5,15 ± 1,12 c	2,65 ± 0,61 b	1,35 ± 0,16 d	6,31 ± 8,3 a	4,49 ± 1,32 b
I7	7,5 ± 1,2 c	4,75 ± 1,01 c	2,6 ± 0,64 b	1,44 ± 0,47 c	6,86 ± 9,4 a	6,09 ± 2,05 a
I8	7,54 ± 0,7 c	5,44 ± 0,49 c	2,72 ± 0,31 b	1,16 ± 0,29 c	8,46 ± 12,03 a	6,41 ± 1,94 a
I9	7,7 ± 0,9	5,08 ± 0,65 c	2,6 ± 0,62 b	1,26 ± 0,22 c	3,44 ± 4,84 a	3,12 ± 0,55 b

Valores médios seguidos da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente pelo agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade. CF – Comprimento foliar, DF – Diâmetro foliar, CP – Comprimento do pecíolo, DP – Diâmetro do pecíolo, DC – Diâmetro do caule, DR – Diâmetro do ramo.

DISCUSSÃO

Os possíveis híbridos foram analisados por citogenética, comprovando a existência apenas de cromossomos paternos. Verifica-se que os cromossomos de origem maternal foram perdidos durante as mitoses e os cromossomos de *P. mucronata* sofrem duplicação, o que pode ter ocorrido durante a embriogênese. No entanto, após a duplicação o esperado seria a ocorrência de homozigose, assim como ocorre com duplos haploides e não a ocorrência de heterozigose como observado na análise molecular.

Os marcadores SSR, confirmaram apenas marcas dos genitores masculinos nos possíveis híbridos, fato esse que foi verificado em todos os *primers* utilizados na população. Observou-se homozigose nos nove possíveis híbridos avaliados com quatro dos *primers* (PE02, PE06, PE54 e PE66). Plantas homozigotas e heterozigotas foram observadas para os *primers* PE07 e PE18.

O esperado após a fertilização interespecífica, seria que os dois diferentes genomas parentais fossem recombinados dentro de um núcleo. Segundo De Jong et al. (1993), o sucesso do processo de hibridação depende da eficiência dessa recombinação. Assim a capacidade de hibridação depende da afinidade entre os genomas parentais (McConnel e Kamemoto, 1993 e Christopher et al., 1995).

As barreiras pré-fertilização e a compatibilidade entre as espécies, podem ser avaliadas por meio da relação filogenética. Ao avaliar a relação filogenética entre as espécies genitoras observou-se, via avaliação citogenética, homologia cromossômica, para ambas espécies apresentam $2n = 18$ e pertencem ao Subgênero *Passiflora*; diferenciando-se em relação as series (Serie *Passiflora* - *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg. e da Serie *Simplicifoliae* Harms Killip - *P. mucronata* Lam.), indicando compatibilidade entre as elas.

E por meio da técnica de citometria de fluxo foi comprovada a inexistência de variações significativas no conteúdo de DNA dos possíveis híbridos em relação aos seus genitores não sendo suficiente para confirmar a ocorrência da hibridação, porém pode se afirmar que não houve alteração de ploidia nos possíveis híbridos, confirmação essa observada nos resultados de citogenética.

Várias são as hipóteses para explicar a eliminação cromossômica em híbridos interespecíficos. Dentre elas estão: i) diferenças nos tempos de processos essenciais da mitose devido à assincronia da divisão celular (Gupta, 1969); ii) assincronia na síntese de

nucleoproteínas levando à perda de cromossomos com segregação tardia (Bennett et al., 1976; Laurie e Bennett, 1989); iii) formação de polos multipolares (Subrahmanyam e Kasha, 1973); iv) separação espacial dos genomas durante a interfase (Finch e Bennett, 1983, Linde-Laursen e von Bothmer, 1999) e na metáfase (Schwarzacher-Robinson et al., 1987); v) inativação parental específica de centrômeros (Finch, 1983; Kim et al., 2002; Jin et al., 2004; Mochida et al., 2004); vi) degradação de cromossomos por atividade de nucleases hospedeiro-específico (Davies, 1974); vii) e alterações na mitose pela não orientação de cromossomos na metáfase, segregação tardia na anáfase, degradação de cromatina ou fragmentação de cromossomos e a formação de micronúcleos (Singh, 2002).

Estudos realizados por Germand et al. (2005), relatam que a eliminação cromossômica pode iniciar logo após a fertilização, o que também foi confirmado por outros autores (Laurie e Bennett, 1989; Mochida et al., 2004). A eliminação específica de sequências de DNA acontece nos primeiros estágios após a hibridação (Liu et al., 1996; Feldman et al., 1997). Na família Poaceae, uma eliminação somática parcial ou total de cromossomos de uma das espécies parentais foi descrita, como em cruzamentos de *Hordeum lechleri* x *H. vulgare* (Linde-Laursen e von Bothmer, 1999), *Avena sativa* x *Zea mays* (Riera-Lizarazu et al., 1996), *Triticum aestivum* x *H. vulgare* (Barclay, 1975) e *Triticum aestivum* x *Pennisetum glaucum* (Germand et al., 2005).

Situação semelhante tem sido relatada em híbridos resultantes de *P. sublancoolata* ($2n = 22$) x *P. foetida* var. *foetida* ($2n = 22$), que exibiu aneuploidia ($2n = 22 - 2$), provavelmente devido à inativação cromossômica por nucleases, degradação da cromatina, supressão da função do centrômero e assincronia das fases do ciclo celular (Santos et al., 2012). Ainda não se encontram na literatura relatos sobre a alteração uniparental em hibridações realizadas em maracujazeiro. Porém, vários exemplos podem ser observados na literatura a outras espécies vegetais.

Baptista-Giacomelli et al. (2000), trabalhando com *Avena sativa* (aveia), demonstraram a eliminação de cromossomos na meiose via formação de micronúcleos em tétrades. Cromossomos não orientados na metáfase I e ascensão precoce de cromossomos em anáfase I também foram observados, indicativo da existência de eliminação cromossômica segundo os autores.

Germand et al. (2005), trabalhando com híbridos provenientes de cruzamentos entre trigo e milho, observaram eliminação cromossômica uniparental (cromossomos de milho) via formação de micronúcleos, acompanhado de heterocromatinização e fragmentação de

DNA. Estudos citológicos anteriores corroboram esse mecanismo de eliminação em estágios iniciais de desenvolvimento embrionário (Kasha e Kao, 1970). Os cromossomos ou fragmentos eliminados não se alinham corretamente na metáfase e segregam tardiamente na anáfase (Laurie e Bennett, 1989). Essas observações são consistentes com o mecanismo clássico de formação de micronúcleos, que envolve a formação de membranas ao redor desses cromossomos ou fragmentos durante o processo de reconstrução da membrana nuclear no final da telófase (Schubert e Oud, 1997).

Segundo Kermicle (1969), mutações espontâneas no alelo recessivo do gene gametófito indeterminado (*ig1*), em milho, restringe o potencial embriogênico das células, produzindo somente o genoma de origem paterno, ou seja, androgenéticos. Foi observado que a presença do alelo *ig1* permite a ocorrência de um número variável de divisões mitóticas, resultando em um saco embrionário com 16 núcleos ou mais, em vez dos oito núcleos observados normalmente (Lin, 1981; Huang e Sheridan, 1996). Como resultado dessas divisões mitóticas adicionais, o indivíduo mutante que apresenta o alelo *ig1* exibe heterofertilização, poliembrionia e variação no nível de ploidia do endosperma depois da fertilização. Uma das consequências durante o processo é a grande similaridade das células da região da micrópila, ficando as sinérgides e as oosferas indistinguíveis, resultando em diferenças de ploidia e a poliembrionia (Huang e Sheridan, 1996) e a possível degradação da oosfera e o desenvolvimento do núcleo espermático do grão de pólen no citoplasma da célula ovo leve a formação de embriões haploides (Kindiger e Hamann, 1993).

Estudos demonstram que a não disjunção cromossômica resulta, mais comumente, em trissomia ou monossomia. Porém, mais incomum, assumir um estado dissômico em que ambas as cópias derivam de um mesmo progenitor, como no caso deste trabalho, sendo denominada dissomia uniparental. Se os cromossomos forem derivados de cromátides irmãs idênticas tem-se a isodissomia, mas se ambos os homólogos de um genitor estiverem presentes denomina-se heterossomia (Siegel e Slavotinek, 2005). Pode ocorrer por diversos mecanismos como: perda de um cromossomo em um zigoto inicialmente trissômico (resgate trissômico), fusão de um gameta nulissômico com um gameta dissômico (complementação gamética), resgate de um zigoto monossômico pela duplicação do cromossomo monossômico e recombinação somática (Maluf et al., 2010).

Contudo, os possíveis híbridos formados apresentaram apenas crescimento vegetativo, sem desenvolvimento de estruturas reprodutivas e floração, sendo, portanto, considerados estéreis. Possíveis mutações nos genes que controlam o processo de meiose podem causar certas

irregularidades em algumas fases de desenvolvimento e afetar diretamente a fertilidade das plantas (Karsburg e Battistin, 2006).

Em trabalho realizado por Freitas et al. (2015), avaliando cruzamentos recíprocos entre *P. edulis* e *P. mucronata*, um único híbrido foi obtido do cruzamento utilizando *P. edulis* como genitor feminino, o mesmo apresentou um bom crescimento vegetativo, entretanto, não floresceu. Outros trabalhos de hibridação com maracujazeiro também apresentaram esterilidade, por exemplo, híbridos de *P. edulis* x *P. incarnata* (Knight, 1991), *P. quadrangularis* x *P. incarnata* (Dixit e Torne, 1978) e *P. edulis* x *P. caerulea* (Beal, 1972).

A baixa porcentagem de frutos e sementes híbridas viáveis produzidas a partir de cruzamentos pode ser decorrente de incongruidade, devido a barreiras de pós-fertilização, tal como a morte do embrião proveniente da degeneração do endosperma. Trabalhos realizados com espécie silvestre *P. caerulea* e *P. edulis* também vêm apresentando características semelhantes de pouco número de sementes produzidas e baixa viabilidade das sementes (Junqueira et al., 2005).

As características morfológicas foliares apresentadas, diâmetro foliar e diâmetro do pecíolo, foram consideradas, dentre as características avaliadas, essenciais para a formação dos dois grupos morfológicos, onde o genitor materno (*P. edulis*) foi separado em um grupo, e outro grupo formado pelos pais (*P. mucronata*) e os possíveis híbridos.

As plantas de *P. mucronata* e possíveis híbridos se caracterizaram por serem totalmente glabras, com caule cilíndrico e flexuoso; pecíolos de 1 a 2 cm, com duas a quatro glândulas localizadas aproximadamente na porção mediana do pecíolo; glândulas obscuras. As folhas são ovado-cordadas, de 4 a 12 x 2,5 a 6 cm, subpeltadas a cordiformes na base e arredondadas no ápice; três a cinco nervuras coriáceas na base. Os pedúnculos são solitários de até 8 cm, articulados a 1 cm da base floral, robustos e cilíndricos (Cervi, 1997). O que caracteriza plantas idênticas aos genitores paternos.

CONCLUSÃO

Foi verificado a ocorrência de hibridação interespecífica entre *P. edulis* x *P. mucronata*, sendo que os híbridos formados apresentam dissomia parental, ou seja, são compostos apenas por cromossomos de origem paterna, com eliminação seletiva dos cromossomos maternos.

Os testes de marcadores moleculares, a caracterização morfológica e o estudo citogenético do híbrido interespecífico confirmam que os indivíduos estéreis oriundos do cruzamento *P. edulis* com *P. mucronata*, apresentando apenas características paternas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAPTISTA-GIACOMELLI, F. R.; PAGLIARINI, M. S.; ALMEIDA, J. L.; Elimination of micronuclei from microspores in a Brazilian oat (*Avena sativa* L.) variety. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p. 681-684, 2000.

BARCLAY, I. R.. High-frequencies of haploid production in wheat (*Triticum aestivum*) by chromosome elimination. **Nature** v.256, p. 410–411, 1975.

BEAL, P. R. Two new interspecific hybrids in the genus *Passiflora*. **Sabrao Newsl**, v. 4, n. 2, p.113-115, 1972.

BENNETT, M. D., FINCH, R. A., AND BARCLAY, I. R. The time rate and mechanism of chromosome elimination in *Hordeum* hybrids. **Chromosoma** v.54, p. 175–200, 1976.

BERNACCI, L. C.; CERVI, A. C.; MILWARD-de-AZEVEDO, M. A.; NUNES, T. S.; IMIG, D. C.; MEZZONATO, A. C. Passifloraceae In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB182>>. Acesso em: 07 de abril de 2017.

BORÉM, A; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. Viçosa, MG: ed. UFV, 523p. 2013.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Descritores morfológicos para maracujá**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/registros-autorizacoes/protecaocultivares/formulariosprotecao-cultivares>> Acesso em: 04/2017.

CARVALHO, C. R., SARAIVA, L. S. High-resolution HKG-banding in maize mitotic chromosomes. **J Plant Res** v.110, p.417–420, 1997.

- CARVALHO, G. M. A., CARVALHO, C. R., SOARES, F. A. F. S. Flow cytometry and cytogenetic tools in eucalypts: genome size variation × karyotype stability. **Tree Genetics & Genomes** v.13, p.106, 2017.
- CERVI, A. C. Passifloraceae do Brasil: estudo do gênero *Passiflora* L. subgênero *Passiflora*. **Fontqueria**, Madrid, v. 45, p. 1-92. 1997.
- CONTRERAS, R. N., RUTER, J. M., CONNER, J., ZENG, Y. Confirmation of hybridity using GISH and determination of 18S rDNA copy number using FISH in interspecific F(1) hybrids of *Tecoma* (Bignoniaceae). **Genome** v. 55, p.437-445, 2012.
- CHRISTOPHER J., MINI L. S., OMANAKUMARI N. Hybridization studies in *Coix* species I. Cytomorphological studies of *Coix Taxon* ($2n = 32$), *C. gigantea* Koenig ex Roxb. ($2n = 12$) and the F1 Hybrid. **Cytologia**, v.60, p.249-256, 1995.
- CRUZ, C.D. GENES – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, p. 271-276, 2013.
- DAVIES, D.R. Chromosome elimination in inter-specific hybrids. **Heredity** v.32, p.267–270, 1974.
- DE JONG J.H., WOLTERS A.M.A., KOK J.M., VERHAAR H. and VAN EDEN J., Chromosome pairing and potential for intergeneric recombination in some hypotetraploid somatic hybrids of *Lycopersicon esculentum* (+) *Solanum tuberosum*. **Genome**, v.36, p.1032-1041, 1993.
- DINIZ, L. E. C., SAKIYAMA, N. S., LASHERMES, P., Analysis of AFLP markers associated to the Mex-1 resistance locus in Icatu progenies. **Cropp Breeding and Applied Biotechnology** v.5, p.387–393. 2005.
- DIXIT, G. B., TORNE, S. G. One new interspecific hybrid in the genus *Passiflora*. **Current Sci.**, v.47, p.29-31. 1978.
- FALEIRO, F. G.; PIRES, J. L.; LOPES, U. V. Uso de Marcadores Moleculares RAPD e Microsatélites Visando a Confirmação da Fecundação Cruzada entre *Theobroma cacao* e *Theobroma grandiflorum*. **Agrotrópica**, v. 15, n.1, p. 41-46, 2003.

FELDMAN, M., LIU, B., SEGAL, G., ABBO, S., LEVY, A.A., AND VEGA, J.M. (1997). Rapid elimination of low-copy DNA sequences in polyploid wheat: A possible mechanism for differentiation of homoeologous chromosomes. **Genetics** v.147, p.1381–1387.

FINCH, R. A. Tissue-specific elimination of alternative whole parental genomes in one barley hybrid. **Chromosoma** v.88, p.386–393, 1983.

FINCH, R. A., BENNETT, M. D. The mechanism of somatic chromosome elimination in *Hordeum*. In **Kew Chromosome Conference II: Proceedings of the Second Chromosome Conference**, P.E. Brandham, ed (London: Allen & Unwin), p. 146–153, 1983.

FLORES, P. S.; OTONI, W. C.; DHINGRA, O. D.; DINIZ, S. P. S. S.; SANTOS, T. M.; BRUCKNER, C. H. *In vitro* selection of yellow passion fruit genotypes for resistance to *Fusarium* vascular wilt. **Plant Cell Tiss Organ Cult**, Cham, v. 108, n. 1, p. 37-45, 2012.

FREITAS, J. C. de O.; VIANA, A. P.; SANTOS, E. A.; PAIVA, C. L.; DE LIMA E SILVA, F. H.; DO AMARAL, A. T.; SOUZA, M. M.; DIAS, V. M. Resistance to *Fusarium solani* and characterization of hybrids from the cross between *P. mucronata* and *P. edulis*. **Euphytica** (Wageningen), v. 205, p. 1-15, 2015.

GERMAND, D., RUTTEN, T.; VARSHNEY, A.; RUBTSOVA, M.; PRODANOVIC, S.; BRÜB, C.; KUMLEHN, J.; MATZK, F.; HOUBEN, A. Uniparental chromosome elimination at mitosis and interphase in wheat and pearl millet crosses involves micronucleus formation, progressive heterochromatinization, and DNA fragmentation. **Plant Cell**, v. 17, p. 2431-2438, 2005.

GUPTA, S. B. Duration of mitotic cycle and regulation of DNA replication in *Nicotiana plumbaginifolia* and a hybrid derivative of *N. tabacum* showing chromosome instability. **Can. J. Genet. Cytol.** v.11, p.133–142, 1969.

HUANG, B.-Q.; SHERIDAN, W. F. Embryo sac development in the maize indeterminate gametophyte 1 mutant: abnormal nuclear behavior and defective microtubule organization. **The Plant Cell**, Rockville, v. 8, n. 8, p. 1391-1407, Aug. 1996.

JESUS, O. N.; OLIVEIRA, E. J.; FALEIRO, F. G.; SOARES, T. L.; GIRARDI, E. A. **Descritores morfoagronômicos ilustrados para *Passiflora* spp.** Brasília, DF: Embrapa, 2016. 122p.

- JIN, W. W., MELO, J. R., NAGAKI, K., TALBERT, P. B., HENIKOFF, S., DAWE, R. K., JIANG, J. M. Maize centromeres: Organization and functional adaptation in the genetic background of oat. **Plant Cell** v.16, p.571–581, 2004.
- JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; BERNACCI, L. C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrado, p. 81-106, 2005.
- KARLOV, G. I., KHRUSTALEVA, L. I., LIM, K. B., VAN TUYL, J. M. Homoeologous recombination in 2n-gametes producing interspecific hybrids of *Lilium* (Liliaceae) studied by genomic in situ hybridization (GISH). **Genome** v.42, p.681-686, 1999.
- KARSBURG, I. V., BATTISTIN, A. **Meiose e número cromossômico de cinco espécies da família Urticaceae do Rio Grande do sul**. RCAA v.4, p.47–60, 2006.
- KASHA, K. J.; KAO, K. N. High frequency haploid production in barley (*Hordeum vulgare*) **Nature**, v. 225, p. 874-875, 1970.
- KERMICLE, J. L. Androgenesis conditioned by a mutation in maize. **Science**, Washington, v. 166, n. 3911, p. 1422-1424, 1969.
- KIM, N. S., ARMSTRONG, K. C., FEDAK, G., HO, K., PARK, N. I. A microsatellite sequence from the rice blast fungus (*Magnaporthe grisea*) distinguishes between the centromeres of *Hordeum vulgare* and *H. bulbosum* in hybrid plants. **Genome** v. 45, p.165–174, 2002.
- KINDIGER, B.; HAMANN, S. Generation of haploids in maize: a modification of the indeterminate gametophyte (*Ig*) system. **Crop Science**, Madison, v. 33, p. 342-344, 1993.
- KNIGHT, R. J., ‘Development of Tetraploid Hybrid Passionfruit Clones with Potential for the North Temperate Zone’, **Horticultural Science**, 26, 1541, 1991.
- LAURIE, D. A., BENNETT, M. D. The timing of chromosome elimination in hexaploid wheat x maize crosses. **Genome** v.32, p.953–961, 1989.
- LIN, B. Y. Megagametogenetic alterations associated with the indeterminate gametophyte (*ig*) mutation in maize. **Revista Brasileira de Biologia**, São Paulo, v. 41, p. 557-563, 1981

- LIM, K. B., CHUNG, J. D., VAN KRONENBURG, B. C., RAMANNA, M. S. Introgression of *Lilium rubellum* Baker chromosomes into *L. longiflorum* Thunb.: a genome painting study of the F1 hybrid, BC1 and BC2 progenies. **Chromosome Res.** v.8, p.119-125, 2000a.
- LIM, K. Y., MATYASEK, R., LICHTENSTEIN, C. P., LEITCH, A. R. Molecular cytogenetic analyses and phylogenetic studies in the *Nicotiana* section Tomentosae. **Chromosoma** v.109, p.245-258. 2000b.
- LINDE-LAURSEN, I., VON BOTHMER, R. Orderly arrangement of the chromosomes within barley genomes of chromosome-eliminating *Hordeum lechleri* x barley hybrids. **Genome** v.42, p.225–236. 1999.
- LIRA JUNIOR, J. S. de; FLORES, P. S.; BRUCKNER, C. H. UFV-M7: mutant yellow passionfruit genotype with photoperiod insensitivity for flowering. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 14, p. 128-131, 2014.
- LIRA JUNIOR, J. S de **Estratégia de superação da autoincompatibilidade e herança da sensibilidade da indução floral ao fotoperíodo em maracujazeiro.** Viçosa-MG. Universidade Federal de Viçosa, 66 p. Tese de Doutorado em Genética e Melhoramento. 2012
- LIU, S. C., KOWALSKI, S. P., LAN, T. H., FELDMANN, K. A., PATERSON, A. H. Genome-wide high-resolution mapping by recurrent intermating using *Arabidopsis thaliana* as a model. **Genetics** v.142, p.247–258. 1996.
- MALUF, S. W.; FALLER, M. S.; FREITAS, T.; VAIRO, F. P.; CARVALHO, G.; LEITE, J. C. L.; FÉLIX, T. M. Dissomia uniparental do cromossomo 14 derivado de translocação robertsoniana 13;14: relato de três casos. In: VI Congresso brasileiro de triagem Neonatal/ XXII Congresso brasileiro de Genética Médica. **Anais ...**Salvador – BA, 2010.
- MARASEK, A., HASTEROK, R., WIEJACHA, K., ORLIKOWSKA, T. Determination by GISH and FISH of hybrid status in *Lilium*. **Hereditas** v.140, p.1-7. 2004.
- MARASEK-CIOLAKOWSKA, A., HE, H., BIJMAN, P., RAMANNA, M. S. Assessment of intergenomic recombination through GISH analysis of F1, BC1 and BC2 progenies of *Tulipa gesneriana* and *T. fosteriana*. **Plant Syst. Evol.** v.298, p.887-899. 2012.
- MC CONELL, J., KAMEMOTO, H., Morphology and meiotic behavior of three *Dendrobium amphidiploids* and their diploid counterparts. **HortScience**, v.28, p.935-937. 1993.

MELO, C. A. F., SILVA, G. S., SOUZA, M. M. Establishment of the genomic in situ hybridization (GISH) technique for analysis in interspecific hybrids of *Passiflora*. **Genetics and Molecular Research** v.14, n.1, p.2176-2188, 2015.

MELO, N. F., GUERRA, M. Variability of the 5S and rDNA sites in *Passiflora* L. with species with distinct base chromosome numbers. **Ann Bot.** v.92, p.309-16, 2003.

MILTRE, L. K.; MARQUES, A.M.; CARVALHO, C.R; CLARINDO, W.R. Aplicação da citometria de fluxo na identificação de híbridos interespecíficos de *Coffea*. In: XIV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e X Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, **Anais**, 2011.

MOCHIDA, K., TSUJIMOTO, H., AND SASAKUMA, T. Confocal analysis of chromosome behavior in wheat x maize zygotes. **Genome** v. 47, p.199–205. 2004.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**, v.15, p.473-479, 1962.

OLIVEIRA, R. P.; NOVELLI, V. M.; MACHADO, M. A. Frequência de híbridos em cruzamento entre tangerina ‘cravo’ e laranja ‘pêra’. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 1895-1903, 2005

OLIVEIRA, S. P.; SANTOS, T. M.; PIRES, R. G.; BRUCKNER, C. H. Cruzamentos recíprocos entre *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Sims x *Passiflora mucronata* e avaliação da viabilidade e germinação das sementes. In: **XIX Simpósio de Iniciação Científica** – UFV, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2009.

OTONI, W.C.; BLACKHALL, N.W.; D’UTRA VAZ, F.B.; CASALI, V.W.D.; POWER, J.B.; DAVEY, M.R. Somatic hybridization of the *Passiflora* species, *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. and *P. incarnata* L. **Journal of Experimental Botany**, v.46, p.777-785, 1995.

OTTO, F. J. DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. In: Darzynkiewicz Z, Crissman HA, T. C. Mamedes-Rodrigues et al. Robinson JP (eds) *Methods in cell biology*. **Academic**, San Diego, p.105–110. 1990.

PAIM PINTO, D. L.; BARROS, B. A.; VICCINI, L. F.; CAMPOS, J. M. S.; OTONI, W. C. Evaluation of genetic stability of somatic embryogenesis-derived plants of *Passiflora cincinnata* Mast. by means of flow cytometry. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 2009.

- PEREIRA, R. B.; SILVA, G. O.; PINHEIRO, J. B.; CARVALHO, A. D. F.; VIEIRA, J. V. (2012) Herdabilidade e resposta à seleção para peso de raízes e tolerância a queima-das-folhas em populações de cenoura – Brasília, DF: Embrapa,– (**Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento** / Embrapa Hortaliças ; 81), ISSN 1677-2229, 17p.
- RIDDLE, N. C., BIRCHLER, J. A. Effects of reunited diverged regulatory hierarchies in allopolyploids and species hybrids. **Trends Genet.** v.19, p.597–600. 2003.
- RIERA LIZARAZU, O., RINES, H. W., PHILLIPS, R. L. Cytological and molecular characterization of oat x maize partial hybrids. **Theor. Appl. Genet.** v.93, p.123–135. 1996
- SANTOS, E. A., SOUZA, M. M., ABREU, P. P., CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S., ARAÚJO, I. S., VIANA, A. P., ALMEIDA, A. A. F., FREITAS, J. C. O. Confirmation and characterization of interspecific hybrids of *Passiflora* L. (*Passifloraceae*) for ornamental use. **Euphytica.** v.184, p.389-99. 2012.
- SANTOS, T. M., OLIVEIRA, S. P.; PIRES, R. G.; BERMUDEZ, F. P.; BRUCKNER, C. H. Cruzamentos recíprocos entre *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Sims x *Passiflora mucronata*. **5º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**, Guarapari, ES, 2009.
- SCHUBERT, I.; OUD, J.L.; There is an upper limit of chromosome size for normal development an organism. **Cell**, v. 88, p. 515-520, 1997.
- SCHWARZACHER-ROBINSON, T., FINCH, R. A., SMITH, J. B., AND BENNETT, M. D. Genotypic control of centromere positions of parental genomes in *Hordeum* x *Secale* hybrid metaphases. **J. Cell Sci.** v.87, p.291–304. 1987
- SIEGEL, D. H.; SLAVOTINEK, A. Uniparental disomy. **Pediatr Dermatol** v.22, p.482-487. 2005
- SILVA, M. L.; PAIM PINTO, D. L.; GUERRA, M. P.; FLOH, E. I. S.; BRUCKNER, C. H.; OTONI, W. C. A novel regeneration system for a wild passionfruit (*Passiflora cincinnata* Mast.) species based on somatic embryogenesis from mature zygotic embryos. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.99, p.47–54, 2000.
- SINGH, R. J. Plant cytogenetics. **Boca Raton: CRC**, 2002.463p.

STEBBINS, G. L. (1950) **Variation and Evolution in Plants** (Columbia Univ. Press, New York).

SUBRAHMANYAM, N.C., AND KASHA, K.J. (1973). Selective chromosomal elimination during haploid formation in barley following interspecific hybridization. **Chromosoma** 42, 111–125.

SYBENGA J., 1992 – Cytogenetics in plant breeding. (Monographs on theoretical and applied genetics) Springer, Berlin Heidelberg, New York. –, 1996 – Recombination and chiasmata: few but intriguing discrepancies. **Genome**, 39: 473-484

CAPITULO 2

Seleção de genótipos de maracujazeiro quanto a resistência a Fusariose.

RESUMO

A produção de maracujá no Brasil vem sofrendo grandes perdas devido a ocorrência de patógenos de solo, como *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* e *Fusarium solani*. Atualmente, existem apenas medidas de prevenção às doenças causadas por estes patógenos, como o cultivo em áreas sem histórico de sua ocorrência, o uso de material de propagação livre de patógenos e de plantas resistentes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência de plantas, oriundas da planta M7-UFV em geração S₃, *Passiflora mucronata* e possíveis híbridos de *P. edulis* x *P. mucronata* quando inoculadas com *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* e *F. solani*. Para isso foram montados dois experimentos. No experimento 1, a inoculação de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* via suspensão. No experimento 2, a inoculação de *F. solani* foi realizada por meio de um corte no colo da planta e a fixação de um disco contendo micélio do fungo. As testemunhas de ambos experimentos sofreram os mesmos tratamentos, porém sem a presença do inóculo. Os resultados apresentados pelas plantas inoculadas com *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* indicam resistência dos genótipos *P. mucronata* e M7-UFV. Os primeiros sintomas surgiram 18 DAI, porém os genótipos resistentes se restabeleceram e apresentando ao final do experimento um elevado crescimento de parte aérea e radicular. Além disso, pode-se constatar que os híbridos foram suscetíveis aos inóculos, fato esse dado pela baixa produção de raízes das estacas e presença de necroses. Os resultados inferidos das inoculações de *F. solani* não diferiram das testemunhas. Concluímos que os genótipos *P. mucronata* e M7-UFV são resistentes a *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*. E os híbridos foram suscetíveis aos inóculos, os tratamentos de *F. solani* não diferiram das testemunhas.

Termos para indexação: *Passiflora edulis*, *Fusarium*, resistência.

Selection of passion fruit genotypes in relation to resistance to Fusariose.

ABSTRACT

The production of passion fruit in Brazil has suffered great losses due to the occurrence of soil pathogens, such as *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* and *Fusarium solani*. Currently, there are only measures to prevent diseases caused by these pathogens, such as cultivation in areas with no history of their occurrence, the use of pathogen free propagating material and resistant plants. The objective of this work was to evaluate the resistance of plants from the plant M7-UFV in generation S₃, *Passiflora mucronata* and possible hybrids of *P. edulis* x *P. mucronata* when inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* and *F. solani*. For this, two experiments were set up. In experiment 1, the inoculation of *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* via suspension. In experiment 2, the inoculation of *F. solani* was done by means of a cut in the plant colon and the fixation of a disk containing mycelium of the fungus. Witches from both experiments underwent the same treatments, but without the presence of the inoculum. The results presented by plants inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* indicate resistance of *P. mucronata* and M7-UFV genotypes. The first symptoms appeared 18 DAI, but the resistant genotypes were restored and at the end of the experiment showed a high aerial and root growth. In addition, it can be verified that the hybrids were susceptible to the inoculum, fact given by the low production of roots of the cuttings and presence of necroses. The results inferred from the inoculations of *F. solani* did not differ from the controls. We conclude that genotypes *P. mucronata* and M7-UFV are resistant to *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*. And the hybrids were susceptible to inoculum, the treatments of *F. solani* did not differ from the controls.

Index terms: *Passiflora edulis*, *Fusarium*, resistance.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de maracujá em nível mundial, com uma produção média total de 554 mil toneladas e produtividade em torno de 13,5 t.ha⁻¹, em 2017. Os estados da Bahia, Ceará e Santa Catarina, são responsáveis por 56% do total da produção (IBGE, 2017).

Apesar de ser o maior produtor mundial de maracujá, a produtividade nacional é muito baixa, pois observa-se redução na área plantada no país e a ocorrência de pragas e patógenos que influenciam diretamente a produtividade do maracujazeiro (Junqueira et al., 2005). A incidência de várias doenças nos pomares de maracujazeiro, aliada à inexistência de cultivares resistentes, tem contribuído para a redução da área plantada, agravando a situação dos pomares, a ponto de reduzir o tempo de exploração econômica da cultura, podendo até mesmo inviabilizar seu cultivo (Meletti et al., 2005).

Das doenças que atacam os maracujazeiros, duas merecem destaque: Fusariose causada pelo fungo *F. oxysporum* Schlechtendahl emend. Snyder e Hansen f. sp. *passiflorae* (Liberato e Costa, 2001) e a Podridão do colo, causada pelo fungo *F. solani* (Mart.) Sacc. (Bueno et al., 2010).

Em relação à Fusariose, esta ocorre em diversas regiões produtoras, podendo ocasionar grandes danos devido à morte das plantas, afetando a produtividade e reduzindo a vida útil dos pomares (Liberato e Costa, 2001). A doença ocorre em reboleiras e causa murcha da parte aérea da planta, seguida de morte. Internamente, pode-se observar o escurecimento, marrom-avermelhado, dos tecidos do xilema e, em adiantado estágio da doença, o caule ou as hastes podem fender-se, deixando à mostra os sinais do patógeno. O patógeno tem a capacidade de permanecer no solo por muitos anos pela formação de clamidósporo, inviabilizando o cultivo de maracujá em muitas áreas (Liberato e Costa, 2001).

A podridão do colo ou podridão fusariana provoca significativo decréscimo na produtividade e constantes migrações da cultura para regiões livres do patógeno. Os sintomas consistem em uma leve murcha dos ponteiros, acompanhada de alteração na coloração da folha para um verde-pálido, ocorrendo, posteriormente, murcha drástica, desfolha e morte das plantas, devido ao completo anelamento necrótico do colo da planta. São também descritos intumescimento e rachaduras da casca, na região do colo afetado, exibindo uma coloração arroxeada nas bordas das lesões e formando, sob condições de elevada umidade, estruturas pouco maiores que grãos de areia, de coloração avermelhada, os peritécios do patógeno (Fischer et al., 2005).

Atualmente, existem apenas medidas de prevenção às doenças mencionadas acima, como o cultivo em áreas sem histórico de ocorrência destas, o uso de material de propagação livre de patógenos e de plantas resistentes (Peruch et al., 2018).

Um dos fatores que pode ser citado para a melhoria dos pomares são os programas de melhoramento genético da cultura. Trabalhos voltados para o aumento da produtividade,

melhoria da qualidade de frutos e ao desenvolvimento de genótipos resistentes às doenças importantes para a cultura têm contribuído para o melhoramento genético (Bruckner et al., 2002).

A resistência ou tolerância aos principais patógenos é vista pelos pesquisadores como uma demanda urgente para pesquisas, sob pena de redução drástica das áreas cultivadas e insustentabilidade econômica da cultura (Faleiro et al., 2006).

Várias pesquisas vêm buscando soluções no melhoramento genético a fim de gerar genótipos e híbridos com maior resistência às doenças do maracujazeiro. A obtenção de híbridos é uma técnica recentemente adotada, com pouco conhecimento sobre o comportamento produtivo e a qualidade de frutos deste tipo de material (Freitas et al., 2012), havendo a necessidade de pesquisas para obtenção de cultivares que apresentem características de resistência (Faleiro et al., 2011).

Fontes de resistência têm sido buscadas em *P. edulis* e espécies relacionadas. Em trabalhos de melhoramento visando resistência a doença, realizados na Universidade Federal de Viçosa, Flores et al. (2012) submeteram o maracujazeiro (*P. edulis*) a radiações com raios gama para obtenção de mutantes e seleciona-los quanto a insensibilidade ao filtrado da cultura de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*. As plantas selecionadas por Flores et al. (2011) que foram avaliadas a campo, numa área com histórico de fusariose, no Setor de Fruticultura da UFV, a maioria das plantas sobreviveram e, dentre essas, alguns mutantes apresentaram a capacidade de florescerem precocemente e continuarem a emitir botões florais sob fotoperíodos abaixo de 11 h de luz.dia⁻¹(UFV-M7) (Lira Junior et al., 2014). As espécies *P. foetida*, *P. mucronata*, *P. nitida* e *P. morifolia* apresentaram resistência mediante a inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* e cultivadas em solução nutritiva (Preisigke et al., 2017).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência de plantas S₃ oriundas de M7-UFV, *P. mucronata* e híbridos de *P. edulis* x *P. mucronata* quando inoculadas com *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* e *F. solani*.

MATERIAL E MÉTODOS

Cultura monospórica

As culturas monospóricas, utilizadas nos experimentos, oriundas de maracujazeiros doentes, previamente identificados e multiplicados, foram provenientes da Micoteca da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT).

Dois experimentos foram conduzidos simultaneamente utilizando os seguintes isolados: o Experimento 1 os isolados FOP06 e FOP08 do complexo *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* e no Experimento 2 os isolados FS12, FS13 e FS17 do complexo *F. solani*.

Material vegetal

Foram testadas quanto à resistência, as plantas S₃ oriundas de *P. edulis* f. *flavicarpa* (M7-UFV), previamente selecionadas quanto à resistência ao *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* por Flores et al. (2012), *P. mucronata* e híbridos de *P. edulis* x *P. mucronata* do Programa de Melhoramento Genético de maracujazeiro da Universidade Federal de Viçosa. Como controle positivo foram utilizadas plantas de *P. edulis* da cultivar BRS Sol do Cerrado (BRS SC1). Estas plantas foram obtidas por sementes e estacas herbáceas (híbrido) em casa de vegetação do Setor de Fruticultura da Universidade Federal de Viçosa (UFV), onde foram conduzidos os experimentos.

Experimento 1

Para a produção dos inóculos de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*, os micélios dos fungos preservados em fragmentos de papel filtro, foram repicados para placas de Petri

contendo o meio de cultura SNA (Synthetic Nutrient-poor Agar), incubadas em BOD, a temperatura de 25° C e fotoperíodo de 12h, por sete dias.

Após o período de crescimento dos isolados, às placas contendo as colônias de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* foram lavadas com água destilada e autoclavada com auxílio de um pincel e peneira, para a obtenção da suspensão de esporos. A suspensão foi preparada minutos antes da inoculação, com a concentração ajustada para 5×10^6 esporos mL^{-1} , com auxílio de uma câmara de Neubauer. A inoculação foi realizada pelo procedimento de raízes lavadas descrita por Preisigke et al. (2017).

As plantas foram retiradas do substrato, e o sistema radicular foi lavado em água corrente. Partes das raízes foram cortadas com o auxílio de uma tesoura estéril, para a padronização do tamanho das mesmas. Em seguida, as raízes foram imersas em 250 mL de suspensão de conídios, por 24 horas. Nos tratamentos testemunhas, realizaram-se os mesmos procedimentos, utilizando-se água destilada no lugar da suspensão. Após 24 horas, as plantas foram retiradas e alocadas em recipiente contendo 250 mL de solução nutritiva proposta por Clark (1975), sendo a solução trocada a cada três dias (Figura 1).



Figura 1: Montagem do experimento 1, inoculação de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* via suspensão. A) Plantas com as raízes cortadas e imersas em 250 ml de suspensão de conídios, por 24 horas; B) Potes para transferência das plantas com solução nutritiva; C) Transferência, após 24 horas.

Avaliou-se o período de sobrevivência (período em dias da inoculação até a morte das plantas) e números de plantas vivas. Essas avaliações foram realizadas em intervalos de dois dias até os 50 DAI (Dias Após a Inoculação). Após 50 DAI, foram retiradas 5 plantas por tratamento e avaliou-se: número de folhas (NF), número de brotos (NB), comprimento da parte aérea (CPA), número de raízes (NR), comprimento de raízes (CR), massa da matéria fresca de parte aérea (MFPA), massa da matéria fresca de raiz (MFR), massa da matéria seca

de parte aérea (MSPA) e massa da matéria seca de raiz (MSR). O experimento foi conduzido sob esquema fatorial 2 x 4 (isolados x genótipo), em delineamento inteiramente casualizados com dez repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade, com auxílio do programa estatístico do Genes (Cruz, 2013).

Experimento 2

Foi utilizada a metodologia descrita por Fischer et al. (2003) para a inoculação de *F. solani*. Um pequeno ferimento foi realizado no colo da planta, onde foi colocado um disco de 5 mm de diâmetro do meio de cultura SNA contendo micélio fúngico, fixando-o com auxílio de plástico tipo PVC (Figura 2). As testemunhas foram submetidas aos mesmos procedimentos de ferimento, porém sem a aplicação do fungo, colocando-se apenas um disco do meio de cultura SNA-estéril. O plástico foi removido cinco DAI. A análise das plantas se deu pela avaliação diária do período de sobrevivência até 50 DAI, e pela escala de nota, adaptada e modificada de Roy (1997), realizada aos 50 DAI. O experimento foi conduzido sob esquema fatorial 3 x 4 (isolados x genótipo) em delineamento inteiramente casualizado com dez repetições.



Figura 2: Montagem do experimento 2 (Testemunha), inoculação de *Fusarium solani*. A) Discos de meio SNA; B) Pequeno ferimento no colo da planta; C) Inserção do disco do meio de cultura; D) Fixação com auxílio de plástico tipo PVC.

Após 50 DAI, foram retiradas cinco plantas por tratamento e avaliaram-se: número de folhas (NF), número de brotos (NB), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento de raízes (CR), massa da matéria fresca de parte aérea (MFPA), massa da matéria fresca de raiz (MFR), massa da matéria seca de parte aérea (MSPA) e massa da matéria seca de raiz (MSR).

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade com auxílio do programa estatístico do Genes (Cruz, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1

Pelos resultados obtidos na análise de variância, descritos na Tabela 1, pode-se observar que ocorreu interação entre os genótipos de maracujazeiro e os isolados de *F. oxysporum* f. sp. *passiflore*, para as características avaliadas NF, NR, CR e MFPA ao nível de 5% de probabilidade. Houve diferenças significativas entre genótipos apenas para a característica NR. Entretanto, diferenças significativas ao nível de 5% e 1% de probabilidade, pelo teste *F*, foram identificadas entre os inóculos, apenas a característica CR não foi significativa.

Os genótipos *P. mucronata* e S₃ de M7-UFV apresentaram melhor desenvolvimento quando inoculados com o inóculo FOP06, sendo que *P. mucronata* apresentou maior crescimento de parte aérea e M7-UFV de sistema radicular. Os genótipos dos híbridos obtiveram baixo desenvolvimento na presença principalmente, do inóculo FOP06 (Tabela 2).

Tabela 1. Análise de variância e estimativas de parâmetros das características avaliadas no experimento 1 (inoculação de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* via suspensão): número de folhas (NF), número de brotos (NB), comprimento da parte aérea (CPA), número de raízes (NR), comprimento de raízes (CR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa fresca de raiz (MFR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR)

FV	GL	QM								
		NF	NB	CPA	NR	CR	MFPA	MFR	MSPA	MSR
		-----cm-----								
Inóculo	3	451,12*	30,68**	2226,72*	766,44*	151,19 ^{ns}	145,52*	199,99**	16,38*	2,73*
Genótipo	2	53,81 ^{ns}	2,11 ^{ns}	50,86 ^{ns}	398,46**	1,12 ^{ns}	1,32 ^{ns}	1,60 ^{ns}	1,66 ^{ns}	0,17 ^{ns}
IxG	6	60,72*	1,65 ^{ns}	334,50 ^{ns}	147,17*	53,80*	19,68*	12,28 ^{ns}	2,49 ^{ns}	0,34 ^{ns}
Resíduo	48	19,39	0,80	246,84	60,36	18,58	6,23	9,44	1,73	0,18
Total	59									
	Média	11,21	1,31	36,82	16,53	17,57	8,21	7,27	2,30	1,05
	CV(%)	39,25	68,28	42,60	46,99	24,52	30,38	42,23	57,02	40,56

^{NS} não significativo; ** significativo a 1%; * significativo a 5% pelo teste F.

Tabela 2. Médias das características avaliadas no experimento 1 (inoculação de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* via suspensão) nos genótipos avaliados em relação aos isolados.

Genótipo	NF			NB			CPA			NR		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3	F1	F2	F3	F1	F2	F3
G1	9,2Ab	11,4Ab	10,4Aa	0,6Bb	1,0Bb	2,4Aa	54,0Aa	39,24Aa	36,64Ab	18,4Aa	16,0Ab	24,6Aa
G2	19,2Aa	24,4Aa	11,6Ba	3,8Aa	2,8Aa	3,4Aa	46,74Aa	45,0Aa	59,0Aa	9,8Aa	14,8Ab	16,6Ab
G3	9,0Ab	12,2Ab	12,0Aa	0,0Ab	0,2Ab	0,6Ab	23,1Ab	35,54Aa	32,8Ab	11,2Ba	31,2Aa	31,4Aa
G4	4,4Ab	4,4Ac	6,4Aa	0,8Ab	0,0Ab	0,2Ab	28,74Ab	20,44Aa	20,70Ab	7,4Aa	7,6Ab	9,4Ab

Continuação

Genótipo	CR			MFPA			MFR			MSPA		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3	F1	F2	F3	F1	F2	F3
G1	20,78Aa	22,16Aa	20,92Aa	9,89Aa	9,54Ab	9,17Ab	11,08Aa	9,04Ab	9,23Aa	2,36Aa	2,16Ab	2,21Aa
G2	16,30Aa	15,88Ab	11,56Ab	6,95Aa	6,79Ac	4,8Ac	6,04Ab	6,78Ab	4,22Ab	1,95Aa	1,93Ab	1,27Aa
G3	14,34 Ba	20,24Aa	22,8Aa	8,97Ba	14,07Aa	12,84Aa	8,41Aa	12,31Aa	11,47Aa	2,98Ba	5,17Aa	3,24Ba
G4	17,96Aa	13,0Ab	15,0Ab	7,13Aa	3,44Ad	4,98Ac	3,44Ab	2,14Ac	3,10Ab	2,02Aa	1,08Ab	1,31Aa

Continuação

Genótipo	MSR		
	F1	F2	F3
G1	1,26Aa	1,5Aa	1,07Ab
G2	0,87Aa	1,0Ab	0,75Ab
G3	1,07Ba	1,64Aa	1,85Aa
G4	0,62Aa	0,42Ac	0,62Ab

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL constituem grupo estatisticamente homogêneo. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL constituem grupo estatisticamente homogêneo. Segundo Scott e Knott a 5% de significância. F1 – Controle, F2 – FOP06, F3 – FOP08, G1- BRS Sol do Cerrado, G2 – *P. mucronata*, G3 – M7-UFV e G4 – Possíveis Híbridos. NF – Número de folhas, NB – Número de brotos, CPA – Comprimento de parte aérea, NR – Número de raízes, CR – Comprimento de raiz, MFPA – Massa da matéria fresca da parte aérea, MFR – Massa da matéria fresca da raiz, MSPA – Massa da matéria seca da parte aérea e MSR – Massa da matéria seca de raiz.

Os primeiros sintomas apareceram nas plantas controle, BRS Sol do Cerrado, aos 18 DAI com FOP06, verificou-se que os sintomas não levaram à morte das plantas (Figura 3). Não houve diferença significativa em relação ao período de sobrevivência. Observou-se que os genótipos *P. mucronata*, S₃ de M7-UFV e BRS Sol do Cerrado sobreviveram em média 49 DAI e os híbridos sobreviveram 47 DAI de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*, independente do inóculo.

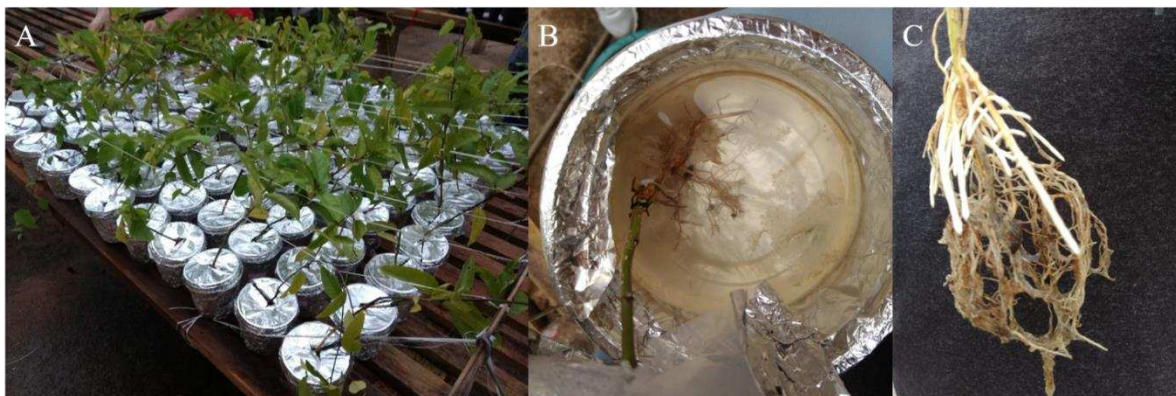


Figura 3: Imagem registrando os primeiros sintomas de amarelecimento e podridão das raízes após a inoculação de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* via suspensão. A) Início do amarelecimento aos 18 DAI, B) Formação de gel na solução nutritiva; C) Desenvolvimento de novas raízes adventícias e necrose das raízes velhas.

De maneira geral, os genótipos *P. mucronata* e S₃ de M7-UFV se destacaram por serem os genótipos que apresentaram as maiores médias para as características avaliadas, demonstrando serem, entre os genótipos avaliados, os mais resistentes a *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*. Os mais suscetíveis, dentre os genótipos avaliados, foram os híbridos. Como destacado no Capítulo 1 desde documento, o mesmo apresenta as mesmas constituições genéticas de *P. mucronata*, entretanto não apresentaram o mesmo comportamento. Esse fato pode ser devido suas mudas serem produzidas via estaquia e não via semente, assim proporcionando um baixo desenvolvimento radicular.

Resultados similares foram encontrados por Preisigke et al. (2015) e Veloso et al. (2014). Esses autores avaliaram espécies silvestres de maracujazeiros quanto resistência a *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*, e mostraram que *P. mucronata* é resistente.

A baixa ocorrência de mortalidade de plantas não refletiu a elevada virulência/patogenicidade dos isolados, pois, apesar de ter sido observado baixo número de plantas mortas, os isolados foram capazes de infectar os tecidos das plantas inoculadas e manifestar sintomas necróticos visíveis nos possíveis híbridos e inicial amarelecimento e danos as raízes inoculadas nos genótipos de S₃ de M7-UFV e *P. mucronata* (Figura 3 e 4). Dessa

forma, assim como descrito no trabalho de Dariva (2011), para este patossistema e nas condições deste ensaio, a morte de plantas não se mostrou um bom indicador para a avaliação da incidência da doença, uma vez que estaria subestimando a patogenicidade dos isolados estudados.



Figura 4: Plantas após 50 DAI de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* via suspensão, foco nas raízes e corte transversal da região do colo. A) Testemunha não inoculada, BRS Sol do Cerrado; B) *P. mucronata* inoculado com FOP06; C) S₃ de M7-UFV inoculado com FOP 06; D) Possível híbrido inoculado com FOP06.

Na Figura 4, observam-se os sintomas da doença nos genótipos inoculados com FOP 06 comparando com a testemunha. Foi possível notar nos possíveis híbridos o apodrecimento do sistema radicular devido à colonização do sistema vascular pelo fungo e a mudança na coloração dos tecidos do xilema, com a ocorrência de coloração ferruginosa, sintomas

característicos da doença (Figura 4 D). Já as plantas testemunhas, apresentam sistema radicular desenvolvido e com emissão de novas raízes (Figura 4 A).

Visualizou-se danos externos na região do colo das plantas apenas em *P. mucronata* e nos híbridos (Figura 4 B e D). Observou-se também, assim como descrito por Dariva et al. (2015), raízes secundárias de espessura fina (<1 mm) necrosadas em todos os genótipos inoculados e pequenas manchas na região do xilema em *P. mucronata*.

O fato de as plantas inoculadas com *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* não apresentarem sintomas na parte aérea e não terem sido afetadas pelo patógeno pode estar relacionado ao modo de colonização do patógeno, pois a quantidade de tecidos corticais afetados possivelmente não foi suficiente para comprometer o desenvolvimento das plantas, e o aparecimento de sintomas de murcha no tempo de avaliação (Dariva et al., 2015).

Ortiz et al. (2014) afirmaram que as lesões causadas pelo patógeno *F. oxysporum*, hifas e microconídios são evidentes no lúmen dos vasos, bem como a formação de géis, que constitui uma resposta de defesa das plantas infectadas. Esses géis podem limitar a disseminação de fungos ao ocluir os vasos. Neste estudo, formações de géis foram observadas na solução nutritiva que, principalmente das plantas em período de desenvolvimento de novas raízes adventícias, as raízes velhas estavam sofrendo necrose (Figura 3).

Experimento 2

Com base nos resultados obtidos na análise de variância, descritos na Tabela 3, pode-se observar que não ocorreu a interação entre os genótipos de maracujazeiro e os isolados de *F. solani*, nem mesmo a ocorrência de diferenças significativas entre os genótipos. Entretanto, diferenças ao nível de 5% e 1% de probabilidade, pelo teste *F*, foram identificadas entre os isolados para as características avaliadas NF, NB, CPA, CR e MFR. Demonstrando assim, a ocorrência de variabilidade apenas entre os isolados inoculados (Tabela 3).

Como esperado, as plantas tiveram maior desenvolvimento radicular e maior número de folhas quando não inoculadas com *F. solani*, o crescimento da parte aérea não seguiu o mesmo padrão (Tabela 4). O inóculo FS17 proporcionou o menor desenvolvimento nas plantas em relação aos demais inóculos.

Tabela 3. Análise de variância e estimativas de parâmetros das características avaliadas no experimento 2 (inoculação de *Fusarium solani*): número de folhas (NF), número de brotos (NB), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento de raízes (CR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa fresca de raiz (MFR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR).

FV	GL	QM							
		NF	NB	CPA	CR	MFPA	MFR	MSPA	MSR
		-----cm-----							
Inóculo	3	401,88**	10,71**	3483,64*	2719,43**	60,6 ^{ns}	434,54**	4,39 ^{ns}	16,6 ^{ns}
Genótipo	3	11,28 ^{ns}	0,21 ^{ns}	259,55 ^{ns}	355,53 ^{ns}	15,88 ^{ns}	55,77 ^{ns}	2,1 ^{ns}	2,16 ^{ns}
IxG	9	11,33 ^{ns}	0,63 ^{ns}	537,34 ^{ns}	207,62 ^{ns}	17,14 ^{ns}	40,39 ^{ns}	1,62 ^{ns}	6,44 ^{ns}
Resíduo	64	13,36	0,53	310,44	147,68	8,55	105,58	1,05	4,12
Total	79								
	Média	11,12	0,63	40,41	38,99	7,79	15,97	2,40	3,5
	CV(%)	32,85	114,33	43,6	31,16	37,54	64,31	42,66	57,94

^{NS} não significativo; ** significativo a 1%; * significativo a 5% pelo teste F.

Tabela 4. Médias das características avaliadas no experimento 2 (inoculação de *Fusarium solani*) nos genótipos avaliados em relação aos isolados.

Inóculo	NF	NB	CPA	CR	MFPA	MFR	MSPA	MSR
F1	8,4b	0,3a	54,29a	30,92a	8,70a	11,49b	2,59a	2,58a
F2	17,8a	1,7a	49,04b	42,94a	5,98a	18,04b	1,88a	4,60a
F3	8,65b	0,05b	30,10b	28,42a	9,75a	12,83b	2,96a	2,96a
F4	9,65b	0,5b	28,2b	53,67b	6,72a	21,53a	2,19a	3,86a

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL constituem grupo estatisticamente homogêneo. Segundo Scott e Knott a 5% de significância. F1 – Controle, F2 – FS12, F3 – FS13, F4 – FS17. NF – Número de folhas, NB – Número de brotos, CPA – Comprimento de parte aérea, CR – Comprimento de raiz, MFPA – Massa da matéria fresca da parte aérea, MFR – Massa da matéria fresca da raiz, MSPA – Massa da matéria seca da parte aérea e MSR – Massa da matéria seca de raiz.

Após a inoculação, na análise das plantas pela escala de nota (Roy, 1997), deu-se nota 1 ao tratamento testemunha e nota 2 aos demais tratamentos com inoculação. As notas foram atribuídas como se pode observar na Figura 5, devido aos únicos sintomas aparente nas plantas inoculadas com *F. solani*, caracterizarem-se pelo amarelecimento foliar e a queda foliar próximo ao colo da planta. Algumas plantas apresentaram rachaduras no colo, porém não se observou necrose e morte das mesmas. Trabalhos realizados por Dariva et al., (2015) também demonstraram que algumas plantas apresentavam o colo sadio, mesmo após sua murcha e morte.

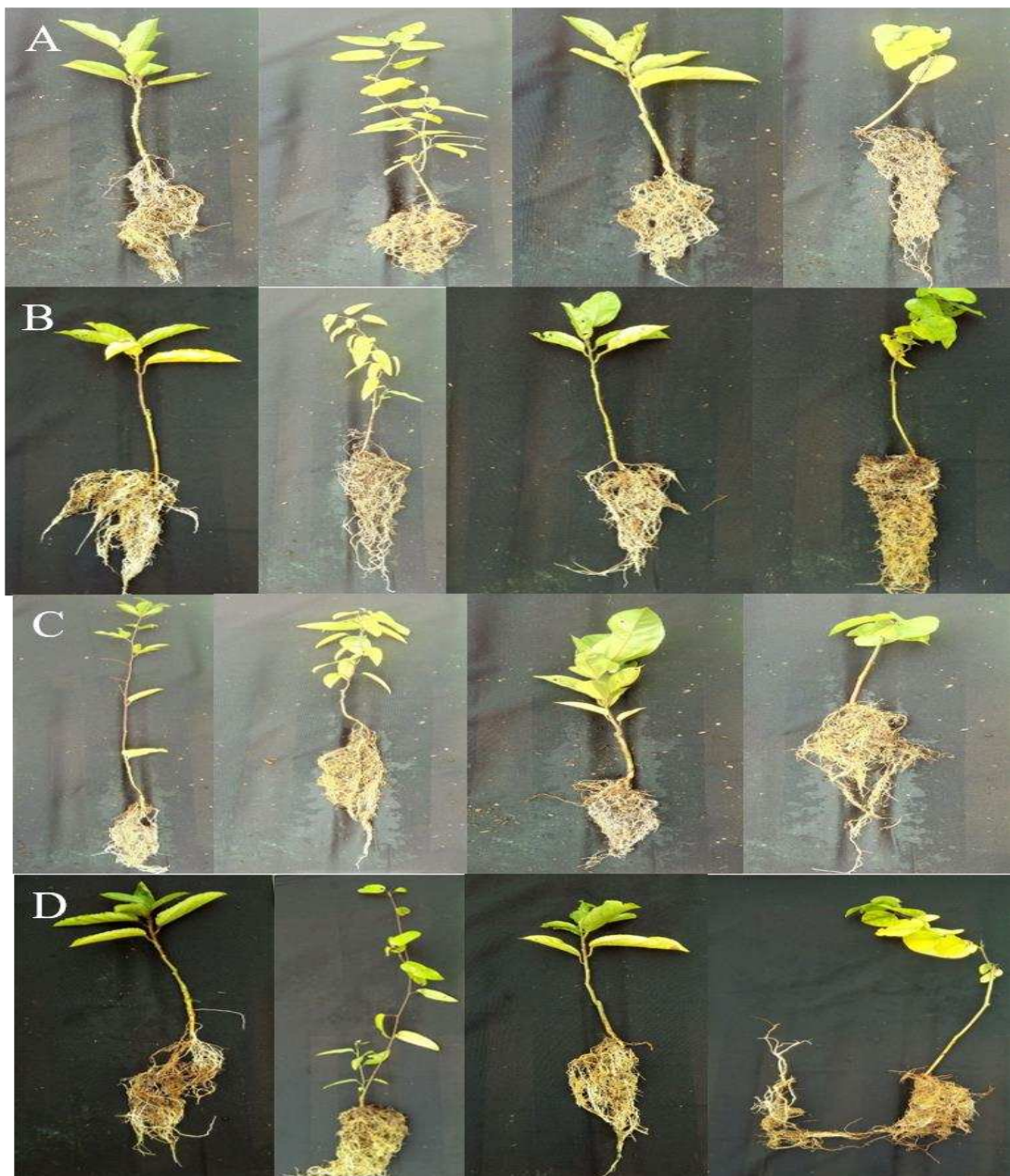


Figura 5: Plantas 50 DAI de *Fusarium solani*, genótipos BRS Sol do Cerrado, *P. mucronata*, M7-UFV e possível híbrido, respectivamente para cada inoculo. A) Testemunha; B) Inóculo FS12; C) Inóculo FS13; D) Inóculo FS17.

CONCLUSÃO

Os resultados permitem concluir que os genótipos *P. mucronata* e M7-UFV apresentam resistência inoculadas com *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* e os híbridos foram suscetíveis aos inóculos.

Os resultados inferidos das inoculações de *F. solani* não diferiram das testemunhas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRUCKNER, C. H.; MELETTI, L. M. M.; OTONI, W. C.; ZERBINI JÚNIOR, F. M. Maracujazeiro. In: BRUCKNER, C. H. (ed.) **Melhoramento de fruteiras tropicais**. Viçosa: UFV. p. 373-409, 2002.

BUENO, C. J.; FISCHER, I. H.; PARISI, M. C. M.; FURTADO, E.L. Comportamento do maracujazeiro amarelo, variedade de Afruvec, ante uma população de *Fusarium solani*, agente causal da podridão do colo. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v.77, n.3, p.533-537, 2010.

CLARK, R. B. Characterization of phosphates in intact maize roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 23, n. 3, p. 458-460,1975.

CRUZ, C. D. GENES: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

DARIVA, J. M.; XAVIER, A. A.; COSTA, M. R.; RIBEIRO, R. C. F.; SOUSA, T. V. Variabilidade genética de isolados de *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* associados ao maracujazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 37, n. 2, p. 377-386, 2015

FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V., BRAGA, M. F.; PEIXOTO, J. R. Pré- melhoramento do maracujá. In: LOPES, M. A., FÁVERO, A. P., FERREIRA, M. A. J. F., FALEIRO, F. G., FOLLE, S. M., GUIMARÃES, E. P. (eds). **Pré-melhoramento de plantas. Estado da arte e**

experiências de sucesso. Embrapa Informações Tecnológicas, Brasília, Brasil, p. 549–570, 2011.

FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; VIANA, A. P.; BRUCKNER, C. H.; LARANJEIRA, F. F.; DAMASCENO, F.; MELETTI, L. M. M.; CONSOLI, L.; SOUSA, M. A. de F.; SILVA, M. S.; PEREIRA, M. G.; STENZEL, N.; SHARMA, R. D. Demandas para as Pesquisas Relacionadas ao Melhoramento Genético. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds.) **Maracujá: demandas para a Pesquisa.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p.25-34, 2006.

FISCHER, I. H.; KIMATI, H.; REZENDE, J. A. M. Doenças do maracujazeiro (*Passiflora* spp.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de fitopatologia. v.2: Doenças das plantas cultivadas.** 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, p.467-474, 2005.

FISCHER, I. H., MARTINS, M. C., LOURENCO, S. A., KIMATI, H.; AMORIM, L. Reação de espécies de *Passiflora* à Podridão do colo, causada por *Fusarium solani* e *Phytophthora nicotianae*. **Fitopatologia Brasileira.** v. 28, p. 271. 2003.

FLORES, P. S.; OTONI, W. C.; DHINGRA, O. D.; DINIZ, S. P. S. S.; SANTOS, T. M.; BRUCKNER, C. H. *In vitro* selection of yellow passion fruit genotypes for resistance to *Fusarium* vascular wilt. **Plant Cell Tiss Organ Cult, Cham,** v. 108, n. 1, p. 37-45, 2012.

FLORES, P. S, SILVA, D. F. P, BRUCKNER, C. H, OLIVEIRA, S. P, SALOMÃO, L. C. C. Caracterização físico-química de frutos de maracujazeiro amarelo provenientes da irradiação com raios gama. **Ciência Rural.** v. 41, p. 1903-1906, 2011.

FREITAS, J. P. X.; OLIVEIRA, E. J.; JESUS, O. N.; CRUZ NETO, A. J.; SANTOS, L. R; Formação de população base para seleção recorrente em maracujazeiro-amarelo com uso de índices de seleção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v. 47, p. 393- 401, 2012.

IBGE - **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.** Produção e área de produção de maracujá: 2017. Brasília. Disponível em: <www.ibge.gov.br/>. Acesso em: 29 jan. 2019.

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: Embrapa Cerrado, p. 81- 106, 2005.

LIBERATO, J. R.; COSTA, H. Doenças fúngicas, bacterianas e fitonematóides. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. (Ed.). **Maracujá: Tecnologia de Produção, pós-colheita, agroindústria, mercado**. Porto Alegre: Cinco continentes, p. 243-245, 2001.

LIRA JUNIOR, J. S. de; FLORES, P. S.; BRUCKNER, C. H. UFV-M7: mutant yellow passionfruit genotype with photoperiod insensitivity for flowering. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 14, p. 128-131, 2014.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; PASSOS, I. R. da S. Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds.). **Maracujá: Germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p.55-78, 2005.

ORTIZ, E.; CRUZ, M.; MALGAREJO, L. M.; MARQUÍNEZ, X.; HOYOS-CARVAJAL, L. Histopathological features of infections caused by *Fusarium oxysporum* and *F. solani* in purple passionfruit plants (*Passiflora edulis* Sims). **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 40, n. 2, p. 134-140, 2014.

PERUCH, L. A. M.; COLARICCIO, A.; BATISTA, D. C. Controle de doenças do maracujazeiro: situação atual e perspectivas. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.31, n.1, p.37-40, jan./abr. 2018

PREISIGKE, S. C.; MARTINI, F. V.; ROSSI, A. A. B.; SERAFIM, M. E.; BARELLI, M. A. A.; LUZ, P. B.; ARAÚJO, K. L.; NEVES, L. G. Genetic variability of *Passiflora* spp. against collar rot disease. **Australian Journal Crop Science**. 9:69-74, 2015.

PREISIGKE, S. C.; SILVA, L. P.; SERAFIM, M. E.; BRUCKNER, C. H.; ARAÚJO, K. L.; NEVES, L. G. Early selection of *Passiflora* species resistant to fusariosis. **Summa Phytopathologica**, v.43, n.4, p.321-325, 2017.

ROY, K. W. *Fusarium solani* on soybean roots: Nomenclature of the causal agent of sudden death syndrome and identity and relevance of *F. solani* form B. **Plant Disease**. 81: 259-266, 1997.

VELOSO, L. S. B.; SANTOS, T. M.; OLIVEIRA, M. V. A.; XAVIER, A. A.; RIBEIRO, R. C. F.; BRUCKNER, C. H. Reinoculação de *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* f. sp *passiflorae* em mudas clonadas de *Passiflora gibertii* e *Passiflora mucronata*. In: VIII Fórum ensino, pesquisa, extensão, gestão, Montes Claros, MG, 2014. **Anais...** Montes Claros: Unimontes, 2014.

CAPITULO 3

Número de folhas e AIB na estaquia caular de híbridos de *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata*

RESUMO

O Brasil é o maior produtor de maracujá do mundo, sendo seus pomares formados principalmente por sementes, o que propicia grande variabilidade genética e desuniformidade. O uso de propagação vegetativa, como estaquia e enxertia, tem sido usado visando maior uniformidade, assim como, manutenção do material e uso de espécies silvestres e híbridos como fonte de resistência e/ou rusticidade. Contudo, as dificuldades oriundas do custo de formação das mudas e enraizamento devem ser superadas para maior disseminação de seu uso. Em dezembro/2016, estacas caulinares de híbridos de *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata* foram confeccionadas com três gemas, corte em bisel na base e reto no ápice, sendo deixadas uma e duas folhas reduzidas à metade, ambas submetidas à aplicação de ácido indolbutírico (AIB), nas concentrações 0, 500, 1000, 1500 e 2000 mg L⁻¹, formando um fatorial 2x5, inteiramente casualizado. O plantio foi realizado em caixas de areia autoclavadas e as estacas foram mantidas em casa de vegetação com nebulização durante 71 dias. Foram avaliadas as porcentagens de estacas enraizadas, vivas, vivas sem raiz, mortas, com calo e brotadas, além da porcentagem de retenção foliar, número de raízes e comprimento das raízes. Verificou-se que a interação entre os tratamentos foi significativa somente para as variáveis porcentagem de raízes mortas e retenção foliar. O número de folhas nas estacas foi significativo para as variáveis porcentagem de enraizamento, estacas vivas sem raiz, retenção foliar, número de raízes e comprimento de raiz. O uso de AIB foi significativo apenas nas variáveis número de raízes e porcentagem de estacas vivas sem raiz. As estacas com uma folha e com a aplicação de AIB na concentração de 2000 mg L⁻¹ promoveram a maior porcentagem de enraizamento (70,35%). Assim, nas condições estudadas o uso de AIB foi indispensável para produção de estacas.

Termos para indexação: Auxina, enraizamento, híbridos, *Passiflora*, tipos de estacas.

Influence of number of leaves and IBA application on stem cutting of hybrids of *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata*

ABSTRACT

Brazil is the largest producer of passion fruit in the world, with its orchards mainly composed of seeds, which provides great genetic variability and unevenness. The use of vegetative propagation, such as cuttings and grafting, has been used for greater uniformity, as well as maintenance of the material and use of wild and hybrid species as a source of resistance and/or rusticity. However, the difficulties stemming from the cost of seedling formation and rooting must be overcome for greater dissemination of its use. In December/2016, stem cuttings of *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata* hybrids were made with three buds, bevel cut at the base and rectum at the apex, leaving one and two leaves reduced by half, both submitted to the application of indolebutyric acid (IBA), at concentrations 0, 500, 1000, 1500 and 2000 mg.L⁻¹, forming a factorial 2x5, completely randomized. The planting was carried out in autoclaved sandboxes and the cuttings were kept in a greenhouse with nebulization for 71 days. The percentages of rooted, live, live, rootless and dead cuttings with callus and sprouts were evaluated, as well as the percentage of leaf retention, number of roots and length of roots. It was verified that the interaction between the treatments was significant only for the variables percentage of dead roots and foliar retention. The number of leaves on the cuttings was significant for the variables rooting percentage, live cuttings without root, leaf retention, root number and root length. The use of IBA was significant only in the number of roots and percentage of live cuttings without roots. The cuttings with a leaf and with the application of IBA in the concentration of 2000 mg.L⁻¹ promoted the highest percentage of rooting (70,35%). Thus, under the conditions studied, the use of IBA was indispensable for the production of cuttings.

Index terms: Auxin, rooting, hybrids, *Passiflora*, of cuttings.

INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* pertence à família Passifloraceae, sendo originário da América do Sul. As plantas de tal gênero se caracterizam por serem trepadeiras de grande porte, lenhosas,

vigorosas e de crescimento rápido, capazes de produzir com apenas seis meses após o plantio (Meletti, 2000).

Os pomares de maracujazeiro, desde o início de seu cultivo comercial, na década de 70, em sua grande maioria são propagados por via sexuada seminífera, o que leva a uma elevada variabilidade genética e uma baixa uniformidade e produtividade dentro dos pomares (Silva et al., 2011). Uma das formas de manutenção do material genético com boas características no pomar é o uso da propagação vegetativa por meio de estaquia, alporquia ou enxertia. Tais métodos favorecem a multiplicação de plantas produtivas e tolerantes/resistentes a pragas e doenças, o que garante a uniformidade e precocidade da produção. Apesar de suas vantagens, a propagação vegetativa ainda não é usada em escala comercial no Brasil, devido ao seu alto custo de produção das mudas e ao tempo exigido para sua formação (Lima, 2005).

A estaquia é um processo de multiplicação de plantas, sob condições favoráveis de cultivo, que permite a obtenção de plantas novas com as mesmas características genéticas da planta-mãe (clones) por meio de segmentos de caules, raízes, brotos apicais e folhas. Segundo Mayer et al. (2017), o enraizamento é a etapa mais difícil da estaquia, devido aos inúmeros fatores que afetam a capacidade de enraizamento das plantas. Paiva e Gomes (2005) citaram alguns fatores que podem afetar o enraizamento: condição fisiológica e idade da planta mãe; época de coleta das estacas; tipo de estaca; condições de temperatura, umidade e luminosidade; e substrato.

Os fitorreguladores, especialmente as auxinas, vem sendo muito empregados com o intuito de favorecer o enraizamento. O ácido indolbutírico (AIB) foi citado por Smarci (2008) como a auxina mais comumente utilizada, por se tratar de uma substância fotoestável, de ação localizada e menos sensível à degradação biológica, em comparação com as demais auxinas sintéticas. A sua concentração ideal de uso é específica a cada espécie e às condições de confecção da estaquia (Paiva e Gomes, 2005).

Outro fator que influencia o enraizamento e crescimento das estacas é o tipo de estaca, ou mais especificamente, o número de folhas presentes na estaca. Tal fato pode influenciar a sobrevivência do material, pois as folhas são fontes de carboidratos, nutrientes minerais, hormônios, que serão translocados para a base da estaca, acumulando-se na zona de regeneração e induzindo o enraizamento; além de ativar a via de transpiração e fotossíntese, a movimentação de solutos e água, bem como de hormônios, auxiliando ainda na regulação da temperatura na estaca (Lima et al., 2007).

A propagação vegetativa do maracujazeiro vem sendo estudada principalmente em relação à estaquia e enxertia, sendo a maioria desses estudos realizados na espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* O. Deg (Junqueira et al., 2006; Graça, 1990; Araújo et al., 2010). Já no que se refere a espécies silvestres e híbridos, os estudos são voltados ao seu uso como porta-enxerto visando obter suas características de resistência a certas doenças e pragas e a sua rusticidade (Salomão et al.; 2002, Silva et al., 2005; Meletti et al.; 2002; Roncatto et al., 2005; São José et al., 1994; Almeida et al., 1991).

Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar a influência do número de folhas e da aplicação de AIB na estaquia caulinar de híbridos de *P. edulis* x *P. mucronata*, para seu futuro uso como porta-enxerto nos programas de melhoramento.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com cobertura de filme plástico transparente e sistema de nebulização, do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), localizado em Viçosa, Minas Gerais (20° 45' 14" S, 42° 52' 55" W, 648 m).

As estacas de maracujazeiro foram coletadas em dezembro de 2016, de plantas oriundas do cruzamento entre *P. edulis* x *P. mucronata* com nove anos de idade, pertencentes ao Programa de Melhoramento Genético de Maracujazeiro da Universidade Federal de Viçosa. As estacas herbáceas foram retiradas da parte apical dos ramos laterais, com quatro gemas, sendo envolvidas em papel umedecido e acondicionadas em sacos plásticos, formando uma câmara úmida; em seguida transportadas para casa de vegetação do Setor de Fruticultura do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Viçosa (DFT/UFV).

O preparo das estacas foi efetuado na câmara de nebulização para evitar a desidratação, realizando-se o corte em bisel logo abaixo de um nó e o seccionamento da parte apical, deixando três gemas e uma ou duas folhas, conforme o tratamento, tendo seus limbos reduzidos à metade do comprimento. Para a solução hidroalcoólica foi preparado uma solução estoque de AIB, este foi pesado e dissolvido em 10 mL de álcool, em um béquer, onde após totalmente dissolvido completou-se o volume para 1000 mL, com água destilada, obtendo-se então a concentração de 2000 mg.L⁻¹, retirou-se 100 mL da mesma para uso e realizou-se a diluição para as demais concentrações, todas a um volume final de 100 mL. A base das estacas foi colocada na solução

durante 10 segundos. As estacas foram plantadas em caixas preenchidas com areia autoclavada, para evitar possíveis patógenos de parte aérea.

Aos 70 dias a partir da instalação do experimento, e tendo como base o estudo de Costa et al., (2017), foram analisadas as seguintes variáveis:

- i. estacas enraizadas (ENR): número de estacas que apresentaram, pelo menos, uma raiz;
- ii. estacas com calo (CALO): número de estacas que apresentaram calo;
- iii. estacas vivas sem raiz (VSR): número de estacas que estavam vivas, mas que não apresentaram raiz;
- iv. estacas vivas (VIVAS): número de estacas que sobreviveram, ao fim do ensaio, independente da presença ou não de raízes ou calos;
- v. mortalidade (MORTAS): número de estacas que não sobreviveram, ao fim do ensaio;
- vi. estacas com brotação (BROTOS): número de estacas que apresentaram pelo menos um broto;
- vii. todos os dados das características acima foram transformados em percentagem;
- viii. retenção foliar (RF): número de estacas que mantiveram e adquiriram folhas do início até ao final do ensaio;
- ix. número de raízes (NR): número de raízes apresentadas por estacas;
- x. comprimento das raízes (CR): a medição realizada com auxílio de régua;

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x2, sendo cinco concentrações de indutor de enraizamento Ácido Indolbutírico - AIB (0; 500; 1000; 1500 e 2000 mg.L⁻¹) e dois tipos de estacas (estacas com um folha e com duas folhas), com quatro repetições e 10 estacas por repetição.

Os dados foram transformados para as funções raiz quadradas ($y + 0,5$) quando obtidos por contagem e logarítmica ($\log + 1$) para os quantitativos. Realizou-se análise de variância e regressão, utilizando o teste F ($P \leq 0,10$) para verificar os efeitos isolados e a interação entre os fatores, e posteriormente, as médias foram comparadas pelo agrupamento de Scott e Knott a 10% de significância. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do *software* estatístico SISVAR (Ferreira, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de variância (Tabelas 1), observou-se que a interação concentração de AIB e tipo de estaca (número de folha) foi significativa apenas para a percentagem de mortalidade e percentagem de retenção foliar. O tipo de estaca influenciou significativamente na percentagem de enraizamento, o comprimento das raízes e percentagem de retenção foliar. A percentagem de plantas vivas sem raiz e o número de raiz foram significativos tanto para a concentração de AIB como para o tipo de estacas, mas não houve interação entre os mesmos. A percentagem de calos, percentagem de plantas vivas e percentagem de plantas com brotações não foram significativas aos tratamentos.

As estacas confeccionadas com uma folha reduzida à metade, garantiu o melhor enraizamento (Figura 1), chegando a um enraizamento médio de 45,33% com uma folha e de 26,14% com duas folhas. Mesmo a concentração de AIB não sendo estatisticamente significativa, as estacas confeccionadas com uma folha e concentração de AIB de 2000 mg.L⁻¹ obtiveram 70,35% de enraizamento. Esses resultados corroboram com os encontrados por Lima et al., (2007) e Meletti e Nagai (1992), que verificaram que a presença de uma folha propiciou o aumento do enraizamento de espécies comerciais de maracujazeiros (*P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. alata*) e com os resultados encontrados por Alexandre et al. (2014) para estacas de *P. mucronata* Lam. que constataram uma percentagem de enraizamento de 86,0% na concentração de AIB de 1000 mg.L⁻¹ em estacas confeccionadas com uma folha.

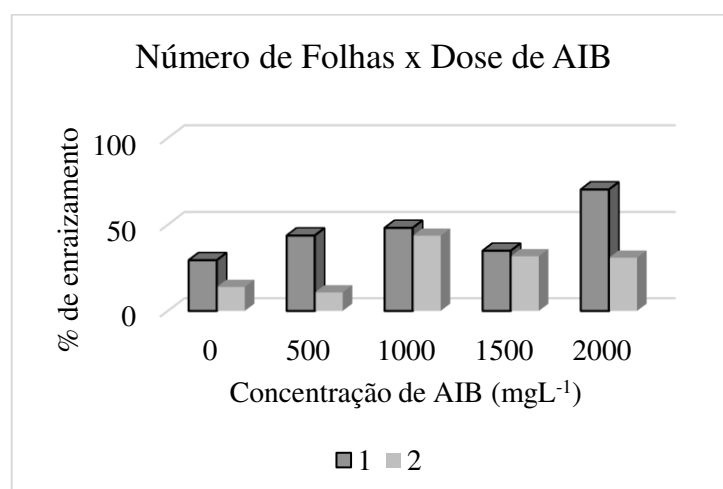


Figura 1. Percentagem de enraizamento, de estacas de *P. edulis* x *P. mucronata*, tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) com uma (1) ou duas (2) folhas por estacas.

Tabela 1. Análise de variância do efeito das diferentes concentrações de AIB e número de folhas em estacas do híbrido de *P. edulis* x *P. mucronata* nas variáveis: ERN - % de enraizamento, CALO - % de plantas com calo, VSR - % de plantas vivas sem raiz, MORTAS - % de mortalidade, BROTOS - % de plantas com brotações, RF - % de retenção foliar, NR – Numero de raízes, CR - Comprimento das raízes.

FV	GL	QM								
		ENR	CALO	VSR	VIVAS	MORTAS	BROTOS	RF	NR	CR
Doses	4	9,66 ^{ns}	0,18 ^{ns}	11,78	0,35 ^{ns}	3,97 ^{ns}	0,85 ^{ns}	2,02 ^{ns}	0,56	0,12 ^{ns}
Folhas	1	44,10	0,40 ^{ns}	20,90	0 ^{ns}	0,22 ^{ns}	8,10 ^{ns}	9,02	0,62	0,9
DxF	4	4,03 ^{ns}	0,33 ^{ns}	4,83 ^{ns}	3,12 ^{ns}	11,22	4,10 ^{ns}	6,40	0,18 ^{ns}	0,27 ^{ns}
Resíduo	30	6,50	0,30	5,41	1,66	4,95	3,08	2,87	0,19	0,23
Total	39									
	C.V.(%)	46,78	5,62	33,01	15,28	46,15	21,41	24,31	116,75	64,41
	Média	5,45	9,75	7,05	8,45	4,82	8,20	6,97	0,37	0,75

^{NS} não significativo; ‘ ’ significativo a 10% pelo teste F.

Entretanto, esse fato isoladamente não é o suficiente para explicar a queda no enraizamento de estacas confeccionadas com duas folhas, que permaneceu baixa mesmo com a aplicação de indutor. Segundo Assis e Teixeira (1998), as folhas podem, em alguns casos, prejudicar o enraizamento, devido à: i) perda de água por transpiração, pois a perda de água pelas folhas pode levar à estaca a um estado de dessecação; e ii) presença de compostos inibidores do enraizamento provindos da área foliar pelo desajuste do balanço hormonal. Isto se deve ao fato de as estacas recém confeccionadas não possuírem raízes para absorver água, mas realizarem o processo de evapotranspiração pelas folhas (Hartmann et al., 2002; Tchoundjeu et al., 2002).

A maior porcentagem de estacas mortas foi verificada nas estacas confeccionadas com duas folhas, tanto para as concentrações de AIB 0 mg.L⁻¹ quanto para 2000 mg.L⁻¹, o que foi inverso nas estacas confeccionadas com uma folha, em que a maior porcentagem de mortalidade esteve na concentração de 0 mg.L⁻¹ de AIB e a menor taxa de mortalidade na concentração de AIB de 2000 mg.L⁻¹ (Figura 2).

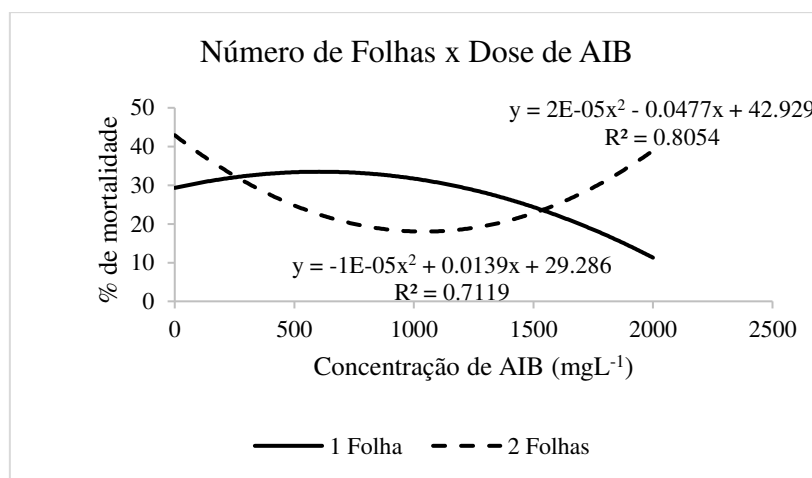


Figura 2. Percentagem de mortalidade de estacas de *P. edulis* x *P. mucronata*, tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) com uma ou duas folhas por estacas.

Assim, pode-se inferir que a alta taxa de mortalidade em estacas confeccionadas com duas folhas com a aplicação de 2000 mg.L⁻¹ de AIB (42,5%), pode ser resultante do efeito fitotóxico, consequência do teor endógeno de auxina sintetizado pelas folhas juntamente com a aplicação exógena (Nogueira et al., 2007).

Nas Figuras 3 e 4, encontram-se a percentagem de retenção foliar e o número de raízes, respectivamente. Ambos gráficos apresentam o mesmo comportamento, o que pode ser explicado pelo fato de a retenção foliar auxiliar no desenvolvimento radicular. Em ambos os

casos, as estacas confeccionadas com uma folha apresentaram um incremento no desenvolvimento conforme o aumento da concentração de AIB, sendo a concentração de 2000 mg.L⁻¹ a que gerou o maior número de raízes e retenção foliar (Figura 4). Por outro lado, as estacas confeccionadas com duas folhas apresentaram um decréscimo de rendimento em ambas variáveis com o aumento da concentração de AIB.

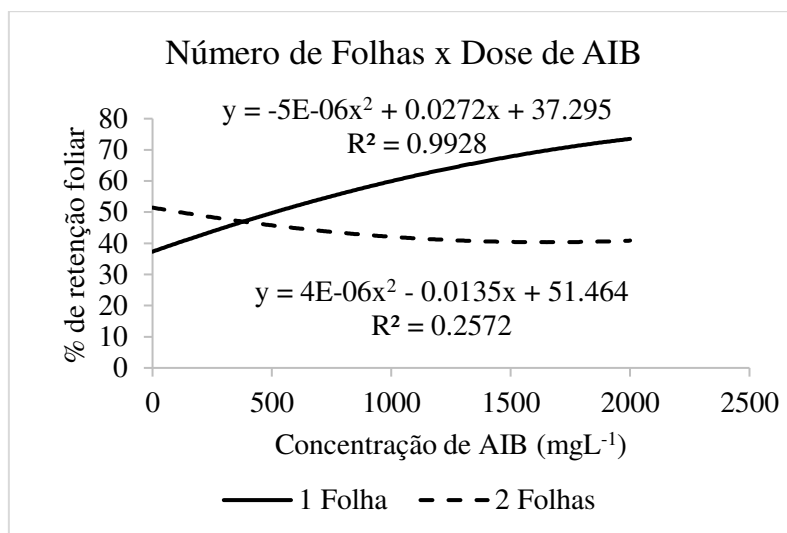


Figura 3. Percentagem de retenção foliar, de estacas de *P. edulis* x *P. mucronata*, tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) com uma ou duas folhas por estacas.

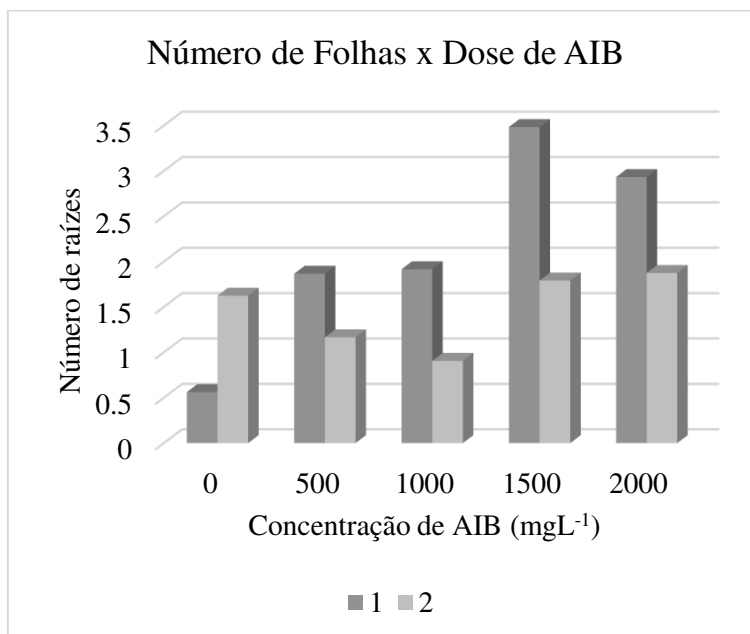


Figura 4. Número de raízes, de estacas de *P. edulis* x *P. mucronata*, tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) com uma (1) ou duas (2) folhas por estacas.

A retenção foliar e a quantidade de folhas da estaca, segundo Dick et al. (1996), têm maior influência na formação de raízes adventícias do que a própria origem da planta matriz. Ainda segundo os autores, a área foliar é o fator principal para o enraizamento, sendo que a mesma deve apresentar um tamanho grande o bastante para produzir fotoassimilados e, pequeno o suficiente para reduzir a perda de água por transpiração, fator esse que corrobora com o fato das estacas confeccionadas com duas folhas apresentarem uma queda no enraizamento e no número de raízes.

Em estudo realizados por Pires et al. (2011), com estacas de diferentes espécies silvestres *P. nitida*, *P. coccinea*, *P. quadrangularis* e *P. serrato digitata*, espécies comerciais *P. edulis* f. *flavicarpa* híbrido ‘EC-2-0’ e *P. edulis* e o híbrido interespecífico entre as espécies *P. coccinea* x *P. setácea*, os autores avaliaram o efeito de doses de AIB (0, 500, 1000 e 1500 mg L⁻¹) e também observaram que o AIB é eficiente no processo de enraizamento, desenvolvimento vegetativo e na retenção foliar.

Conforme os resultados, o comprimento das raízes (Figura 5) e o número de raízes (Figura 4), apresentaram melhor desempenho em estacas confeccionadas com uma folha (25 cm). Em relação ao número de raízes o melhor desempenho foi sob a concentração de AIB de 1500 mg L⁻¹. Vale ressaltar que, assim como observado por Nogueira et al. (2017), a presença da folha influenciou similarmente o número e comprimento das raízes, assim como o enraizamento. Segundo esses autores, isso se deve, ao fato de as estacas com sistema radicular de no mínimo 10 mm de comprimento já serem consideradas como enraizadas.

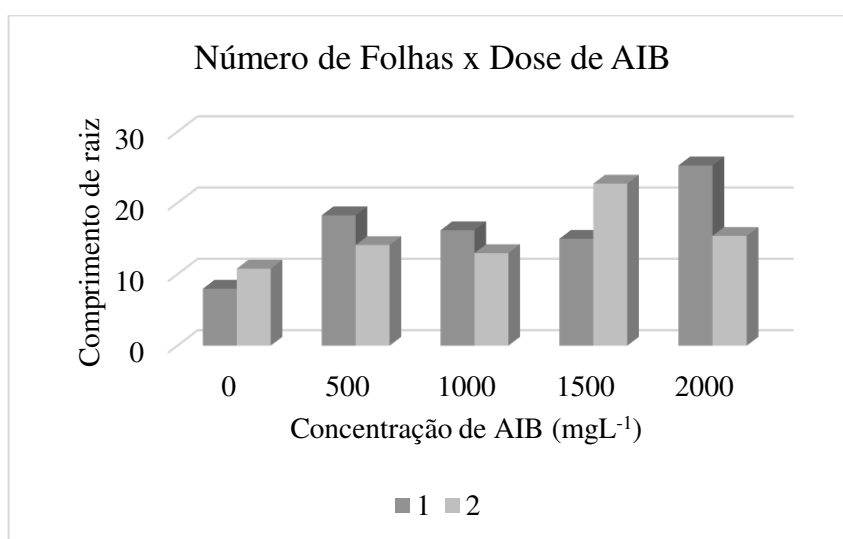


Figura 5. Comprimento de raiz (cm), de estacas de *P. edulis* x *P. mucronata*, tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) com uma (1) ou duas (2) folhas por estacas.

A maior percentagem de estacas vivas sem raiz ocorreu nas estacas confeccionadas com duas folhas e na concentração de AIB de 500 mg.L⁻¹ (Figura 6). Esse dado, quando cruzado aos dados de enraizamento, confirmam o baixo enraizamento a concentrações abaixo de 500 mg L⁻¹ sendo a melhor concentração de AIB 1000 mgL⁻¹, com 43,61% de plantas enraizadas.

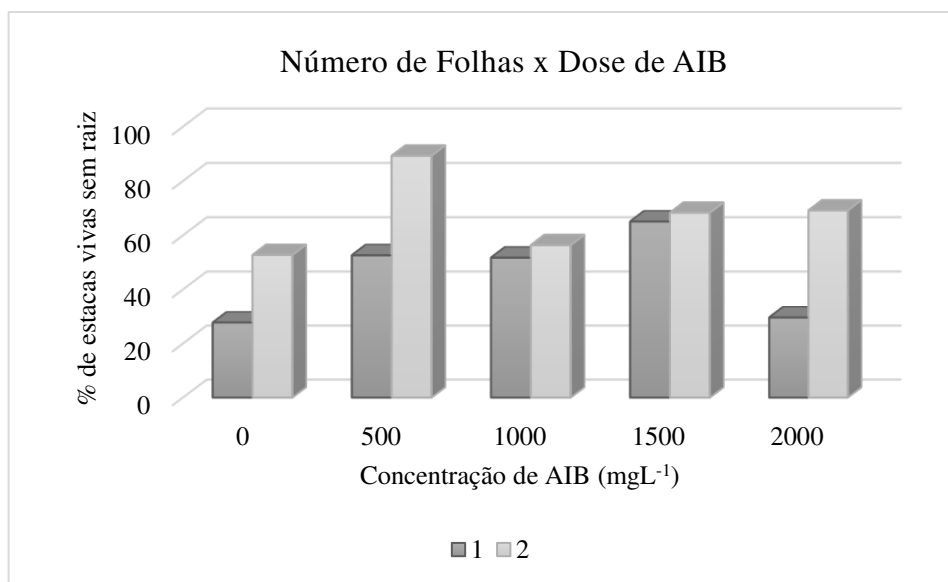


Figura 6. Percentagem de estacas vivas sem raiz, de estacas de *P. edulis* x *P. mucronata*, tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) com uma (1) ou duas folhas (2) por estacas.

Conforme Hartmann et al. (2002), a utilização das auxinas é muito importante na rizogênese, porém, concentrações elevadas podem ocasionar efeito inibitório na formação das raízes. Ainda, segundo esses autores, as concentrações de soluções de fitoreguladores para imersão rápida da base das estacas variam de 500 a 10.000 mg.L⁻¹, sendo as mais elevadas indicadas para espécies lenhosas, de difícil enraizamento, e as mais baixas para estacas com tecidos herbáceos, como é caso do material vegetal do presente estudo. Quando a imersão da estaca se dá por apenas alguns minutos, ou segundos, como é o caso do presente estudo, a concentração da auxina deve ser bem superior (Couvillon, 1988). No entanto, por se tratar de estacas herbáceas onde existe a possibilidade acentuada de oxidação devido à solução hidroalcolica, optou-se por diminuir o tempo de imersão.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo apontam que o enraizamento de híbridos de *P. edulis* x *P. mucronata*, a partir de estacas contendo uma folha, reduzidas à metade, proporcionam maior enraizamento, retenção foliar, número e comprimento de raízes.

A aplicação de AIB na concentração de 2000 mg.L⁻¹ auxilia na retenção foliar e na redução da mortalidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDRE, R. S., COSTA, P. R., CHAGAS, K., MAYRINCK, L. G., DETONI, J. L., SCHMILDT, E. R. Enraizamento adventício de estacas do maracujazeiro silvestre *Passiflora mucronata* Lam.: forma de veiculação e concentrações do ácido indol-3-butírico. **Revista Ceres**, v. 61, p. 567-571, 2014.

ALMEIDA, L. P.; BOARETTO, M. A. C.; de SANTANA, R. G. Estaquia e comportamento de maracujazeiros (*P. edulis* f. DEG.) propagados por via sexual e vegetativa. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, São Paulo, v.13, n.1 p. 153-156, 1991.

ARAÚJO, F. P.; MOUCO, M. A. C.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Substratos e concentrações de ácido indolibutírico no enraizamento de estacas de *Passiflora cincinnata* mast. **Revista Magistra**, Cruz das Almas, v. 22, n. 1, p. 21-27, 2010.

ASSIS, T. A.; TEIXEIRA, S. L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A. C. et al. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa, v. 1, p. 261-297, 1998.

COSTA, J. C. F. da, MENDONÇA, R. M. N., FERNANDES, L. F., SILVA, G. C. da, SILVA, S. de M., PEREIRA, W. E., CAVALCANTI, L. F., FIGUEIREDO, L. F. de. Rooting inducers and organic substrates in the propagation of 'Paluma' guava by cutting. **African Journal of Agricultural Research**, vol. 12, n. 5, p. 371-376. 2017.

- COUVILLON, G. A. Rooting responses to different treatments. **Acta Horticulture** 227: 187-196. 1988.
- DICK, J. M. P. BISSET, H.; McBEATH, C. Provenance variation in rooting ability of *Calliandra calothyrsus*. **For. Ecol. Manag.**, Amsterdam, v. 87, p. 175-184, 1996.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**. vol.38, n.2, p. 109-112, 2014.
- GRAÇA, J. **Estudo sobre a propagação do maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener) através de sementes e estacas**. 1990. 92 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 1990.
- HARTMANN, H. T., KESTER, D. E., DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. Plant propagation: principles and practices. **Prentice Hall**, New Jersey. 880 p. 2002.
- 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. (Org.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, EMBRAPA Cerrados. p. 81-106, 2006.
- LIMA, D. M.; ALCANTARA, G. B.; FOGAÇA, L. A.; QUOIRIN, M.; CUQUEL, F. L.; BIASI, L. A. Influência de estípulas foliáceas e do número de folhas no enraizamento de estacas semilenhosas de maracujazeiro amarelo nativo. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 29, supl., p. 671-676, 2007.
- LIMA, A. A. Aspectos fitotécnicos: desafios da pesquisa. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Org.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, EMBRAPA Cerrados. p. 643-677, 2005.
- MAYER, L., MENEGHINI, J., FIOR, C. S., FREITAS, E. M. de. Propagação de *Passiflora caerulea* L. por estaquia. **Iheringia, Série Botânica**, Porto Alegre, v. 72, n. 1, p. 5-8, 30, 2017.
- MELETTI, L. M. M.; FURLANI, P. R.; ÁLVARES, V.; SOARESSCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; AZEVEDO FILHO, J. A. Novas tecnologias melhoram a produção de mudas de maracujá. **O Agrônomo**. Campinas, 2002. v. 54, n. 1, p. 30- 33, 2002.

MELETTI, L.M.M (coord.) **Propagação de Frutíferas Tropicais**. Guaíba: Agropecuária, 239p., 2000.

MELETTI, L. M. M.; NAGAI, V. Enraizamento de sete espécies de maracujazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 14, n. 2, p. 163- 168, 1992.

NOGUEIRA, G. S., SILVA, F. A. C. da; KUNZE, G., FIGUEIRÓ, J. P. de S., KRUCHELSKI, S., ZUFFELATO-RIBAS, K. C. Influência do número de folhas e da aplicação de IBA na estaquia caulinar de *Ficus benjamina* L. **Revista Agrarian**. Dourados, v.10, n.36, p.113-119, 2017.

NOGUEIRA, A. M. CHALFUN, N. N. J.; DUTRA, L. F.; VILLA, F.; Propagação de figueira (*Ficus carica* L.) por meio de estacas retiradas durante o período vegetativo. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras. v. 31. n. 3. p. 914-920, 2007.

PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. 3º ed. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. 46 p. 2005.

PIRES, M. C.; YAMANISHI, O. K.; PEIXOTO, J. R. Rooting of passion fruit species with indole-butyric acid under intermittent misting condition. **Acta Horticulturae**, v. 894, p. 177-183, 2011.

RONCATTO, G.; FERREIRA, L. G.; LENZA, J. B.; DAMASCENO, M. A. P. Avaliação preliminar de diferentes métodos de enxertia de maracujazeiros nas condições da depressão Cuiabana. In: 4., 2005. REUNIÃO TÉCNICA SOBRE PESQUISA EM MARACUJAZEIRO. **Anais...** Planaltina: Embrapa Cerrados, p.64-67, 2005.

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* O. Deg.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, São Paulo, v.24, n.1, p.163-167, 2002.

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

SMARCI, R. C., CHAGAS, E. A., REIS, L. L., OLIVEIRA, G. F., MENDONÇA, V., TROPALDI, L., PIO, R. FILHO, J. A. S. Concentração de ácido indolbutírico e tipos de

substratos na propagação vegetativa de lichia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 07-11, 2008.

SILVA, R. M.; AGUIAR, A. V. M.; CARDOSO, E. A.; SOUZA, J. O. S.; OLIVEIRA, L. A. A. Enxertia interespecífica do maracujazeiro-amarelo sobre quatro porta-enxertos. **Revista Verde**, Mossoró, v. 6, n. 2, p. 119- 124, 2011.

SILVA, F. M.; CORREA, L. S.; BOLIANI, A. C.; SANTOS, P. C. Enxertia de mesa de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. sobre *Passiflora alata* Curtis, em ambiente de nebulização intermitente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, São Paulo, v. 27, n 1, p. 98-101, 2005.

TCHOUNDJEU, Z. et al. Vegetative propagation of *Prunus africana*: effects of rooting medium, auxin concentrations and leaf area. **Agroforestry Systems**, The Netherlands, v. 54, p. 183-192, 2002.

CAPITULO 4

Potencial uso de maracujazeiro e híbrido *Passiflora edulis* x *Passiflora mucronata* como porta-enxerto

RESUMO

As espécies de *Passiflora* e seus híbridos são atraentes por suas características exóticas, adaptabilidade natural, potencial de resistência de algumas espécies silvestres e variabilidade genética inter e intraespecífica. Algumas espécies de *Passiflora* apresentam resistências a doenças às quais o maracujá é acometido, com intuito de aproveitar tais características, o uso da enxertia em maracujazeiro tem sido avaliado. Portanto, objetivou-se avaliar a viabilidade da enxertia e o desenvolvimento inicial de maracujazeiro-azedo (*P. edulis*) para a seleção de porta-enxertos. Os genótipos de *P. edulis* f. *flavicarpa* `Gigante Amarelo` foram enxertados sobre espécie silvestre *P. mucronata*, de híbridos *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. mucronata* e *P. edulis* UFV-M7, e comparadas com *P. edulis* enxertado sobre a cultivar BRS Sol do Cerrado. Foi realizada a enxertia por garfagem em fenda cheia e, após 90 dias, avaliou-se a percentagem de pegamento dos enxertos, altura da planta, comprimento dos internódios, número de folhas, diâmetro abaixo do enxerto, na região do enxerto e acima do enxerto e a relação do diâmetro do enxerto/porta-enxerto. A percentagem de pegamento da enxertia foi de 100% para as combinações *P. edulis*/UFV-M7 e *P. edulis*/BRS Sol do Cerrado, já as combinações *P. edulis*/*P. mucronata* e *P. edulis*/Híbrido apresentaram 35,71% e 42,85% de pegamento, respectivamente. O maior diâmetro do enxerto foi apresentado por *P. edulis*/UFV-M7 e *P. edulis*/BRS Sol do Cerrado, indicando maior compatibilidade de enxertia dentro da mesma espécie.

Termos para indexação: *Passiflora edulis*, híbrido porta-enxerto.

Potential use of passion fruit and interspecific hybrid as rootstock

ABSTRACT

Passiflora species and their hybrids are attractive because of their exotic characteristics, natural adaptability, resistance potential of some wild species and inter and intraspecific genetic variability. Some species of *Passiflora* are resistant to diseases to which the passion fruit is

affected, in order to take advantage of these characteristics, the use of passion fruit grafting has been evaluated. The objective of this study was to evaluate the viability of grafting and the initial development of passion fruit (*P. edulis*) for the selection of rootstocks. The genotypes of *P. edulis* f. *flavicarpa* `Gigante Amarelo` were grafted on wild species *P. mucronata*, of hybrids *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. mucronata* and *P. edulis* UFV-M7, and compared with *P. edulis* grafted on BRS Sol do Cerrado. Grafting was performed by grafting in a full slot and, after 90 days, the grafting percentage, plant height, length of internodes, number of leaves, diameter below the graft, graft region and above the graft were evaluated. and the graft/rootstock diameter ratio. The percentage of grafting glue was 100% for the combinations *P. edulis*/UFV-M7 and *P. edulis*/BRS Sol do Cerrado, already the combinations *P. edulis*/*P. mucronata* and *P. edulis*/Hybrid presented 35,71% and 42,85% of glue, respectively. The largest diameter of the graft was presented by *P. edulis*/UFV-M7 and *P. edulis*/BRS Sol do Cerrado, indicating greater compatibility of grafting within the same species.

Index terms: *Passiflora edulis*, hybrid, grafting.

INTRODUÇÃO

Passiflora é o gênero mais importante da família Passifloraceae, tanto numérica quanto economicamente, com cerca de 576 espécies que apresentam interesse ornamental, farmacêutico, nutricional e industrial (Yockteng et al., 2011). Atualmente, a Colômbia é o país com maior diversidade desse gênero com cerca de 171 espécies (Ocampo et al., 2010), seguido do Brasil com cerca de 129 espécies, sendo 83 endêmicas brasileiras (Cervi et al., 2010).

As espécies de *Passiflora* e seus híbridos são atraentes por suas características exóticas, sua adaptabilidade natural, potencial de resistência de algumas espécies silvestres e variabilidade genética inter e intraespecífica (Calevo et al., 2016). O uso de *P. mucronata* como porta-enxerto e em cruzamentos interespecíficos com a espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* é importante, considerando sua resistência ao *Fusarium oxysporum* f. *Passifloraceae* (Oliveira et al., 2013), a bacteriose nas folhas, e, à antracnose nos frutos e ramos (Junqueira et al., 2005). Outras características que também são atribuídas à espécie *P. mucronata*, são sua utilidade

medicinal sedativa e seu uso popular para insônia, calmante, vermes e hemorroidas (Boscolo e Valle, 2008).

Flores et al. (2012), através da indução de mutações por irradiações com raios gama, obtiveram plantas de maracujazeiro amarelo (*P. edulis* - UFV-M7) que apresentaram resistência a fusariose, ao serem transferidas para campo com histórico da doença. As espécies *P. foetida*, *P. mucronata*, *P. nitida* e *P. morifolia* apresentaram resistência mediante a inoculação de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* e cultivadas em solução nutritiva (Preisigke et al., 2017).

O uso da enxertia em maracujazeiro vem sendo descrita por diversos autores, sendo os porta-enxertos tolerantes a doenças, uma forma de viabilizar o plantio em áreas com histórico de ocorrência de doenças, como descrito por Braga et al. (2006), entre outros autores que avaliaram a compatibilidade da enxertia e a sobrevivência em campo, obtendo resultados satisfatórios (Nogueira Filho et al., 2011; Roncatto et al., 2011a e 2011b; Lenza et al., 2009).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a compatibilidade e o desenvolvimento inicial de mudas de maracujazeiro (*P. edulis*) enxertadas sobre espécie silvestre *P. mucronata*, de híbridos *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. mucronata* e *P. edulis* UFV-M7, para subsidiar a seleção de porta-enxerto.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em estufa com cobertura de filme plástico transparente com sombreamento parcial de 50%, do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), localizado em Viçosa, Minas Gerais (20° 45' 14" S, 42° 52' 55" W, 648m).

Foram utilizados quatro genótipos de maracujazeiro como porta-enxertos: *P. edulis* f. *flavicarpa* (M7-UFV), *P. mucronata*, cultivar BRS Sol do Cerrado (BRS SC1) e um híbrido resultante do cruzamento (*P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. mucronata*) proveniente do Programa de Melhoramento Genético de Maracujazeiro da Universidade Federal de Viçosa. Todos os genótipos foram enxertados com *P. edulis* f. *flavicarpa* `Gigante Amarelo`. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos com 28 repetições sendo cada repetição composta por um enxerto em fenda cheia.

Sementes de *P. edulis* f. *flavicarpa* (M7-UFV), *P. mucronata* e do cultivar BRS Sol do Cerrado (BRS SC1), foram semeadas em sacos de polietileno (22 x 12 cm) com substrato

comercial, meses antes da enxertia para obter plantas com diâmetros de haste de aproximadamente 3 mm no momento da enxertia.

Estacas do híbrido contendo quatro gemas foram tiradas no mesmo período e colocadas para enraizar em areia esterilizada. Após 71 dias, as estacas enraizadas foram transplantadas para sacos de polietileno.

A enxertia em fenda cheia foi realizada cortando-se o porta-enxerto transversalmente na altura em que seria recebido o enxerto, em torno de 10 cm acima do colo da planta (Morgado, 2011), fazendo-se em seguida uma fenda perpendicular com profundidade de 2 a 3 cm, para a introdução do garfo. Os garfos utilizados como enxerto possuíam de duas a três gemas e, na medida do possível, com o mesmo diâmetro do porta-enxerto. Depois de selecionados os garfos, realizam-se duas incisões de aproximadamente 1 a 2 cm, na porção proximal do garfo, de modo a formar neste uma cunha. Em seguida introduziu-se a cunha do garfo na fenda efetuada no porta-enxerto. A amarração das partes foi realizada com clips de enxertia plásticos de 2,8 mm, que foram retirados após completa cicatrização do tecido, com a completa formação do calo (quando houve lançamento de novas brotações) (Figura 1).



Figura 1. Processo de realização de enxertia em fenda cheia em maracujazeiro. **A)** Realização da toilet, **B)** Corte transversal na altura de realização da enxertia; **C)** Fenda perpendicular no porta-enxerto; **D)** Inserção do garfo de bisel duplo e **E)** Amarração com clips de enxertia.

Aos 90 dias após a enxertia, foram realizadas avaliações de 12 plantas por tratamento, conforme descrito por Lima et al. (2017) modificado, avaliando-se a altura do ponto de enxerto até o ápice (AE), diâmetro do caule na região do enxerto (DCE), diâmetro de caule abaixo do enxerto (DCB), diâmetro do caule acima do enxerto (DCC), número de folhas do enxerto (NF) e a porcentagem de pegamento. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade.com auxílio do programa estatístico do Genes (Cruz, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 90 dias da enxertia, verificou-se a percentagem de pegamento de 100% na combinação *Passiflora edulis*/UFV-M7, assim como na combinação *P. edulis*/BRS Sol do Cerrado. As combinações *P. edulis*/*P. mucronata* e *P. edulis*/Híbrido apresentaram 35,71% e 42,85% de pegamento, respectivamente (Figura 2).

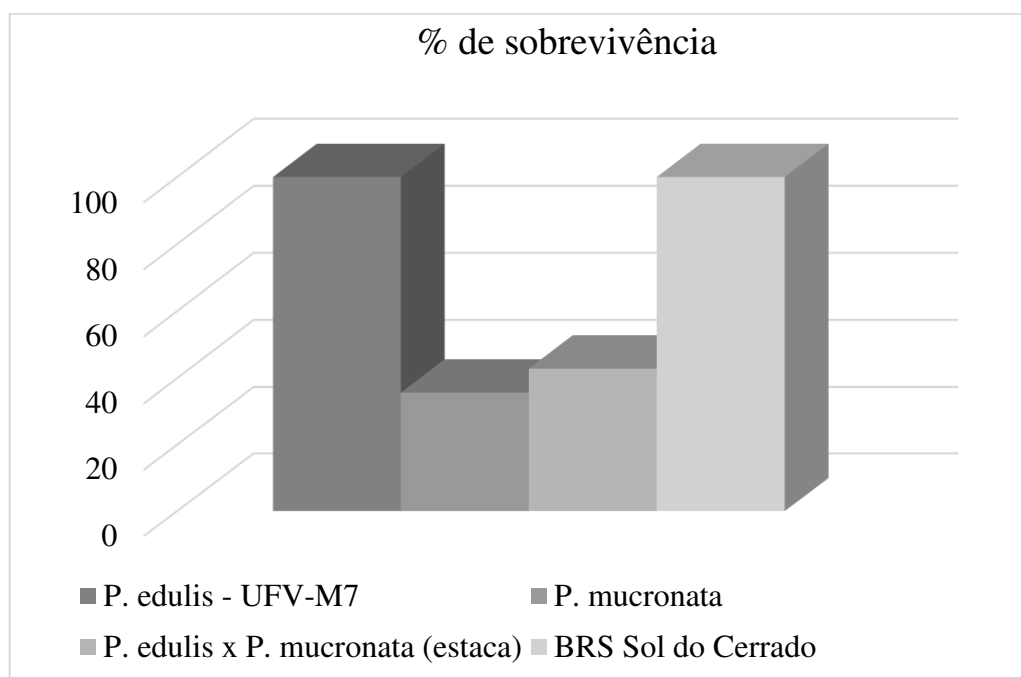


Figura 2. Gráfico de barras com a percentagem final de pegamento dos enxertos, 90 dias após a enxertia.

Em seguida, por meio da análise de variância, constatou-se que todos os porta-enxertos utilizados se diferenciaram estatisticamente para todas as características avaliadas (Tabela 1).

Outro fator importante a se considerar é a relação entre o diâmetro do enxerto e do porta-enxerto. Segundo Menezes (1990), essa proporção permitiu o equilíbrio na circulação de seiva e assim contribuiu para um bom desempenho da planta enxertada. Ainda, segundo o autor, uma “boa relação” diâmetro enxerto/porta-enxerto é aquela mais próxima de 1.

Tabela 1. Análise de variância e estimativas de parâmetros genéticos em porta-enxertos de maracujazeiro. DCB - diâmetro de caule abaixo do enxerto; DCE - diâmetro do caule na região do enxerto; DCC - diâmetro do caule acima do enxerto; AE - altura do ponto de enxerto para o ápice; NF - número de folhas do enxerto.

FV	QM					
	GL	DCB	DCE	DCC	AE	NF
Genótipo	3	14,79**	16,52**	3,15**	199891,5**	18,91**
Resíduo	44	0,71	1,27	0,35	13266,11	3,73
Total	47					
	Estimativas dos parâmetros					
	σ_f	1,23	1,37	0,26	16657,62	1,57
	σ_e	0,05	0,10	0,02	1105,50	0,31
	σ_g	1,17	1,27	0,23	15552,11	1,26
	h^2	95,16	92,27	88,81	93,36	80,83
	CV _g	27,76	17,24	12,27	61,45	39,11
	CV _e	21,68	177,28	15,09	56,76	67,25
	CV _g /CV _e	1,28	0,99	0,81	11,08	0,58

** significativo a 1% pelo teste F.

Neste trabalho, a relação diâmetro do enxerto/porta-enxerto foi aferida pela média entre as razões enxerto/porta-enxerto, obtendo os valores 0,85 para a combinação *P. edulis*/UFV-M7, 0,42 para a combinação *P. edulis*/*P. mucronata*, 0,60 para a combinação *P. edulis*/Híbrido e 0,89 para a combinação *P. edulis*/BRS Sol do Cerrado.

A combinação *P. edulis*/BRS Sol do Cerrado, apresentou a melhor média no que se refere a todas as características observadas (Tabela 2). Ao avaliar os diâmetros apresentados na Tabela 3, as melhores médias obtidas se relacionaram a combinação *P. edulis*/*P. mucronata* na região da enxertia e acima do enxerto. Já a combinação *P. edulis*/Híbrido, por outro lado, apresentou as menores médias para a região da enxertia e abaixo da enxertia. Assim, as características restantes, altura do ponto de enxerto para o ápice e número de folhas, não apresentaram variação nas combinações *P. edulis*/UFV-M7, *P. edulis*/*P. mucronata* e *P. edulis*/Híbrido.

Em relação à altura do ponto de enxerto para o ápice, apenas a combinação *P. edulis*/BRS Sol do Cerrado diferiu dos demais tratamentos alcançando a maior média aos 90 dias após a enxertia. Segundo Nogueira Filho et al. (2011), o valor preconizado em no mínimo 15 cm de altura é considerado o ideal para retirada das mesmas para o campo, indicando que todos os tratamentos podem vir a apresentar aptidão para transplante a campo.

Tabela 2. Médias e desvio-padrão de plantas de maracujazeiro-amarelo enxertadas sobre *P. edulis*/UFV-M7, *P. edulis*/*P. mucronata*, *P. edulis*/Híbrido e *P. edulis*/BRS Sol do Cerrado.

TRAT	DCB	DCE	DCC	AE	NF
<i>P. edulis</i> /UFV-M7	4,38±1,25b	6,36±0,73b	3,62±0,60b	125,91±59,77b	2,33±1,61b
<i>P. edulis</i> / <i>P. mucronata</i>	3,76±0,87b	7,37±1,34a	4,14±0,64a	160,16±71,48b	2,33±1,43b
<i>P. edulis</i> /Híbrido	2,42±0,38c	4,94±1,06c	3,42±0,61b	130,41±60,43b	2,08±2,15b
<i>P. edulis</i> /BRS Sol do Cerrado	5,02±0,59a	7,45±1,27a	4,55±0,50a	395,16±201,81a	4,75±2,37a

Valores médios seguidos da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente pelo agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade. DCB - diâmetro de caule abaixo do enxerto (mm); DCE - diâmetro do caule na região do enxerto (mm); DCC - diâmetro do caule acima do enxerto (mm); AE - altura do ponto de enxerto para o ápice (mm); NF - número de folhas do enxerto.

Os maiores valores de diâmetro de caule na combinação *P. edulis*/BRS Sol do Cerrado corroboram como um indicativo do seu maior vigor, assim como a combinação *P. edulis*/UFV-M7. Isso pode ser devido à maior compatibilidade genética entre os porta-enxertos e enxertos, por se tratarem de mesmas espécies (*P. edulis*/*P. edulis*), possibilitando uma união entre enxerto e porta enxerto mais rápida e efetiva, gerando assim maior percentagem de pegamento. Os resultados obtidos corroboram com os já obtidos por autores como Cavichioli et al. (2011a), Cavichioli et al. (2011b), Nogueira Filho et al. (2005) e Morgado et al. (2015), quando combinaram *P. edulis*/*P. edulis* obtendo maiores pegamentos, diâmetros de caule e altura de plantas, ou seja plantas mais vigorosas.

Já os resultados encontrados nesse trabalho, a combinação *P. edulis*/*P. mucronata* contrastam com os resultados obtido por Morgado et al. (2015) e Salazar (2013) que obtiveram 94,3% e 88,33% de pegamento, respectivamente, para enxertias realizadas em *P. edulis*/*P. mucronata*. Vale ressaltar que, para atingir os resultados acima citados, ambos os autores utilizaram enxertia de fenda cheia, com a fixação dos enxertos por meio de fita de enxertia e encoberto com uma pequena sacola plástica a fim de formar uma câmara úmida e reduzir a desidratação.

Os dados obtidos nesta pesquisa ilustram que a porcentagem de pegamentos alcançados para as combinações *P. edulis*/*P. mucronata* e *P. edulis*/Híbrido podem estar relacionadas com a de fixação das enxertias.

Os baixos valores para relação de diâmetro do caule encontrados para as combinações *P. edulis*/*P. mucronata* e *P. edulis*/Híbrido, indica um alto grau de variação entre os diâmetros de caule de enxerto e porta-enxerto. Essa variação pode dificultar a fixação, assim como o deslocamento de seiva e favorecer a desidratação dos tecidos, impedindo ou retardando a cicatrização e pegamento do enxerto. Segundo Salazar et al. (2016), fatores como tipo de enxertia, idade ontogenética e o efeito do genótipo podem influenciar no sucesso ou desenvolvimento do porta-enxerto.

CONCLUSÃO

O porta-enxerto BRS Sol do Cerrado e UFV-M7 proporcionaram maior percentagem de pegamento e apresentaram uma boa relação enxerto/porta-enxerto, proporcionando bom desenvolvimento. O porta-enxerto de BRS Sol do Cerrado proporcionou ao *P. edulis* f.

flavicarpa maior altura de parte aérea. A baixa relação enxerto/porta-enxerto proporcionou menor pagamento dos enxertos sobre *P. mucronata* e sobre *P. edulis* x *P. mucronata*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOSCOLO, O. H.; VALLE, L. de S. Planta de uso medicinal em Quissamã, Rio de Janeiro, Brasil. **Iheringia. Série Botânica**, v. 63, p. 263-277, 2008.

BRAGA, M. F., SANTOS, E. C., JUNQUEIRA, N. T. V., SOUSA, A. A. T. C., FALEIRO, F. G., REZENDE, L. N., JUNQUEIRA, K. P. Enraizamento de estacas de três espécies silvestres de Passiflora. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 28, p. 284-288, 2006.

CALEVO, J.; GIOVANNINI, A.; DE BEBEDETTI, L.; BRAGLIA, L.; DELLLA CINA, F. S. R.; TAVA, A. Chemical composition of the volatile oil from flowers and leave of new *Passiflora* hybrids. **International Journal Applied Research in Natural Products**. v. 9, n. 4, p. 21-27, 2016.

CAVICHIOLO, J. C., CORRÊA, L. S., BOLIANI, A. C., SANTOS, P. C. Características físicas e químicas de frutos de maracujazeiro-amarelo enxertado em três porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 33, p. 906-914, 2011a.

CAVICHIOLO, J. C., CORRÊA, L. S., GARCIA, M. J. M., FISCHER, I. H. Desenvolvimento, produtividade e sobrevivência de maracujazeiro-amarelo enxertado e cultivado em área com histórico de morte prematura de plantas. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 33, p. 567-574, 2011b.

CERVI, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; BERNACCI, L. C. *Passifloraceae*. In FORZZA, R. F. et al. (eds.) **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. v. 2, p.1432-1436, 2010.

CRUZ, C. D. GENES: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n. 3, p. 271–276, 2013.

FLORES, P. S.; OTONI, W. C.; DHINGRA, O. D.; DINIZ, S. P. S. S.; SANTOS, T. M.; BRUCKNER, C. H. *In vitro* selection of yellow passion fruit genotypes for resistance to *Fusarium* vascular wilt. **Plant Cell Tiss Organ Cult, Cham**, v. 108, n. 1, p. 37-45, 2012.

JUNQUEIRA, N. T. V., BRAGA, M. F., FALEIRO, F. G., PEIXOTO, J. R.; BERNACI, 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: Embrapa Cerrados, p.81-106. 2005.

LENZA, J. B., VALENTE, J. P., RONCATTO, G., ABREU, J. A. Desenvolvimento de mudas de maracujazeiro propagadas por enxertia. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 31, p. 1135-1140, 2009.

LIMA, L. K. S.; SOARES, T. L.; SOUZA, E. H.; JESUS, O. N.; GIRARDI, E. A. Initial vegetative growth and graft region anatomy of yellow passion fruit on *Passiflora* spp. Rootstocks. **Scientia Horticulturae**, v. 215, p. 134–141, 2017.

MENEZES, J. M. T. **Seleção de porta-enxertos tolerantes à morte prematura de plantas para *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. e comportamento de *P. nitida* H.B.K, na região de Jaboticabal**. 1990. 73f. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1990.

MORGADO, M. A. D. ***Passiflora* silvestres: área foliar, relações alométricas e potencial como porta-enxerto do maracujazeiro-amarelo**. 2011. 56f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG, 2011.

MORGADO, M. A. D’O., BRUCKNER, C. H., ROSADO, L. D. S., SANTOS, C. E. M. Desenvolvimento de mudas de maracujazeiro-azedo enxertadas em espécies silvestres de *Passiflora*. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 37, p. 471-479, 2015.

NOGUEIRA FILHO, G. C.; RONCATTO, G.; RUGGIEIRO, C.; OLIVEIRA, J. C.; MALHEIROS, E. B. Propagação vegetativa do maracujazeiro: conquista de novas adesões. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Ed.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. v.1, cap.14, p.341-356.

NOGUEIRA FILHO, G. C., RONCATTO, G., RUGGIERO, C., OLIVEIRA, J. C., MALHEIROS, E. B. Produção de mudas de maracujazeiro-amarelo por enxertia

hipocotiledonar sobre sete espécies de passifloras. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 33, p. 237-245, 2011.

OCAMPO, J.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; JARVIS, A. Distribution of the genus *Passiflora* L. diversity in Colombia and its potential as an indicator for biodiversity management in the coffee growing zone. **Diversity**, v. 2, p.1158–1180, 2010.

OLIVEIRA, M. V. A. de, SANTOS JUNIOR, P. V., SANTOS, T. M. dos, XAVIER, A. A., RIBEIRO, R. C. F.; BRUCKNER, C. H. Avaliação da resistência de *Passiflora mucronata* a *Fusarium* spp. In: **VII Fórum de Ensino, Pesquisa, Extensão e Gestão (VII FEPEG)**, Montes Claros. VII Fórum de Ensino, Pesquisa, Extensão e Gestão (VII FEPEG), 2013

PREISIGKE, S. C.; SILVA, L. P.; SERAFIM, M. E.; BRUCKNER, C. H.; ARAÚJO, K. L.; NEVES, L. G. Early selection of *Passiflora* species resistant to fusariosis. **Summa Phytopathologica**, v.43, n.4, p.321-325, 2017.

RONCATTO, G., ASSIS, G. M. L., OLIVEIRA, T. K., LESSA, L. S. Aspectos vegetativos de combinações copa/porta-enxerto em maracujazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura** 33: 791-797, 2011a.

RONCATTO, G., ASSIS, G. M. L., OLIVEIRA, T. K., LESSA, L. S. Pegamento da enxertia em diferentes combinações de variedades e espécies utilizadas como copa e como porta-enxertos de maracujazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 33, p. 948-953, 2011b.

SALAZAR, A. H. **Avaliação de diferentes porta-enxertos na produção de maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims)**. 2013. 71f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG, 2013.

SALAZAR, A. H.; SILVA, D. F. P. da; PICOLI, E. T; BRUCKNER, C. H. Desenvolvimento, florescimento e análise morfoanatômica do maracujazeiro-amarelo enxertado em espécies silvestres do gênero passiflora. **Agrária – Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v.11, n. 4, p. 323-329, 2016.

YOCKTENG, R.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; SOUZA-CHIES, T.; *Passiflora*. In: KOLE CHITTARANJAN (ed) Wild crop relatives: genomic and breeding resources tropical and subtropical fruits. **Springer**, Berlin and Heidelberg, 2011.

CONCLUSÃO GERAL

Os híbridos interespecíficos entre *P. edulis* x *P. mucronata* são estéreis, dissômicos uniparentais, com eliminação seletiva dos cromossomos maternos, apresentando apenas características paternas.

Os híbridos apresentam-se suscetíveis a *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*. Em relação a capacidade de enraizamento, maior enraizamento é alcançado para estacas com uma folha, reduzida à metade, e em concentração de AIB de 2000 mg.L⁻¹, proporcionando maior retenção foliar, número e comprimento de raízes.

Os genótipos *P. mucronata* e M7-UFV apresentam possíveis indícios de resistência/tolerância inoculadas com *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*. Sendo, os resultados inferidos das inoculações de *F. solani* não nos permite induzir fatores de resistência ou suscetibilidade pois os tratamentos inoculados não diferiram em grande escala das testemunhas.

O porta-enxerto de BRS Sol do Cerrado e UFV-M7 apresentaram maior pegamento e apresentaram uma boa relação enxerto/porta-enxerto, proporcionando bom desenvolvimento das mudas.