



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA,  
BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO**

**CONSERVAÇÃO E PRÉ-MELHORAMENTO DE  
MARACUJAZEIRO ‘DE FLOR VERMELHA’ (*Passiflora trintae*  
Sacco): BIOMETRIA E FENOLOGIA FLORAIS,  
DESENVOLVIMENTO DE ESTACAS E AMPLIFICAÇÃO  
CRUZADA DE MARCADORES MICROSSATÉLITES**

**Jequié - BA**

**2015**

**DANILO DOS SANTOS LEMOS FILHO**

**CONSERVAÇÃO E PRÉ-MELHORAMENTO DE  
MARACUJAZEIRO ‘DE FLOR VERMELHA’ (*Passiflora trintae*  
Sacco): BIOMETRIA E FENOLOGIA FLORAIS,  
DESENVOLVIMENTO DE ESTACAS E AMPLIFICAÇÃO  
CRUZADA DE MARCADORES MICROSSATÉLITES**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Genética, Biodiversidade e Conservação.

Orientador: Prof.<sup>o</sup> Dr. Antonio Carlos de Oliveira (UESB, *campus* Vitória da Conquista).

Co-Orientador: Prof. Dr. Ronan Xavier Corrêa (UESC)

Jequié – BA

2015

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DE  
DANILO DOS SANTOS LEMOS FILHO**

---

**Prof. Dr. Antonio Carlos de Oliveira**  
**Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB**  
**(Orientador)**

---

**Prof. Dr. José Soares dos Santos**  
**Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB**

---

**Prof. Dr. Marcelo de Oliveira Santos**  
**Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF**

## DEDICATÓRIA

Dedico a todas as pessoas que acreditaram  
que fosse possível vencer mais este  
desafio, apesar de todas as dificuldades  
enfrentadas. Em especial a minha família,  
Gyselle minha amada esposa, meus pais e  
minhas irmãs.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia e ao Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação por proporcionarem a minh

Ao Programa de Formação de Recursos Humanos da PETROBRAS pelo apoio financeiro durante o curso.

Ao professor Dr. Antonio Carlos de Oliveira, pela orientação, dedicação e ensinamentos transmitidos. Feliz por uma parceria que se estende desde o início da minha graduação e muito grato por alcançar objetivos que foram impulsionados por ele.

Ao professor Dr. Ronan Xavier Corrêa pela orientação e dedicação para que este trabalho fosse concluído com êxito.

A minha esposa Gyselle, por ser a razão de persistir nos desafios que surgiram em minha vida.

Aos meus colegas do grupo de pesquisa *GenPlanta* que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Dr. Rulfe Tavares Ferreira que participou em algumas das etapas deste trabalho, tanto em coletas quanto em auxiliou teóricos.

Ao Dr. Cláudio Melo que em convívio no laboratório passei a admirar-lo como profissional e personalidade que cativou a minha amizade. Agradeço pelos ensinamentos, paciência e disposição por me orientar nas atividades laboratoriais com marcadores moleculares.

Ao Augusto pela amizade, apoio em etapas laboratoriais e incentivo com palavras positivas com relação ao andamento deste trabalho.

À minha família que sempre me apoiou para que eu alcançasse os meus objetivos.

A Venâncio Bonfim, pela amizade e apoio constante, mesmo com a distância.

A minha amada Belinha por estar ao meu lado nos momentos de dificuldades.

*A persistência transpõe todos os obstáculos*

Sêneca

PPGGGBC

## RESUMO

Recentemente, na literatura especializada, espécies silvestres do gênero *Passiflora* vem sendo objeto de ações de pré-melhoramento genético. Estas ações, que antecedem o melhoramento genético propriamente dito, contudo, não são relatadas ainda para todas as espécies de uso potencial do gênero. Espécies de passifloras, à semelhança do maracujazeiro 'de flor vermelha' (*P. trintae* Sacco), têm forte potencial ornamental, ainda inexplorado. São raros, ainda, os trabalhos com a referida espécie, cuja ocorrência abrange o norte de Minas Gerais e parte centro-Sul do Estado da Bahia. No presente trabalho são descritos três iniciativas de pré-melhoramento do maracujazeiro 'de flor vermelha', atreladas a pesquisas de campo, sob condições controladas (estufa) e laboratoriais. No primeiro ensaio, descreve-se biometricamente a flor e a fenologia da floração e frutificação da espécie. O conhecimento dos padrões fenológicos e da biometria floral são pontos fundamentais para a compreensão da biologia reprodutiva da espécie e base para o desenvolvimento de programas de melhoramento genético, pois promove a identificação de fontes de variabilidade para a seleção de plantas com potencial ornamental. Foi possível identificar correlações entre os eventos fenológicos com dados meteorológicos de temperatura e precipitação pluviométrica. Os resultados permitiram concluir a interferência dos fatores ambientais sobre os eventos fenológicos e os dados referentes a descrição da biometria floral poderão subsidiar futuros estudos relacionados ao melhoramento e conservação de germoplasma. O segundo ensaio focou na comparação de substratos no desenvolvimento de propagação vegetativa da espécie, via estaqueamento, o emprego desta técnica permite a manutenção de materiais genéticos com características agrônômicas favoráveis. As avaliações foram mensais (30, 60 e 90 dias) quanto as características de percentual de pegamento e o desenvolvimento de brotos e folhas. Desse modo, foi possível determinar que os substratos interferem de modo significativo quanto a capacidade de estaqueamento dos genótipos de *P. trintae* e selecionar os genótipos considerados superiores por apresentar maior potencial para o enraizamento e vigor vegetativo. Por fim, objetivando contribuir na caracterização genética de indivíduos e populações de maracujazeiros 'de flor vermelha', desenvolveu-se pesquisa de amplificação cruzada de marcadores microssatélites para a espécie. Neste particular fez-se o uso de 25 *primers* microssatélites (SSR), onde 18 *primers* foram desenvolvidos previamente para o maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*), além dos 7 *primers* que foram desenvolvidos para o maracujazeiro doce (*Passiflora alata* Curtis). Foi possível determinar o percentual de amplificação cruzada para cada de cada *primer* e atestar que os resultados obtidos são bastante promissores para que possam ser utilizados em estudos de diversidade e mapeamento genético. Os resultados aqui descritos permitem conhecer melhor a espécie, com vistas a conservá-la e dotá-la de pesquisas básicas voltadas ao melhoramento genético ligado a seu potencial ornamental.

**Palavras-chave:** Pré-melhoramento, Caracterização morfológica, Conservação, *Passiflora trintae*.

## ABSTRACT

Recently, in the literature, wild species of the genus *Passiflora* has been the subject of genetic pre-breeding stock. These actions, prior to the breeding itself, however, are not reported for all species of the genus potential use. *Passiflora* species, like passion fruit 'red flower' (*P. trintae* Sacco), have strong ornamental untapped potential. Are rare, still, work with the species, the occurrence of which covers the north of Minas Gerais and center-southern part of the state of Bahia. In this paper we describe three initiatives of pre-breeding of passion fruit 'red flower', linked to field trials under controlled conditions (greenhouse) and laboratory. In the first trial, is described biometrically the flower and the phenology of flowering and fruiting species. Knowledge of phenological patterns and floral biometrics are key to understanding the reproductive biology of the species and basis for the development of breeding programs, it promotes the identification of sources of variability for the selection of plants with ornamental potential. It was possible to identify correlations between phenological events with meteorological data of temperature and precipitation. The results showed the interference of environmental factors on phenology and data on the description of the floral biometrics will facilitate future studies related to the improvement and conservation of germplasm. The second study focused on the comparison of substrates in the development of vegetative propagation of the species, through staking, this technique allows the maintenance of genetic materials with favorable agronomic characteristics. All were evaluated monthly (30, 60 and 90 days) as the fixation of percentage of characteristics and the development of shoots and leaves. Thus, it was determined that the substrates interfere significantly as the piling capacity of *P. trintae* genotypes and select genotypes considered superior due to its greater potential for rooting and vegetative vigor. Finally, aiming to contribute to the genetic characterization of individuals and populations of passion fruit 'red flower', developed cross-amplification research microsatellite markers for the species. In this regard was made using 25 microsatellite primers (SSR), where 18 primers were previously developed for the yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *Flavicarpa*) in addition to the 7 primers that were developed for the sweet passion fruit (*Passiflora alata*). It was possible to determine the cross-amplifier for each percentage of each primer and certify that the results obtained are very promising that can be used in diversity and genetic mapping studies. The results described here allow knowledge about the species, in order to preserve it and provide it with basic research focused on the genetic improvement linked to its ornamental potential.

Keywords: Pre-breeding, Morphological, Conservation, *Passiflora trintae*.



## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

**Figura 1.** Representação gráfica da correlação entre os dados fenológicos de pico de florescimento e taxa de florescimento com a temperatura média.

**Figura 2.** Representação gráfica da correlação entre os dados fenológicos de pico de florescimento e taxa de florescimento com a temperatura média.

### CAPÍTULO 2

**Figura 1** – Estacas de *P. trinate* no substrato de areia lavada em casa de vegetação, UESB, *campus* de Vitória da Conquista – BA.

### CAPÍTULO 3

**Fig. 1.** Perfil de amplificação da transferência de *primer* A07FP1 em acessos de *P. trintae*, no gel de agarose (1,5%) do *primer*

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

**Tabela 1.** Valores médios de descritores morfológicos florais de *P. trintae*.

**Tabela 2.** Dados climáticos referentes aos valores médios de temperatura e precipitação utilizados durante o experimento.

**Tabela 3.** Taxa de botões florais, Taxa de florescimento, Pico de florescimento, Taxa de frutificação e Pico frutificação de plantas de maracujazeiro ‘de flor vermelha’ (*P. trintae*). Vitória da Conquista – BA, 2012.

**Tabela 4.** Correlação de Spearman entre os dados fenológicos observados com a temperatura e precipitação.

### CAPÍTULO 2

**TABELA 1.** Quadro de comparação de médias para as variáveis Taxa de sobrevivência, número de brotos, comprimento de brotos, número de folhas e comprimento de folhas dispostas nas três épocas de avaliação nos distintos substratos (areia, terra e esterco e vermiculita).

**Tabela 2** - Apresentação de médias aos 90 dias da variável comprimento de folhas dos genótipos superiores.

### CAPÍTULO 3

**TABELA 1** – Condições de amplificação utilizadas nas reações de PCR de acordo com os *primers* de microssatélites de *P. edulis* e *P. alata*.

**TABELA 2** - Identificação dos locos utilizados na genotipagem. Código do loco, motivo, Temperatura de anelamento (TA °C) e tamanho esperado para o alelo.

**TABELA 3** – Relação de *primers* de *Passiflora alata* Curtis (Pádua *et al.*, 2005). Código do loco, motivo, Temperatura de anelamento (TA °C) e tamanho esperado para o alelo.

**TABELA 5** – Amplificação cruzada de *Passiflora trintae* utilizando *primers* desenvolvidos a partir de *P. edulis*.

**TABELA 6** – Amplificação cruzada de *Passiflora trintae* utilizando *primers* desenvolvidos a partir de *P. alata*.

PPGGGBC

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

% - Porcentagem

\* - Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F (Fisher)

\*\* - Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F (Fisher)

® - Marca Registrada

° ‘ “ – Graus, minutos e segundos

°C – Graus Celsius

μL – Microlitro

AFLP - Amplified Fragment Length Polymorphism

ANAVA - Analysis of Variance

C.V. – Coeficiente de Variação

DC – Diâmetro da Corona

DNA - Deoxyribonucleic acid

EDTA - Ácido Etileno Diamino Tetracético

Mm – Milímetros

NB – Número de Brotos

CA – Comprimento do Androginóforo

CAN – Comprimento da Antera

CB – Comprimento da Bráctea / Comprimento de Brotos

CE – Comprimento do Estigma

CES – Comprimento do estilete

CF – Comprimento do Filete / Comprimento de Folhas

CO – Comprimento do Ovário

CP – Comprimento do Pedunculo

CPE – Comprimento de Pétalas

CS – Comprimento de Sépala

LA – Largura da Antera

LB – Largura da Bráctea

LE – Largura do Estigma

LO – Largura do Ovário

LP – Largura de Pétalas

LS – Largura de Sépala

NF – Número de Folhas

p<0,01 – Nível de 1 % de significância

p<0,05 – Nível de 5 % de significância

pH - Potencial hidrogeniônico

RAPD - *Random Amplification of Polymorphic DNA*

SSR – *Simple Sequence Repeat*

TA – Temperatura de anelamento

Taq - *Thermus Aquaticus*

TBE tampão composto por Tris –Borato e Ethylenediamine tetraacetic acid

TM - Trademark

TS – Taxa de Sobrevivência

UESB – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

UESC – Universidade Estadual de Santa Cruz

UV - Ultravioleta

PPGGGBC

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução.....</b>	<b>16</b>
<b>2. Revisão de literatura.....</b>	<b>18</b>
<b>2.1 Passifloras: sistemática e aspectos econômicos.....</b>	<b>18</b>
<b>2.2 Conservação da biodiversidade de passifloras .....</b>	<b>21</b>
<b>2.3 Pré-Melhoramento Genético de Plantas .....</b>	<b>22</b>
<b>2.4 Importância das Passifloras silvestres na ornamentação. ....</b>	<b>26</b>
<b>2.5 <i>Passiflora trintae</i> Sacco: espécie de passiflora de potencial ornamental do cerrado brasileiro .....</b>	<b>27</b>
<b>2.6 Biologia Floral em passifloras .....</b>	<b>28</b>
<b>2.7 Tipos de propagação em passifloras.....</b>	<b>30</b>
<b>2.8 Acesso a polimorfismo molecular em passifloras .....</b>	<b>32</b>
<b>2.9 Referências.....</b>	<b>35</b>
<b>3. Capítulo 1: Descritores biométricos florais e fenologia da floração e frutificação enquanto etapas de pré-melhoramento do maracujazeiro ‘de flor vermelha’ (<i>P. trintae</i> Sacco) .....</b>	<b>46</b>
<b>3.1 Resumo.....</b>	<b>46</b>
<b>3.2 Introdução.....</b>	<b>47</b>
<b>3.3 Material e Métodos.....</b>	<b>49</b>
<b>3.4 Resultados e Discussão.....</b>	<b>51</b>
<b>3.5 Conclusão.....</b>	<b>59</b>

3.6 Referências.....	60
4 Capítulo 2: Desempenho de substratos no desenvolvimento de estacas de maracujazeiro da flor vermelha ( <i>Passiflora trintae</i> Sacco) .....	64
4.1 Resumo.....	64
4.2 Introdução.....	65
4.3 Material e Métodos.....	67
4.4 Resultados e Discussão.....	69
4.5 Conclusão.....	76
4.6 Referências.....	76
5 Capítulo 3: Amplificação cruzada de marcadores microssatélites em <i>Passiflora trintae</i> Sacco.....	80
5.1 Resumo.....	80
5.2 Introdução.....	81
5.3 Material e Métodos.....	83
5.4 Resultados e Discussão.....	89
5.5 Perspectivas.....	93
5.6 Referência.....	94

## INTRODUÇÃO

Os maracujazeiros pertencem à família Passifloraceae e são oriundos da América tropical (Bernacci *et al.*, 2003). Compreendem 17 gêneros e mais de 600 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (Souza & Meletti, 1997). O gênero mais conhecido é o *Passiflora*, e o Brasil é considerado como um dos principais centros de diversidade deste gênero. Muito embora seja reconhecida esta riqueza natural em número de espécies de passifloras brasileiras, o volume de trabalhos relacionados com a caracterização destas espécies ainda é incipiente (Martins *et al.*, 2003).

O Brasil destaca-se no cenário mundial por ser considerado como um dos principais produtores e exportadores de maracujá do mundo (Gonçalves *et al.*, 2007), e o interesse pelas passifloras estão voltados principalmente para as espécies que produzem frutos comestíveis, a exemplo do maracujazeiro ‘amarelo’ (*Passiflora edulis* Sims), o qual é predominante nos campos de produção do Brasil. Existem outras 50 espécies do gênero que apresentam alguma importância econômica pela utilização dos seus frutos na alimentação, sua adaptabilidade ao cultivo como planta ornamental ou propriedades medicinais (Vieira & Carneiro, 2004).

No que tange ao uso ornamental, as *Passifloras* são aproveitadas na decoração de ambientes externos como cercas e muros ou de ambientes internos como plantas envasadas, podendo ser usadas em varandas e salas (Souza *et al.*, 2006). Para explorar a diversidade de cores e formas dessas plantas, a obtenção de híbridos interespecíficos é uma alternativa para ganhos agronômicos. No entanto, alguns autores relatam que para desenvolver híbridos com maior potencial ornamental e comercial, faz-se necess plantas, s istem outras 50 essear convenientemente a variabilidade genética disponível (Meletti *et al.*, 2000; Oliveira, 1980). Para isso, a caracterização morfológica é muito importante para se detectar características promissoras para o cultivo ornamental (Peixoto, 2005).

A *P. trintae* é caracterizada botanicamente como trepadeira glabra, de caule cilíndrico, com folhas profundamente trilobadas e de base subcordada (Cervi, 1997). Tem ocorrência restrita no norte do Estado de Minas Gerais e regiões sudoeste e oste da Bahia (Nunes & Queiroz, 2006). A beleza das flores é uma característica que chama a atenção da planta, por possuir coloração vermelha que se destaca na vegetação do



cerrado e botões florais que se assemelham com com balões típicos de festas juninas (Meira Souza *et al.*, 2014).

São raros, ainda, os trabalhos com o maracujazeiro ‘de flor vermelha’. No presente trabalho são descritos três iniciativas de conservação e pré-melhoramento do maracujazeiro ‘de flor vermelha’, atreladas a pesquisas de campo, sob condições controladas (estufa) e laboratoriais. Os ensaios realizados no presente trabalho apresentam caráter de pré-melhoramento que visam ações de prospecção de genótipos, conservação e caracterização da diversidade genética da espécie em estudo por meio de aspectos morfológicos, fenológicos e por marcadores moleculares.

No primeiro ensaio, descreve-se biometricamente a flor e a fenologia da floração e frutificação da espécie.

O conhecimento dos padrões fenológicos e da morfologia floral são pontos considerados importantes para a compreensão da biologia reprodutiva da espécie e base para o desenvolvimento de programas de melhoramento genético, pois podem fornecer informações sobre o comportamento das plantas com relação as diversas forças seletivas determinadas pelo ambiente, permitindo selecionar aquelas produtoras de maior quantidade e qualidade quanto ao número de flores, folhas e frutos (Maués *et al.*, 2002).

O segundo ensaio focou na comparação de substratos no desenvolvimento de propagação vegetativa da espécie, via estaqueamento. Para se obter êxito na propagação vegetativa por estaquia, alguns fatores são levados em consideração, como, condições ambientais, genótipos e manejo. Porém, um outro fator não menos importante é o tipo de substrato a ser utilizado (Silva *et al.*, 2001). A escolha do substrato pode ser de fundamental para garantir a sobrevivência da planta (Jabur & Martins, 2002). Conhecer o comportamento de mudas produzidas a partir estaquia, possibilita selecionar os genótipos que se destacaram quanto ao vigor vegetativo e obter informações que podem favorecer uma maior estabilidade genética para características agrônômicas desejáveis. Por fim, objetivando contribuir na caracterização genética de indivíduos e populações de maracujazeiros ‘de flor vermelha’, desenvolveu-se pesquisa de amplificação cruzada de marcadores microssatélites para a espécie.

O uso de marcadores microssatélite contribuem em etapas de pré-melhoramento para a caracterização da diversidade, por apresentarem co-dominância, rapidez da técnica, baixa quantidade de DNA requerida e alto polimorfismo, o que facilita a obtenção de dados mais robustos. Para o desenvolvimento de marcadores

microsatélites é necessário ter uma caracterização prévia do genoma (Ferreira & Gratapaglia, 1996), porém são incipientes as pesquisas relacionadas com o gênero *Passiflora* para este tipo de marcador, uma alternativa seria a amplificação cruzada, pois alguns *primers* podem acessar regiões conservadas entre espécies do mesmo gênero.

## REVISÃO DE LITERATURA

### Passifloras: sistemática e aspectos econômicos

A família Passifloraceae é nativa das regiões tropicais e subtropicais, podendo encontrar plantas silvestres na Índia Ocidental, Galápagos, Austrália, Sudeste Asiático, Malásia, Filipinas, Polinésia e em algumas ilhas do Oceano Pacífico e ainda algumas espécies de clima temperado nas Américas, sul da China e Nova Zelândia (Vanderplank, 2000). No entanto, a América tropical é considerada como o principal centro de diversidade genética, incluindo desde a região Amazônica até o Paraguai e o Nordeste da Argentina (Silva *et al.*, 2004).

A família Passifloraceae é dividida em duas tribos: *Paropsieae*, com seis gêneros, e *Passifloreae*, com quatorze gêneros, sendo que no Brasil são encontrados quatro: *Passiflora*, *Dilkea*, *Mitostemma* e *Tetrastylis* (Cervi, 1986).

O gênero *Passiflora* é o maior em número de representantes da família *Passifloraceae*, reunindo em torno de 600 espécies de maracujá, sendo que sua origem é da América do Sul e muitas delas nativas do Brasil (McDougal, 2007). O Brasil apresenta o maior centro de distribuição geográfica deste gênero, o que confere ao nosso país a condição de ser um dos principais centros de diversidade genética.

A família Passifloraceae abrange espécies trepadeiras a arbustos (Nunes & Queiroz, 2006). Uma característica bastante peculiar da família é a ampla variabilidade foliar e floral (Ulmer & MacDougal 2004). O caule das espécies de passifloras possui o hábito trepador, por esse motivo são delgados, pouco lenhosos e necessitam de outras plantas como suporte para suprir a necessidade de luz. São eretos, cilíndricos, lisos ou pilosos, angulados, angular-estriados, angular-alado, poucos são achatados e alguns são descritos como subangular e estriados. As brácteas são pequenas ou foliáceas, verticiladas e involucrais ou alternadas no pedúnculo, algumas vezes decíduas.

Pedúnculo único ou pareado, geralmente terminando em 1-2 flores ou um racemo (Nunes & Queiroz, 2006).

Apresenta estípulas e gavinhas, folhas pecioladas e alternadas. Possui nectários extraflorais no pecíolo ou na lâmina foliar, as flores isoladas e axilares, hermafroditas, pentâmeras, com pétalas e sépalas alternando entre si, filamentos da coroa, opérculo, androginóforo, cinco estames, anteras dorsofixas, óvulos numerosos, placentação parietal, 3 a 4 estiletos, estigmas captados, orbiculares ou reniformes caracterizam a família (Nunes & Queiroz, 2006). Outra característica marcante é a presença de glicosídeos cianogênicos que, quando são hidrolisados liberam moléculas de açúcar e cianidrina que são tóxicos e, dessa maneira, conferem proteção à planta contra herbivorismo (Stevens 2001).

Os frutos usualmente bagas, indeiscentes ou cápsulas deiscentes, globosos ou ovóides, raramente fusiforme, possuem coloração amarela existindo, entretanto, frutos de coloração vermelha e roxa (Vanderplank, 2000; Ulmer & Macdougall, 2004; Nunes & Queiroz, 2006). Sementes comprimidas, reticuladas, pontuadas ou transversalmente alveoladas, envolvidas por um arilo mucilaginoso. São do tipo ortodoxas ou ortodoxas intermediárias (Nunes & Queiroz, 2006).

O termo maracujá advém da língua Tupi “mara cuia” que significa alimento preparado em cuia ou alimento que serve. Outra denominação atribuída ao maracujá, principalmente no exterior, é de fruto da paixão. Este termo foi originado em 1605, quando flores de *Passiflora incarnata* foram enviadas por missionário católicos ao Papa Paulo V, onde as peças florais foram associadas aos símbolos da crucificação de Cristo. Assim seriam os cinco estames representativos das cinco chagas, os três pistilos para os três pregos e as cores branca e púrpura, representando a pureza e a divindade (Fumis & Sampaio, 2007). Em 1610, Jaco Bosio denominou a flores de maracujá como “Passio floris”, de onde se originou o nome da família Passifloraceae e do gênero *Passiflora* (Dantas *et al.*, 2001).

Desde então, o uso das passifloras passou a ser diversificado e tendo grande importância econômica na agricultura e na horticultura. Muitas espécies são utilizadas para fins alimentares, medicinais e ornamentais (Sousa & Meletti, 1997). Considerando o aspecto medicinal, folhas, flores, raízes e frutos extraídos de espécies silvestres e comerciais de passifloras são utilizados para combater diferentes enfermidades, tais como, verminoses, tumores gástricos e estresse, fazendo parte do conhecimento

tradicional associa do à cultura de diferentes povos (Costa & Tupinambá, 2005). O emprego de plantas medicinais para a manutenção e a recuperação da saúde tem ocorrido ao longo dos tempos desde as formas mais simples pelo tratamento local até as formas mais sofisticadas com a fabricação industrial de medicamentos.

A Etnobotânica aborda a forma como as pessoas incorporam as plantas em suas práticas e tradições culturais (Giraldi & Hanazak, 2010). Ao investigar a utilização dos fitoterápicos pela população brasileira alguns autores evidenciaram que as espécies do gênero *Passiflora* estão entre os mais utilizados (Ribeiro *et al.*, 2005)

Pesquisas recentes têm apontado que as espécies *P. sidifolia*, *P. bahiensis*, *P. coccinea*, *P. vitifolia* e *P. incarnata* como ricas em flavonoides que têm ação ansiolítica, sedativa e analgésica (Sakalem *et al.*, 2012).

No que se referem ao uso ornamental, as passifloras despertam interesse pela beleza exótica de suas flores com formato e colorido peculiares, o que viabiliza sua utilização na linha do agronegócio de plantas ornamentais. Já foram obtidos e registrados mais de 685 híbridos para uso ornamental, com intuito de gerar flores com formas e cores diversificadas para todos os gostos e ambientes (Vanderplank *et al.*, 2003; Peixoto, 2005; Santos, *et al.*, 2012). Por fim, o uso alimentar por meio do consumo in natura e derivados na forma de sucos, sorvetes, doces e licores constitui o principal objetivo do cultivo dessas espécies (Ruggiero *et al.*, 1996).

Segundo Meletti (2011), os principais segmentos de mercado para o suco concentrado e a polpa de maracujá são: 1) bebidas - principalmente os sucos de frutas, os néctares, os licores e a preparação de aperitivos e coquetéis de frutas tropicais; 2) laticínios - utilizados em iogurtes, misturas de leite e sorvetes; 3) confeitaria - utilizados em bolos, doces e recheios para bombons; 4) geleias; 5) alimentos enlatados - utilizados em salada de frutas tropicais, onde pedaços das frutas são colocados em xarope de maracujá; 6) fonte de niacina, vitamina A e C.

O maracujá-azedo (*Passiflora edulis*) e o maracujá-doce (*P. alata*) constituem as espécies de maior importância econômica no Brasil, com cerca de 90% da área plantada ocupada pelo primeiro (Meletti *et al.*, 2005). Além dessas espécies de *Passiflora*, também têm importância econômica, entretanto, estas são de comercialização restrita a determinadas regiões, a exemplo dos maracujazeiros ‘melão’ (*Passiflora quadrangulares* L.), ‘suspiro’ (*Passiflora nitida* HBK), ‘azul’ (*Passiflora caerulea*), ‘peroba’ (*Passiflora laurifolia*), ‘doce’ (*Passiflora alata* Curtis), ‘do-mato’ (*Passiflora*

*cinnata* Mast) e ‘do-sono’ (*P. setacea* DC) (Meletti *et al.*, 2003; Meletti *et al.*, 2005; Cardoso-Silva *et al.*, 2007; Junqueira *et al.*, 2010).

### **Conservação da biodiversidade de passifloras**

A conservação da biodiversidade é considerada como um dos maiores desafios devido ao elevado nível de perturbações antrópicas aos ecossistemas naturais que muitas vezes podem ser irreversíveis (Viana, 1995). Dentre as alterações causadas pelo homem, as extinções de várias espécies ocorridas em função da redução dos habitats, comprometem o patrimônio genético desses ecossistemas através de um fenômeno conhecido como erosão genética (Bernacci *et al.*, 2005). A erosão genética é irreversível, mas pode ser evitada ou minimizada por meio da formação de bancos de germoplasma para a conservação da variabilidade genética (Faleiro *et al.*, 2005). Um germoplasma pode ser definido como uma unidade conservadora de material genético de uso imediato ou com potencial de uso futuro (Borém & Miranda, 2005)

Espécies nativas e silvestres de maracujazeiro são consideradas como recursos genéticos vegetais que constituem um reservatório natural de genes com potencial de uso. Este potencial não está voltado apenas para o consumo *in natura*, mas também para a produção de fármacos, planta ornamental e alimento funcional. Espécies silvestres são fontes de genes para o melhoramento, por exemplo, do maracujazeiro amarelo, já que servem como porta enxerto e na obtenção de híbridos de maracujazeiro ornamental (Faleiro *et al.*, 2006; Faleiro *et al.*, 2008).

Para que a variabilidade genética presente no gênero *Passiflora* seja utilizada da melhor maneira, é necessário que haja uma efetiva caracterização e avaliação, tanto morfológica quanto molecular. Ações que contribuam para a conservação e caracterização de alelos importantes, presentes nestas espécies, são de grande importância para o melhoramento genético. Nesse sentido, diversos trabalhos estão sendo registrados no que se refere à caracterização morfológica, reprodutiva, citogenética, fisiológica e molecular de espécies silvestres, contribuindo, assim, para sua conservação (Meletti *et al.*, 2003; Junqueira *et al.*, 2007)

Por outro lado, mesmo caracterizada, a variabilidade genética pode estar ameaçada, caso não se adote práticas adequadas nos ciclos de conservação e regeneração dos acessos, uma vez que podem ocorrer alterações nas frequências

alélicas, bem como a perda ou fixação destes, comprometendo a variabilidade futura dos acessos conservados. Desta forma, ao longo do processo de conservação do germoplasma, marcadores moleculares podem ser utilizados para monitorar a variabilidade genética dos acessos.

Com a expansão das fronteiras agrícolas, há uma grande preocupação com a extinção de espécies silvestres pouco estudadas, ou até mesmo ainda não identificadas. Para conservar estas espécies que são consideradas como fontes de variabilidade genética, a formação de bancos de germoplasma contendo a maior diversidade de espécies possível, são as alternativas mais aconselhadas pelos melhoristas (Braga & Junqueira, 2000).

A conservação de germoplasma de *Passiflora* no Brasil é realizada por meio de plantas vivas, ou mantidas sob a forma de sementes em câmaras frias e secas onde são mantidas em bancos específicos ou em coleções de trabalhos localizados em diversas instituições de pesquisa (Ferreira & Oliveira, 1991).

As principais coleções estão localizadas na UNESP, em Jaboticabal, SP; no IAC, em Campinas, SP; no IAPAR, em Londrina, PR; na Embrapa Genéticos e Biotecnologia, em Brasília, DF e na Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, BA (Faleiro *et al.*, 2008).

### **Pré-Melhoramento Genético de Plantas**

Os recursos genéticos são considerados como matéria prima para o melhoramento genético, pois são definidos como a fração da biodiversidade que tem previsão de uso potencial ou atual. Eles são fontes de variabilidade necessária para que o melhoramento aconteça (Nass *et al.*, 2007).

De acordo com Faleiro *et al.*, (2008), o melhoramento genético pode ser dividido em três fases cronológicas: o pré-melhoramento, visa identificar características de interesse úteis aos programas de melhoramento genético em acessos pouco adaptados às condições de solo e clima local e disponibilizar esses genes em genótipos mais adaptados, com boas características agrônômicas, para que sejam inseridos no programa de melhoramento; o melhoramento 'propriamente dito', que pode ser caracterizado como a execução de cruzamentos e a seleção de genótipos superiores e a fase do pós-melhoramento, que envolve testes de validação de cultivares.

As atividades de pré-melhoramento apresentam enorme potencial para facilitar a identificação e o uso de novos genes de características de interesse nos programas de melhoramento. Quando aliado com a biotecnologia, pode se tornar uma importante estratégia de descoberta e de disponibilização de funções biológicas inovadoras e viabilizadoras de uma agricultura mais sustentável (Nunes *et al.*, 2013; Faleiro *et al.*, 2008).

Sabemos que todo alimento provém de espécies silvestres e domesticadas; além disso, a maioria dos medicamentos é originado de espécies de plantas medicinais, ainda encontrados em estados silvestres, incluindo os principais sedativos, agentes para controle de natalidade dentre vários outros (Faleiro *et al.*, 2008). O que justifica o uso do pré-melhoramento em espécies vegetais é a promoção da eliminação de genes relacionados a características indesejáveis, realizar uso de germoplasma exótico para evitar o estreitamento da base genética, muitas vezes os alelos que estão sendo buscados não são encontrados nas espécies cultivadas ou elites, mas apenas nas espécies silvestres aparentadas (Faleiro *et al.*, 2005).

No entanto, com a prática de seleção artificial, os programas de melhoramento acabam reduzindo a diversidade do *pool* gênico que trabalham. A diversidade genética é a fonte primária dos programas de melhoramento, pois sem a variabilidade não há ganho genético. Para solucionar este conflito, o meio mais indicado é a construção de bancos de germoplasma para a conservação dos recursos genéticos. Os Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) são coleções de acessos que são utilizados, rotineiramente, para propósitos de pesquisa, recorrendo-se aos materiais neles depositados. Por maior que seja, é apenas uma pequena amostra da variabilidade total da espécie (Nass & Santos, 2001).

As etapas do pré-melhoramento estão relacionadas com a valorização do uso de germoplasmas. Para isso, faz-se necessário auxiliar programas de melhoramento na ampliação da base genética das culturas, realizar estudos moleculares e evolutivos, gerar novas perspectivas em termos de uso, novos mercados ou funções para as espécies vegetais, entre outros. Desse modo, são geradas perspectivas de criação de novos materiais com características e funcionalidades distintas das originais, como alimentos biofortificados, ornamentais, fontes de energia limpa, componentes para a bioindústria (Faleiro *et al.*, 2008).

De acordo com Nass *et al.*, (2007), Muitas atividades de enriquecimento são o resultado de um trabalho de coleta e introdução a partir de áreas vulneráveis e sujeitas a forte erosão genética. Somente as atividades de caracterização e de avaliação preliminar poderão disponibilizar o acervo genético e atrair a atenção dos fitomelhoristas.

O pré-melhoramento é considerado como um trabalho de longo prazo, para isso precisa antever os desafios e oportunidades para os programas de melhoramento em médio e longo prazo. O êxito desta atividade está por conta do esforço prospectivo, obter informações precisas para que no futuro possa atender demandas relacionadas com aumento da produtividade, desenvolvimento de conhecimentos científicos e tecnológicos, superação de barreiras sanitárias, ambientais e sociais para acesso aos mercados (Nass & Santos, 2001).

No Brasil várias culturas tem sido alvo de conservação para fins, principalmente, de melhoramento genético. Dentre os grãos, pode-se destacar o milho conservado em Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) na Embrapa Milho e Sorgo, a soja, representada na Embrapa Soja, Universidade Federal de Viçosa (UFV) e Instituto Agrônômico de Campinas (IAC), e o feijão, concentrado principalmente na Embrapa Meio-Norte e Embrapa Arroz e Feijão (Queiroz & Lopes, 2007). As olerícolas estão representadas por várias espécies, porém se destacam algumas como *Allium cepa*, *Solanum lycopersicum*, *Solanum tuberosum*, *Daucus carota* L, *Anacardium occidentale* e *Citrullus lanatus*. Os bancos de germoplasma de olerícolas são menos expressivos quando comparados com os de grãos (Queiroz & Lopes, 2007). Culturas como *Mangifera indica*, *Anacardium occidentale*, *Musa paradisiaca* também são representadas em bancos de germoplasma de fruteiras, bem como a *Prunus domestica* e *Prunus pérsica*.

Em plantas perenes, como o maracujazeiro, a caracterização é uma atividade essencial no manejo de coleções de germoplasma, pois desempenha papel importante por reduzir gastos consideráveis na manutenção, quantificação da diversidade, aperfeiçoar estratégias de amostragem, além de identificar acessos desejáveis para programas de melhoramento genético (Oliveira, 2005). Nas coleções de germoplasma, a caracterização tem sido feita geralmente por dados morfológicos (Souza, *et al.*, 2008), botânicos, agrônômicos (Araújo *et al.*, 2008) e por marcadores moleculares.

A ampla diversidade genética dentro do gênero *Passiflora* tem sido pouco explorada, inclusive no Brasil onde se localiza o maior centro de dispersão geográfica



do maracujá (Meletti *et al.*, 2005). O conhecimento e a utilização prática das espécies silvestres de maracujá são importantes demandas de pesquisa, pois as espécies silvestres são alternativas para diversificar os sistemas de produção com novos alimentos funcionais para consumo *in natura* e para o uso como plantas ornamentais e medicinais (Faleiro *et al.*, 2006). Tendo em vista o grande potencial do uso de espécies silvestres de maracujá, resultados finais tem sido obtidos dentro de programas de melhoramento genético de maracujazeiro.

O uso de espécies silvestres de maracujá no pré-melhoramento tem mostrado grande potencial como fonte de resistência a doenças, e outros genes de importância agrônômica (Junqueira *et al.*, 2005). O uso como porta-enxertos, também é uma alternativa importante para a resistência de doenças associadas ao solo, como nematoides e fungos (Junqueira *et al.*, 2006).

Segundo Junqueira (2005, 2006), entre as várias espécies silvestres no Brasil, muitas tem características interessantes que poderiam ser introduzidas na maracujazeiro comercial. Além da resistência a doenças e algumas pragas, há espécies autocompatíveis, como a *P. tenuifilla*, *P. elegans*, *P. capsularis*, *P. villosa*, *P. suberosa*, *P. morifolia* e *P. foetida*. Essa característica é importante para aumentar a produtividade e reduzir custos com a mão-de-obra e para a polinização manual.

Há espécies como *P. setacea* e *P. coccinea* que comportam-se como plantas de “dias curtos”, pois florescem e frutificam durante o período de dias curtos do ano, e a colheita ocorre em agosto a outubro, época da entressafra do maracujá comercial. Caso esta característica seja incorporada ao maracujazeiro comercial, poderá eliminar os problemas referentes à sua sazonalidade, permitindo a produção de frutos durante todo o ano. Existem interesses de gerar híbridos entre espécies silvestres com germoplasma bruto da espécies cultivada, na tentativa de agregar genes de resistência a doenças, localizados nas diferentes espécies, provavelmente alelos distintos, antes de cruzar este novo híbrido com cultivares elite (Faleiro *et al.*, 2008).

Algumas espécies silvestres tem demonstrado contribuições importantes para o melhoramento genético por apresentarem, longevidade, maior adaptação as condições climáticas adversas, período de florescimento ampliado, componentes químicos de interesse para a indústria farmacêutica e dentre outros recursos, quase todas ainda não exploradas. Dentre estas espécies estudadas, podem ser destacadas a *P. setacea*, *P.*

*cincinnata*, *P. incarnata*, *P. maliformis*, *P. foetida*, *P. nítida* e *P. quadrangularis* (Meletti *et al.*, 2003).

Os pesquisadores conhecem a importância da ampla variabilidade genética naturalmente disponível das passifloras, tanto inter como intraespecífica, que são de interesse em programas de melhoramento genético. O melhoramento genético do maracujazeiro constitui um vasto campo de pesquisas bastante promissor, já que há muitas lacunas a serem preenchidas por meio de trabalhos científicos (Meletti *et al.*, 2005).

### **Importância das Passifloras silvestres na ornamentação**

As passifloras começaram a ser utilizadas como ornamentais no século XVII, na Europa. Por aproximadamente 200 anos, duas espécies se destacavam quanto ao cultivo com vistas a ornamentação, que eram a *P. caerulea* e a *P. incarnata*. Em 1819, Thomas Milne realizou o cruzamento entre *P. racemosa* com *P. caerulea*, obtendo o primeiro híbrido artificial, nomeado de *P. violacea* (Peixoto, 2005).

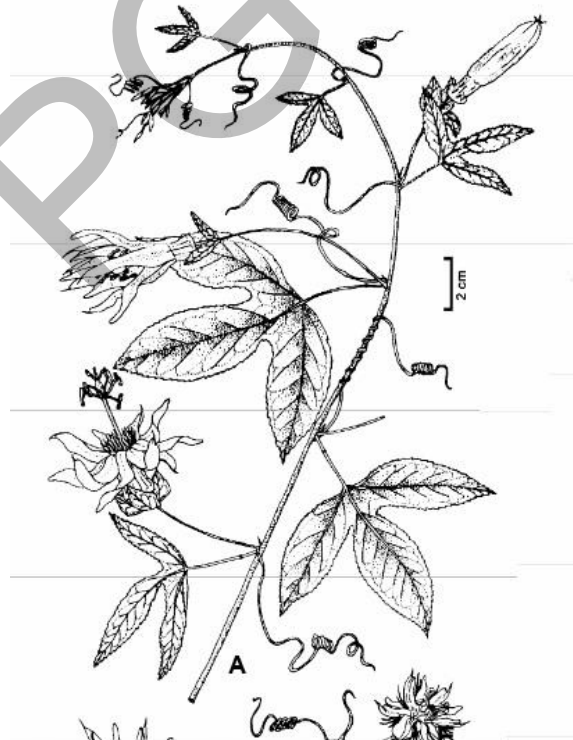
Atualmente, as espécies ornamentais de passiflora se destacam em muitos países europeus e, nos EUA, no mercado de mudas híbridas (Vanderplank, 2000). Várias são as possibilidades do uso de passiflora como plantas ornamentais, o cultivo destas mudas podem ser aplicados de diversas formas, como em jardins, seja em cercas vivas, muros ou pérgulas, ou até mesmo com efeito harmonioso entre vaso e planta (Souza *et al.*, 2006; Vanderplank, 2000).

Segundo Meletti & Bruckner (2001), a maioria das espécies de *Passiflora* apresenta número de cromossomos  $2n = 12$  ou  $18$ , mas também são conhecidas espécies que apresentam  $2n = 24, 14, 20, 84, 27$  e  $36$ . As espécies de maior importância econômica como *P. edulis*, *P. alata*, *P. setacea*, *P. nitida* possuem  $2n = 18$ , portanto existe alta compatibilidade interespecífica em cruzamentos dentro do grupo com  $2n = 18$ , facilitando a obtenção de híbridos naturais ou artificiais visando a obtenção de tolerância/resistência as principais doenças que acometem as espécies comerciais.

***Passiflora trintae* Sacco: espécie de passiflora de potencial ornamental do cerrado brasileiro**

O maracujazeiro ‘vermelho’ foi descrito pela primeira vez por José da Costa Sacco em 1966 e nomeado após Zomar Trinta, um botânico brasileiro. A planta é caracterizada botanicamente como trepadeira glabra, de caule cilíndrico, com folhas profundamente trilobadas e de base subcordada, a flor não é diferente da *Passiflora racemosa*, mas elas são menores e não florescem em cachos (Figura 1) (Cervi, 1997).

De acordo com a distribuição dos domínios fitogeográficos, a *P. trintae* tem ocorrência restrita na região do Cerrado, abrangendo as regiões do norte do Estado de Mina Gerais e sudoeste da Bahia (Nunes & Queiroz, 2006). Isto denota um estado de alerta, pois espécies de *Passiflora* que habitam os ambientes mais homogêneos e com distribuição mais restrita estarão mais suscetíveis às mudanças climáticas, podendo até mesmo serem extintas, enquanto aquelas que habitam ambientes mais heterogêneos e com distribuição mais ampla tenderão a preservar a história evolutiva do grupo (Scherer, 2014).



**Figura 1:** *Passiflora trintae* Sacco (Fonte: Nunes & Queiroz, 2006).

O maracujazeiro de “flor vermelha” apresenta potencial ornamental por possuir flores vermelhas, cuja cor é interessante para ser contrastada com outras diferentes cores de espécies do mesmo gênero por meio de cruzamentos dirigidos para a obtenção de híbridos. Esses genótipos, obtidos do cruzamento de espécies dotadas de flores vermelhas e de flores brancas, vem sendo recentemente lançados como variedades comerciais face à beleza que possuem. Adicionalmente, o maracujazeiro de “flor vermelha” é dotado de flores que, em pré-antese, apresentam-se com o formato de ‘balões de São João’, o que pode vir mais a frente apresentar, por si só, algum apelo estético enquanto planta ornamental (Meira Souza *et al*, 2014).

Dentre os poucos trabalhos realizados com *P. trintae*, estão de Cerqueira-Silva *et al* (2010) que realizou um estudo de diversidade de genótipos por meio de marcadores RAPD. Bonfim-Silva *et al* (2009) comparou a capacidade de estaqueamento por propagação vegetativa com outras duas espécies silvestres (*P. cincinnata* e *P. setacea*). Lemos-Filho *et al* (2013) realizou uma análise biométrica de sementes com intuito de gerar informações enquanto atividade de pré-melhoramento e o de Meira Souza *et al* (2014), que caracterizou a organização cromossômica, quanto a natureza de grãos de pólen e quanto a quantidade de 2C de DNA.

### **Biologia Floral em passifloras**

A caracterização morfológica é a forma mais acessível e mais utilizada para quantificar a diversidade genética. Conhecer o modo de reprodução de uma espécie em estudo é muito importante em programas de melhoramento genético (Allard, 1971), pois a maioria dos métodos adotados dependeram desta informação.

A importância do conhecimento destes estudos podem favorecer na seleção de genótipos para futuras hibridações interespecíficas de passifloras. Desse modo, os dados podem contribuir para conservar e explorar os recursos biológicos para que possam ser aproveitados em programas de pesquisa voltados ao melhoramento.

Estudos de variabilidade genética e morfológica representam instrumentos importantes para a compreensão dos padrões de distribuição das espécies e contribuem para o entendimento dos processos evolutivos e biogeográficos. Estas abordagens têm sido utilizadas para estudos de populações pertencentes a outras espécies

Características como flores de beleza inquestionável, com exuberância de cores, variando do forte e brilhante ao suave e marcante (Vanderplank, 2000; Abreu *et al.*, 2009); número abundante de flores; florescimento mais de uma vez ao ano e variabilidade de formas foliares (Souza; Pereira, 2003), além da presença da corona, conferem às passifloras interesse ornamental. Além da beleza original das espécies silvestres, os híbridos produzidos a partir destas apresentam atributos estéticos ainda mais atraentes, somado ao fato de que, muitos destes apresentam resistência às diferentes condições climáticas (Vanderplank, 2000).

O gênero *Passiflora* possui inúmeras espécies com flores que despertam curiosidade e atenção devido a diversidade de cor, a arquitetura floral e a presença da corona. Embora apresente características de potencial ornamental e condições edafoclimáticas favoráveis o Brasil não explora tal potencial nas passifloras (Peixoto, 2005).

Cruzamentos interespecíficos têm sido realizados a fim de obter flores com formato e cores peculiares, sendo destinada para a utilização na linha do agronegócio de plantas ornamentais (Meltetti *et al.* 2005).

Algumas dessas espécies têm apresentado características importantes que podem ser exploradas em programas de hibridação interespecífica. Entre elas, se destacam *P. setacea*, *P. cincinata*, *P. caerulea*, *P. incarnata*, *P. maliformis*, *P. foetida*, *P. Nítida* e *P. quadrangulares* (Meletti *et al.* 2005, Junqueira *et al.*, 2005).

Para se ter sucesso na obtenção de híbridos interespecíficos é necessário também obter conhecimentos sobre um dos principais fatores responsáveis pelo isolamento reprodutivo que é o horário da antese ou da abertura das flores. Junqueira *et al.* (2005) relata que os principais fatores responsáveis pelo isolamento reprodutivo entre as espécies de passifloras são: horário da antese (processo de abertura e liberação do pólen da flor), distribuição geográfica, comprimento do androginóforo que não permite a polinização por determinados insetos, diferença no tamanho das estruturas reprodutivas, comprimento, espessura do tubo polínico e incompatibilidade genética.

Cabe ressaltar que esforços como estes são desconhecidos na literatura para a o maracujazeiro ‘de flor vermelha’.

## Tipos de propagação em passifloras

O método predominante de propagação dos maracujás é por meio das sementes, que é denominada de propagação gâmica, sexuada ou reprodutiva (Manica & Oliveira, 2005). Atualmente, esta é a técnica mais empregada em escala comercial pelos produtores no Brasil. O maracujazeiro é uma planta alógama, ou seja, realizam preferencialmente polinização cruzada (acima de 95%). As plantas do gênero *Passiflora* são dependentes da polinização cruzada para a formação do fruto, pelo fato de suas flores apresentarem mecanismos que dificultam a ocorrência de auto polinização, como a presença dos estigmas no ápice do androginóforo, numa posição superior às anteras, que estão localizadas logo abaixo dos estigmas. Há a ocorrência do fenômeno da protandria e, ainda, algumas espécies, como *P. edulis*, apresentam a auto-incompatibilidade reforçando, assim, a alogamia (Manica, 2005).

Neste caso, a fertilização ocorre quando o pólen de uma planta fertiliza o estigma da flor de outra planta (Bespalkok *et al.*, 2009). Por ser uma planta alógama, vários métodos de melhoramento são aplicáveis, objetivando o aumento da frequência de alelos favoráveis ou a exploração de vigor híbrido (Meletti *et al.*, 2000).

Na propagação sexuada existe algumas desvantagens, pois devido à característica de cruzamento por polinização cruzada, há uma grande variabilidade entre as plantas de uma determinada população. Esta característica, relacionada ao método de propagação, acaba gerando a formação de pomares heterogêneos, com gradiente de plantas variando entre excelentes e de baixa produtividade (Borém & Miranda, 2005).

Outro desafio a ser enfrentado pelos produtores se refere as sementes de algumas espécies que são viáveis para plantio por doze meses, entretanto precisam ser mantidas em condições controladas de temperatura e luz (Vanderplank, 2006). Relatos da literatura sobre as sementes de passifloraceas se referem ao período lento e irregular de germinação (Ferreira *et al.*, 2005).

A estaquia é o processo de multiplicação de plantas vegetativamente no qual se utilizam segmentos de caules, raízes, brotos apicais e folhas que submetidos às condições favoráveis, desenvolvem enraizamento originando novas plantas (Lorenzi *et al.*, 2006). Esta técnica é um processo baseado na teoria da totipotência, pois Este princípio retrata que todas as células vivas têm a capacidade ou potencial de reproduzir

um organismo inteiro, desde que possuam condições adequadas e informações genéticas necessárias para ocorrerem às transformações morfogenéticas (Hartmann et al., 2002).

A partir do material selecionado, podem existir nesse processo de enraizamento por estaquia algumas características inadequadas para o enraizamento das estacas, como o material genético e a idade, já que o material adulto apresenta maior dificuldade de enraizamento (Silva, 2005).

O método de propagação por estaquia somente deve ser utilizado quando se necessita de uma rápida produção de sementes ou na clonagem de determinada planta com característica desejada. A maior inconveniência da utilização da propagação por estaquia é o grande volume de material a ser utilizado em plantios comerciais, deste modo, pesquisas tem sido desenvolvidas visando a propagação da espécie (Avelar *et al.*, 2007).

A propagação do maracujazeiro é feita quase, exclusivamente, em nível comercial, por sementes, devido à facilidade de execução e simplicidade da infraestrutura necessária no viveiro (Meletti, 2002). Entretanto, existem problemas relacionados à qualidade fisiológica das sementes, como a desuniformidade na germinação, que comprometem diretamente à formação das mudas (Negreiros et al., 2006). A elevada heterozigoidade gerada pela propagação seminal ocasiona alta variabilidade, levando à falta de uniformidade nas plantações (Silva *et al.*, 2005).

Dessa forma, a propagação vegetativa realizada por meio de métodos de enxertia e estaquia garante a obtenção de plantas com estabilidade genética, o que implicará cultivares mais uniformes e homogêneas com relação às características agrônômicas, favorecendo a multiplicação de plantas produtivas e resistentes a pragas e doenças (Oliveira et al., 2002). No entanto, deve-se atentar para o número de clones no pomar de modo a não inviabilizar a produção de frutos.

Para se obter êxito na produção de mudas, vários fatores são levados em consideração, dentre eles a escolha de bons genótipos, o manejo cultural e fitossanitário, a adubação, além de uma boa técnica de formação de mudas e do uso de bons substratos, com características físico-químicas ideais para o enraizamento e desenvolvimento inicial (Silva *et al.*, 2001).

A escolha do substrato é de fundamental importância, pois o substrato pode ser determinante para o sucesso do enraizamento de estacas, embora, para algumas espécies vegetais, não haja efeito significativo (Jabur & Martins, 2002). O substrato fornece à

planta sustentação, podendo ainda regular a disponibilidade de nutrientes (Pasqual *et al.*, 2001), servindo de base para o desenvolvimento de uma planta até a área de plantio. Borges *et al.* (2005) relatam a importância do substrato que consiste em um fator de relevante importância para a formação de mudas.

Na passicultura, a propagação assexuada já é utilizada na manutenção de materiais de plantio com boas características agrônomicas e vem favorecendo a multiplicação de plantas produtivas e tolerantes a pragas e doenças (Meletti, 2000).

Mesmo a propagação predominante seja realizadas por sementes, alternativas do atual método de propagação podem amenizar o problema. Mesmo que a estaquia possa garantir a perpetuação integral dos genótipos, esta técnica se apresenta vulnerável quanto a sanidade dos pomares se não forem tomadas as precauções necessárias para se evitar a disseminação de doenças, afetando a qualidade das plantas e, conseqüentemente a produção (Nogueira Filho *et al.*, 2003).

Pouco se sabe sobre o comportamento no campo de indivíduos originados por estacas em termos de desempenho durante todo o seu ciclo de desenvolvimento reprodutivo e vegetativo (Nogueira Filho *et al.*, 2003). Pesquisas de melhoramento que envolvem o método de propagação, ampliam o conhecimento da base genética disponível e fundamentam o melhoramento genético da espécie, seria uma estratégia interessante para *P. trintae* já que o conhecimento é escasso sobre este método de propagação.

### **Acesso a polimorfismo molecular em passifloras**

Diversas técnicas têm sido utilizadas na detecção da variabilidade genética ou polimorfismo genético em organismos (Araújo *et al.*, 2003). Embora os marcadores morfológicos e citológicos tenham sido de extrema importância na elucidação de uma série de eventos genéticos, esses ocorrem em número reduzido, limitando a sua aplicação em análises genéticas. Esta limitação foi resolvida a partir do desenvolvimento de uma nova classe de marcadores, denominados de marcadores moleculares, que representam uma grande contribuição do desenvolvimento de técnicas moleculares que permitem análises do genoma (Fungaro & Vieira, 2001).

Com o avanço das técnicas modernas de biologia molecular, surgiram diversos métodos para a detecção de polimorfismo genético diretamente ao nível de DNA,



tornando o número de marcadores moleculares altamente polimórficos virtualmente ilimitado. A aplicação dos marcadores moleculares vem sendo cada vez maior em espécies vegetais, pois podem determinar características desejáveis, como herança mendeliana simples, ausência de efeitos epistáticos, abundância e alto polimorfismo (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Os marcadores moleculares podem ser divididos em dois tipos: a) marcadores moleculares dominantes, como os RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), e os AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*); e b) marcadores moleculares codominantes, como os RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) e os SSR (*Simple Sequence Repeats* ou microssatélites).

Cerqueira-Silva *et al.*, (2012) encontraram vasta variabilidade genética ao avaliar genótipos de *P. Setacea* utilizando marcadores RAPD. Bellon *et al.*, (2009) também utilizaram marcadores do tipo RAPD para estimar a variabilidade de acessos de *P. alata*, e verificaram que os acessos silvestres foram os que mais contribuíram para a variabilidade genética.

Pereira *et al.*, (2015) analisou a diversidade por meio de marcadores ISSR genética do maracujazeiro ‘do-sono’ (*P. setacea*) em doze populações distribuídas em zonas agro-ecológicas do Estado da Bahia. Os dados obtidos são considerados úteis para estratégias de conservação da espécie.

A vantagem de se utilizar os marcadores dominantes se deve por não requerer estudos prévios do genoma das espécies a serem estudadas. Desse modo, o uso de marcadores dominantes permite economia de tempo quanto de recursos financeiros para a execução da pesquisa (Ferreira & Grattapaglia, 1996). Entretanto, marcadores dominantes se limitam por não serem capazes de caracterizar a variabilidade e frequência alélica de um determinado loco. Estas limitações podem ser superadas mediante emprego de marcadores codominantes, a exemplo dos microssatélites (SSR).

Os marcadores SSR caracterizam-se por acessar regiões do genoma que apresentam sequências simples repetidas em *tandem*, as quais consistem de um a seis nucleotídeos (*repeats*), serem altamente polimórficos e multialélicos, apresentarem padrão de herança mendeliano e serem comuns tanto em eucariotos quanto em procariotos (Ferreira & Grattapaglia, 1996). Em maracujazeiros, a maioria dos estudos com marcadores SSR estão relacionados ao desenvolvimento e caracterização de

*primers* SSR de maracujazeiro ‘amarelo’ (Oliveira *et al.*, 2005) e o maracujazeiro ‘doce’ (Pádua *et al.*, 2005).

Com o avanço das técnicas moleculares, as caracterizações genéticas se tornam cada vez mais robustas e informativas. Desse modo, a utilização de marcadores moleculares co-dominantes podem contribuir em etapas de pré-melhoramento para a caracterização da diversidade e confirmação de híbridos interespecíficos. Estes estudos que utilizam os marcadores moleculares na caracterização da diversidade genética poderão contribuir para a discriminação dos genótipos, a análise de variabilidade intraespecífica, a identificação de acessos em duplicatas, a identificação precoce de linhas comerciais de interesse e ainda pode ser útil para a conservação de espécies.

Os marcadores SSR são baseados em PCR, extremamente polimórficos, e altamente informativos como resultado do número e da frequência de alelos detectados e sua habilidade de distinguir indivíduos intimamente relacionados.

As sequências que flanqueiam as repetições de SSRs são conservadas, e por isso, são usadas para o desenho de *primers* específicos, possibilitando a amplificação, via PCR, dos fragmentos que contém o DNA repetitivo em indivíduos da mesma espécie, e em alguns casos, entre diferentes espécies ou até mesmo gêneros da mesma família (Choumane *et al.*, 2003).

A detecção dos alelos SSRs é feita em gel de poliacrilamida, ou agarose especial de alta resolução, uma vez que é necessária uma matriz adequada para a separação eletroforética de alelos que diferem por poucos pares de bases. Podem ainda, ser detectados por pelo uso de *primers* fluorescentes por eletroforese em plataformas de sequenciamento. Cada loco SSR é analisado a partir do par de *primers* construído especificamente para a sua amplificação.

A aplicação do marcador SSR pode ser exemplificada com o trabalho de Santos *et al.*, (2011) que realizaram a confirmação de híbridos interespecíficos de *Passiflora* para uso ornamental, obtidos por meio de cruzamentos entre *P. sublancoolata* e *P. foetida*, com apenas um loco de microssatélite.

No entanto, os estudos com marcadores microssatélites envolvendo espécies do gênero *Passiflora* ainda são incipientes, visto que há escassez desses marcadores específicos para estas espécies. O limitado uso dos SSR em estudos envolvendo maracujazeiros provavelmente está associado à necessidade de caracterização prévia do genoma da espécie a ser estudada (Ferreira & Gratapaglia, 1996).

Tendo em vista esta necessidade, foram desenvolvidos e caracterizados marcadores microssatélites para *P. edulis* f. *flavicarpa* (Oliveira, 2006), *P. alata* (Pádua *et al.*, 2005), *P. cincinnata* (Cerqueira-Silva *et al.*, 2012) e *P. contracta* (Cazé *et al.*, 2012). A obtenção desses *primers* permitiu a realização de estudos em vários campos da genética, não apenas para estas quatro espécies, mas também de espécies silvestres do gênero *Passiflora* por meio da transferibilidade de *primers*, incluindo genética da conservação e teste de paternidade.

A transferibilidade de *primers* microssatélites entre espécies relacionadas é a consequência da homologia das regiões flangeadoras das repetições microssatélites. Portanto, é possível aplicar *primers*, denominados heterólogos, que foram desenvolvidos para uma espécie, e empregá-los nas demais espécies do gênero (Ferreira & Grattapaglia, 1996). Cerqueira-Silva *et al.*, (2008) já fez uso deste método testando 25 *primers* microssatélites desenvolvidos para *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. alata* Curtis foi realizada e diferentes taxas de transferência foram observadas.

Como não há marcadores microssatélites desenvolvidos para *P. trintae*, uma alternativa para acessar as regiões do genoma e estimar a variabilidade genética é através de amplificação cruzada.

## REFERÊNCIAS

ABREU, P. P.; SOUZA, M. M.; SANTOS, E. A.; PIRES, M. V.; PIRES, M. M.; ALMEIDA, A. F. 2009. Passion flower hybrids and their use in the ornamental plant market: perspectives for sustainable development with emphasis on Brazil. *Euphytica*, v. 166, p. 307-315.

ARAÚJO, E. S DE; SOUZA S. R. DE; FERNANDES, M. S. 2003. Morphological and molecular traits and accumulation of grain protein in rice varieties from Maranhão, Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. vol.38, n. 11.

ARAUJO, F.P.; SILVA, N.; QUEIROZ, M. A. 2008. Divergência genética entre acessos de *Passiflora cincinnata* Mast com base em descritores morfoagronômicos. *Revista Brasileira de Fruticultura*. v. 30, n. 3.

AVELAR, R. C.; CASTRO, R. P.; ARAÚJO, J. C. de; JUNCO, B. B.; DOURADO, D. C.; MARCONATO, F. E.; UFLA, F. A. C.; CASTRO NETO, P. 2007. Viabilidade de mudas provenientes de manivas de diferentes diâmetros de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 2, 2007, Brasília, DF. Anais. Brasília, DF: MCT/ABIPTI.

BELLON G., FALEIRO, F.G., PEIXOTO, J.R., JUNQUEIRA, K.P., JUNQUEIRA, N.T.V., FONSECA, K.G., Braga, M.F. 2009. Variabilidade genética de acessos obtidos de populações cultivadas e silvestres de maracujazeiro-doce com base em marcadores RAPD. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal. 31(1):197-202.

BERNACCI, L.C.; MELETTI, L.M.M.; SOARES-SCOTT, M.D.; PASSOS, I.R.S. 2005. Espécies de maracujá: caracterização e conservação da biodiversidade. In: Faleiro FG, Junqueira NTV, Braga MF (ed.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 559-586.

BESPALHOK F., J.C.; GUERRA, E.P.; OLIVEIRA, R. 2009. Introdução ao Melhoramento de Plantas. In: BESPALHOK F., J.C.; GUERRA, E.P.; OLIVEIRA, R. Melhoramento de Plantas.

BONFIM-SILVA, V; LEMOS FILHO, D. S; CARDOSO-SILVA, C. B; PEREIRA, A. S; OLIVEIRA, A. C. 2009. Variabilidade genética de *Passiflora* spp. nativas quanto a capacidade de propagação vegetativa. In: 55º Congresso Brasileiro de Genética, Aguas de Lindóia. 55º Congresso Brasileiro de Genética. Aguas de Lindóia: 55º Congresso Brasileiro de Genética, 2009. p. 188.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. 2005. Melhoramento de plantas. 4 ed. Viçosa: UFV, p 525.

BORÉM, A. 1997. Sistemas reprodutivos das espécies cultivadas (reprodução assexual). In. Melhoramento de plantas. Viçosa: Ed. UFV. p. 36-37.

BRAGA, M.F.; JUNQUEIRA, N.T.V. 2000. Uso potencial de outras espécies do gênero *Passiflora*. Informe Agropecuário. V. 21, n. 206, p. 72-75.

CAZÉ A.L.R; KRIEDT, R.A; BEHEREGARAY, L.B; BONATTO S.L; FREITAS, L.B. 2012. Isolation and characterization of microsatellite markers for *Passiflora contracta*. International Journal of Molecular Sciences. 13:11343-11348.

COSTA, A. M.; TUPINAMBÁ, D. D. 2005. O maracujá e suas propriedades medicinais – estado da arte. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (ed.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados. p. 475-508.

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

CUNHA, M.A.P. 2000. Criação e seleção de variedades de maracujazeiro. Anais da Reunião técnica de pesquisa em maracujazeiro, Londrina: IAPAR-SBF, 97p.

CERQUEIRA-SILVA, C.B.M.; CARDOSO-SILVA, C.B.; SANTOS, E.S.L.; CONCEIÇÃO, L.D.H.C.S.; PEREIRA, A.S.; OLIVEIRA, A.C.; CORRÊA, R.X. 2010. Genetic diversity in wild species of passion fruit (*Passiflora trintae*) based on molecular markers. *Genetics and Molecular Research*, v. 9, p. 2130-2137.

CERQUEIRA-SILVA, C.B.M., SANTOS, E.S.L., CONCEIÇÃO, L.D.H.C.S., CARDOSO-SILVA, C.B., PEREIRA, A.S., OLIVEIRA, A.C., CORRÊA, R. X. 2012. Genetic variation in a wild population of the “sleep” passion fruit (*Passiflora setacea*) based on molecular markers. *Genetics and molecular research*. 11 (1): 731–738.

DANTAS, J.L.L.; SOARES FILHO, W.S.; OLIVEIRA, J.R.P.; CABRAL, J.R.S.; BARBOSA, L. V.; CUNHA, M.A.P.; RITZINGER, R.; SILVA, S.O. 2001. Melhoramento de Fruteiras de Clima Tropical.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. L. Propagação de plantas frutíferas de clima temperado. 2. ed. Pelotas: UFPel, 1995.178p

FALEIRO, F. G.; FARIAS NETO, A.L; RIBEIRO JR. 2008. Pré-melhoramento, melhoramento e pós-melhoramento: estratégias e desafios. 1. ed. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. v. 1000. 184p.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. 2005. Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro – desafios da pesquisa. In: FALEIRO, F.G., JUNQUEIRA, N.T.V., BRAGA, M.F. (Eds.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina,DF: Embrapa Cerradosp. 187-210.

JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; BERNACCI, L. C. 2005. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V., BRAGA, M. F. Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 81-108.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. 1996. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. Brasília, DF: Embrapa Cenargen. p 220.

FERREIRA, F.R.; OLIVEIRA, J.C. 1991. Germoplasma de *Passiflora*. SÃO JOSÉ, A.R.; FERREIRA, F.R.; VAZ, R.L. (Ed.). A cultura do maracujá no Brasil. Jaboticabal: FUNEP, P. 61-77.

FERREIRA, F.R; 2005. Recursos genéticos de *Passiflora*. In: FALEIRO, FG.; JUNQUEIRA, NTV, BRAGA MF (Ed.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados. Cap. 2, p. 41-50.

FUNGARO, M.H.P.; VIEIRA, M.L.C. 2001. Marcadores Moleculares. In: Serafini, L. A.; BARROS, N.M.; AZEVEDO, J.L. (Coord). Biotecnologia na agricultura e agroindústria. Guaíba: Agropecuária, p. 153-200.

FUMIS, T. F.; SAMPAIO, A.C. 2007. Aspectos botânicos do maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryand). IN: LEONEL, S.; SAMPAIO, A. C. (Orgs.) Maracujá-doce – Aspectos técnicos e econômicos. UNESP, p.25-29.

GIRALDI, M.; HANAZAKI, N. 2010. Uso e conhecimento tradicional de plantas medicinais no Sertão do Ribeirão, Florianópolis. Acta Botânica Brasilica, v. 24, n. 2, p. 395-406.

HARTMANN, H. T. 2002. Plant propagation: principles and practices. 7. ed. New Jersey: Prentice Hall. 880p.

JABUR, M. A.; MARTINS, A. B. G. 2002. Influência de substratos na formação dos porta-enxertos: limoeiro-cravo (*Citrus limonia* Osbeck) e tangerineira-cleópatra (*Citrus reshni* Hort. Ex Tanaka) em ambiente protegido. Revista Brasileira de Fruticultura. v.24, n.2, p.514-518, ago.

JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; BERNACCI, L. C. 2005. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: Maracujá Germoplasma e Melhoramento Genético. Eds.: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V; BRAGA, M. F. p.81 -106.

JUNQUEIRA, K.P., FALEIRO, F.G., RAMOS, J.D., BELLON, G., JUNQUEIRA, N.T.V., BRAGA, M.F. 2007. Variabilidade genética de acessos de maracujá-suspiro com base em marcadores moleculares. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, 29(3):571-575.

LEMOS FILHO, D. S; SANTOS, M. L; PORTO, A. C. M; OLIVEIRA, A. C. Análise biométrica de sementes enquanto atividade de pré-melhoramento em maracujazeiro 'vermelho' (*Passiflora trintae* Sacco), espécie *Passiflora* nativa da Bahia. In: Sinatex - Simpósio de Frutos Nativos e Exóticos, 2013, Campo Grande. Perspectivas da cadeia produtiva, 2013.

LORENZI, H.; SARTORI, S.; BACHER, L. B. e LACERDA, M. 2006. Frutas brasileiras e exóticas cultivadas: (de consumo in natura). São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 639p.

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

MEIRA SOUZA, A; PEREIRA, M.R; VICCINI, L.F; OLIVEIRA, A.C. 2013. 2C DNA content of 'red passionflower' (*Passiflora trintae* Sacco; Passifloraceae). Anais do 59º Congresso Brasileiro de Genética. Águas de Lindóia. p. 28.

MELETTI, L.M.M; SANTOS, R.R; MINAMI, K. 2000. Melhoramento do maracujazeiro-amarelo: obtenção do 'Composto IAC-27'. Scientia Agrícola, 57(3):491-498.

MELETTI, L. M. M; BRUCKNER, C. H. 2001. Melhoramento genético. In: Maracujá: Tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado. Ed. Cláudio H. Bruckner e Marcelo C. Picanço. Porto Alegre: Cinco Continentes. p. 345-385.

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

MELETTI, L.M.M; BERNACCI, L.C; SOARES-SCOTT, M.D; AZEVEDO FILHO, J.A; MARTINS, A.L.M. 2003. Variabilidade genética em caracteres morfológicos, agronômicos e citogenéticos de populações de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis). Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, 25(2):275-278.

NASS, L.L; MIRANDA FILHO, J.B; SANTOS, M.X. 2001. Uso de germoplasma exóticos no melhoramento. In: NASS, L.L; VALOIS, A.C.C; MELO, I.S;



VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed.) Recursos genéticos e melhoramento-plantas. Rondonópolis: Fundação MT. 101-122.

NAAS, L.L.; NISHIKAWA, M.A.N; FÁVERO, A.P; LOPES, M.A. 2007. Pré-melhoramento de germoplasma vegetal. In: NASS, L.L. (Ed). Recursos Genéticos Vegetais. Brasília. DF: Embrapa recursos Genéticos e Biotecnologia. P. 683-716.

NEGREIROS, J.R. DA S; WAGNER JÚNIOR, A; ÁLVARES, V. DE S; SILVA, J.O.C. NUNES, E.S; ALEXANDRE, R.S; PIMENTEL, L.D; BRUCKNER, C.H. 2006. Influência do estágio de maturação e do armazenamento pós-colheita na germinação e desenvolvimento inicial do maracujazeiro amarelo. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, 28(1):21-24.

NUNES, T.S; QUEIROZ, L.P. 2006. Flora da Bahia: Passifloraceae. Sitientibus, v.6, n.3, p. 194-226.

NUNES, K. B; SOUZA, A. M; CRISTOFANI-YALY, M; BASTIANEL, M; MACHADO, M. A; OLIVEIRA, A. C. 2013. O pré-melhoramento, melhoramento e pós-melhoramento genéticos na citricultura brasileira e mundial: uma análise cienciométrica do período de 1976 a 2012. In: VII Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2013, Uberlândia/MG. Anais do VII Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2013. p. 1011-1013.

OLIVEIRA, J.C. 1980. Melhoramento genético de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. Visando aumento de produtividade. Tese (Doutorado) –Jaboticabal –SP, Universidade Estadual de São Paulo, 133p.

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

OLIVEIRA, H.J. 2006. Incidência e manejo do vírus do endurecimento dos frutos (PWV) no Estado de Minas Gerais. In: Sampaio, A.C., Fumis, T.F., Rossi, A.D., Almeida, A.M., Garcia, M.J.M. (Eds.). Manejo no controle do vírus do endurecimento dos frutos (PWV) do maracujazeiro. Jaboticabal: Multipress, p.37-46.

OLIVEIRA, E.J. 2006. Desenvolvimento e uso de Marcadores Microssatélites para a Construção e Integração de Mapas Genéticos de Maracujá Amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg). Doctoral thesis, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz, Piracicaba.

PÁDUA JG. Análises genéticas de espécies do gênero *Passiflora* L. com base em abordagens filogenéticas, morfométricas e em marcadores microssatélites [PhD Thesis]. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"; 2004.

PASQUAL, M; CHALFUN, N. N. J; RAMOS, J. D; VALE, M. R. do; SILVA, C. R. de R. 2001. Fruticultura comercial: propagação de plantas frutíferas. Lavras: UFLA/FAEPE, 137 p.

PEIXOTO, M. 2005. Problemas e perspectivas do maracujá ornamental. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (eds.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 456-464p.

PEREIRA, A.D; CORRÊA, R.X; OLIVEIRA, A.C. 2015. Molecular genetic diversity and differentiation of populations of 'somnus' passion fruit trees (*Passiflora setacea* DC): Implications for conservation and pre-breeding. Elsevier.

QUEIROZ, M. A; LOPES, M. A. Importância dos recursos genéticos vegetais para o agronegócio. IN: NASS, L. L. Recursos genéticos vegetais. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. p. 61-108, 1997.

RIBEIRO, A. Q; LEITE, J. P. V; DANTAS-BARROS, A. M. 2005. Perfil de utilização de fitoterápicos em farmácias comunitárias de Belo Horizonte sob a influência da legislação nacional. Revista Brasileira Farmacognosia, v. 15, p. 65-70.

SANTOS, E.A; SOUZA, M.M., VIANA, A.P; ALMEIDA, A.A.F; FREITAS, J.C.O; LAWINSCKY, P.R. 2011. Multivariate analysis of morphological characteristics of two species of passion flower with ornamental potential and of hybrids between them. *Genetics and molecular research*. 10:2457–2471.

SAKALEM, M; NEGRI, G; TABACH, R. 2012. Chemical composition of hydroethanolic extracts from five species of the *Passiflora* genus. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(6):1219–1232.

SCHERER, C. C. 2014. Conservação filogenética de nicho climático para espécies do gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae) com ocorrência no Brasil. Paraná. Universidade Federal do Paraná. Dissertação de mestrado em Ecologia e Conservação.

SILVA, M. A. DA.; CAVALCANTE, U. M. T; SILVA, F. S. B. DA.; SOARES, S. A. G; MAIA, L. C. 2004. Crescimento de mudas de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis) associadas a fungos micorrízicos arbusculares (Glomeromycota). *Acta Botânica Brasilica*, v. 18, n.4, pp. 981-985.

SILVA, F.M; CORRÊA, L.S., BOLIANI, A.C; SANTOS, P.C. 2005. Enxertia de mesa em *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. sobre *Passiflora alata* Curtis, em ambiente de nebulização intermitente. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 27:98–101

SILVA, P. H. M. Sistemas de propagação de mudas de essências florestais. Piracicaba: Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, 2005. Disponível em: <<http://www.ipef.br/silvicultura/producaomudaspropagacao.as>>. Acesso em: 28 jan. 2015

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

SOUZA, M.M; PEREIRA, T.N.S. 2003. *Passiflora* como plantas ornamentais. In: Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais e Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas, 15, 2003, Lavras. Anais... Lavras: UFLA/FAEPE. p 24.

SOUZA, M. M; PEREIRA, T. N. S.; DIAS, A. J. B.; RIBEIRO, B. F.; VIANA, A. P. 2006. Structural, Hystochemical and Cytochemical Characteristics of the Stigma and Style in *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (Passifloraceae). Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 49, n. 1, p. 93-98.

SOUZA, M. M; PEREIRA, T. N. S; VIANA, M. C. Cytogenetics studies in some species of *Passiflora* L. (Passifloraceae): A review emphasizing Brazilian species. Brazilian Archives Biology Technology. n. 2, v. 51, p. 247-258, 2008.

ULMER T; MACDOUGAL J. M. 2004. *Passiflora*: Passionflowers of the world. Portland: Timber Press. 27 p.

VALADARES – INGLIS, M.C. 2001. (Eds.). Recursos Genéticos & Melhoramento – Plantas. Rondonópolis: Fundação MT, cap. 1, p. 479-547.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GERAL

Estabelecer iniciativas de pesquisa que dê suporte a conservação e pré-melhoramento do maracujazeiro ‘de flor vermelha’; tendo por base o emprego de descritores reprodutivos da biologia floral, capacidade de estaqueamento e por marcadores moleculares.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a biometria floral e a fenologia reprodutiva do maracujazeiro ‘de flor vermelha’;
- Analisar o desempenho de estacas de diferentes populações do maracujazeiro ‘de flor vermelha’ para a formação de mudas;
- Testar amplificação cruzada de marcadores SSR desenvolvidos para espécies do mesmo gênero de *P. trintae*.

## CAPÍTULO 1

### DESCRITORES BIOMÉTRICOS FLORAIS E FENOLOGIA DA FLORAÇÃO E FRUTIFICAÇÃO DO MARACUJAZEIRO ‘DE FLOR VERMELHA’ (*P. trintae* Sacco)

Danilo dos Santos Lemos Filho<sup>(1)</sup>, Ronan Xavier Córrea<sup>(2)</sup> e Antonio Carlos de Oliveira<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Departamento de Ciências Naturais, CEP 45.083-900, Vitória da Conquista, BA, Brasil. E-mails: danilolemos\_dm@hotmail.com, ancao11@yahoo.com.br; <sup>(2)</sup> Universidade Estadual de Santa Cruz, Departamento de Ciências Biológicas, CEP 45662-000 - Ilhéus, BA, Brasil. E-mail: ronanxc@uesc.br

**Resumo:** O objetivo do presente trabalho foi de caracterizar, em uma população natural de *Passiflora trintae* Sacco, a morfologia floral e os estádios fenológicos quanto aos picos de floração e taxa de frutificação. As avaliações foram quinzenais em 15 indivíduos de *P. trintae* entre os meses de junho a novembro de 2012. A população natural de plantas empregada no presente estudo localiza-se no município de Vitória da Conquista, Estado da Bahia. Identificou-se forte associação de temperatura sobre os eventos fenológicos de produção floral quanto a taxa de florescimento ( $r = 0,94$ ;  $p = 0,003$ ) e o pico de florescimento ( $r = 0,87$ ;  $p = 0,023$ ). As análises de correlação da precipitação pluviométrica foram positivas com relação a taxa de botões florais ( $r = 0,87$ ;  $p = 0,02$ ), taxa de florescimento ( $r = 0,92$ ;  $p = 0,008$ ) e pico de florescimento ( $r = 0,96$ ;  $p = 0,0010$ ). A descrição da biometria floral, relatada no presente estudo, poderá subsidiar futuros estudos relacionados ao melhoramento e conservação de germoplasma de maracujazeiro ‘de flor vermelha’. Os resultados de fenologia da floração e frutificação permitiram concluir a interferência dos fatores ambientais sobre os mesmos, com forte correlação positiva da temperatura e precipitação pluviométrica.

**Palavras-chave:** *Passiflora trintae*, fenologia, morfologia floral

**Abstract:** The objective of this study was to characterize, in a natural population of *Passiflora trintae* Sacco, floral morphology and growth stages as the flowering peaks and fruit set. The natural population of plants used in this study owned by spot of occurrence of the species located in the municipality of Vitoria da Conquista, southwest of the state of Bahia. It was possible to identify a strong association of temperature on phenology of floral production and the flowering rate ( $r = 0.94$ ;  $p = 0.003$ ) and the peak flowering ( $r = 0.87$ ;  $p = 0.023$ ). Correlation analysis of rainfall were positive regarding the rate of flower buds ( $r = 0.87$ ;  $p = 0.02$ ), flowering rate ( $r = 0.92$ ;  $p = 0.008$ ) and peak flowering ( $r = 0.96$ ;  $p = 0.0010$ ). The data related to the floral morphological characterization will be essential to facilitate future studies related to the improvement and conservation of germplasm, and the results have concluded the interference of environmental factors on phenology of floral production under strong positive correlation between temperature and rainfall.

**Key words:** *Passiflora trintae*, phenology, floral morphology

## INTRODUÇÃO

A família Passifloraceae compreende 17 gêneros e mais de 600 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (Souza; Meletti, 1997). O gênero considerado mais importante é o *Passiflora* por possuir espécies com valor econômico e por conter o maior número de espécies (Cervi *et al.*, 2010). Diversos autores descrevem que o gênero *Passiflora* apresenta uma ampla variabilidade genética inter e intraespecífica e que o Brasil é considerado como um dos principais centros de diversidade deste gênero (Ferreira *et al.*, 2005; Alexandre *et al.*, 2004; Faleiro *et al.*, 2005).

A ampla variabilidade destas espécies de maracujazeiro pode ser considerada como campo de pesquisa promissor a ser explorado em várias vertentes do melhoramento genético de plantas (Ganga *et al.*, 2004). O pré-melhoramento corresponde a uma etapa precursora do melhoramento propriamente dito. As atividades de pré-melhoramento estão relacionadas com o enriquecimento da variabilidade genética útil disponível das espécies de interesse por meio de ações de prospecção de genótipos, conservação de recursos genéticos e caracterização da diversidade genética

por meio de aspectos morfológicos, fenológicos e por marcadores moleculares (Faleiro *et al.*, 2005). O emprego de muitas espécies de maracujazeiro se dá para fins alimentares, medicinais e/ou ornamentais (Souza & Meletti, 1997). No que tange ao potencial ornamental das flores de *Passiflora*, as mesmas despertam interesse por sua beleza com formatos e cores ímpares (Abreu *et al.*, 2009). A Embrapa obteve o híbrido RBS Rubiflora a partir de cruzamentos inter específicos das espécies silvestres de *Passiflora coccinea*, de flores vermelhas, e *Passiflora setacea*, de flores brancas, visando o cultivo para ornamentação em cercas, pérgulas ou muros (Braga *et al.*, 2007). A riqueza oferecida pelas espécies nativas e pelas variedades silvestres podem apresentar características de interesse a serem utilizadas na obtenção de híbridos interespecíficos possibilitando ganhos agrônômicos para todos gostos e ambientes (Vanderplank *et al.*, 2003; Peixoto, 2005). Santos *et al.*, (2012) obtiveram novos híbridos de *Passiflora* a partir de cruzamentos entre duas espécies silvestres, a *P. foetida* e *P. palmeri*. Os híbridos *Passiflora alva*, *Passiflora aninha* e *Passiflora priscilla* diferem-se dos seus genitores por possuir características florais mais vistosas, com maior número de filamentos da corona, além de pétalas e sépalas maiores.

O conhecimento dos padrões fenológicos e da morfologia floral são pontos fundamentais para a compreensão da biologia reprodutiva da espécie e base para o desenvolvimento de programas de melhoramento genético, pois podem fornecer informações sobre o comportamento das plantas com relação as diversas forças seletivas determinadas pelo ambiente, permitindo selecionar aquelas produtoras de maior quantidade e qualidade quanto ao número de flores, folhas e frutos (Maués *et al.*, 2002).

Algumas espécies silvestres que apresentam tanto interesse econômico como ecológico, têm sua sobrevivência ameaçada devido redução das áreas florestais, ocasionada por ações antrópicas, a exemplo das altas taxas de desmatamento que acometem de forma generalizada as regiões tropicais (Bernacci *et al.*, 2005).

O maracujazeiro ‘de flor vermelha’ (*Passiflora trintae* Sacco) é um exemplo de espécie silvestre com potencial ornamental e cuja ocorrência está sendo afetada por ações antrópicas que contribuem com a perda da diversidade genética por conta da formação de pastagens, remoção da biomassa vegetal para a produção de energia, queimadas indiscriminadas, etc (Queiroz *et al.*, 1992). Poucos trabalhos (Bonfim-Silva *et al.*, 2009; Cerqueira-Silva *et al.*, 2010; Lemos Filho *et al.*, 2013; Meira Souza, *et al.*, 2014) foram realizados com o maracujazeiro ‘de flor vermelha’ que foi descrito pela



primeira vez por José da Costa Sacco em 1966 e nomeado após Zomar Trinta, um botânico brasileiro. A planta é caracterizada botanicamente como trepadeira glabra, de caule cilíndrico, com folhas profundamente trilobadas e de base subcordada (Cervi, 1997). Os botões florais do maracujazeiro “de flor vermelha” apresentam um formato diferenciado, lembrando a balões típicos da festa de São João, festa religiosa/social comum no Norte de Minas Gerais e na Bahia, bem como em todo o Nordeste (Meira Souza *et al.*, 2014). No Planalto da Conquista, região do sudoeste baiano, há ocorrência natural desta espécie. Esta região é caracterizada por possuir fragmentos de mata de cipó, bioma de transição entre caatinga, cerrado e mata atlântica (Rebolsas *et al.*, 2006). O objetivo do presente trabalho foi de caracterizar, em uma população natural de *Passiflora trintae* Sacco, a morfologia floral e os estádios fenológicos quanto aos picos de floração e taxa de frutificação.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado no município de Vitória da Conquista, região sudoeste do Estado da Bahia, localizada 14° 53' 03" de latitude e 40° 48' 35" de longitude a uma altitude média de 923m. O clima do município de Vitória da Conquista é considerado como tropical de altitude com temperatura média de 20°C e pluviosidade média de 717mm (INMET).

Para a caracterização das condições meteorológicas ocorridas durante o experimento, foram obtidos dados climáticos de pluviosidade e temperatura a partir do banco de dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), Estação Meteorológica da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) que dista, em média, 8 quilômetros do local em que a população de plantas se encontra.

### **Descritores Florais**

Para a definição da biometria floral, foram avaliadas 72 flores em antese de 41 plantas com uma distância mínima de 20 metros uma das outras. Foi-se mensurado com paquímetro digital da marca Starret®, a partir de material fresco, as seguintes características florais: comprimento do pedúnculo (CP), desde a inserção no receptáculo da flor até a inserção no caule; comprimento da bráctea (CB); largura da bráctea (LB);

comprimento das sépalas (CS), desde a inserção na flor até o ápice; largura das sépalas (LS); comprimento das pétalas (CPE), desde a inserção até o ápice; largura das pétalas (LP); diâmetro da corona (DC); comprimento do androginóforo (CA); comprimento da antera (CAN); largura da antera (LA); comprimento e largura do estigma (CE e LE); comprimento do estilete (CES); comprimento do filete (CF); comprimento do ovário (CO) e largura do ovário (LO).

Foram atribuídos caracteres qualitativos referentes a coloração de peças florais determinada no campo pela sua comparação visual com padrões existentes em códigos da tabela de cores de Munsell (Munsell, 1994) que determina o Matiz (Comprimento de onda da luz), Valor (brilhou tonalidade) e Croma (Intensidade ou pureza da cor em relação ao cinza).

### **Estudo Fenológico**

Para o estudo fenológico foram realizadas avaliações quinzenais em 15 indivíduos de maracujazeiro ‘de flor vermelha’, de junho a novembro de 2012. Os eventos fenológicos foram observados de acordo com Souza *et al.*, (2012) para os botões florais, flores e frutos. Para cada mês, o número de flores, quando presentes, foi registrado estimando-se a taxa de botões florais, a taxa de florescimento (razão entre o número total de flores em antese e o número de indivíduos analisados) e o pico de florescimento que corresponde ao maior número de flores em antese observada no mês de avaliação. Além das observações relacionadas a floração, foi determinado, para cada mês, a taxa de frutificação (razão entre o número total de frutos com o número de indivíduos avaliados) e o pico de frutificação, compreendendo desde os frutos imaturos até os maduros. Para verificar a normalidade da distribuição dos dados utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk ( $\alpha = 0,05$ ). Como os dados apresentaram distribuição normal (dados não apresentados), a relação dos eventos fenológicos foram correlacionados com os dados meteorológicos de temperatura e precipitação utilizando a correlação de Spearman ( $r_s$ ). As análises foram realizadas por meio do *software* estatístico BioEstat 5.3 (Ayres *et al.*, 2008).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A flor do maracujazeiro ‘de flor vermelha’ possui pedúnculo com tamanho médio de 29,14mm, em tons de verde-musgo oscilando entre claros e escuros (2.5 GY 2/4 – 7.5 GY 2/6). A bráctea apresenta uma coloração avermelhada (5 R 4/14) com comprimento médio de 14,71mm e largura média de 8,20mm. As sépalas que tem como principal função a proteção do botão floral, compõem as partes mais externas da flor para formar o cálice. O comprimento médio da sépala é de 36,66mm e largura média de 7,25mm. A corola, que por sua vez é o conjunto de pétalas, apresenta variações discretas quanto aos tons de vermelho (5 R 4/14 – 34 R 4/12). O comprimento médio das pétalas é de 35,26mm e largura de 8,06mm. Como não há distinção com relação a coloração e forma das estruturas de cálice e corola, a flor do maracujazeiro ‘de flor vermelha’ pode ser classificada como homoclamídea com pétalas e sépalas lanceoladas e oblongas.

A corona é uma característica peculiar do gênero *Passiflora*. Apesar de não se conhecer com precisão a sua origem, acredita-se ser derivada de sépalas e pétalas formando os diversos filamentos de cores vivas e atraentes (Vanderplank, 2000). Esta estrutura é responsável pela atração de polinizadores, além de nos chamar a atenção por sua beleza. O diâmetro médio da corona corresponde a 4,77mm e sua coloração é violeta (5 RP 3/12) na base e com ápice branco.

O comprimento médio do androginóforo é de 22,63mm, sendo um eixo que sustenta o androceu e gineceu e, por estar associado a um compartimento que contém o disco nectarífero, a determinação do tamanho do mesmo contribuir na inferência de que tipos de polinizadores costumam ser atraídos (Cervi, 1997).

As médias de comprimento e largura das anteras são de 7,49mm e 2,25mm respectivamente, além de ser verde-claro (10 GY 7/16) na face adaxial. O estigma é verde-oliva (10 GY 9/10) com comprimento de 2,7mm e largura 2,91mm. A haste que liga o estame ao receptáculo da flor, o filete, possui comprimento de 10,73mm e largura 1,18mm. O estilete, tubo que liga o estigma ao ovário, tem comprimento médio de 9,32mm e 1,07mm de largura. O ovário é oblongo e verde (10 GY 7/16) e possui 6,14mm de comprimento e 2,70mm de largura.

A *Passiflora coccinea* que é também uma outra espécie de maracujazeiro silvestre, compartilha algumas características fenotípicas florais com o maracujazeiro

‘de flor vermelha’, principalmente a coloração avermelhada das sépalas e pétalas. Paiva *et al.*, (2014) descrevem a morfologia floral da *P. coccinea* com relação ao comprimento da pétala (42,28mm), largura da pétala (13,16mm), comprimento da sépala (42,50mm), largura da sépala (15,45mm) e diâmetro da coroa (57,49mm). Os valores médios das características florais observadas do maracujazeiro ‘de flor vermelha’ (Tabela 1) não se diferenciam tanto quanto os da *Passiflora coccinea*, pois apresentam flores ligeiramente menores. O diâmetro da coroa é o caracter contrastante entre estas duas espécies, sendo que a *P. trintae* tem um valor médio muito inferior se comparado ao da *P. coccinea*. Esta última característica, cujo contraste é descrito nesta pesquisa, pode vir ser empregado em estudos morfológicos quantitativos e qualitativos com vistas a revelar o grau de parentesco entre as espécies e definir grupos taxonômicos a partir de análises multivariadas (Macdougall; Feuillet, 2004).

**Tabela 1.** Valores médios de descritores morfológicos florais de *P. trintae*.

Características Morfológicas Florais																	
	CP	CB	LB	CS	LS	CPE	LP	DC	CA	CAN	LA	CE	LE	CES	CF	CO	LO
	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
<b>Máximo</b>	50,12	20,25	13,84	48,75	8,46	46,7	10,01	7,69	29,86	13,48	6,85	3,15	3,87	13,58	14,38	8,11	3,47
<b>Mínimo</b>	16,5	7,59	4,15	22,77	4,3	27,18	5,42	2,25	14,52	5,89	1,36	1,25	1,37	6,42	6,02	3,43	1,73
<b>Média</b>	29,14	14,87	8,26	37,05	6,88	36,10	7,29	4,78	22,90	7,57	2,25	2,42	2,41	9,84	10,73	6,14	2,70
<b>Desvio</b>																	
<b>Padrão</b>	6,66	2,66	1,88	4,99	0,84	4,50	0,84	1,22	4,35	1,07	0,67	0,38	0,42	1,51	1,62	0,93	0,34
<b>CV (%)</b>	22,84	17,88	22,75	13,46	12,17	12,48	11,57	25,53	18,98	14,20	29,93	15,78	17,59	15,34	15,13	15,13	12,58

CP = Comprimento do Pedúnculo, CB = Comprimento de Bráctea, LB = Largura da Bráctea, CS = Comprimento de Sépala, LS = Largura de Sépala, CPE = Comprimento de Pétala, LP = Largura de Pétala, DC = Diâmetro da Corona, CA = Comprimento da Androginóforo, CAN = Comprimento da Antera, LA = Largura da Antera, CE = Comprimento do Estigma, LE = Largura da Estigma, CES = Comprimento do Estilete, CF = Comprimento do Filete, CO = Comprimento do Ovário, LO = Largura do Ovário.

Estudos exploratórios relacionados com a caracterização morfológica, dentro do âmbito do pré-melhoramento, permite ao melhorista explorar a diversidade, podendo realizar introgressão de alelos favoráveis de outras espécies mediante emprego de cruzamentos interespecíficos, de modo a se perseguir híbridos ornamentais. O maracujazeiro “de flor vermelha” é um representante potencial do gênero *Passiflora* para ser utilizado em cruzamentos interespecíficos já que, recentemente, Meira-Souza (2014) estabeleceu o número cromossômico de  $2n = 18$ , sendo que este número cromossômico é igual ao de outras espécies com flores de cor branca, como a *Passiflora edulis* e *Passiflora setacea*, o que demonstra possível compatibilidade genética e obtenção de híbridos com flores de diferentes formas, cores e tamanhos. Detectar e descrever variantes morfométricos em espécimens de maracujazeiro ‘de flor vermelha’, como no presente estudo, portanto, concorre para os mesmos poderem vir mais a frente serem utilizados em cruzamentos dirigidos com espécies de flor branca.

Para a discussão dos estudos fenológicos, cabe salientar que para se obter informações mais incisivas sobre o ciclo fenológico da espécie em estudo, era previsto o acompanhamento do ciclo reprodutivo de no mínimo doze meses. Entretanto, de acordo com as abordagens feitas na introdução, as áreas de estudo destes indivíduos estavam com a sobrevivência ameaçada por ações antrópicas. O que justifica a obtenção dos dados de apenas seis meses foi a perda do material biológico em função de queimadas para a criação de pastagens e para a construção civil.

Durante o período de estudo, de junho a novembro de 2012, a temperatura média anual foi de 20,3 °C. As médias mensais extremas de temperatura em período de avaliação ocorreram em agosto (11,2°C) e novembro (27,8°C). A pluviosidade média foi de 43,85mm, sendo que, dentre os meses de avaliação, o mês de novembro foi o que apresentou o maior nível de precipitação e o mês de agosto o menor nível de precipitação (Tabela 2).

**Tabela 2.** Dados climáticos referentes aos valores médios de temperatura e precipitação mensurados durante o experimento.

Mês	Temp. Mínima (°C)	Temp. Máxima (°C)	Temp. Média (°C)	Precipitação (mm)
<b>Junho/ 2012</b>	12,2	23,3	18,4	23,2
<b>Julho/ 2012</b>	11,3	22,8	17,8	21,6
<b>Agosto/ 2012</b>	11,2	23,4	17,6	14,6
<b>Setembro/ 2012</b>	12,3	25	18,8	21,5
<b>Outubro/ 2012</b>	14,2	27	20,7	49,7
<b>Novembro/ 2012</b>	15,1	27,8	21,5	132,5

A partir das avaliações realizadas, foi observado que as plantas produzem um número elevado de flores e botões florais no mês de novembro que se configura como um período comum a ocorrer precipitação e aumento da temperatura na região. O maior pico de florescimento foi de sete flores em uma só planta no mês de novembro, e a maior incidência de frutos foi contabilizada no mês de outubro com taxa de frutificação de 3,57 frutos/planta (Tabela 3).

**Tabela 3.** Taxa de botões florais, Taxa de florescimento, Pico de florescimento, Taxa de frutificação e Pico frutificação de plantas de maracujazeiro ‘de flor vermelha’ (*P. trintae*). Vitória da Conquista – BA, 2012.

Mês	Taxa de Botões Florais	Taxa de Florescimento	Pico de Florescimento	Taxa de Frutificação	Pico de Frutificação
<b>Junho/Ano</b>	3,5	0,3	2	2,2	10
<b>Julho/Ano</b>	2,5	0,2	2	1,6	9
<b>Agosto/Ano</b>	0,53	0,13	2	0,33	2
<b>Setembro/Ano</b>	8,4	0,13	1	0,8	5
<b>Outubro/Ano</b>	1,93	0,67	4	7	55
<b>Novembro/Ano</b>	18,93	0,93	7	1,47	9
<b>Média</b>	5,96	0,39	3	2,23	15



Por meio da análise de correlação (Tabela 4), foi possível identificar que há interferência dos fatores ambientais sobre os eventos fenológicos de produção floral. Houve uma forte correlação positiva da temperatura com relação a taxa de florescimento ( $r_s = 0,94$ ;  $p = 0,003$ ) e o pico de florescimento ( $r_s = 0,87$ ;  $p = 0,023$ ) (Figura 1). Observou-se que quanto maior a temperatura, maior é a influência na produção de botões florais e flores em antese. Espécies do gênero *Passiflora* exigem uma maior quantidade de luminosidade e temperatura para o florescimento (Faleiro *et al.*, 2005), o que justifica de a florada ocorrer em meses do ano quando a temperatura média se eleva.

De um modo geral, a temperatura e a precipitação interferem na atividade fotossintética da planta, que por sua vez favorece o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo, mas no presente estudo não houve correlação de temperatura com a taxa de frutificação ( $r_s = 0,51$ ;  $p = 0,30$ ) e picos de frutificação ( $r_s = 0,52$ ;  $p = 0,28$ ). Estes registros podem sugerir uma vantagem adaptativa dos frutos por perdurar em ciclos mais longos se comparados aos botões florais, perpassando por meses secos e frios para se tornar um recurso disponível para a fauna residente local (Machado *et al.*, 2007).

A partir da análise de correlação, também foi possível verificar a forte associação da precipitação sobre a taxa de botões florais ( $r_s = 0,87$ ;  $p = 0,02$ ), taxa de florescimento ( $r_s = 0,92$ ;  $p = 0,008$ ) e pico de florescimento ( $r_s = 0,96$ ;  $p = 0,0010$ ) (Figura 2 Você chama de Figura 2. Padronizar). Esta correlação expressiva indica que a produção de flores do maracujazeiro ‘de flor vermelha’ está principalmente relacionada com períodos de maior precipitação pluviométrica.

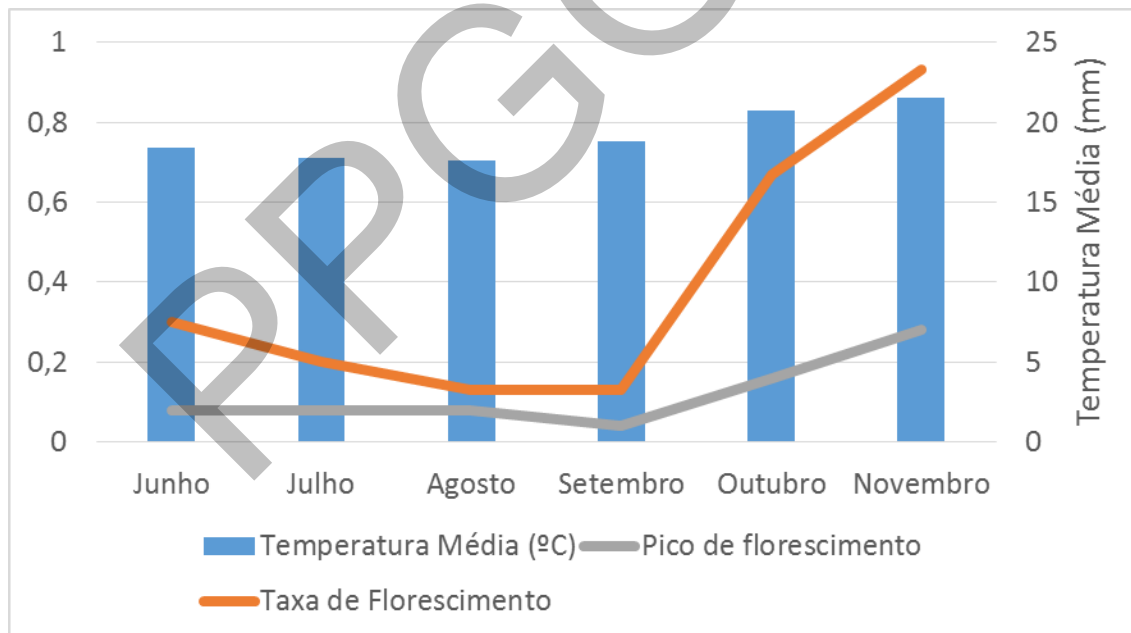
**Tabela 4.** Correlação de Spearman entre os dados fenológicos observados com a temperatura e precipitação.

Variáveis	Temp. Média °C	Precipitação (mm)
<b>Taxa de Botões Florais</b>	$r = 0,69ns$	$r = 0,87^*$
<b>Taxa de Florescimento</b>	$r = 0,94^*$	$r = 0,92^{**}$
<b>Pico de Florescimento</b>	$r = 0,87^{**}$	$r = 0,96^{**}$
<b>Taxa de Frutificação</b>	$r = 0,51ns$	$r = 0,11ns$
<b>Pico de Frutificação</b>	$r = 0,52ns$	$r = 0,12ns$

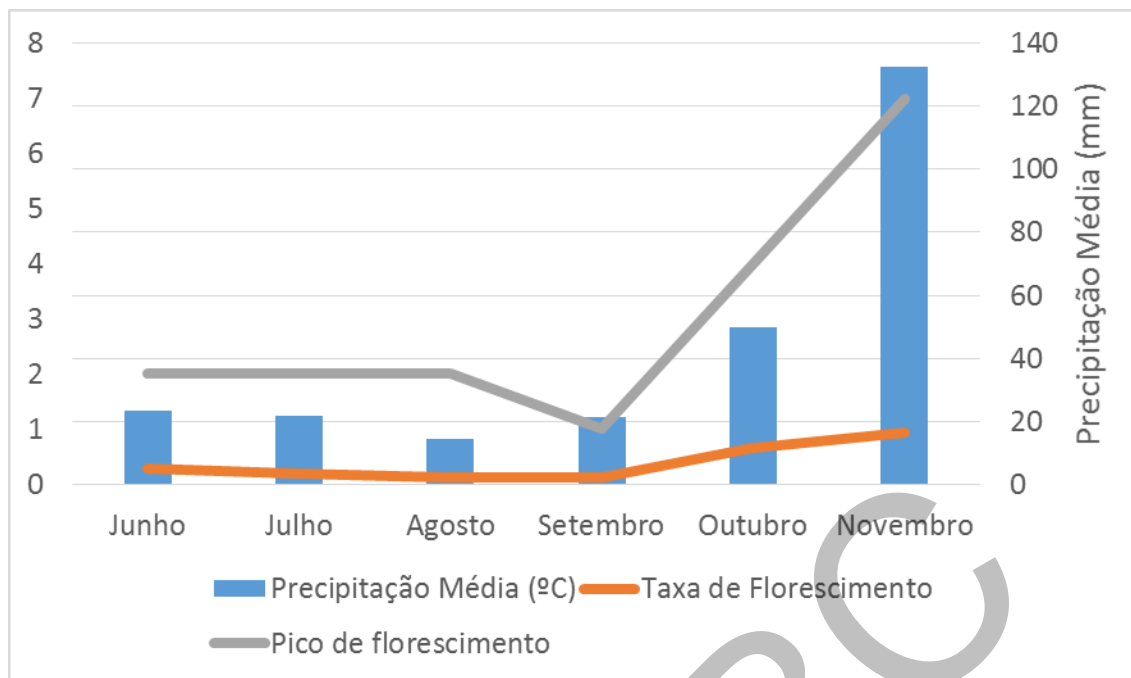
Obs.: \*\* significativo a 1%; \* significativo a 5%, *ns* – não significativo

Pelos resultados fenológicos apresentados, pode-se considerar que o maracujazeiro ‘de flor vermelha’ é uma planta com potencial a ser utilizado como genitora em programas de melhoramento genético por florescerem e frutificarem em boa parte do ano. De acordo com o período de avaliação, o ápice da fase reprodutiva desta espécie inicia-se no período chuvoso com a floração e termina na estação seca com o amadurecimento de seus frutos.

A caracterização da morfologia floral e os atributos fenológicos relacionados com a produtividade floral e de frutos são informações importantes para identificar fontes de variabilidade para a seleção de plantas com potencial ornamental.



**Figura 1.** Representação gráfica da correlação entre os dados fenológicos de pico de florescimento e taxa de florescimento com a temperatura média.



**Figura 2.** Representação gráfica da correlação entre os dados fenológicos de pico de florescimento e taxa de florescimento com a temperatura média.

## CONCLUSÃO

A caracterização morfológica floral é essencial para subsidiar futuros trabalhos relacionados ao melhoramento e conservação de germoplasma. A fenologia reprodutiva do maracujazeiro ‘de flor vermelha’ apresenta influências de temperatura e precipitação pluviométrica quanto as suas taxas de botões florais e de florescimento.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, P.P; SOUSA, M.M; SANTOS, E.A; PIRES M.V; PIRES M.M; ALMEIDA A.A.F. 2009. Passion flower hybrids and their use in the ornamental plant market: perspectives for sustainable development with emphasis on Brasil. *Euphytica*, 166: 307–315.
- ALEXANDRE, R. S.; JUNIOR A. W.; NEGREIROS, J. R. S.; PARIZZOTO, A.; BRUCKNER, C. H. 2004. Germinação de sementes de genótipos de maracujazeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 39, n. 12, p.1239-1245.
- AYRES, M. Programa BioEstat 5,3. 2008. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Sociedade Civil Mamiraía.
- BERNACCI, L.C.; MELETTI, L.M.M.; SOARES-SCOTT, M.D.; PASSOS, I.R.S. 2005. Espécies de maracujá: caracterização e conservação da biodiversidade. In: Faleiro FG, Junqueira NTV, Braga MF (ed.) *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 559-586.
- BONFIM-SILVA, V; LEMOS FILHO, D. S; CARDOSO-SILVA, C. B; PEREIRA, A. S; OLIVEIRA, A. C. 2009. Variabilidade genética de *Passiflora* spp. nativas quanto a capacidade de propagação vegetativa. In: 55º Congresso Brasileiro de Genética, Águas de Lindóia. 55º Congresso Brasileiro de Genética. Águas de Lindóia: 55º Congresso Brasileiro de Genética, 2009. p. 188.
- BRAGA, M.F; JUNQUEIRA, N.T. V; FALEIRO, F.G; BORGES, R. S; ARAÚJO, S.C.B; ANDRADE, S.R.M.; SOARES-SCOTT, M.D.; BERNACCI, L.C; ANDRADE, G.A.; LIMA, C.A.; SILVA, D.G.P.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, K.P.; LAGE, D.A.C. 2007. BRS Rubiflora: Híbrido de *Passiflora* para uso na ornamentação de muros e pérgulas. (Desenvolvimento de material didático ou instrucional - Material Instrucional).

CERQUEIRA-SILVA, C.B.M; CARDOSO-SILVA, C.B; SANTOS, E.S.L; CONCEIÇÃO, L.D.H.C.S; PEREIRA, A.S.; OLIVEIRA, A.C; CORRÊA, R.X. 2010. Genetic diversity in wild species of passion fruit (*Passiflora trintae*) based on molecular markers. *Genetics and Molecular Research*, v. 9, p. 2130-2137.

CERVI, A.C. 1997. Passifloraceae do Brasil. Estudo do Gênero *Passiflora* L., Subgênero *Passiflora*. Fontqueria, Madrid, v. 45, n.1, p. 1-92.

CRUZ, C. D., REGAZZI A J. 1999. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, p 325.

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. 2005. Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro- Desafios da pesquisa. In: FALEIRO FG, JUNQUEIRA NTV, BRAGA MF (Ed.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina Distrito Federal: Embrapa Cerrados. p.187-210.

FERREIRA, F.R; FALEIRO, F.G; JUNQUEIRA N.T.V; BRAGA M.F. 2005. Recursos Genéticos de *Passiflora*. In: Maracujá: Germoplasma e Melhoramento Genético. Embrapa Cerrados, Planaltina, 40-52.

GANGA, R.M.D; RUGGIERO, C; LEMOS, E.G.M; GRILI, G.V.G.; GONÇALVES, M.M.; CHAGAS, E.A.; WICKERT, E. 2004. Diversidade genética em maracujazeiro-amarelo utilizando marcadores moleculares AFLP. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 26(3): 494-498.

GUSMÃO, E; VIEIRA, F.A; JÚNIOR, E.M.F. 2006. Biometria de frutos e endocarpos de murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich. ex. A. Juss.). *Revista Cerne*. Lavras, 12: 84-91.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal>. Acesso em: 10 de novembro de 2014.

MAUÉS, M. M.; COUTURIER, G. 2002. Biologia floral e fenologia reprodutiva do camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae) no Estado Pará, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* (Impresso), v. 25, p. 441-448.

MUNSELL, R. 1994. *Soil Color Charts*. New Widson: Kollmorgen Instruments – Macbeth Division.

SANTOS, E.A.; SOUZA, M.M.; ABREU, P.P.; DA CONCEIÇÃO, L.D.H.C.S.; ARAÚJO, I.S.; VIANA, A.P.; ALMEIDA, A.A.F. 2011. Confirmation and characterization of interspecific hybrids of *Passiflora* L. (Passifloraceae) for ornamental use. *Euphytica*, 184(3): 389–399.

SOUZA, S.A.M.; MARTINS, K. C.; AZEVEDO, A.S.; PEREIRA, T.N.S. 2012. Fenologia reprodutiva do maracujazeiro-azedo no município de Campos dos Goytacazes, RJ. *Ciência Rural* (UFSM. Impresso), v. 42, p. 1774-1780.

SOUZA, A.M.; PEREIRA, M.R.; VICCINI, L.F; OLIVEIRA, A.C. 2013. 2C DNA content of ‘red passionflower’ (*Passiflora trintae* Sacco; Passifloraceae). *Anais do 59º Congresso Brasileiro de Genética*. Águas de Lindóia. p. 28.

MACDOUGAL, J.M.; FEUILLET, C. Systematics. In: ULMER, T; MACDOUGAL, J.M. 2004. (Ed.). *Passiflora: passionflowers of the world*. Portland: Timber Press, p 27-31.

MORELLATO, L.P.C. 2007. Fenologia e suas aplicações no estudo e monitoramento de mudancas climaticas. In: REGO, G.M.; NEGRELLE, R.B.; MORELLATO, L.P.C. (Org.). *Fenologia como ferramenta para conservação e manejo de recursos vegetais*. Colombo, EMBRAPA, p.203-212.

NUNES, K. B; SOUZA, A. M; CRISTOFANI-YALY, M; BASTIANEL, M.; MACHADO, M. A.; OLIVEIRA, A.C. 2013. O pré-melhoramento, melhoramento e pós-melhoramento genéticos na citricultura brasileira e mundial: uma análise cienciométrica do período de 1976 a 2012. In: VII Congresso Brasileiro de

Melhoramento de Plantas, 2013, Uberlândia/MG. Anais do VII Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, p. 1011-1013.

PEIXOTO, M. 2005. Problemas e perspectivas do maracujá ornamental. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (ed.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados. p. 456-464.

REBOUÇAS, A.C.M.N.; SOUZA, A.M.; SANTOS, J.G.; PINA, E.S.; SÁ NETO, R. 2006. Comparação da diversidade do banco de sementes de uma pastagem e um fragmento de mata de cipó em vitória da conquista – Bahia. Anais da 58<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, Resumo 1280.

SOUSA, J.S.I.; MELETTI, L.M.M. 1997. Maracujá: Espécies, variedades, cultivo. Piracicaba: FEALq. p.179.

VANDERPLANK, J. 2000. Passion flowers. 3<sup>a</sup> ed. Cambridge: The MIT Press, p. 224.

VANDERPLANK, J; BLANCO, E.G; FEUILLET, C; FRANK, A; KING, L; KUGLER,E; LAURENS, C; MACDOUGAL, J; SKIMINA, T. 2003. The International Passiflora Register 2003. *Passiflora* Society International, v.1, p.1-36

## CAPÍTULO 2

### DESEMPENHO DE SUBSTRATOS NO DESENVOLVIMENTO DE ESTACAS DE MARACUJAZEIRO DA FLOR VERMELHA (*Passiflora trintae* Sacco)

Danilo dos Santos Lemos Filho<sup>(1)</sup>, Ronan Xavier Côrrea<sup>(2)</sup> e Antonio Carlos de Oliveira<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Departamento de Ciências Naturais, CEP 45.083-900, Vitória da Conquista, BA, Brasil. E-mails: danilolemos\_dm@hotmail.com, ancaol1@yahoo.com.br; <sup>(2)</sup> Universidade Estadual de Santa Cruz, Departamento de Ciências Biológicas, CEP 45662-000 - Ilhéus, BA, Brasil. E-mail: ronanxc@uesc.br

**Resumo:** A cultura do maracujá é relativamente bem dotada de estudos sobre o uso de substratos alternativos, que possibilitem a formação de mudas obtidas vegetativamente com qualidade e com custo reduzido. Contudo, em se tratando de maracujazeiros silvestres, em cujo o foco é a conservação de plantas, poucos são os trabalhos relatados. O presente trabalho teve como objetivo o de avaliar o crescimento vegetativo de duas populações de maracujazeiro ‘de flor vermelha’ obtidas por estaquia em substratos de terra com esterco, areia lavada e vermiculita. O experimento foi conduzido no período de 03/08/2014 a 03/11/2014 em casa de vegetação da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – *campus* de Vitória da Conquista – BA. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, sendo que genótipos das duas populações de plantas foram avaliadas em três épocas (30, 60 e 90 dias) quanto a cinco variáveis atreladas a sobrevivência e crescimento vegetativos. Foi possível determinar que os substratos testados nesse trabalho influenciaram sensivelmente a performance das estacas de *P. trintae*. É provável que a capacidade de retenção de água de cada substrato aliado às características intrínsecas que regulam o fluxo de água e nutrientes para as estacas possam ter influenciado os resultados. A vermiculita foi o substrato que apresentou as maiores porcentagens de sobrevivência de estacas para as três épocas de avaliação, além de, no geral, ter uma melhor performance para as demais variáveis em estudo. Adicionalmente, foi possível selecionar genótipos considerados superiores por apresentar maior potencial para o enraizamento e vigor vegetativo.

**Palavras-chave:** Propagação vegetativa, estaquia, substrato, melhoramento genético



**Abstract:** The passion fruit crop is relatively well endowed with studies on the use of alternative substrates, enabling the formation of seedlings produced vegetatively with quality and cost. However, in the case of wild vines under whose focus is the conservation of plants, there are few studies reported. This study aimed to evaluate the vegetative growth of two populations of passion 'red flower' from cuttings in soil substrates with manure, washed sand and vermiculite. The experiment was carried out from 08/03/2014 to 11/03/2014 in the greenhouse at the State University of Southwest Bahia - *campus* Vitória da Conquista - BA. The experimental design was completely randomized, and genotypes of the two populations of plants were evaluated in three periods (30, 60 and 90 days) on five variables linked to survival and vegetative growth. It was determined that the substrates tested in this work significantly influenced the performance of the cuttings of *P. trinitae*. It is likely that the water retention capacity of each substrate coupled to the intrinsic characteristics which regulate the flow of water and nutrients to the pegs may have influenced the results. The vermiculite was the substrate that had the highest percentages of survival stakes for the three evaluation periods, and, in general, perform better for the other study variables. Additionally, it was possible to select genotypes considered superior due to its greater potential for rooting and vegetative vigor.

**Keywords:** Vegetative propagation, cutting, substrate, breeding

## INTRODUÇÃO

A família Passifloraceae é nativa das regiões tropicais e subtropicais e o gênero *Passiflora*, com cerca de 600 espécies (McDougal, 2007), sendo numérica e economicamente mais importante desta família. O Brasil é considerado como centro de diversidade de espécies do gênero *Passiflora*, possuindo uma ampla variabilidade genética, o que favorece ao sucesso em programas de melhoramento genético (Ganga *et al.*, 2004). Alguns autores descrevem que essa diversidade de espécies de maracujá no Brasil oferece um potencial a ser explorado em diferentes vertentes do melhoramento genético de plantas (Ferreira *et al.*, 2005; Alexandre *et al.*, 2004; Faleiro *et al.*, 2005).

O cultivo do maracujazeiro 'amarelo' (*P. edulis*) no Brasil proporciona bons rendimentos econômicos ao país, pois o mesmo é considerado como maior produtor e

exportador mundial da fruta (Borges *et al.*, 2005). Existe considerável volume de pesquisa de formação de mudas, no caso obtidas de sementes, para esta cultura (Meletti, 2002; Manica & Oliveira, 2005; Negreiros *et al.*, 2006). Contudo, estudos da eficiência de substratos no pegamento de estaquias de passifloras silvestres, são poucos. Isto inclui (resumir e citar as obras que atendem a este ponto).

A maioria das pesquisas com maracujazeiros estão voltadas às espécies cultivadas e, principalmente a *P. edulis*. Entretanto, existem várias espécies silvestres de maracujazeiro com potencial agrônomo, em que as pesquisas sobre as mesmas continuam incipiente. É o caso do maracujá ‘de flor vermelha’ (*Passiflora trintae* Sacco), cuja espécie tem uma distribuição geográfica restrita, abrangendo as regiões do norte do Estado de Minas Gerais e sudoeste da Bahia (Nunes & Queiroz, 2006) e com potencial ornamental (Meira-Souza, 2014). Faz-se necessário um apelo para a conservação deste recurso genético ainda não explorado em pesquisas de melhoramento, que se encontra ameaçado por alterações causadas pelo homem, em função da redução de seu hábitat por formação de pastagens, queimadas indiscriminadas, construção civil e remoção da biomassa vegetal para a produção de energia (Bernacci *et al.*, 2005).

O conhecimento relacionado às características biológicas e ecológicas, bem como a caracterização da base genética são informações importantes para a conservação e uso da variabilidade das espécies, por conseguinte as espécies que apresentam reduzida distribuição e, ou estão em vias de extinção merecem atenção especial. A técnica da estaquia pode ser útil para propagar genótipos que se encontram ameaçados em seu hábitat natural, além de selecionar aqueles com características de interesse agrônomo (Bernacci *et al.*, 2005; Scherer, 2014).

São escassos os estudos voltados para o desenvolvimento de mudas do maracujazeiro ‘de flor vermelha’ por estaquia (Bonfim *et al.*, 2009). Entretanto, para a obtenção de plantas com padrões de qualidade desejados, é essencial compreender os métodos viáveis para a sua propagação.

Para se obter êxito na produção de mudas um dos principais fatores para se levar em consideração é o uso de bons substratos, com características físico-químicas ideais para o enraizamento e desenvolvimento inicial (Silva *et al.*, 2001). O substrato poder ser formado por matéria-prima de origem animal, orgânica ou sintética, composto de um só material ou de diversos materiais em misturas. De acordo com Meletti (2011) não existe

um padrão ou consenso para o tipo de substrato que se deva utilizar para a produção de mudas para uma determinada espécie. Com o uso de substratos adequados ou da melhor mistura destes poderá contribuir para a formação de mudas de qualidade superior (Silva *et al.*, 2001).

O objetivo do presente trabalho foi de avaliar o crescimento vegetativo de duas populações de maracujazeiro ‘de flor vermelha’ obtidas por estaquia em substratos de terra com esterco, areia lavada e vermiculita.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho foi realizado no município de Vitória da Conquista - BA, cujas coordenadas geográficas são latitude 14° 53’ 03” e longitude 40° 48’ 35” na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) em casa de vegetação. O experimento foi conduzido em bancadas de madeira localizadas sob telado de nylon, tipo sombrite, com 50% de luminosidade. O período de execução do experimento ocorreu de 03/08/2014 a 03/11/2014.

As estacas foram coletadas de 54 genótipos de *P. trintae* distribuídos em duas populações situadas em pontos extremos da cidade. A primeira população está situada ao sul, com vegetação predominante de mata de cipó, bioma de transição entre caatinga e cerrado, por possuir uma cobertura vegetal alta, fechada com muitas lianas, epífitas e musgos. Enquanto que a segunda população está localizada ao nordeste da cidade, abrangendo a região de caatinga, que se caracteriza por áreas com cobertura vegetal rasteira e deficiências hídricas.

As porções medianas dos ramos das plantas foram coletadas e levadas à casa de vegetação, onde foram seccionadas, na posição mediana do ramo, desprezando somente a parte apical reduzindo-as em estacas de aproximadamente 15 cm contendo entre dois a três nós. Nessas estacas, foram mantidas duas folhas reduzidas à metade de seu tamanho original e eliminadas as gavinhas das axilas das folhas. Foi feito um corte bisel na base de cada estaca a fim de propiciar a formação de um tecido cicatricial para estimular a formação de raiz. No intervalo compreendido entre a coleta e o preparo das estacas, cerca de três horas, os ramos foram mantidos com suas bases imersas em água. Após o preparo, as estacas foram colocadas individualmente em sacolas de polietileno preto de dimensão 15 x 10 cm preenchidas com substratos (Figura 1).

Os substratos utilizados foram areia lavada, vermiculita e mistura de terra com esterco na proporção de 1:1.

O suprimento hídrico para as mudas foi realizado diariamente, preferencialmente no período matutino, por meio de regadores até umedecer por completo os substratos das mudas.



**Figura 1** – Estacas de maracujazeiro ‘de flor vermelha’ no substrato de areia lavada em casa de vegetação, UESB, *campus* de Vitória da Conquista – BA.

As avaliações foram realizadas aos 30, 60 e 90 dias após a montagem do experimento, sendo que as estacas foram avaliadas quanto as seguintes características: Taxa de sobrevivência [TS, expressa em porcentagem (%)], número de brotos (NB), comprimento de brotos (CB), número de folhas (NF) e comprimento de folhas (CF; mensurado da base do pecíolo ao ápice da lâmina foliar). Todas as determinações métricas foram realizadas por meio de um paquímetro digital da marca Starret®.

Durante a condução do experimento, foi realizado o controle de plantas daninhas, por meio de arranque manual para que não influenciassem no desenvolvimento das estacas.

Como ainda não há conhecimento sobre a capacidade de estaqueamento *in natura* da espécie em estudo, não foram utilizados quaisquer tipos de fitoreguladores, a fim de que se possa compreender o desenvolvimento da estaca sem a interferência de produtos que alterem o comportamento fisiológico.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, sendo que genótipos das duas populações de plantas foram avaliadas em três épocas (30, 60 e 90 dias). Os dados das cinco variáveis foram submetidos previamente a transformação  $\sqrt{x + 0,5}$  antes de serem submetidos a análise de variância (ANAVA), empregando-se o software Assistat® – versão 7.7.

Para verificar a normalidade da distribuição dos dados utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk ( $\alpha = 0,05$ ). Como parte dos dados não apresentaram distribuição normal (dados não apresentados), os dados foram submetidos à análise de variância paramétrica e não paramétrica ( $\alpha = 0,05$ ), a depender do caso; a fim de se verificar a existência de desempenho diferencial dos substratos, das épocas de avaliação e, ainda, quanto a variabilidade genética entre as populações. ANAVAs paramétrica e não paramétrica, quando significativas, foram sucedidas por testes de comparação de médias paramétrico (Nome) e não paramétrico (nome), ambos a ( $\alpha = 0,05$ ).

Para verificar a normalidade da distribuição dos dados utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk ( $\alpha = 0,05$ ). Como parte dos dados não apresentaram distribuição normal (dados não apresentados), os dados foram submetidos à análise de variância paramétrica e não paramétrica ( $\alpha = 0,05$ ), a depender do caso; a fim de se verificar a existência de desempenho diferencial dos substratos, das épocas de avaliação e, ainda, quanto a variabilidade genética entre as populações. ANAVAs paramétrica e não paramétrica, quando significativas, foram sucedidas por testes de comparação de médias paramétrico (teste T ou teste de Scott & Knott) e não paramétrico (Mann-Whitney), ambos a  $\alpha = 0,05$ .

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As variáveis analisadas não apresentaram uniformidade de variância, nem distribuição normal. Por esta razão, foi realizada transformação de dados para que proporcionasse as condições necessárias para a análise de variância e teste de médias. A análise de variância indicou efeito significativo entre os diferentes tipos de substratos para a variável taxa de sobrevivência. Os maiores percentuais de sobrevivência, independente da população, estão relacionados com o substrato de vermiculita, ocorrendo variação entre 39,96% a 57% aos 90 dias de avaliação (Tabela 1).

Os genótipos das duas populações do maracujazeiro ‘de flor vermelha’, no decorrer das três épocas de avaliação, independente do substrato, percebeu-se elevar, de modo efetivo, os valores das variáveis de número de folhas e comprimento de folhas. Estas variáveis demonstram o desenvolvimento vegetativo de parte aérea da planta, que são responsáveis por ampliar o sucesso da estaquia. As gemas localizadas na base do pecíolo da estaca, dão origem ao processo de brotação, intensificando posteriormente o surgimento de folhas. As presença de brotos e folhas são determinantes no enraizamento de estacas de algumas espécies de passiflora (Meletti & Nagai, 1992).

Apesar do substrato de areia ter um desempenho razoável quanto ao desenvolvimento de estacas de *P. trintae*, os resultados estatísticos não o apontam como o ideal, mesmo tendo uma boa capacidade de aeração e de drenagem. No entanto, o que pode justificar o seu desempenho no presente experimento é a escassez de nutrientes, possuir menor capacidade de retenção de umidade e influenciar de modo negativo no movimento de água do sistema solo-planta-atmosfera, por drenar excessivamente a água, ficando a parte superior da muda ressecada (Carvalho *et al.* 2013).

De acordo com Carvalho *et al.* (2013), a disponibilidade de água no substrato é fundamental para a sobrevivência e consequente formação de mudas provenientes de propagação vegetativa ou por sementes. A perda de água é uma das principais causas de morte de estacas antes da formação de raízes, pois para que haja divisão celular, é necessário que as células do tecido da estaca estejam túrgidas. Portanto, o potencial de perda de água de uma estaca é muito grande, seja através das folhas ou das brotações em desenvolvimento, considerando que as raízes ainda não estão formadas. Esse quadro se agrava quando se trabalha com espécies que exigem longo tempo para formar raízes e quando são utilizadas estacas com folhas e/ou de consistência herbácea (Noberto, 1999).

Por sua vez, o substrato de Terra e Esterco apresentou os menores valores para taxa de sobrevivência para as três épocas de avaliação se comparado aos demais substratos (Tabela 1). O que pode justificar a elevada taxa de mortalidade das estacas do maracujazeiro ‘de flor vermelha’ neste substrato é o uso da matéria orgânica como adubo. O esterco provavelmente não estava bem curtido no momento do uso, podendo ter sofrido fermentação com a umidade fornecida pela irrigação. Este fator pode ter inviabilizado a sobrevivência das estacas devido a ação de gases durante a fermentação. O esterco curtido, para muitos solos, não apresenta um adubo equilibrado, uma vez que o teor de fósforo nele é muito pequeno em relação aos teores de nitrogênio e potássio

(Malavolta, 1980). O fósforo é considerado como principal nutriente da adubação de base, sendo um macronutriente de pouca mobilidade no solo, mas é móvel nos tecidos da planta e fica de forma concentrada nas áreas ativas de crescimento. A movimentação do fósforo do solo para a planta ocorre por difusão. Ter um ótimo fornecimento de fósforo na fase de crescimento da planta, é sinônimo de eficiente desenvolvimento dos primórdios vegetativos (Malavolta, 1980).

Braga *et al.*, (2006) testaram diferentes tipos de substratos para três espécies silvestres de *passiflora* e verificaram que a depender da concentração do esterco pode alterar o pH do substrato. O pH muito ácido ou muito alcalino diminui a disponibilidade do fósforo e também de outros nutrientes, visto que o pH do solo é o principal responsável pela disponibilidade de nutrientes no solo. Os problemas de deficiência de fósforo nesses solos ocorrem porque os fosfatos podem tornar-se insolúveis e inaproveitáveis para as plantas, como os fosfatos de ferro ou de alumínio.

Além de problemas relacionados com deficiência de disponibilidade de macronutrientes no substrato de Terra e Esterco, outro motivo que pode corroborar com seu baixo desempenho, é que, de acordo com Melo *et al.*, (2008), algumas espécies frutíferas do Cerrado, oriundas de terras com baixa fertilidade não respondem ao aumento da fertilidade do substrato, podendo ser até mesmo prejudicial ao desenvolvimento da muda.

Diferentemente, a vermiculita apresentou as maiores porcentagens de sobrevivência de estacas para as três épocas de avaliação (Tabela 1), além de promover um bom desenvolvimento vegetativo superior ao demais substratos para as variáveis analisadas aos 60 e 90 dias (Tabela 2). A vermiculita é um substrato pertencente ao grupo de minerais dos filossilicatos, sendo basicamente composto de ferro, magnésio e silicato de alumínio. Apresenta alta capacidade de retenção hídrica e bom espaço de aeração podendo estes fatores terem proporcionado melhor performance. Outra vantagem da vermiculita é a esterilidade do substrato que favorece o desenvolvimento de mudas, não servindo como fonte de patógenos de solo (Cavalcanti, 2004).

No que tange a comparação entre populações, não houveram muitos efeitos significativos para as variáveis em estudo. Apesar das duas populações se comportarem de forma similar estatisticamente para a maioria das variáveis, foi possível observar que elas apresentam uma divergência estatística progressiva ao longo das épocas de

avaliação, evidenciando uma possível divergência em resposta ao desenvolvimento como muda.

De um modo geral, os substratos testados nesse trabalho influenciaram sensivelmente a performance das estacas de *P. trintaë*. É provável que a capacidade de retenção de água de cada substrato aliado às características intrínsecas que regulam o fluxo de água e nutrientes para as estacas possam ter influenciado os resultados.

PPGGGBC



**TABELA 1.** Quadro de comparação de médias para as variáveis Taxa de pegamento, número de brotos, comprimento de brotos, número de folhas e comprimento de folhas dispostas nas três épocas de avaliação nos distintos substratos (areia, terra e esterco e vermiculita).

Épocas	Taxa de Pegamento		Nº de Brotos		Comp. Brotos		Nº de Folhas		Comp. Folhas	
	Pop 1	Pop 2	Pop 1	Pop 2	Pop 1	Pop 2	Pop 1	Pop 2	Pop 1	Pop 2
<b>(30 dias)</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>
Areia	100 aA	100 aA	0,17 aB	0,037 aB	0 aB	0 aB	0,14 bA	0,18 aA	0 aA	0 aA
Terra e Esterco	96,30 aA	96,30 aA	1,07 aA	0,33 bA	0,66 aA	0,17 bA	0 aB	0 aB	0 aA	0 aA
Vermiculita	100 aA	100 aA	0,25 aB	0,11 aA	0 aB	0 aB	0,18 aA	0,11 aA	0 aA	0 aA
<b>(60 dias)</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>
Areia	80,12 aB	57,29 aB	0,037 bB	0,26 aA	0 aB	0 aB	0,30 aA	0,22 aB	0 aA	0 aB
Terra e Esterco	22,16 aC	23,30 aC	0,78 aA	0,33 aA	0,39 aA	0,41 aA	0 bB	0,11 aB	0 bA	1,54 aA
Vermiculita	99,07 aA	90,11 aA	1,33 aAB	0,55 aA	0 bB	0,14 aA	0,44 aA	0,37 aA	0 aA	0 aB
<b>(90 dias)</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>	<b>Média</b>
Areia	52,80 aA	35,46 bB	1,07 aAB	0,57 bA	0,14 aB	0 bB	0,48 aA	0,11 aB	0 bB	0,92 aB
Terra e Esterco	10 aB	17,30 aC	0,33 aB	0,31 aB	0,42 aA	0,32 aA	0,04 bB	0,44 aA	1,10 aA	2,36 aA
Vermiculita	39,96 aA	57 aA	1,15 aA	0,44 aB	0,15 aAB	0,04 aAB	0,66 aA	0,04 bB	0,45 bAB	0,74 aA

A tecnologia de clonagem via estaqueamento vem sendo explorada enquanto etapa de pré-melhoramento, e mostra ser provável que fatores genéticos influenciam na resposta da capacidade de pegamento, pois foi possível selecionar genótipos considerados superiores por apresentar maior potencial para o enraizamento e vigor vegetativo. O critério para a seleção foi por meio dos maiores valores médios da variável de maior interesse que é a de presença de folhas aos 90 dias, pois nas estacas é um forte estímulo para o início do enraizamento (Meletti & Nagai, 1992). Os genótipos que se destacaram foram P1-09, P2-12, H2-03, P1-14, P1-16, P1-20 e P2-12 (Tabela 3).

**TABELA 2.** Apresentação de médias aos 90 dias da variável comprimento de folhas dos genótipos superiores.

	<b>População 1</b>	<b>Média</b>	<b>População 2</b>	<b>Média</b>
<b>Vermiculita 90 dias</b>	P1-14	23,43	P2-12	20
	P1-16	24,36	-	-
	P1-20	26,8	-	-
<b>Terra e Esterco 90 dias</b>	P1-09	29,6	P2-12	26,85
	-	-	H2-03	36,98

Estudos que visam melhorar as técnicas de produção de mudas por meio de propagação vegetativa de maracujazeiros são de grande importância, pois permite identificar e selecionar indivíduos com características desejáveis para que possam ser multiplicados e preservados (Alexandre *et al.*, 2013).

No presente trabalho, os resultados favorecem a viabilidade do emprego da estaquia na obtenção de mudas uniformes, melhor qualidade genética e com as características da planta matriz. Aliado a isso, a determinação das diferenças genéticas quanto a capacidade de estaqueamento é importante quando se deseja caracterizar materiais com o propósito de registro ou proteção de cultivares

## CONCLUSÕES

Fica evidente que a escolha do substrato é muito importante para a obtenção de melhores resultados, sendo o substrato de vermiculita considerado o mais apropriado para a produção de mudas de *P. trintae* nas condições de estudo.

Foi possível selecionar genótipos que apresentaram melhor permanência quanto a capacidade de estaqueamento.

## REFERÊNCIAS

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

ALEXANDRE, R. S; FERRARI, W.R; MONTEIRO JUNIOR, K. R.; CHAGAS, K; SCHMILDT, Edilson R.; GONTIJO, I. 2013. Enraizamento de estacas de genótipos de *Passiflora alata* Curtis em resposta a ausência e presença de ácido indol-3-butírico (AIB). Revista de Ciências Agrárias (Belém), v. 56, p. 287-291.

BERNACCI, L.C; MELETTI, L.M.M; SOARES-SCOTT, M.D; PASSOS, I.R.S. 2005. Espécies de maracujá: caracterização e conservação da biodiversidade. In: Faleiro FG, Junqueira NTV, Braga MF (ed.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 559-586.

BONFIM-SILVA, V; LEMOS FILHO, D. S; CARDOSO-SILVA, C. B; PEREIRA, A. S; OLIVEIRA, A. C. 2009. Variabilidade genética de *Passiflora* spp. nativas quanto a capacidade de propagação vegetativa. In: 55º Congresso Brasileiro de Genética, Aguas de Lindóia. 55º Congresso Brasileiro de Genética. Aguas de Lindóia: 55º Congresso Brasileiro de Genética, 2009. p. 188.

BORGES R.S; SCARANARI C; NICOLI, AM; COELHO R.R. 2005. Novas variedades: validação e transferência de tecnologia In: Faleiro FG, Junqueira NTV,

Braga MF (ed.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, pp. 618-640.

CARVALHO, R.P; CRUZ, M. C. M; MARTINS, L.M. 2013. Frequência de irrigação utilizando polímero hidroabsorvente na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo. Revista Brasileira de Fruticultura [online], v.35, n.2.

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

FALEIRO, F.G; JUNQUEIRA, N.T.V; BRAGA, M.F. 2005. Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro- Desafios da pesquisa. In: FALEIRO FG, JUNQUEIRA NTV, BRAGA MF (Ed.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina Distrito Federal: Embrapa Cerrados. p.187-210.

FERREIRA, F.R; FALEIRO, F.G; JUNQUEIRA N.T.V; BRAGA M.F. 2005. Recursos Genéticos de Passiflora. In: Maracujá: Germoplasma e Melhoramento Genético. Embrapa Cerrados, Planaltina, 40-52.

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

JUNQUEIRA, N.T.V; MANICA, I; CHAVES, R. C; LACERDA, C.S; OLIVEIRA, J. A; FIALHO, J. F. 2001. Produção de mudas de maracujazeiro-azedo por estaquia em bandejas.Planaltina: Embrapa Cerrados.

LEONEL, S; PEDROSO, C.J. 2005. Produção de mudas de maracujazeiro doce com uso de biorregulador. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 27, n.1, p.107-109.

MALAVOLTA, E. Elementos de nutrição mineral de plantas. São Paulo: Ceres, 1980. p. 251.

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

MELETTI, L.M.M; V. NAGAI. 1992. Enraizamento de estacas de sete espécies de maracujazeiro (*Passiflora* spp.). Revista Brasileira de Fruticultura. 14 (3): 163-68.

MELETTI, L.M.M., FURLANI, P.R., ÁLVARES, V., SOARES-SCOTT, M.D., BERNACCI, L.C., FILHO, J.A.A. 2002. Novas tecnologias melhoram a produção de mudas de maracujá. O Agrônomo, Campinas, 54:30-33.

MELETTI, L.M.M. 2011. Avanços na fruticultura tropical no Brasil. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 33, n.1, p. 73 - 75.

MELETTI, L. M. M; SOARES-SCOTT, M. D; BERNACCI, L. C; PASSOS, I. R. S. 2005. 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. 55 – 78p.

MELO, J. T; TORRES, R. A. de A; SILVEIRA, C. E. S; CALDAS, L. S. Coleta, propagação e desenvolvimento inicial de plantas do Cerrado. In: SANO, S. M; ALMEIDA, S. P. de; RIBEIRO, J. F. (Ed.). Cerrado: ecologia e flora. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica: Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008. p.319-350.

NEGREIROS, J.R. DA S., WAGNER JÚNIOR, A., ÁLVARES, V. DE S., SILVA, J.O.C. NUNES, E.S., ALEXANDRE, R.S., PIMENTEL, L.D., BRUCKNER, C.H. 2006. Influência do estágio de maturação e do armazenamento pós-colheita na germinação e desenvolvimento inicial do maracujazeiro amarelo. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, 28(1):21-24.

NUNES, T.S; QUEIROZ, L.P. Flora da Bahia: Passifloraceae. Sitientibus, v.6, n.3, p. 194-226, 2006.

RUGGIERO, C; OLIVEIRA, J.C. 1998. Enxertia do maracujazeiro. In: RUGGIERO, C. (Ed.). Maracujá: do plantio à colheita. Jaboticabal: Fundação de estudos e Pesquisas em Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, p.70-92.

SANTOS, J.L; MATSUMOTO, S.N; D'ARÊDE, L.O; LUZ, I.S. da; VIANA, A.E.S. 2012. Propagação vegetativa de estacas de *Passiflora cincinnata* Mast. em diferentes recipientes e substratos comerciais. Revista Brasileira de Fruticultura, v.34, n.2, p.581-588.

SCHERER, C. C. 2014. Conservação filogenética de nicho climático para espécies do gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae) com ocorrência no Brasil. Paraná. Universidade Federal do Paraná. Dissertação de mestrado em Ecologia e Conservação.

SILVA, R. P; PEIXOTO, J.R; JUNQUEIRA, N. T. V. 2001. Influência de diversos substratos no desenvolvimento de mudas do maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.). Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 377-381.

SILVA, M. A. DA; CAVALCANTE, U. M. T; SILVA, F. S. B. DA; SOARES, S. A. G; MAIA, L. C. 2004. Crescimento de mudas de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis) associadas a fungos micorrízicos arbusculares (Glomeromycota). Acta Botânica Brasilica, v. 18, n.4, pp. 981-985.

SILVA, F.M; CORRÊA, L.S; BOLIANI, A.C; SANTOS, P.C. 2005. Enxertia de mesa em *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. sobre *Passiflora alata* Curtis, em ambiente de nebulização intermitente. Revista Brasileira de Fruticultura, 27:98–101.

### CAPÍTULO 3

## AMPLIFICAÇÃO CRUZADA DE MARCADORES MICROSSATÉLITES EM *Passiflora trintae* Sacco

Danilo dos Santos Lemos Filho<sup>(1)</sup>, Ronan Xavier Côrrea<sup>(2)</sup>, Cláudio Antonio Ferreira de Melo<sup>(3)</sup> e Antonio Carlos de Oliveira<sup>(4)</sup>

<sup>(1)</sup> Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, CEP 45.206-190, Jequié, BA, Brasil. E-mail: danilolemos\_dm@hotmail.com, <sup>(2)</sup> Universidade Estadual de Santa Cruz, Departamento de Ciências Biológicas, CEP 45662-000 - Ilhéus, BA, Brasil. E-mail: ronanxc@uesc.br, <sup>(3)</sup> Universidade Estadual de Santa Cruz, Departamento de Ciências Biológicas, CEP 45662-000 - Ilhéus, BA, Brasil. E-mail: clausiomelo@gmail.com, <sup>(4)</sup> Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Departamento de Ciências Biológicas CEP 45083900, Vitória da Conquista, BA, Brasil. E-mail: ancaol1@yahoo.com.br

**Resumo:** Estudos relacionados com a caracterização da diversidade genética, tanto por descritores morfológicos quanto para a obtenção de marcadores moleculares, é uma atividade de grande relevância para o melhoramento de plantas e para a conservação de muitas espécies. Entretanto, são incipientes a utilização de marcadores moleculares de microssatélites (SSR) em pesquisas que envolvem espécies silvestres de maracujá no Brasil que oferecem um potencial a ser explorado. O presente trabalho objetivou avaliar a amplificação cruzada de 25 *primers* SSR, desenvolvidos para *P. edulis* f. *flavicarpa* O. Deg., e sete SSR desenvolvidos para *P. alata* Curtis para a espécie silvestre *Passiflora trintae* Sacco. Os produtos das amplificações foram observados em gel de agarose (1,5%). Dos 25 *primers* para *P. edulis* testados 19 apresentaram amplificação cruzada com sucesso para as espécies em estudo. O percentual de amplificação cruzada de *primers* de *P. edulis* foi de 61,1%, enquanto que para os *primers* para *P. alata* tiveram o percentual de 85,7%. A maioria dos *primers* testados amplificaram na espécie *P. trintae*, possibilitando a sua utilização em diversos estudos moleculares relacionados com a variabilidade da própria espécie, assim como de outros táxons do mesmo gênero, além de estimar a distância genética entre as espécies.

**Palavras-chave:** marcador molecular, transferibilidade, espécie silvestre

**Abstract:** Studies related to the characterization of genetic diversity, both by morphological descriptors and for the use of molecular markers, is an activity of great importance for plant breeding and conservation of many species. However, they are incipient use of molecular markers microsatellite (SSR) in research involving wild species of passion fruit in Brazil offering a potential to exploit. This study aimed to evaluate the cross-amplification of 25 SSR primers, developed in *P. edulis f. flavicarpa* O. Deg., and seven SSR developed in *P. alata* for wild species *Passiflora trintae* Sacco. The products of the amplifications were conducted in agarose gel gel (1.5%). There were 19 of the 25 primers tested who had successfully crossed amplification for the species under study. The percentage of cross-amplification primer *P. edulis* was 61.1%, whereas for *P. alata* primers had a percentage of 85.7%. Most primers tested amplified the species *P. trintae*, allowing its use in various molecular studies related to the variability of their own species and other taxon of the same genus, and estimate the genetic distance between species.

**Keywords:** molecular marker, transferability, wild species

## INTRODUÇÃO

A família Passifloraceae compreende 20 gêneros, dos quais o gênero *Passiflora* é o mais representativo em número de espécies de importância econômica, compreendendo cerca de 525 espécies dispersas em regiões tropicais e subtropicais (Cervi & Imig, 2013). O Brasil é o país que abrange o maior número de espécies deste gênero, apresentando aproximadamente 120 espécies nativas, sendo que 32 delas são encontradas na Bahia, por exemplo, *P. mucugiana* (Nunes & Queiroz, 2006) e *P. cacaoensis* (Viana, 2009).

Do gênero *Passiflora*, a espécie mais cultivada é a *Passiflora edulis* Sims que tem como nome vulgar, maracujá-amarelo ou maracujá-azedo, seguida pela *Passiflora alata* ou maracujá-doce. Embora, com a coloração diferente, o maracujá roxo pertence à espécie *Passiflora edulis* Sims, e é muito cultivado na Austrália, África e sudeste asiático. Estima-se que, juntas, as espécies *P. edulis* Sims e *P. alata* ocupem mais de 90% da área cultivada com maracujá no mundo (Bernacci, 2008).



A importância econômica que é conferida ao maracujazeiro advém, principalmente, do seu fruto. As espécies de maracujazeiro doce e maracujazeiro azedo representam as espécies mais comercializadas do gênero, principalmente, na forma de sucos, sorvetes, licores e consumo *in natura* da fruta (Meletti & Bruckner, 2001). No entanto, a importância dos maracujazeiros não se restringem apenas aos frutos, eles possuem outros atributos, como medicinal, onde se destaca *P. incarnata*, devido ao seu efeito ansiolítico, e ornamental, onde se destacam *P. caerulea*, *P. incarnata* e dentre outras. Apesar do Brasil ser considerado como o centro de diversidade das *Passifloras* elas são pouco reconhecidas no país como planta ornamental. Enquanto que a cultura do maracujazeiro para fins ornamentais é bem praticada em países europeus e nos EUA, onde há obtenção de híbridos com as características atraentes como tamanho e a cor de flores, até de folhas exuberantes (Abreu *et al.*, 2009).

Estudar a ampla diversidade genética é uma atividade de grande relevância para o melhoramento de plantas e para a conservação de muitos táxons vegetais (Faleiro *et al.*, 2005). Espécies silvestres de maracujá no Brasil oferecem um potencial a ser explorado, sendo um campo de pesquisa promissor em várias vertentes do melhoramento de plantas. Por meio deste conhecimento, é possível identificar genótipos contrastantes, com características de interesse, como por exemplo: fontes de resistência a doenças e alta produtividade, com o intuito de se realizar cruzamentos promissores para serem utilizados em programas de melhoramento do maracujazeiro (Cruz & Carneiro, 2006). Porém, o processo de extinção de espécies silvestres está ocorrendo de modo acelerados, isso se deve, principalmente, à destruição dos seus habitats e comunidades naturais, pela ocupação antrópica desordenada de grandes áreas e por práticas agrícolas (Queiroz *et al.*, 1992), o que tem comprometido a potencialidade de várias espécies relevantes. A espécie *P. trintae* se enquadra nesta situação, por ser uma espécie com restrita distribuição geográfica, o que confere maior susceptibilidade à extinção. Há poucos trabalhos relacionados a ela, sendo ainda muito escassas as informações referentes ao seu potencial (Cerqueira-Silva *et al.*, 2010; Bonfim-Silva *et al.*, 2009; Meira Souza, *et al.*, 2014).

Além do uso de descritores morfológicos, a utilização dos marcadores moleculares contribui a caracterização do maracujazeiro de ‘flor vermelha’, já que são capazes de localizar diferenças em nível de DNA. Os marcadores moleculares do tipo microsatélite, ou SSR, são sequências curtas de DNA, com dois a seis pares de bases

repetidas em *tandem*. Apresentam vantagens por serem codominantes, multialélicos, polimórficos e reproduzíveis, o que favorece a análise de variabilidade intra- e interespecífica (Ferreira & Gratapaglia, 1996).

Os estudos com marcadores microssatélites envolvendo espécies do gênero *Passiflora* ainda são incipientes, visto que há escassez desses marcadores específicos para estas várias espécies. Tendo em vista esta necessidade, foram desenvolvidos e caracterizados marcadores microssatélites para *P. edulis* f. *flavicarpa* (Oliveira, 2006), *P. alata* (Pádua *et al.*, 2005), *P. cincinnata* (Cerqueira-Silva *et al.*, 2012) e *P. contracta* (Cazé *et al.*, 2012). No entanto, o desenvolvimento dos marcadores microssatélites exige um alto investimento financeiro e conhecimento técnico. A transferibilidade ou amplificação cruzada é uma alternativa para minimizar os custos com o desenvolvimento dos marcadores microssatélites, pois aproveita a natureza conservada da sequência de nucleotídeos das regiões flangeadoras de espécies aparentadas e assim utilizam-se pares de iniciadores desenvolvidos para outros estudos genéticos (Choumane *et al.*, 2003).

O presente trabalho objetivou avaliar a amplificação cruzada de 25 *primers* SSR desenvolvidos a partir do DNA genômico de *P. edulis* e f. *flavicarpa* (Oliveira *et al.*, 2005) e *P. alata* (Pádua *et al.*, 2005), para teste em genótipos de *P. trintae*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Material Biológico**

Para a caracterização molecular, foram utilizados 55 acessos de *Passiflora trintae*. Os genótipos foram coletados no mês de agosto de 2014 em fragmentos da mata de cipó, no município de Vitória da Conquista – BA, localizado 14 ° 53 'S e 40°47' W, elevação de 923 m; precipitação média anual de 700-800 mm, concentrada entre novembro e março, a temperatura média anual de 20-22°C. Os dados meteorológicos foram obtidos a partir do banco de dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), Estação Meteorológica da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB).

## Extração de DNA

O DNA genômico foi extraído a partir de folhas frescas de acordo com o protocolo de CTAB de Doyle & Doyle (1990). Foram utilizadas de 2 a 3 folhas jovens e frescas de cada planta. Após a maceração em nitrogênio líquido, o material foi colocado em tubos para a centrífuga refrigerada em tubos de 2mL, contendo 1 mL de tampão de extração CTAB 2% previamente aquecido a 65°C por 30 minutos em banho-maria, com agitações brandas periódicas. Os tubos foram retirados do banho-maria e foi acrescentada uma solução de 700 µL de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1). Por movimento de inversão dos tubos, essa mistura foi homogenizada novamente em centrífuga sob 14000 rpm por 15 minutos. Foram tirados 700 µL do sobrenadante, os quais foram transferidos para novos tubos de 2 mL. Para a precipitação do DNA, foram acrescentados 520 µL de isopropanol, invertendo-se cuidadosamente os tubos e mantendo-os por 30 minutos sob temperatura ambiente. O DNA precipitado foi retirado por meio de centrifugação sob 14000 rpm por 10 minutos. O isopropanol foi descartado. Para a lavagem, foram adicionados aos tubos de 1mL álcool 70%, posteriormente, a solução de lavagem foi descartada e os resíduos foram eliminados seguindo os mesmos procedimentos para a eliminação do isopropanol.

Foram acrescentados 100 µL de tampão TE (Tris-EDTA; Tris: tris-(hidroximetil)-aminometano; EDTA: ácido etileno diamino tetracético) aos tubos, os quais ficaram sob temperatura -20°C por overnight, a ressuspensão completa do DNA que foi novamente precipitado acrescentando-se 375 µL de etanol 95%. O DNA precipitado foi recuperado através de centrifugação sob 14000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e uma última lavagem foi realizada adicionando-se 500 µL de etanol 70%. O etanol foi descartado e os resíduos eliminados. Dessa forma, o DNA de cada planta foi ressuspensão em 100 µL de tampão TE. A verificação da qualidade e a concentração dos DNAs extraídos foram verificadas no espectrofotômetro *Nanodrop*<sup>TM</sup> 2000 (*Thermo Scientific*).

## Amplificação de lócus SSR

Reação de Cadeia em Polimerase (PCR) foram conduzidas em termociclador (Techne Genius®) com volume final de 20 µL. As reações foram preparadas com a

adição de 30ng de DNA template, 0,6 µL cada um dos pares de *primer*, 2 µL de tampão 10x, 1,53 µL de MgCl<sub>2</sub>, 2 µL de dNTP (2,5 mM), 0,2 µL de Taq DNA polimerase e 10,07 µL. As reações foram submetidas a seguinte programação: denaturação inicial de 4 min a 94 °C, seguida de 36 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 30 segundos a 54 - 58 °C e 45 segundos a 72 °C, com uma extensão final de 7 min a 72 °C.

**TABELA 1** – Condições de amplificação utilizadas nas reações de PCR de acordo com os *primers* de microssatélites de *P. edulis* e *P. alata*.

Programa da PCR		
Nº de Ciclos	Temperatura	Tempo
1	94°C	4 min
36	94°C	30 s
	54 - 58 °C	30s
	72°C	45s
	72°C	7 min

Para os pares de *primers* em que não houve amplificação, ou que houve amplificação inespecífica, foi feita a otimização das condições de PCR alterando a temperatura de anelamento até se obter uma amplificação específica, ou seja, com um único *amplicon* no gel de agarose.

Os testes de amplificações cruzadas SSR para o do maracujazeiro de ‘flor vermelha’ (*Passiflora trintae*) foram realizadas utilizando 25 pares de *primers*, onde 18 *primers* (Tabela 2) desenvolvidos previamente para o maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) (Oliveira *et al.*, 2005). Além dos 7 *primers* (Tabela 3) que foram desenvolvidos para o maracujazeiro doce (*Passiflora alata* Curtis) (Pádua *et al.*, 2005).

### Eletroforese e visualização dos produtos amplificados

Após as amplificações, foram aplicados 8 µL do volume final da PCR e 2 µL de corante azul de bromofenol em gel de agarose 1,5% corado com SYBR safe™. Os produtos foram submetidos à eletroforese em uma cuba horizontal por 40 minutos a 90 volts. O marcador Ladder de 100 pares de bases foi utilizado para a determinação do tamanho dos fragmentos gerados. O gel foi visualizado em um transluminador de luz-ultravioleta e fotografado com máquina digital através de um filtro de luz de cor laranja.

**TABELA 2** - Identificação dos locos utilizados na genotipagem. Código do loco, motivo, Temperatura de anelamento (TA °C) e tamanho esperado para o alelo.

Loco	Sequência do <i>Primer</i>	Motivo	TA (°C)	Tamanho esperado (pb)
PE01	F: CAGGATAGCAGCAGCAATGA R: AGCCAAATGTCAAACACTGAAC	(GT) <sub>7</sub>	60	171
PE04	F: ATGCTTTTGGAAATCCGTTT R: TGCTCATGCAAAGTCACTGG	(TG) <sub>9</sub>	60	235
PE06	F: AGCGGGGAGGAGAGTAGC R: GCCTGATGTCAAAAACACAG	(CA) <sub>7</sub>	56	187
PE08	F: CCGGATACCCACGCATTA R: TCTAATGAGCGGAGGAAAGC	(GTTGTG) <sub>4</sub>	56	282
PE15	F: ACCGTTAAATCCAAGCAAGT R: AAATGCAAAAAGAATGATATGTTA	(CTTTAGC) <sub>5</sub>	60	204
PE20	F: AGGATCACCATAGAAAACCAT R: GTTAGGTTGGCATTGCTCTT	(AAAC) <sub>4</sub>	60	242

**TABELA 2** - Identificação dos locos utilizados na genotipagem. Código do loco, motivo, Temperatura de anelamento (TA °C) e tamanho esperado para o alelo (Continuação).

<b>PE21</b>	F: CCCGGAAGATTGGTCGTA R: ATCCAATGGCAGGAAGGTC	(GT) <sub>15</sub>	60	237
<b>PE23</b>	F: CAATCCCTTGACCCATAGA R: CGTCCATCCTTCTCCTTT	(GA) <sub>19</sub>	56	206
<b>PE24</b>	F: TCAAACCTGAACTCGTAAAGG R: GTGCTGGGAGACTGATGTT	(CA) <sub>15</sub>	60	244
<b>PE25</b>	F: TAGAGAAAAGCACACACACA R: CGAGGTCGAGTTTACAGAAA	(CA) <sub>9</sub>	56	246
<b>PE27</b>	F: TTGCTCATTGCACTCATCCT R: GCAGACATTTCTGGAGCA	(GT) <sub>7</sub>	56	139
<b>PE43</b>	F: GGAATCACTCTTGCGCTTCT R: TCTGTCTTATGCCACTGTTGG	(TG) <sub>13</sub>	60	241
<b>PE56</b>	F: CCTTGTTGGTTTTCGACTACA R: TGAGGACAATCAATCGGACA	(GT) <sub>15</sub>	60	207
<b>PE73</b>	F: TAGTGTGGGGAGGGTTACA R: CCAATGGCTCAAATGACT	(TTTTTG) <sub>3</sub>	60	324
<b>PE85</b>	F: GACGCAGTCACAGATGAGGA R: ATGTGCGAGCATCAGTTGAC	(TGT) <sub>5</sub>	56	239
<b>PE106</b>	F: TGGGTTGTTGTGTATTGTATG R: ATCAGTCGGACAGCTCTTTT	(CA) <sub>6</sub>	60	211
<b>PE108</b>	F: AACAAACGCTAGACAACGAAT R: CGAGAGAGAGAGAGAGAGAGA	(CT) <sub>42</sub>	56	165

**TABELA 3** – Relação de *primers* de *Passiflora alata* Curtis (Pádua *et al.*, 2005).  
Código do loco, motivo, Temperatura de anelamento (TA °C) e tamanho esperado para o alelo.

<b>Loco</b>	<b>Sequência do <i>Primer</i></b>	<b>Motivo</b>	<b>TA (°C)</b>	<b>Tamanho esperado (pb)</b>
<b>A01BP3</b>	F: GCGGGATTCTCTTGCCTTAC R: ACAAACACATCAGCCACCA	(GA) <sub>11</sub>	56	(161-167)
<b>A01FP3</b>	F: AGAGTCGTCTAACCTCTTGC R: TCTTGCTTACGCGTGGACTA	(TTG) <sub>5</sub>	58	153
<b>A03AP3</b>	F: GCCTTAGCTTGCAACTTTCG R: GGAGGCAACCCGAGTATAAA	(CT) <sub>28</sub>	60	204
<b>A06FP1</b>	F: GGGCGGAAGAAAAGAGAAG R: GAAACACACGATGCGAAAA	(GAA) <sub>28</sub>	56	226
<b>A07FP1</b>	F: GAAGTGAAGGAGAAGAAGA R: CCCTCTGGTTGTCTACCTAC	(AAG) <sub>9</sub>	58	155
<b>A08FP1</b>	F: CACATTTGCCGTCCTGG R: CGGCATACGATAAATCTCCTG	(TG) <sub>9</sub>	58	105
<b>A08GP1</b>	F: TAACCGACTTCGCCCACA R: GAGCAGGGGAAGAAAAGGA	(CT) <sub>50</sub>	56	97

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A verificação da amplificação cruzada de 25 *primers* microssatélites, com a temperatura de anelamento variando entre 54°C a 60°C, para o maracujá de “flor vermelha” (*P. trintae*), apenas 19 *primers* foram transferidos para a espécie em estudo. Dos sete *primers* desenvolvidos para *P. alata*, seis produziram padrão de amplificação típica de marcadores microssatélites (Figura 1), atingindo o percentual de 85,7% de amplificação cruzada (Tabela 6), enquanto que apenas um não amplificou (A01BP3).

Paiva *et al.* (2014) utilizaram os mesmos *primers* em teste de amplificação cruzada para dez espécies do gênero *Passiflora* (*P. edulis*, *P. cincinnata*, *P. setacea*, *P. alata*, *P. gibertii*, *P. mucronata*, *P. caerulea*, *P. micropetala*, *P. suberosa* e *P. coccinea*) e o *primer*, A01BP3, também não amplificou para nenhuma das espécies, sugerindo grande conservação das sequencias franqueadoras dos *primers* na espécie *P. alata*. Os mesmos *primers* desenvolvidos para *P. alata* foram testados por Cerqueira-Silva *et al.* (2008). A taxa de transferibilidade em quatro espécies de *Passiflora* do BAG-Passifloras da UESC foi avaliada. Os resultados demonstraram taxa de amplificação cruzada variante de 28% a 86%.

Para os *primers* desenvolvidos para *P. edulis*, a taxa de amplificação cruzada foi de 61,1% (Tabela 5). Cerqueira-Silva *et al.* (2008) avaliaram amplificação cruzada de 25 *primers* microssatélites também desenvolvidos para *P. edulis* f. *flavicarpa* em 19 espécies silvestres do gênero *Passiflora* e observaram diferentes taxas de transferência que variaram entre 11,1% e 88,8%. Silva *et al.* (2014) ao verificarem a amplificação cruzada nas espécies *P. alata*, *P. cincinnata*, *P. gibertii*, *P. mucronata*, *P. cacaoensis*, e *P. glandulosa*, utilizando quase os mesmos iniciadores, detectou uma taxa de amplificação de 37,5% para as quatro primeiras, e 62,5% e 29,1% para as duas últimas, respectivamente.

Comparando as taxas de transferibilidade do presente estudo com outros envolvendo espécies silvestres de *Passiflora*, pode-se constatar que os percentuais foram satisfatórios, pois 17 dos 25 *primers* testados obtiveram uma taxa de transferibilidade igual a 68% (Cerqueira-Silva *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2014). De modo proporcional, os *primers* desenvolvidos para *P. alata* foram mais efetivos, obtendo as maiores taxas de transferibilidade.

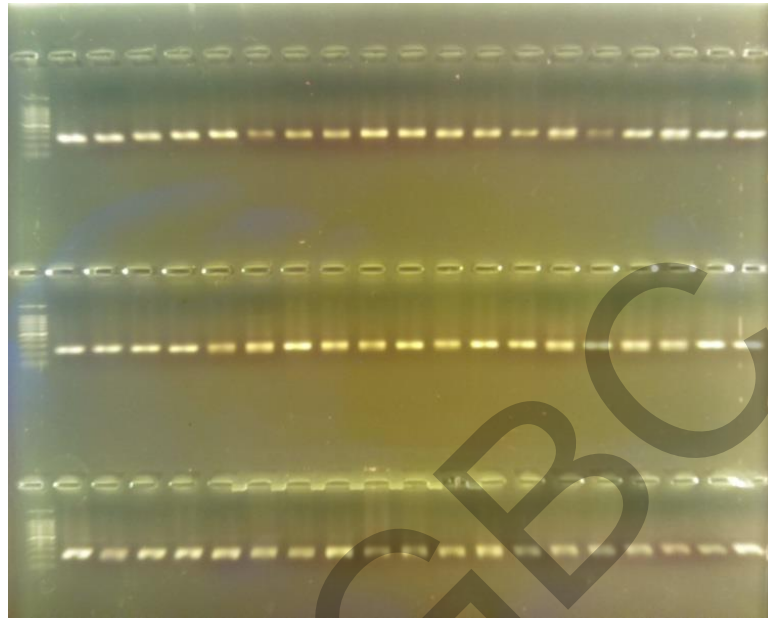


O par de *primers* A08FP1 desenvolvido para *P. alata* além de amplificar no maracujazeiro de ‘flor vermelha’, Pádua (2004) ao analisar a transferibilidade com este mesmo par de *primers*, encontrou uma maior taxa de amplificação cruzada (78,5%) para 61 espécies do gênero *Passiflora*. Isso demonstra que transferibilidade de iniciadores microssatélites tem sido utilizada com sucesso para espécies do mesmo gênero, ou seja, o sucesso de amplificação está relacionado com a proximidade filogenética das espécies. Pádua (2004), ao fazer análises genéticas do gênero *Passiflora*, também constatou proximidade filogenética entre as espécies *P. edulis*, *P. cincinnata*, *P. alata* e *P. setacea*.

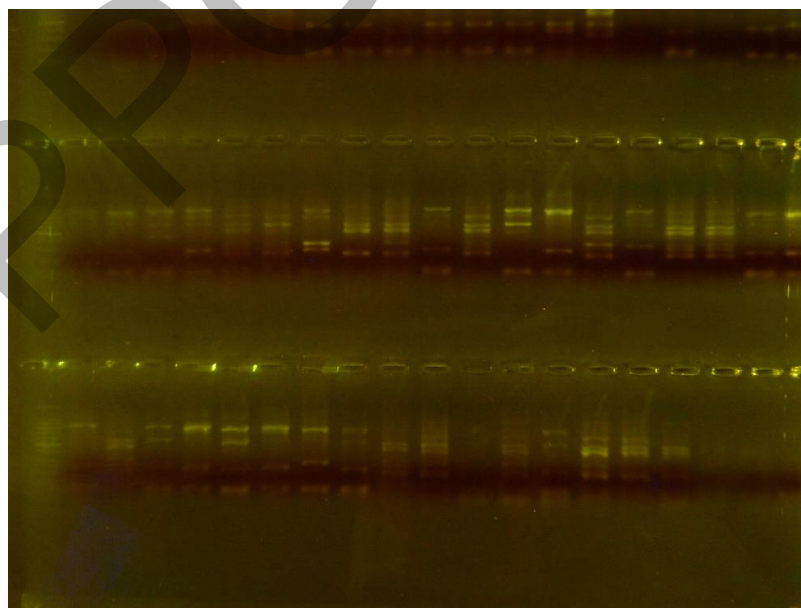
Provavelmente, entre estas espécies, as regiões que flanqueiam os microssatélites para alguns locos estudados são conservados, o que pode indicar baixa divergência evolutiva entre esses locos nas espécies estudadas (Pádua, 2004). Quando se tem uma menor taxa de amplificação utilizando *primers* herólogos, maior será a distância genética (Primmer *et al.*, 2005). Para estudos relacionados com hibridação interespecíficas, conhecer a proximidade filogenética entre espécies distintas, pode facilitar a seleção por parte do melhorista quanto aos acessos de interesse (Roa *et al.*, 2000). Informações obtidas a partir de amplificações cruzadas poderão ser úteis na escolha de genitores, em programas de melhoramento de maracujazeiros que realizem hibridação interespecífica. No entanto, outros pressupostos devem ser considerados como a taxa de mutação associado a região flanqueadora de cada loco e a qualidade das sequências e condições de amplificação (Ferreira & Gratapaglia, 1996). Os resultados obtidos até o momento são bastante promissores, tendo em vista a economia de tempo e recursos financeiros e humanos para o desenvolvimento de marcadores SSR para espécies deste gênero.

Vale a pena ressaltar que dos 25 *primers* avaliados, 4 (PE06, PE85, PE25 e A08GP1), apresentaram polimorfismo em gel de agarose (Figura 2). Foi possível perceber polimorfismo neste sistema de genotipagem em função da diferença do tamanho dos alelos que devem ser superiores a 10 pb (Vieira *et al.*, 2009). Os resultados obtidos quanto aos marcadores que apresentaram polimorfismo em gel de agarose, indicam que há bastante variabilidade genética, pois se apresentam variabilidade nessas regiões do genoma, é provável que também apresentem variabilidade em genes expressos (Vieira *et al.*, 2009).

Os resultados obtidos no presente estudo podem ser utilizados em estudos posteriores para a inferência da diversidade genética intraespecífica de *P. trintaes*, sendo aplicáveis no planejamento estratégico para conservação *in situ* e *ex situ* do citado táxon.



**Fig. 1.** Perfil de amplificação da transferência de *primer* A07FP1 em acessos de *P. trintaes*, no gel de agarose (1,5%) do *primer*.



**Fig. 2.** Perfil de amplificação da transferência de *primer* PE06 em acessos de *P. trintaes*, no gel de agarose (1,5%) do *primer*.

**TABELA 5** – Amplificação cruzada de *Passiflora trintae* utilizando *primers* desenvolvidos a partir de *P. edulis*.

<b>Locos</b>	<b><i>P. trintae</i></b>
PE01	-
PE04	1
PE06	1
PE08	-
PE15	-
PE20	1
PE21	1
PE23	1
PE24	-
PE25	1
PE26	1
PE27	1
PE43	-
PE56	1
PE73	-
PE85	1
PE106	-
PE108	1
<b>T (%)</b>	<b>61,1</b>

T(%) – Taxa de Transferibilidade: 1 Amplificação observada, - não observada.

**TABELA 6** – Amplificação cruzada de *Passiflora trintae* utilizando *primers* desenvolvidos a partir de *P. alata*.

<b>Locos</b>	<b><i>P. trintae</i></b>
A01BP3	-
A01FP3	1
A03AP3	1
A06FP1	1
A07FP1	1
A08FP1	1
A08GP1	1
<b>T (%)</b>	<b>85,7</b>

T(%) – Taxa de Transferibilidade: 1 Amplificação observada, - não observada.

## PERSPECTIVAS

As informações obtidas no presente trabalho devem ser vistas como um estudo preliminar, fornecendo informações relevantes a respeito de taxa de transferibilidade de *primers* entre distintas espécies do gênero *Passiflora*.

Os *primers* que amplificaram serão avaliados quanto ao polimorfismo alélico em gel de poliacrilamida desnaturante. A partir das informações adquiridas, será realizada estatística descritiva dos alelos por *primer* e a estimativa dos parâmetros que inferem a diversidade genética.

Cabe salientar que as informações obtidas do presente trabalho são inéditas para a espécie e deverão fornecer subsídios para futuros trabalhos de melhoramento de maracujazeiro visando obter a conservação e populações mais produtivas.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, P. P.; SOUZA, M. M.; SANTOS, E. A.; PIRES, M. V.; PIRES, M. M.; ALMEIDA, A. F. 2009. Passion flower hybrids and their use in the ornamental plant market: perspectives for sustainable development with emphasis on Brazil. *Euphytica*, v. 166, p. 307-315.
- BERNACCI, L. C. 2008. Passifloraceae. *Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo*. 3, 247-248.
- BONFIM-SILVA, V; LEMOS FILHO, D. S.; CARDOSO-SILVA, C. B. ; PEREIRA, A. S. ; OLIVEIRA, A. C. 2009. Variabilidade genética de *Passiflora* spp. nativas quanto a capacidade de propagação vegetativa. In: 55° Congresso Brasileiro de Genética, Aguas de Lindóia. 55° Congresso Brasileiro de Genética. Aguas de Lindóia: 55° Congresso Brasileiro de Genética, 2009. p. 188.
- CERQUEIRA-SILVA, C. B. M; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S; CARDOSO-SILVA, C. B; OLIVEIRA, A. C; SOUZA, M. M; CORRÊA, R. X. 2008. Amplificação cruzada de marcadores microssatélites (SSR) entre espécies de Maracujazeiro (*Passifloraceae*; *Passiflora*). In: 54° CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, Salvador. Resumos...Salvador: SBG, p.39.
- CERQUEIRA-SILVA, C.B.M; CARDOSO-SILVA, C.B; SANTOS, E.S.L; CONCEIÇÃO, L.D.H.C.S.; PEREIRA, A.S; OLIVEIRA, A.C; CORRÊA, R.X. 2010. Genetic diversity in wild species of passion fruit (*Passiflora trintae*) based on molecular markers. *Genetics and Molecular Research*, v. 9, p. 2130-2137.
- CERVI, A.C. & IMIG, D.C. 2013 A new species of *Passiflora* (*Passifloraceae*) from Mato Grosso do Sul, Brazil. *Phytotaxa*, v. 103, n. 1, p. 46–50.
- DOYLE, J.J. & DOYLE J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 13-15.

FALEIRO F.G, JUNQUEIRA N.T.V, BRAGA M.F. 2005. Germoplasma e Melhoramento Genético do Maracujazeiro - Desafios da Pesquisa. In: FALEIRO FG, JUNQUEIRA N.T.V, BRAGA M.F (Eds.) Maracujá: Germoplasma e Melhoramento Genético. Planaltina, Embrapa Cerrados, pp. 187-210.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. 1996. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. Brasília, DF: Embrapa Cenargen. 220 p.

PAIVA, L. C; PIO, V. A; AZEVEDO S. E; O. F; CLOVIANE, J; OLIVEIRA SILVA, R.N; OLIVEIRA, E. J. 2014. Genetic variability assessment in the genus *Passiflora* by SSR marker. *Chilean Journal of Agricultural Research (On line)*, v. 74, p. 355-360.

MELETTI, L. M. M.; BRUCKNER, C. H. 2001. Melhoramento genético. In: Maracujá: Tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado. Ed. Cláudio H. Bruckner e Marcelo C. Picanço. Porto Alegre: Cinco Continentes. p. 345-385.

NUNES, T.S.; QUEIROZ, L.P. 2006. Flora da Bahia: Passifloraceae. *Sitientibus*, v. 6, n. 3, p. 194-226.

OLIVEIRA, E.J; PÁDUA, J.G; ZUCCHI, M.I; CAMARGO, L.E.A. 2005. Development and characterization of microsatellite markers from the yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *Mol. Ecol. Notes* 5: 331-333.

OLIVEIRA, E.J. 2006. Desenvolvimento e uso de Marcadores Microsatélites para a Construção e Integração de Mapas Genéticos de Maracujá Amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg). Doctoral thesis, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz, Piracicaba.

PÁDUA, J.G. 2004. Análises genéticas de espécies do gênero *Passiflora* L. com base em abordagens filogenéticas, morfométricas e em marcadores microsatélites [PhD Thesis]. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

PRIMMER, C. R; PAINTER, J. N.; KOSKINEN, M. T.; PALO, J. U.; MERILA, J.

Factors affecting avian cross-species microsatellite amplification. Journal Avian Biology. v. 36, p. 348 – 360, 2005.

QUEIROZ, M.A. NASCIMENTO, C.E.S; SILVA, C.M.M; LIMA, J.L.S. 1992. Fruteiras nativas do semi-árido do Nordeste brasileiro: algumas reflexões sobre os recursos genéticos. In: Simpósio Nacional de Recursos Genéticos de Fruteiras Nativas, Cruz das Almas, BA. Cruz das Almas: EMBRAPA CNPMF, pp. 87-92.

ROA, A. C; CHAVARRIAGA-AGUIRRE, P; DUQUE, M.C; MAYA, M.M; BONIERBALE, M.W; IGLESIAS, C; THOME, J. 2000. Cross-species amplification of cassava (*Manihot esculenta*) (*Euphorbiaceae*) microsatellites: Allelic polymorphism and degree of relationship. American Journal of Botany, New York, v. 87, p. 1647-1655.

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

VIANA, A.J.C.; AHNERT, D; CORRÊA, R. X.; ARAÚJO, I. S., BERNACCI, L. C; LAWINSCKY, P. R.; SOUZA, M. M. 2009. Caracterização morfológica e polínica em *Passiflora edulis* e *Passiflora cacaoensis* para utilização como genitoras em hibridações interespecíficas. In: Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 5º, 2009, Guarapari. Anais. Guarapari, CBPM.

VIEIRA, E. S. N; SCHUSTER, I; SILVA, R. B; OLIVEIRA, M. A. R. 2009. Variabilidade genética em cultivares de soja determinada com marcadores microsatélite em gel de agarose. Pesquisa Agropecuária Brasileira (1977. Impressa), v. 44, p. 1460-1466.

ZUCCHI, M.I; BRONDANI, R. V; PINHEIRO, J.B; BRONDANI, C; VENCOVSKY, R. 2002. Transferability of microsatellite markers from *Eukalyptus* spp. to *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae family). Molecular Ecology Notes, Malden, v. 2, p. 512-514..