

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA**

**DIVERSIDADE GENÉTICA E REAÇÃO DE *Passiflora* spp. A  
*Meloidogyne incognita* E A *Meloidogyne javanica***

**Mariana da Silva Paula**

**Dissertação apresentada ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Fitopatologia.**

**Brasília, DF  
Abril/2006**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA**

**DIVERSIDADE GENÉTICA E REAÇÃO DE *Passiflora* spp.  
A *Meloidogyne incognita* E A *Meloidogyne javanica***

Mariana da Silva Paula

**Orientador: Professor José Ricardo Peixoto**

**Dissertação apresentada ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, como requisito parcial para a obtenção do Grau de mestre em Fitopatologia.**

**Brasília-DF  
Abril/2006**

**Trabalho executado junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob a orientação do Professor José Ricardo Peixoto, com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq**

**DIVERSIDADE GENÉTICA E REAÇÃO DE *Passiflora* spp. A *Meloidogyne incognita* E A *Meloidogyne javanica***

**Mariana da Silva Paula**

**Aprovada em 17 de abril de 2006, por:**

**José Ricardo Peixoto, Doutor  
(Universidade de Brasília-FAV)  
(Orientador)**

**Fábio Faleiro Gelape, Ph.D.  
(Embrapa – Cerrados)  
(Examinador externo)**

**Juvenil Enrique Cares, Ph.D.  
(Universidade de Brasília –Departamento de Fitopatologia)  
(Examinador interno)**

## ÍNDICE GERAL

	viii
<b>RESUMO GERAL</b>	
<b>ABSTRACT</b>	x
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b>	1
<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	4
<b>CAPÍTULO I – REAÇÃO DE <i>Passiflora</i> spp. A <i>Meloidogyne incognita</i> E <i>Meloidogyne javanica</i></b>	
<b>RESUMO</b>	19
<b>ABSTRACT</b>	20
<b>INTRODUÇÃO</b>	21
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	23
<b>RESULTADOS</b>	28
<b>DISCUSSÃO</b>	32
<b>CONCLUSÕES</b>	36
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	53
<b>CAPÍTULO II – DIVERSIDADE GENÉTICA <i>Passiflora</i> spp., POTENCIAIS FONTES DE RESISTÊNCIA A DOENÇAS, COM BASE EM MARCADORES RAPD</b>	
<b>RESUMO</b>	60
<b>ABSTRACT</b>	61
<b>INTRODUÇÃO</b>	62
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	64
<b>RESULTADOS</b>	66
<b>DISCUSSÃO</b>	66
<b>CONCLUSÕES</b>	70
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	71
<b>CAPÍTULO III – CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE <i>Passiflora</i> spp. A PARTIR DA UTILIZAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES DO TIPO Genes Análogos de Resistência</b>	
<b>RESUMO</b>	73
<b>ABSTRACT</b>	74
<b>INTRODUÇÃO</b>	75
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	78
<b>RESULTADOS</b>	80
<b>DISCUSSÃO</b>	80
<b>CONCLUSÕES</b>	85
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	86
<b>ANEXOS</b>	89

## ÍNDICE DE TABELAS

### CAPÍTULO I

<b>Tabela 1</b>	Genótipos de <i>Passiflora</i> e procedência das mudas inoculadas com uma população de <i>Meloidogyne incognita</i> e uma de <i>Meloidogyne javanica</i>	27
<b>Tabela 2</b>	Análise de variância dos parâmetros comprimento de plantas, peso de matéria fresca de parte aérea, peso de matéria seca da parte aérea e peso fresco de raiz de plantas de <i>Passiflora</i> spp. inoculados com <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>Meloidogyne javanica</i> (1 <sup>o</sup> experimento).	37
<b>Tabela 3</b>	Análise de variância dos parâmetros relacionados à populações de <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>Meloidogyne javanica</i> inoculados em plantas de <i>Passiflora</i> spp. (1 <sup>o</sup> experimento).	38
<b>Tabela 4</b>	Análise de variância dos parâmetros comprimento de plantas, peso de matéria fresca de parte aérea, peso de matéria seca da parte aérea e peso de raiz plantas de <i>Passiflora</i> spp. inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>Meloidogyne javanica</i> (2 <sup>o</sup> experimento).	39
<b>Tabela 5</b>	Análise de variância dos parâmetros relacionados à populações de <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>Meloidogyne javanica</i> inoculadas em plantas de <i>Passiflora</i> spp. (2 <sup>o</sup> experimento).	40
<b>Tabela 6</b>	Valores de comprimento de plantas de <i>Passiflora</i> inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Meloidogyne javanica</i> e de plantas não-inoculadas (1 <sup>o</sup> experimento).	41
<b>Tabela 7</b>	Valores de comprimento de plantas de <i>Passiflora</i> inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Meloidogyne javanica</i> e de plantas não-inoculadas (2 <sup>o</sup> experimento).	41
<b>Tabela 8</b>	Valores de peso de matéria fresca de parte aérea de plantas de espécies de <i>Passiflora</i> obtidas via sementes, inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Meloidogyne javanica</i> e de plantas não-inoculadas. (1 <sup>o</sup> experimento)	42
<b>Tabela 9</b>	Valores de peso de matéria fresca de parte aérea de plantas de <i>Passiflora</i> inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Meloidogyne javanica</i> e de plantas não-inoculadas (2 <sup>o</sup> experimento).	42

<b>Tabela 10</b>	Valores de peso seco de parte aérea de plantas de espécies de <i>Passiflora</i> inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Meloidogyne javanica</i> e de plantas não-inoculadas (1 <sup>o</sup> experimento).	43
<b>Tabela 11</b>	Valores de peso seco de parte aérea de plantas de espécies de <i>Passiflora</i> inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Meloidogyne javanica</i> e de plantas não-inoculadas (2 <sup>o</sup> experimento).	43
<b>Tabela 12</b>	Valores de peso fresco de raiz de plantas de espécies de <i>Passiflora</i> inoculadas com <i>M. incognita</i> , <i>M. javanica</i> e de plantas não-inoculadas (1 <sup>o</sup> experimento).	44
<b>Tabela 13</b>	Valores de peso fresco de raiz de plantas de <i>Passiflora</i> inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Meloidogyne javanica</i> e não-inoculadas (2 <sup>o</sup> experimento).	44
<b>Tabela 14</b>	Valores de número de galhas/planta em plantas de espécies de <i>Passiflora</i> inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Meloidogyne javanica</i> e de plantas não-inoculadas (1 <sup>o</sup> experimento).	45
<b>Tabela 15</b>	Valores de número de galhas/planta em plantas de espécies de <i>Passiflora</i> inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Meloidogyne javanica</i> e de plantas não-inoculadas (2 <sup>o</sup> experimento).	45
<b>Tabela 16</b>	Valores de número de massas de ovos/galha em plantas de espécies de <i>Passiflora</i> inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Meloidogyne javanica</i> e de plantas não-inoculadas (1 <sup>o</sup> experimento).	46
<b>Tabela 17</b>	Valores de número de massas de ovos/galha em plantas de espécies de <i>Passiflora</i> inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Meloidogyne javanica</i> e de plantas não-inoculadas (2 <sup>o</sup> experimento).	46
<b>Tabela 18</b>	Valores de população final de nematóides em plantas de espécies de <i>Passiflora</i> obtidas inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Meloidogyne javanica</i> e de plantas não-inoculadas (1 <sup>o</sup> experimento).	47
<b>Tabela 19</b>	Valores de população final de nematóides em plantas de espécies de <i>Passiflora</i> obtidas inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Meloidogyne javanica</i> e de plantas não-inoculadas (2 <sup>o</sup> experimento).	47
<b>Tabela 20</b>	Valores de fator de reprodução (Pf/Pi) de plantas de espécies de <i>Passiflora</i> obtidas inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Meloidogyne javanica</i> e de plantas não-inoculadas (1 <sup>o</sup> experimento).	48

<b>Tabela 21</b>	Valores de fator de reprodução (Pf/Pi) de plantas de espécies de <i>Passiflora</i> obtidas inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>Meloidogyne javanica</i> e de plantas não-inoculadas (2 <sup>o</sup> experimento).	48
<b>Tabela 22</b>	Matriz de correlação linear de parâmetros usados na avaliação da reação de 12 genótipos de <i>Passiflora</i> spp.(4 progênies de <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> , 1 acesso de <i>P. alata</i> e 7 espécies silvestres) a <i>Meloidogyne incognita</i> e a <i>Meloidogyne javanica</i> (1 <sup>o</sup> experimento).	49
<b>Tabela 23</b>	Matriz de correlação linear de parâmetros usados na avaliação da reação de 4 espécies silvestres de <i>Passiflora</i> spp. a <i>Meloidogyne incognita</i> e a <i>Meloidogyne javanica</i> (2 <sup>o</sup> experimento).	49
 <b>CAPÍTULO II</b>		
<b>Tabela 24</b>	Acessos de <i>Passiflora</i> spp. utilizados na obtenção de marcadores RAPD	65
<b>Tabela 25</b>	<i>Primers</i> utilizados para a obtenção dos marcadores RAPD e respectivos número de bandas polimórficas e monomórficas de 15 genótipos de <i>Passiflora</i> spp.	67
<b>Tabela 26</b>	Matriz de distâncias entre 15 acessos de maracujazeiro, baseada em 194 marcadores RAPD	68
 <b>CAPÍTULO III</b>		
<b>Tabela 27</b>	<i>Primers</i> do tipo RGAs (análogos de genes de resistência) utilizados para a obtenção dos marcadores moleculares e respectivos número de bandas polimórficas e monomórficas de nove genótipos de <i>Passiflora</i> spp.	82
<b>Tabela 28</b>	Matriz de distâncias entre nove acessos de <i>Passiflora</i> spp., baseada em 99 marcadores moleculares gerados com uso de <i>primers</i> do tipo RGAs	82

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Fotografias mostrando o sistema radicular de <i>Passiflora amethystina</i> (estaca e semente) inoculada com <i>M. incognita</i> ; com <i>M. javanica</i> e não-inoculada	50
<b>Figura 2</b>	Fotografias mostrando o sistema radicular de <i>Passiflora serratodigitata</i> (estaca e semente) inoculada com <i>M. incognita</i> ; com <i>M. javanica</i> e não-inoculada	51
<b>Figura 3</b>	Fotografias mostrando o sistema radicular do genótipo RC-3 de <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> e <i>P. alata</i> (estaca e semente) inoculada com <i>M. incognita</i> ; com <i>M. javanica</i> e não-inoculada	52
<b>Figura 4</b>	Produtos de amplificação de DNA genômico de 15 acessos de maracujazeiro gerados com a utilização do <i>primer</i> OPD-08	68
<b>Figura 5</b>	Análise de agrupamento de 15 acessos de <i>Passiflora</i> spp. com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 194 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento	69
<b>Figura 6</b>	Análise de agrupamento de nove acessos de <i>Passiflora</i> spp. com base na matriz de distâncias genéticas calculadas, utilizando-se 99 marcadores moleculares gerados com uso de <i>primers</i> RGAs.	83
<b>Figura 7</b>	Marcadores do tipo RGAs gerados. Espécies de <i>Passiflora</i> avaliadas.	84

# DIVERSIDADE GENÉTICA E REAÇÃO DE *Passiflora* spp. A *Meloidogyne incognita* E A *Meloidogyne javanica*

## RESUMO GERAL

Considerando os problemas sanitários devido aos patógenos de solo que atacam a cultura do maracujazeiro, o presente estudo objetivou a avaliação da reação de quatro progênies de maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*; Gigante amarelo, Yellow master, MAR-12 e RC-3); um acesso de maracujazeiro doce (*Passiflora alata*); nove espécies silvestres de *Passiflora* (*P. amethystina*, *P. setacea*, *P. nitida*, *P. serratodigitata*, *P. caerulea*, *P. gibertii*, *P. odontophylla*, *P. coccinea* e *P. edulis edulis* nativo) e de um híbrido interespecífico (*P. coccinea* X *P. setacea*) a duas espécies de *Meloidogyne* (*M. incognita* e *M. javanica*). Foram conduzidos dois experimentos em blocos ao acaso, sob o arranjo de parcela subdividida. Mudanças com 90 dias, obtidas a partir de sementes e de estacas, foram inoculadas com suspensão de 5000 ovos das duas espécies de nematóides. Noventa dias após a inoculação foram avaliados o número de galhas por planta, o número de massa de ovos por galha, a população final e o fator de reprodução dos nematóides. Também foi avaliado o desenvolvimento vegetativo da planta (comprimento de planta, peso de matéria fresca e seca da parte aérea e peso fresco de raiz). Verificou-se que em geral o nematóide de galhas afetou significativamente o desenvolvimento vegetativo das diferentes espécies de maracujazeiro, principalmente *M. incognita*, que apresentou maior taxa de multiplicação, e, em geral, reduziu mais o crescimento vegetativo das plantas. Tomando como base o fator de reprodução para classificação do nível de resistência dos genótipos de *Passiflora* ao nematóide de galhas, verificou-se que as espécies comerciais (progênies de *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. alata*), *P. setacea*, *P. odontophylla*, *P. edulis* nativo e o híbrido *P. coccinea* X *P. setacea* se

comportaram como resistentes a *M. incognita*, enquanto que todos os genótipos estudados apresentaram-se como resistentes a *M. javanica*. Outro objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética em espécies de *Passiflora*, em dois experimentos baseados na utilização de marcadores moleculares RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) e marcadores do tipo RGAs (*Resistance Genes Analogs*). Para ambos os experimentos foi utilizada a amplificação via PCR, sendo que para o primeiro experimento (RAPD) utilizou-se oito *primers*, os quais geraram 194 *amplicons*, todos polimórficos. Para o segundo experimento (RGAs), verificou-se, a partir da utilização de seis combinações de *primers* do tipo RGAs, a formação de 99 *amplicons*, sendo três monomórficos. Portanto, foram detectadas fontes de marcadores moleculares do tipo RAPD e RGAs entre genótipos de *Passiflora* com potencial de uso em programas de melhoramento visando resistência a doenças.

Palavras-chave: *Passiflora*, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, resistência, marcadores moleculares.

# GENETIC DIVERSITY AND REACTION OF *Passiflora* spp. TO *M. incognita* AND *M. javanica*

## GENERAL ABSTRACT

Considering that growing passion fruit has faced problems due to soil pathogens, responsible for significant losses, one objective of this study was to evaluate the reaction of four progenies of sour passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*), one of sweet passion fruit (*Passiflora alata*), nine wild species of *Passiflora* (*P. amethystina*, *P. setacea*, *P. nitida*, *P. serratodigitata*, *P. caerulea*, *P. gibertii*, *P. odontophylla*, *P. coccinea* and a native genotype of *P. edulis edulis* ) and one interspecific hybrid (*P. coccinea* X *P. stacea*) in relation to *Meloidogyne incognita* and to *Meloidogyne javanica*). Two experiments were conducted under an experimental randomized design with split-plot arrangement. Seedlings with 90 days obtained from seeds or cuttings were inoculated and evaluated 90 days after inoculation, taking in account vegetative parameters of plant development, root galling and nematode reproduction. In general, there was significant influence on vegetative development of the different genotypes, mainly due to *M. incognita*, that showed the highest multiplication ratios and contributed to poor growth of inoculated plants. Taking the reproduction factor as a measure to classify levels of plant resistance *P. amethystina*, *P. coccinea*, *P. serratodigitata*, *P. nitida*, *P. caerulea* and *P. gibertii* were susceptible to *M. incognita* and all the species studied were resistant to *M. javanica*. Another objective of this work was to evaluate the genetic diversity of *Passiflora* spp., both based on the use of molecular markers RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) and RGAs (“resistance genes analogs”). Two experiments were planned by using PCR amplification. For the first one (RAPD), eight primers were used to obtain 194 amplicons, all of them were polymorphic. In the second

experiment, six *primer* combinations with RGAs as molecular markers, resulted in the formation of 99 *amplicons*. Nine-six of them were polymorphic, while three were monomorphic. Therefore, sources of RAPD and RGAs molecular markers were detected among *Passiflora* genotypes, with potential application in breeding programs towards resistance to plant diseases.

Key words: *Passiflora*, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, resistance, molecular markers.

## Introdução Geral

O gênero *Passiflora* L. é originário da América do Sul e tem no Centro-Norte do Brasil o maior centro de distribuição geográfica (Lopes, 1991). Dessa forma, o Brasil é detentor de grande variabilidade natural de *Passiflora* como fonte de germoplasma para o melhoramento genético. As espécies mais conhecidas e de maior aplicação comercial são *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro-azedo ou maracujazeiro-amarelo) e *Passiflora edulis* Sims (maracujá-roxo) (Alexandre *et al.*, 2004).

O gênero *Passiflora* apresenta 530 espécies descritas (Bernacci *et al.*, 2003), sendo mais de 150 espécies nativas do Brasil e cerca de 60 utilizadas na alimentação humana (Oliveira *et al.*, 1994).

A cultura do maracujazeiro no Brasil se expandiu em ritmo acelerado desde o início da década de 70. Até então, o Brasil não se apresentava como um dos maiores produtores mundiais, mas, a partir dessa data, houve grande aumento de produção, devido, principalmente, à crescente exportação de suco concentrado (São José, 1994).

O Brasil é, atualmente, o maior produtor mundial de maracujá-amarelo, tendo cultivado 34778 ha em 2002 (Agrianual, 2004). Comparando-se a área cultivada em 2002 à área com maracujá em 1996 (40000 ha), percebe-se que ocorreu retração de área ocupada com essa fruteira no País, devido, principalmente, às várias moléstias que afetam a cultura e à inexistência de cultivares resistentes (Meletti, 2005). O maracujá-amarelo é cultivado em quase todo o território nacional, destacando-se como principais produtores os estados da Bahia, Sergipe, São Paulo, Pará e Minas Gerais (Agrianual, 2004).

O maracujazeiro é uma planta de fecundação cruzada, apresentando elevada taxa de auto-incompatibilidade, o que resulta na perda de identidade genética e ampliação da variabilidade nos pomares (Vasconcellos *et al.*, 2001). A estaquia pode superar essas

limitações, mas exigirá a disponibilidade de vários clones selecionados e compatíveis entre si, que, recombinados, resultarão em frutos de qualidade superior.

A propagação do maracujazeiro pode ocorrer de forma assexuada (estaquia, enxertia ou cultura de tecidos) ou de forma sexuada (sementes), sendo essa a preferida pelos produtores devido à facilidade do processo e ao menor tempo de formação das mudas (Ferreira, 2000).

No Brasil, o maracujazeiro-amarelo apresenta baixa produtividade, devido, em grande parte, a problemas fitossanitários, dos quais as doenças provocadas por patógenos de solo, como fungos e nematóides, se mostram economicamente importantes (Junqueira *et al.*, 1999; Meletti & Bruckner, 2001). Os sintomas causados por fitonematóides podem ser mascarados por deficiências nutricionais ou podem estar associados aos de doenças de origem fúngica, bacteriana ou virótica (Ritzinger *et al.*, 2002).

Diversos nematóides têm sido encontrados em associação ao sistema radicular do maracujazeiro (Sharma & Loof, 1972; Milne, 1982), embora somente o nematóide das galhas, *Meloidogyne* spp., e o nematóide *Rotylenchulus reniformis* (Lindford & Oliveira, 1940), causem danos de expressão econômica, limitando a produtividade e a longevidade das plantações (Sharma *et al.*, 2003).

Diante da grande variabilidade do maracujazeiro, programas de melhoramento genético têm sido conduzidos visando à obtenção de variedades mais produtivas e resistentes a doenças, por meio da hibridação sexual entre as espécies cultivadas e espécies selvagens (Barbosa, 1998). O estudo da diversidade genética de potenciais genitores é uma etapa básica e de fundamental importância para o sucesso de programas de melhoramento genético.

Por ser uma planta semiperene, o estudo de diversidade genética em *Passiflora* spp. demanda tempo. Então, o uso de marcadores moleculares torna-se altamente recomendável, já

que permite rápido estudo da variabilidade presente (Stephen *et al.*, 1997), e de aplicação no estabelecimento filogenético entre diferentes espécies, assim como no auxílio de seleção de genótipos resistentes a doenças (Lanza *et al.*, 2000).

O presente trabalho teve como objetivos avaliar a reação de quatro progênies de maracujazeiro amarelo, nove espécies silvestres, um híbrido interespecífico e um acesso de maracujá doce, quanto à ação patogênica de uma população de *Meloidogyne javanica* Treub, 1885, e uma de *Meloidogyne incognita* Chitwood, 1949, de forma a selecionar progênies potencialmente promissoras para programa de melhoramento, a partir da utilização de propagação de maracujazeiro via estaquia; avaliar a diversidade genética de maracujazeiros silvestres e comerciais, utilizando marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) e marcadores potencialmente associados a análogos de genes de resistência (RGAs) como subsídio para programas de melhoramento genético visando resistência a doenças.

## **Revisão de Literatura**

### **1. Importância do maracujazeiro**

O maracujazeiro apresenta grande importância no setor agrícola, devido às características físico-químicas e farmaco-terapêuticas de suas frutas, alta produtividade e grande aceitação no mercado mundial. Apesar da importância econômica e social da cultura, uma série de problemas fitossanitários, como, por exemplo, as nematoses, dificulta o seu cultivo, reduzindo a longevidade e produtividade dos plantios (Torres Filho, 1985).

De acordo com estimativas da ITI Tropicals (2005), a produção mundial de maracujá é de 640.000 toneladas, e o Brasil apresenta-se como produtor de 70% desse total. O Equador e a Colômbia aparecem em segundo e terceiro lugares, respectivamente.

O maracujá mais cultivado no Brasil é o *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, também conhecido como maracujá amarelo, devido à qualidade dos seus frutos e maior produtividade, representando 95% dos pomares comerciais (Ruggiero *et al.*, 1996).

### **2. Botânica e taxonomia do maracujazeiro**

O maracujá pertence ao gênero *Passiflora*, à família Passifloraceae, ordem Violales (Cronquist, 1988), sendo essa constituída por um grupo natural de famílias originárias de uma ordem primitiva (Theales). A família Passifloraceae apresenta 18 gêneros e 630 espécies, sendo que no Brasil é representada por quatro gêneros: *Dilkea* (relatado no Amazonas e Pará), *Mistostemma* (relatado em Mato Grosso, Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul), *Passiflora* (de

ocorrência em todo o País;) e *Tetrastylis* (relatado na Bahia, Minas Gerais e Rio de Janeiro) (Reitz, 1980).

O gênero *Passiflora* compreende plantas trepadeiras herbáceas ou lenhosas, podendo apresentar-se como ervas e arbustos de hastes cilíndricas ou quadrangulares (Teixeira, 1994).

O sistema radicular do maracujazeiro é pivotante ou axial, com uma raiz central mais grossa que as demais. Concentra-se na profundidade de 15 a 45cm e a uma distância do caule de 45 a 135cm (Cunha et al., 2004). Apresentam gavinhas (modificações foliares que servem para prender a planta a suportes) em quase todas as espécies. Há ainda estruturas pequenas semelhantes a uma folha (estípulas) localizadas em ambos os lados da folha, que podem ser utilizadas para diferenciar espécies (Vanderplank, 1996).

As folhas são alternas, geralmente simples, inteiras ou lobadas e de forma variável, raramente compostas e de margem inteira ou serrilhada. A maioria das espécies apresenta glândulas nectaríferas, no pecíolo, na margem da bráctea ou na parte dorsal da folha (Cunha et al., 2004). Há também a presença de estruturas denominadas pedúnculos, os quais surgem solitários ou aos pares nas axilas das folhas. A planta de maracujá normalmente apresenta brácteas (a exceção de algumas espécies de *Decaloba*), que são comumente caducas, lineares e dispersas no pedúnculo. A posição, tamanho e forma das brácteas são características importantes para a separação taxonômica de gêneros (Vanderplank, 1996).

As flores do maracujazeiro são hermafroditas, geralmente isoladas ou aos pares nas axilas das folhas, e se apresentam de forma variada. O cálice varia de esverdeado a muito colorido. As sépalas são em número de cinco, carnosas ou membranáceas. As pétalas são menores que as sépalas e em número de cinco, raramente ausentes, e são formadas de forma alternada às sépalas, geralmente menores e de textura mais delgada que as sépalas. O androceu é formado, em geral, por cinco anteras, onde se localiza pólen, que é pesado e de

coloração amarela. O gineceu é formado por um ovário súpero, geralmente afilado no ápice, e apresenta três estiletos. O ovário localiza-se no topo do androginóforo (coluna que sustenta os órgãos reprodutivos do maracujazeiro), contendo de 20 a 200 óvulos (Cunha *et al.*, 2004).

O fruto do maracujazeiro tem forma ovóide ou globosa, raramente fusiforme, com polpa mucilagínosa. É dependente de polinização eficiente para a sua formação. A casca é coriácea, quebradiça e lisa, protegendo o mesocarpo, no interior do qual estão as sementes (Cunha, 1998).

As sementes apresentam forma oval, sendo compridas e numerosas. Segundo Vanderplank (1996), essas sementes são tolerantes a perdas de umidade, mantendo-se viáveis até a 4,5%, fato que permite a armazenagem em temperaturas baixas em nitrogênio líquido a -196°C.

### **3. Espécies de maracujá e suas características**

O Brasil é um dos mais importantes centros de diversidade de maracujá, portanto a caracterização e a exploração da variabilidade genética entre as espécies de *Passiflora* podem revelar materiais promissores para programas de melhoramento (Faleiro, et al., 2005).

Vários autores, entre eles Ferreira & Oliveira (1991) descrevem a ampla variabilidade genética existente no gênero *Passiflora*. Ferreira (1998) relacionou mais de 50 espécies de *Passiflora* que são cultivadas ou apresentam potencial comercial, destacando a origem e as formas de utilização.

***Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro amarelo ou azedo)**

Diferencia-se do maracujá roxo pela presença de duas glândulas marginais nas sépalas mais externas, corona roxa na base e frutos maiores. Sobre a origem do maracujá amarelo, há divergências entre estudiosos. Pope (1935) sugeriu ter origem híbrida, como resultado de cruzamento entre maracujá roxo com outra espécie. Já Storey (1950) sugere mutação envolvida em sua evolução.

***Passiflora alata* Dryand (maracujá doce ou alado)**

É uma espécie adequada para consumo *in natura* e para cercas-vivas, apresenta crescimento vigoroso, cujo valor ornamental se distingue pelas flores vistosas, coloridas e perfumadas (Meletti *et al.*, 2003). Na agroindústria, *P. alata* não é utilizada como matéria-prima fornecedora de frutos, devido a sua polpa excessivamente adocicada (Oliveira *et al.*, 1982).

***Passiflora edulis* Sims f. *edulis* (maracujá roxo)**

Nos últimos anos, o interesse pelo maracujá-roxo vem crescendo no centro-sul do País, visando à exportação. Observa-se número significativo de formas selvagens, compatíveis entre si. O maracujá-roxo é mais indicado para produção no centro-sul do País, porque prefere clima ameno e produz frutos adequados a um segmento diferenciado de mercado, que comercializa frutas por unidade e privilegia a qualidade (Meletti, 2005). Essa espécie é bastante cultivada na Austrália, na África e no Sudeste Asiático (Braga & Junqueira, 2000).

#### 4. Outras espécies do gênero *Passiflora*

***Passiflora amethystina* Mikan (maracujá da serra):** é amplamente distribuída no Cerrado brasileiro e é utilizada como planta ornamental. É suscetível à mosca-das-frutas (*Anastrepha* spp.). Os frutos podem ser consumidos *in natura* (Braga & Junqueira, 2000).

***Passiflora caerulea* L.:** é a passiflorácea ornamental mais conhecida mundialmente e seus frutos são comestíveis. Esta espécie possui resistência à bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* Gonçalves & Rosato 2000) e pode ser utilizada como planta medicinal, como sedativa. É cultivada no México, Guiana Inglesa e países andinos (Braga & Junqueira, 2000).

***Passiflora coccinea* Aubl.:** apresenta-se como resistente à *Epicauta atomaria* Germ. (Meloidae) e à *Dione juno juno* Cramer, 1779. Os frutos são saborosos e podem ser utilizados para doces e sucos (Oliveira & Ruggiero, 1998).

***Passiflora nitida* HBK.:** espécie proveniente da Amazônia. É resistente à morte precoce, à antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz), *Dione juno juno* e *Epicauta atomaria*, mas é suscetível à cladosporiose (*Cladosporium* spp.). Possui fruto com sabor adocicado, que já é comercializado na região norte do Brasil (Oliveira *et al.*, 1994; Oliveira & Ruggiero, 1998).

***Passiflora serratodigitata* L.:** planta ornamental com potencial para porta-enxerto. Possui fruto com polpa branca e doce (Braga & Junqueira, 2000).

***Passiflora setacea* DC.:** possui frutos comestíveis e pode ser utilizada como porta-enxerto ou fonte de resistência à morte precoce (doença, de causa desconhecida, associada a fungos do solo, como *Fusarium oxysporum* f. *passiflorae* Gordon apud Purs, *Phytophthora*

spp.), e à bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*), à cladosporiose, *Dione juno juno* e *Epicauta atomaria* (Braga e Junqueira, 2000).

***Passiflora gibertii* N. E. Brown:** planta resistente à morte precoce, à cladosporiose e à bacteriose, sendo assim promissora como uso de porta-enxerto (Souza & Meletti, 1997; Oliveira & Ruggiero, 1998).

***Passiflora odontophylla* L.:** espécie que tem se mostrado como resistente à antracnose e à bacteriose. Pode apresentar potencial para produção de híbridos e para porta-enxertos (Junqueira, 2005).

## 5. Doenças do maracujazeiro

No Brasil, as doenças e pragas são os principais fatores que ameaçam a expansão e a produtividade dos cultivos de maracujá, causando prejuízos expressivos e levando os produtores a usar defensivos agrícolas de forma indiscriminada (Junqueira *et al.*, 2005).

Doenças causadas por fungos afetam a planta de maracujá desde a fase de sementeira até a fase adulta, prejudicando raízes, caule, folhas, flores e frutos. Entre as doenças que ocorrem na parte aérea, encontram-se a antracnose causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, verrugose causada por *Cladosporium herbarum* Persson e septoriose causada por *Septoria passiflorae* Louw. Fungos de solo, como *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* e *Phytophthora* spp., se destacam como agentes causais de tombamento de mudas e murchas (Santos Filho & Santos, 2003).

Bactérias, como *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* agente causal da bacteriose ou cancro-bacteriano e *Ralstonia solanacearum* Smith. agente da murcha e podridão de raízes, podem afetar a cultura do maracujazeiro (Santos & Santos Filho, 2003).

Entre o vírus que causam doenças no maracujazeiro tem-se o CABMV (*Cowpea aphid-borne mosaic virus*), que causa o endurecimento dos frutos, e CMV (*Cucumber mosaic virus*), que causa mosaico e PYMV (*Passionfruit yellow mosaic virus*), causador do mosaico amarelo (Barbosa & Santos Filho, 2003).

## **5.1 Nematóides associados ao maracujazeiro**

Entre as diversas associações de nematóides ao sistema radicular do maracujazeiro, registra-se os formadores de galhas (*Meloidogyne* spp.), o nematóide reniforme (*Rotylenchulus reniformis*), o nematóide de lesão radicular (*Pratylenchus* spp.) e os nematóides espiralados (*Scutellonema* sp. e *Helicotylenchus* sp.). Entretanto, somente *R. reniformis*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. incognita* são consideradas as espécies de maior importância (Ritzinger *et al.*, 2002).

### **a) *Rotylenchulus reniformis***

O nematóide reniforme, *R. reniformis*, é semi-endoparasita de raízes de diversas plantas cultivadas, de ocorrência comum nas áreas tropicais e subtropicais. Apresenta ampla distribuição geográfica e grande número de hospedeiras. A fêmea penetra no córtex das raízes, onde se estabelece para se alimentar e torna-se sedentária, formando sítios

especializados. Não há formação de galhas nas raízes. Porém, as plantas de maracujazeiro atacadas pelo nematóide *R. reniformis* apresentam sintomas de nanismo e amarelecimento completo da parte aérea, com declínio geral semelhante aos de deficiência de nitrogênio. Esses sintomas resultam em atraso no crescimento e na maturação dos frutos. Em casos mais severos de ataque do nematóide reniforme, as plantas não florescem e ficam raquíticas resultando em grande perda da produção. Estudos quanto ao impacto causado por *R. reniformis* sobre a planta têm sido feitos utilizando-se nematicidas e rotação de culturas (Ritzinger *et al.*, 2002).

**b) Os nematóides de galhas radiculares (*Meloidogyne* spp.)**

O gênero *Meloidogyne* foi criado originalmente por E. A. Goeldi, em 1887 no Brasil, para designar o grupo de parasitas radiculares do cafeeiro. Esse gênero foi amplamente aceito apenas a partir de 1949, após uma publicação clássica de B. G. Chitwood. A partir daí, muitas outras espécies desse gênero, bem como sua importância econômica, foram sendo reconhecidas, e, hoje, é considerado o gênero de maior interesse em todo o mundo (Ferraz, 2001). Eisenback (1997) reconheceu 79 espécies do gênero, número este que já foi alterado pela adição de novas espécies descritas posteriormente.

O parasitismo de nematóides em passifloráceas constitui fato conhecido há várias décadas. Bessey, citado por Goodey *et al.* (1965), relatou a associação de *Meloidogyne* spp. a raízes de *Passiflora caerulea* e *Passiflora incarnata* L., em 1911. O primeiro registro de ataques de nematóides a maracujazeiros cultivados em escala comercial (*P. edulis* Sims f. *edulis* e *P. edulis* f. *flavicarpa*) foi feito por Carne (1927), na Austrália.

O macho e a fêmea adultos do gênero *Meloidogyne* são facilmente distintos na morfologia. As fêmeas apresentam corpo dilatado, semelhante ao formato de uma pêra, e apresentam de 0,4 a 1,3mm de comprimento e de 0,27 a 0,75mm de largura. Os machos são vermiformes, com aproximadamente 1,2 a 1,5mm de comprimento e 30 a 36 $\mu$ m de diâmetro. Cada fêmea deposita aproximadamente 500 ovos, os quais são ovipositados em uma massa gelatinosa que os protege junto ao corpo da fêmea interna ou externamente às raízes. Do ovo ao estágio adulto, passam por diversas fases de crescimento. O primeiro estágio juvenil (J1) desenvolve-se dentro do ovo e, após a primeira ecdise, dá origem ao segundo estágio (J2), único estágio infectivo, vermiforme, emerge do ovo e move-se no solo até encontrar um hospedeiro (Mai & Mullin, 1996; Agrios, 1997). Juvenis infectivos vermiformes de *Meloidogyne* (J2), por meio de estiletos bucais, injetam secreções esofagianas no citoplasma de um pequeno grupo de células localizadas no cilindro vascular. Com isso, as células logo evidenciam alterações morfológicas e fisiológicas, tornam-se hipertrofiadas com citoplasma denso, granuloso, associado a sucessivas divisões dos núcleos, não acompanhadas de divisões da própria célula, sendo chamadas de células gigantes multinucleadas. Então, os nematóides passam a ingerir o conteúdo citoplasmático dessas células modificadas, que lhes serve de alimento. As células gigantes conectam-se às células saudáveis vizinhas e delas recebem parte dos solutos e fotoassimilados produzidos pela planta (Ferraz, 2001). Juvenis de segundo estágio passam por uma segunda ecdise e dão origem ao nematóide de terceiro estágio (J3). Nessa fase, o nematóide, pouco mais dilatado, perde o estilete, passa pela terceira ecdise e dá origem ao quarto estágio juvenil (J4). Após a quarta ecdise, o macho enrolado dentro da cutícula, emerge de dentro da raiz, tornando-se livre no solo. A fêmea, após atingir o quarto estágio juvenil e após passar pela quarta ecdise, continua dentro da raiz e torna-se adulta e sedentária (Mai & Mullin, 1996; Agrios, 1997).

No gênero *Meloidogyne* podem ocorrer diferentes modalidades reprodutivas. Existem espécies que se reproduzem tipicamente por anfimixia (reprodução sexuada), mas que, sob certas condições, passam a exibir, temporária e facultativamente, reprodução por partenogênese do tipo meiótica; e as que se reproduzem exclusivamente por partenogênese, no caso do tipo mitótica. Espécies economicamente mais importantes, como *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*, se reproduzem por partenogênese mitótica obrigatória (Ferraz, 2001). Segundo Evans (1998), a variabilidade genética de espécies de *Meloidogyne* que se reproduzem por partenogênese mitótica se limita à ocorrência de raras mutações ao acaso. Formas “ameióticas” clonais, como espécies de *Meloidogyne*, apresentam mecanismos pelos quais conseguem acumular certa variabilidade genética. Dessa forma, esses nematóides conseguem consolidar a condição de agentes causais de sérios danos e grandes perdas econômicas (Ferraz, 2001).

Na maioria das observações de associações de espécies de *Meloidogyne* ao sistema radicular de maracujazeiro, os danos econômicos têm sua ocorrência limitada a determinadas regiões. Entretanto, são poucos os relatos que incluem informações sobre sua capacidade de reprodução e danos causados (Klein *et al.*, 1984).

As plantas infectadas apresentam galhas (engrossamento das raízes em forma de nós) e, na parte aérea, clorose das folhas e nanismo como sintomas mais comuns (Silva Junior *et al.*, 1988). O tamanho e a forma das galhas dependem da interação entre espécie da planta e espécie do nematóide (McSorley, 1992). Os danos causados após a infecção de *Meloidogyne* spp. podem ser aumentados não só pela hipertrofia dos tecidos do córtex, mas também por meio da infecção causada por fungos de solo, como os dos gêneros *Pythium*, *Fusarium* e *Rhizoctonia*, os quais podem causar a morte desses tecidos mais rapidamente (Mai & Mullin, 1996; Agrios, 1997).

O controle desses nematóides deve ser primeiramente preventivo, a partir da utilização de práticas sanitárias, para que não haja infestação de novas áreas de plantio, incluindo o uso de mudas livres de nematóides, limpeza de equipamentos que possam ser utilizados em diferentes pomares. Deve-se também considerar o histórico da área, a qualidade da água de irrigação e o tipo de solo (Cohn, 1972; Sharma & Sher, 1975; Ferraz, 1987). A eficácia de nematicidas é comprometida pela degradação acelerada por microrganismos no solo e pelos riscos ambientais que podem ocorrer. A utilização de variedades resistentes mostra-se como boa alternativa de manejo. O controle biológico, em parcelas experimentais, a partir da utilização da bactéria *Pasteuria penetrans* (Thorne) Sayre & Starr (parasita obrigatório em várias espécies de *Meloidogyne*) tem se mostrado eficiente em condições experimentais. A rotação de culturas tem sido utilizada para algumas associações nematóide-hospedeiro (Cunha, 2004).

## **6. Melhoramento genético e resistência de plantas a doenças**

O estreitamento da base genética de qualquer espécie de planta ocorre na medida em que há avanço na melhoria do cultivo, como é o caso do uso de linhagens em plantas autógamias e de variedades híbridas em alógamas (Briggs & Knowles, 1967). Dessa forma, a conservação de germoplasma local em coleções é muito importante e um grande desafio da pesquisa (Faleiro *et al.*, 2005)

O cultivo do maracujá tem sido caracterizado pela mudança periódica do local de produção, fato esse relacionado ao número limitado ou mesmo à inexistência de variedades e híbridos resistentes a doenças (Teixeira, 1994).

A ampla variabilidade genética observada em *Passiflora* é ainda mais acentuada pelo fato de o maracujazeiro ser auto-incompatível, o que leva ao aumento do grau de heterozigose (Allard, 1966; Briggs & Knowles, 1967). Segundo Duvick (1967) a auto-incompatibilidade em maracujazeiro é do tipo homomórfica e esporofítica. É homomórfica, por não ser baseada em diferenças morfológicas entre as estruturas florais e esporafítica, pelo fato de o genótipo da mãe possuir grão de pólen contendo um alelo também presente no estigma o que inibe a formação do tubo polínico.

Para que se desenvolva uma cultivar de maracujá é necessário que haja conhecimento, exploração e manuseio corretos da variabilidade genética disponível, dentro de um programa bem conduzido. Marcadores moleculares de DNA têm sido ferramentas úteis no estudo desta variabilidade com diferentes aplicações (Pereira *et al.*, 2005). Tem-se também que a seleção massal, através da observação visual do fenótipo da planta, permite a identificação de genótipos com potencial, podendo ser utilizada como fonte de genes comercialmente desejáveis como os de resistência a doenças (Melletti *et al.*, 2000).

## **6.1 Marcadores moleculares RAPD- “Polimorfismos de DNA Amplificado ao Acaso”**

Marcadores RAPD são baseados na técnica de Reação da Polimerase em Cadeia (PCR) (Mullis & Faloona, 1987) envolve a síntese enzimática *in vitro* de milhões de cópias de um segmento específico de DNA na presença da enzima DNA polimerase. Essa síntese é iniciada por *primers* ou iniciadores (seqüências curtas de DNA de fita simples) que se pareiam com o DNA-molde, liberando uma extremidade 3'OH livre para a ação da DNA polimerase e síntese de uma nova fita de DNA. O ciclo de PCR envolve três etapas. Na

primeira etapa ocorre a desnaturação da fita dupla de DNA, feita à temperatura de 92 a 95<sup>0</sup>C. Na segunda ocorre o anelamento, o qual se caracteriza pelo pareamento de *primers* com as seqüências complementares específicas que flanqueiam o sítio-alvo; nessa etapa, a temperatura é reduzida para 35 a 60<sup>0</sup>C, dependendo do tamanho e seqüência do *primer* utilizado. Após o anelamento, a temperatura é elevada para 72<sup>0</sup>C, dando início a etapa de extensão, onde ocorre a síntese da nova fita de DNA a partir das extremidades 3'-OH livres dos *primers*, por meio da enzima DNA polimerase (Lanza *et al.*, 2000).

Para obtenção de marcadores RAPD utiliza-se um único *primer*, normalmente com 10 nucleotídeos, com seqüência conhecida, mas arbitrária, podendo se anelar aleatoriamente a diferentes regiões do genoma. Dessa forma, não é necessário o conhecimento prévio das seqüências de nucleotídeos de região alvo. Por esse motivo, os marcadores moleculares RAPD podem ser obtidos para qualquer espécie, mesmo aquelas ainda pouco estudadas (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

A técnica de RAPD resulta na amplificação de fragmentos de DNA, utilizando um só *primer*. Para que haja amplificação de um fragmento de RAPD no genoma analisado, duas seqüências de DNA complementares ao *primer* arbitrário devem estar adjacentes e em orientação oposta, de forma a permitir a amplificação de um segmento de DNA pela DNA polimerase (Ferreira & Grattapaglia, 1998). A presença ou ausência de bandas é determinada pelo polimorfismo e é resultante da diferença do local de anelamento do *primer*. Essas bandas são herdadas de maneira Mendeliana e, portanto, são úteis como marcadores moleculares para caracteres qualitativos e quantitativos. A detecção dos produtos de amplificação, normalmente é feita em gel de agarose, corado com brometo de etídio e visualizado sob luz ultravioleta (Buso, 1998).

A utilização de marcadores RAPD na análise genética e no melhoramento de plantas tem se difundido bastante, já que existem várias aplicações incluindo: análise de estrutura e diversidade em populações naturais, populações de melhoramento, estabelecimento de relacionamentos filogenéticos entre diferentes espécies, e construção de mapas genéticos visando identificar marcas associadas a genes de interesse econômico. Além disso, considerando programas de retrocruzamento que visam à introgressão de genes que condicionam características de herança simples, como resistência a doenças, o uso de marcadores moleculares auxilia na seleção de genótipos resistentes, monitorando a incorporação do gene de interesse dentro do genoma mais próximo do parental recorrente diminuindo o número de ciclos de retrocruzamentos necessários para recuperar o genótipo da linhagem original (Lanza *et al.*, 2000).

## **6.2 Marcadores moleculares do tipo RGAs – “Análogos de genes de resistência”**

Até o início da década de 1990 não havia sido clonado ou caracterizado qualquer tipo de gene de resistência (R) a doenças em plantas vivas, sendo o gene *Pto* o primeiro a ser clonado, o qual se caracteriza por controlar a resistência à bactéria *Pseudomonas syringae* pv. tomato em tomate (Martin *et al.*, 1993). A partir de então, vários genes de resistência têm sido identificados e caracterizados em diversas espécies vegetais, como em *Arabidopsis*, tomate, arroz, alface, batata e fumo (Hammond-Kosack & Jones, 1997; Baker *et al.*, 1997).

Estudos voltados para a análise de seqüências codificadoras de genes de resistência levaram à conclusão de que há presença de diferentes domínios estruturais bastante conservados, os quais incluem proteínas ricas em leucina (LRR – *Leucine Rich Repeats*), sítios

de ligação a nucleotídeos (NBS – *Nucleotide Binding Sites*), estruturas complexas de NBS-LRR, *Leucine Zippers* (LS) e proteínas quinases (Staskawics *et al.*, 1995; Hammond-Kosack & Jones, 1997; Castro, 1999).

A presença de segmentos que apresentam seqüências similares dentro de um conjunto de genes bastante polimórficos sugeriu, então, que essas regiões conservadas poderiam representar sítios de relevante importância biológica envolvidos na função geral dos genes de resistência e/ou na regulação da expressão fenotípica desses genes (Bent, 1996).

Genes de resistência possuem regiões conservadas denominadas “motivos”. Essa conservação propiciou o desenvolvimento de *primers* degenerados que amplificam regiões análogas a esses genes de resistência (RGAs – *Disease Resistance Gene Analogs*) de várias espécies (Leister *et al.*, 1996).

## REAÇÃO DE *Passiflora* spp. A *Meloidogyne incognita* E A *Meloidogyne javanica*

### RESUMO

A identificação de fontes de resistência é uma etapa básica e importante para programas de melhoramento genético. Nesse sentido, buscou-se neste trabalho avaliar a reação de diferentes espécies de *Passiflora*, incluindo espécies comerciais (4 progênies de *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. alata*), espécies silvestres (*P. amethystina*, *P. setacea*, *P. nitida*, *P. serratodigitata*, *P. coccinea*, *P. caerulea*, *P. gibertii*, *P. odontophylla* e *P. edulis edulis* nativo) e um híbrido interespecífico (*P. coccinea* X *P. setacea*) a uma população de *Meloidogyne incognita* e uma de *M. javanica* sob condições de casa-de-vegetação. Foram conduzidos 2 experimentos em blocos ao acaso sob um arranjo de parcelas subdivididas. Mudas com 90 dias, obtidas a partir de sementes e estacas, foram inoculadas com os nematóides e avaliadas 90 dias após a inoculação. Foram avaliados comprimento de planta, peso de matéria fresca e seca da parte aérea, peso fresco de raiz, número de galhas por planta, número de massas de ovos por galha, a população final e o fator de reprodução do nematóide. De maneira geral o nematóide influenciou significativamente o desenvolvimento vegetativo das diferentes espécies, principalmente *M. incognita*, que apresentou maior taxa de multiplicação e, em geral, causou redução do crescimento vegetativo das plantas. Tomando o fator de reprodução como base para classificar o nível de resistência dos genótipos estudados, verificou-se que as espécies comerciais, *P. setacea*, *P. odontophylla*, *P. edulis* nativo e o híbrido *P. coccinea* X *P. setacea* se comportaram como resistentes a *M. incognita*, enquanto que todos os genótipos estudados se apresentaram como resistentes a *M. javanica*.

Palavras-chave: *Passiflora*, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, resistência.

# REACTION OF *Passiflora* spp. TO *Meloidogyne incognita* AND TO *Meloidogyne javanica*

## ABSTRACT

The identification of sources of disease resistance is a basic and important step required by plant breeding programs, therefore this experiment intend to evaluate the reaction of different species of passion fruit, including commercial genotypes (four progenies of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* and *P. alata*), wild species (*P. amethystina*, *P. setacea*, *P. nitida*, *P. serratodigitata*, *P. coccinea*, *P. caerulea*, *P. gibertii*, *P. odontophylla* and native *P. edulis edulis* nativo) and one interspecific hybrid (*P. coccinea* X *P. setacea*) to one population of *Meloidogyne incognita* and one of *Meloidogyne javanica* under greenhouse conditions. Two experiments were carried out applying an experimental randomized design with split-plot arrangement. Plants with 90 days obtained from seeds and cuttings were inoculated and evaluated 90 days after inoculation. For the evaluation were included: plant development parameters (plant length, fresh and dry shoot weight, and fresh root weight); the numbers of galls per plant; the number as egg masses per gall; final nematode population and the reproduction factor. In general, the nematode influenced significantly plant development. Higher values of the reproduction factor was observed for *M. incognita*, which was responsible for considerable reduction in plant growth. Considering the reproduction factor as measure to classify the levels of plant resistance, commercial genotypes, *P. setacea*, *P. odontophylla*, *P. edulis* native and hybrid *P. coccinea* X *P. setacea* were resistant to *M. incognita*, while all genotypes in this study behaved as resistant to *M. javanica*.

Key words: *Passiflora*, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, resistance.

## Introdução

O cultivo do maracujazeiro é recente no Brasil, tendo adquirido importância a partir da década de 70.

Apesar de o Brasil apresentar-se como maior produtor mundial de maracujá, desde 1995 (Agrianual, 2004), o nível tecnológico da cultura ainda é baixo. Entre as várias causas, está o sistema adotado para a propagação da planta via sementes. Sem fornecedores comerciais, a maioria dos produtores retira sementes de frutos dos seus próprios pomares, a baixo custo, sem os critérios de seleção que poderiam elevar a produtividade. Esse sistema de produção de mudas resulta na elevada variabilidade dos pomares, os problemas são ampliados com a auto-incompatibilidade presente no maracujá. Assim, a propagação vegetativa possibilita a perpetuação dos clones mais produtivos e uniformes (Meletti *et al.*, 1992).

Outro fator que caracteriza o baixo nível tecnológico do maracujazeiro-azedo no Brasil é a baixa produtividade, a qual se deve, em grande parte, aos problemas fitossanitários, dos quais as doenças provocadas por patógenos de solo estão entre as economicamente mais importantes. Em função dos problemas fitossanitários a vida útil do maracujazeiro está se reduzindo a cada ano (Meletti & Bruckner, 2001).

Segundo Cereda & Papa (1989), a via assexual encurta a fase juvenil da planta, antecipando a produção. Então, a precocidade conferida pela estaquia seria fundamental para se obter boas produtividades.

A enxertia apresenta vantagens, tais como a conservação das características da planta-mãe e o controle de doenças (Ruggiero, 1991).

Considerando que várias espécies silvestres de *Passiflora* têm apresentado resistência a doenças provocadas por patógenos de solo (Junqueira *et al.*, 2002), a sua utilização como porta-enxerto seria uma alternativa de controle de doenças provocadas por nematóides.

Há diversos registros sobre a formação de galhas em algumas espécies de maracujá (Mc Sorley, 1981; Klein *et al.*, 1984; Cohn & Duncan, 1990). Estudos de Ponte (1976) mostraram que com base em índice de massas de ovos e número de galhas, que *P. edulis* era suscetível ao nematóide de galhas. De acordo com resultados de testes feitos por Kirby (1978), plantas de *P. edulis* f. *flavicarpa* inoculadas com *M. incognita* e *M. javanica* apresentaram galhas, mas não se evidenciou a reprodução do nematóide. Entre as espécies silvestres, Silva Junior *et al.* (1988) verificaram em seus estudos que *P. macrocarpa* Mast. se mostrou resistente a *M. incognita*. Segundo Klein *et al.* (1984), as espécies *P. serratodigitata*, *P. maliformis* L. e *P. alata* mostraram-se suscetíveis, enquanto *P. caerulea* e *P. edulis*, como resistentes. Segundo relatos de Mc Sorley (1981) *P. quadrangulares* L. apresenta-se como hospedeira de *Meloidogyne* spp. Portanto, fazem-se necessários estudos mais aprofundados para comprovar a patogenicidade e a condição de diferentes espécies de maracujazeiro como suscetíveis ou hospedeiras.

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo verificar a reação de diferentes espécies de *Passiflora*, incluindo progênies de maracujazeiro-azedo, um acesso de maracujazeiro doce, nove espécies silvestres e um híbrido interespecífico, quanto à ação de duas populações dos nematóides de galhas, uma de *Meloidogyne incognita* e uma de *Meloidogyne javanica*.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, no período de março de 2005 a janeiro de 2006. O inóculo das populações de *M. incognita* e *M. javanica* foram inicialmente obtidos de cana-de-açúcar e de amendoim, respectivamente, e, em seguida, foram multiplicados em tomate cultivar Santa Clara sob condições de casa-de-vegetação.

Estacas de plantas da coleção de maracujazeiros da Fazenda Água Limpa (FAL) da Universidade de Brasília, localizada na parte sul do Distrito Federal, e da coleção de maracujazeiros da Embrapa Cerrados (CPAC), localizada em Planaltina, DF, foram coletadas em maio de 2005. Entre elas, estacas de nove espécies silvestres do gênero *Passiflora* (*P. serratodigitata*, *P. coccinea*, *P. setacea*, *P. amethystina*, *P. nitida*, *P. caerulea*, *P. gibertii*, *P. odontophylla*, *P. edulis edulis* nativo), estacas de um híbrido (*P. coccinea* x *P. setacea*), estacas de *P. alata* e estacas de diferentes genótipos de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (Yellow Master FB 200, MAR 12, RC-3 e Gigante amarelo) (Tabela 1).

Foram coletadas estacas com três nós e um par de folhas em sua parte superior. Em seguida, foram transportadas em sacos plásticos para câmara úmida. As estacas foram tratadas com o fitohormônio ácido indolbutírico (AIB), na concentração de 2000 ppm; 1g de AIB foi diluído em 30ml de álcool etílico. Na seqüência, acrescentou-se 470 ml de água destilada. Esse tratamento das estacas foi feito por imersão das mesmas em um Becker contendo a solução de fitohormônio por minuto, após o corte da base da estaca em forma de bisel, eliminando, assim, a parte oxidada e para facilitar a penetração do hormônio. Logo após esse tratamento, as estacas foram enterradas em bandejas de poliestireno expandido com 72 células piramidadas invertidas (120 ml/célula) e preenchidas com substrato Plantimax®. As estacas

foram acondicionadas em casa-de-vegetação e mantidas sob nebulização em câmara úmida. A umidade relativa variou entre 80 e 100% e a temperatura variou entre 18 e 25°C.

Também foram plantadas sementes das espécies em estudo de maracujazeiro, que foram acondicionadas sob a temperatura de 15 a 28°C e umidade de 30 a 90%.

As mudas obtidas a partir de estacas, foram mantidas por 90 dias em câmara úmida para enraizamento, foram transplantadas para sacos plásticos de um litro, contendo 50% de areia grossa e 50% de Latossolo Vermelho Escuro. Esse substrato recebeu adubação, calagem e foi autoclavado.

As mudas de sementes foram transplantadas, 70 dias após a germinação, para sacos plásticos de 1 litro, com o mesmo substrato acima.

O preparo do inóculo se deu a partir da metodologia de Hussey & Barker (1973), modificada por Bonetti (1981). As raízes de tomateiro com galhas foram cortadas em pedaços de aproximadamente 0,5 cm de comprimento e foram trituradas em liquidificador por 30 segundos em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 0,5%. A seguir, foi vertida a suspensão em peneira de 60 mesh e depois em uma peneira de 500 mesh de abertura, que foi lavada com água de torneira. Os ovos que ficaram retidos na última peneira foram recolhidos.

Após o transplante, fez-se a inoculação das plantas de maracujazeiros com *M. incognita* e com *M. javanica*, utilizando-se 5000 ovos de cada nematóide por planta.

O teste foi conduzido em delineamento em blocos ao acaso, com 4 repetições e 6 plantas por unidade experimental, em arranjo de parcela subdividida, sendo as parcelas formadas pelas espécies de nematóides e controle e subparcelas pelas progênes. As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação sob temperatura que variou de 18 a 29°C e umidade, de 30 a 90%.

Diante da grande perda de mudas de maracujazeiro via estaquia, devido às condições de estresse, como a presença de *Colletotrichum gloeosporioides*, assim como a baixa taxa de

enraizamento (Anexo), fez-se necessária a elaboração de dois experimentos em diferentes datas, sendo o segundo experimento (16/12/2005) feito e avaliado um mês (16/11/2005) depois do primeiro, já que houve a necessidade de reposição de material. No primeiro experimento foram avaliadas sete espécies de maracujazeiro silvestre [*P. serratodigitata* (estaca e semente), *P. coccinea* (semente), *P. setacea* (estaca), *P. amethystina* (estaca e semente), *P. nitida* (estaca), *P. caerulea* (estaca), *P. gibertii* (estaca)], quatro genótipos de *P. edulis* f. *flavicarpa* (Yellow Master FB 200, MAR 12, RC-3 e Gigante Amarelo; via sementes) e *P. alata* (semente). O segundo experimento avaliou três espécies de *Passiflora* (*P. edulis edulis* nativo (semente), *P. odontophylla* (semente), *P. coccinea* (estaca)] e um híbrido interespecífico *P. coccinea* X *P. setacea* (estaca).

O experimento foi avaliado 90 dias após a inoculação e os parâmetros utilizados para avaliar a reação dos maracujazeiros em relação às populações de *M.javanica* e *M.incognita* foram: comprimento da planta, peso fresco da parte aérea, peso seco da parte aérea, peso fresco da raiz, número de galhas/planta, número de massas de ovos/galha e o fator de reprodução, que foi calculado dividindo-se a população final de nematóides no solo e nas raízes pela população inicial que foi utilizada na inoculação.

Para a extração de formas ativas dos nematóides utilizou-se o método de flutuação-sedimentação-peneiramento (Flegg & Hopper, 1970). A partir da amostra de solo homogeneizada, retirou-se a quantidade de 300cm<sup>3</sup> de solo, que foi colocada em um balde, onde se adicionou água. Mexeu-se bem o solo com a água para que os torrões se desfizessem, liberando-se assim os nematóides para a suspensão, a qual ficou em repouso por um minuto. Então, verteu-se essa suspensão através de uma peneira de malha de 60 *meshes* e depois através de uma peneira de 400 *meshes*. Recolheram-se os nematóides em pequenos volumes de suspensão que foram centrifugados de acordo com o método de Jenkins (1964). Utilizou-se a rotação de

3000 rpm por cinco minutos, descartou-se o sobrenadante, e aos sedimentos que ficaram no fundo do tubo da centrífuga contendo os nematóides adicionou-se solução de sacarose (500cm<sup>3</sup> de sacarose/litro de solução) e centrifugou-se novamente a uma velocidade de 1500 rpm por um minuto. Recolheu-se então, o sobrenadante, que foi vertido e lavado em uma peneira de 400 *meshes* de onde se recolheu cerca de 20 ml de suspensão que continha os nematóides.

Reduziu-se o volume da suspensão para a metade e adicionou-se à suspensão volume equivalente do fixador de Golden 2X (16 partes de formalina, 4 partes de glicerina e 80 partes de água).

A metodologia utilizada para a avaliação do número de galhas por planta se baseou na contagem das mesmas.

Para verificar a presença de massas de ovos por galha na superfície das raízes, utilizou-se a coloração das mesmas com fucsina ácida. As raízes foram mergulhadas em solução de fucsina ácida, ficando imersas por aproximadamente cinco minutos e depois lavadas em água corrente. Com isso as massas de ovos apareciam avermelhadas, facilitando assim sua contagem.

Para a extração de ovos, utilizou-se a metodologia de Hussey & Barker (1973), modificada por Bonetti (1981). Os ovos em suspensão, obtidos após a extração, foram guardados em frascos com fixador Golden 1X para que se fizesse a posterior contagem com três repetições partir de uma alíquota de 1 ml dessa suspensão.

As análises estatísticas foram realizadas a partir da utilização do *software* SANEST, de autoria de Zonta & Machado (1995). Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se para o teste de F o nível de 5% de probabilidade. As médias dos fatores foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Também foram feitas análises de correlação entre todas as variáveis avaliadas, baseando-se na significância de seus coeficientes. A classificação de intensidade da correlação para  $p \leq 0,01$ , considerou-se muito forte ( $r \pm 0,91$  a  $\pm 1,00$ ), forte ( $r \pm 0,71$  a  $\pm 0,90$ ), média ( $r \pm 0,51$  a  $\pm 0,70$ ) e fraca ( $r \pm 0,31$  a  $\pm 0,50$ ), de acordo com Gonçalves & Gonçalves (1985), citados por Guerra & Livera (1999).

Tabela 1 – Genótipos de *Passiflora* e procedência das mudas inoculadas com uma população de *Meloidogyne incognita* e uma de *Meloidogyne javanica*

Espécie/genótipo	Acesso/Código CPAC	Muda obtida por estaca	Muda obtida por semente
<i>P. amethystina</i>	CPAC MJ-13-01	X	X
<i>P. setacea</i>	CPAC MJ 12-01	X	
<i>P. nitida</i>	CPAC MJ 01-18	X	
<i>P. serratodigitata</i>	CPAC MJ 11-01	X	X
<i>P. caerulea</i>	CPAC MJ 14-01	X	
<i>P. gibertii</i>	CPAC MJ 22-01	X	
<i>P. coccinea</i>	CPAC MJ 08-02	X	X
<i>P. coccinea</i> X <i>P. setacea</i>	Híbrido	X	
<i>P. odontophyla</i>	CPAC MJ 09-01		X
<i>P. alata</i>	“Comercial”		X
<i>P. edulis</i> nativo	CPAC MJ 21-01		X
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Gigante amarelo		X
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Yellow master FB 200		X
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	MAR-12		X
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	RC-3		X

## Resultados

No primeiro ensaio houve efeito significativo dos nematóides, das progênies e da interação nematóide *versus* progênie em todos os parâmetros avaliados (Tabela 2 e 3).

No segundo ensaio, houve efeito significativo das progênies na altura de plantas, no peso da matéria fresca e seca da parte aérea, no peso da matéria fresca da raiz. Houve também efeito significativo dos nematóides no peso da matéria fresca e seca da parte aérea e no número de massas de ovos (Tabela 4), bem como efeito significativo dos nematóides, das progênies e da interação nematóide *versus* progênie na quantidade de galhas, população final de nematóides e fator de reprodução (Tabela 5).

Os resultados do primeiro experimento mostraram que, em geral, houve redução do comprimento das plantas inoculadas com as duas espécies de nematóides, sendo essa redução mais acentuada nas plantas inoculadas com *M. incognita* (Tabelas 6), com exceção para a espécie *P. setacea*, que apresentou pequeno aumento do comprimento das plantas inoculadas com *M. incognita* e para a espécie *P. gibertii*, que apresentou aumento do comprimento para plantas inoculadas com *M. javanica*, mas, para ambas, o aumento não foi significativo. No segundo ensaio, as plantas inoculadas apresentaram redução do comprimento quando comparadas com as plantas não-inoculadas, sendo essa redução mais acentuada para as plantas inoculadas com *M. incognita* em relação a *M. javanica*, porém não significativa (Tabela 7).

Em geral, para o primeiro experimento, as plantas inoculadas apresentaram redução do peso de matéria fresca da parte aérea (Tabelas 8), com exceção para as progênies de maracujazeiro azedo Gigante Amarelo e MAR-12 e para as espécies *P. serratodigitata* (estaca) e *P. gibertii* (estaca), os quais apresentaram aumento de peso da matéria fresca. Quanto ao segundo experimento, não houve interação significativa entre nematóides e

progênies, mas, considerando a média para nematórides, houve redução de peso da matéria fresca para as plantas inoculadas (Tabela 9).

No primeiro experimento, houve, em geral, redução de peso de matéria seca da parte aérea das plantas que foram inoculadas em relação às não-inoculadas (Tabela 10), com exceção para os genótipos Gigante Amarelo e para RC-3 e para as espécies *P. nitida*, *P. serratodigitata* (estaca) e *P. gibertii*. Em relação ao segundo experimento, também não houve diferença significativa entre o peso de matéria seca e as espécies de nematóides, sendo observada, em geral, redução de peso seco das plantas inoculadas, principalmente *M. javanica* (Tabela 11).

Para a maioria das plantas inoculadas no primeiro experimento houve redução de peso fresco de raiz (Tabelas 12), com exceção para as progênies Gigante Amarelo e MAR-12, inoculados com *M. javanica*, e para as espécies *P. setacea* e *P. serratodigitata*, inoculados com *M. incognita* e *M. javanica*, e com *M. javanica*, respectivamente. De acordo com os resultados do segundo experimento, verificou-se, em geral, tendência de redução do peso fresco de raiz como reação da planta na presença do nematóide, exceto para a espécie *P. coccinea*, que apresentou aumento do peso fresco de raiz para plantas inoculadas com *M. incognita* e com *M. javanica*, enquanto que para o híbrido *P. coccinea* X *P. setacae*, houve aumento do peso fresco de raiz apenas para plantas inoculadas com *M. incognita* (Tabela 13).

Todas as espécies inoculadas de maracujazeiro desenvolveram galhas até os 90 dias após a inoculação. No primeiro experimento observou-se maior formação de galhas nas plantas inoculadas com *M. incognita*, com exceto para *P. amethystina* (semente), a qual apresentou maior quantidade de galhas quando inoculada com *M. javanica*. As espécies que apresentaram menor quantidade de galhas foram os genótipos de maracujazeiro azedo e as espécies *P. alata* (Figura 3) e *P. coccinea*. As que apresentaram maior quantidade de galhas quando inoculadas com *M. incognita*, foram: *P. nitida*, *P. serratodigitata*, *P. amethystina*

(estaca) (Tabela 10). Para as plantas inoculadas com *M. javanica*, as espécies que apresentaram maior quantidade de galhas foram *P. amethystina* (semente e estaca) e *P. nitida*. Plantas das progênies de maracujazeiro azedo, de *P. serratodigitata* e de *P. alata* apresentaram menor quantidade de galhas quando inoculadas com *M. javanica*. No segundo experimento, verificou-se que a espécie *P. odontophylla* apresentou a menor quantidade de galhas para plantas inoculadas com *M. incognita* e *M. javanica*. Em contrapartida, *P. edulis edulis* nativo apresentou a maior quantidade de galhas para plantas inoculadas com *M. incognita* e *P. coccinea* para plantas inoculadas com *M. javanica* (Tabela 11). Em geral, observou-se que as espécies *P. amethystina*, *P. serratodigitata* e *P. nitida* inoculadas com *M. incognita* apresentaram maior número de galhas, as quais apresentaram galhas maiores. Já os genótipos de maracujazeiro azedo, *P. alata* e *P. coccinea* apresentaram galhas em menor quantidade, sendo essas menores se comparadas às citadas anteriormente. Já as espécies *P. edulis edulis* nativo e *P. setacea* apresentaram muitas galhas, porém pequenas.

As plantas de *P. setacea*, dos genótipos de maracujazeiro azedo e de *P. alata*, que foram inoculadas com *M. incognita*, apresentaram os menores números de massas de ovos por galha, enquanto as espécies *P. serratodigitata*, *P. gibertii*, *P. caerulea* e *P. nitida* foram as que apresentaram maior valor. Para as plantas inoculadas com *M. javanica*, as progênies Yellow Master e MAR-12, *P. gibertii*, *P. coccinea* e *P. amethystina* (estaca) foram as que apresentaram maiores valores de massas de ovos/galha, enquanto o genótipo Gigante Amarelo, *P. serratodigitata* (semente) e *P. nitida* apresentaram os menores valores (Tabela 16). No segundo experimento, ocorreu formação de massas de ovos em todas as espécies avaliadas, sendo maior em *P. coccinea*. Não houve diferença significativa entre as plantas inoculadas com as diferentes espécies de *Meloidogyne* em relação à quantidade de massas de ovos por galha (Tabelas 17).

Quanto aos valores de população final das espécies de *Meloidogyne*, no primeiro experimento (Tabelas 18), verificou-se que as espécies *P. serratodigitata* (semente e estaca), *P. amethystina* (semente e estaca), *P. nitida*, *P. coccinea*, *P. caerulea* e *P. gibertii* apresentaram valores superiores aos valores de população inicial quando inoculadas com *M. incognita*. Ou seja, somente essas espécies apresentaram fator de reprodução superior a 1. Os valores de população final/planta de *M. incognita* variaram de 42,50 para a progênie Yellow Master a 88.866,94 para *P. serratodigitata* (estaca). Todas as progênies de maracujazeiro azedo, *P. alata* e *P. setacea*, apresentaram fator de reprodução menor que 1. Todas as plantas inoculadas com *M. javanica* apresentaram fator de reprodução inferior a 1 (Tabela 20). Considerando o fator de reprodução do segundo experimento, observou-se que, entre as espécies avaliadas, apenas *P. coccinea* apresentou fator de reprodução maior que 1 para as plantas inoculadas com *M. incognita* e nenhuma espécie apresentou esse valor superior a 1 quando inoculadas com *M. javanica* (Tabela 21).

Segundo os critérios de Canto-Saenz (1985), plantas que apresentem fator de reprodução inferior a 1 são consideradas resistentes, portanto, verificou-se que as espécies comerciais (4 progênies de maracujazeiro azedo e *P. alata*), *P. setacea*, *P. odontophylla*, *P. edulis* nativo e o híbrido *P. coccinea* X *P. setacea* se comportaram como resistentes a *M. incognita*, e todas as espécies em estudo comportaram como resistentes a *M. javanica*.

Levando em conta as correlações feitas houve, em geral, correlação negativa entre os parâmetros de desenvolvimento vegetativo (comprimento de planta, peso de matéria fresca e seca da parte aérea e peso fresco de raiz) e os parâmetros relacionados à multiplicação dos nematóides (número de galhas por planta, número de massas de ovos por galha, população final e fator de reprodução). Ou seja, quanto maior a facilidade de multiplicação do nematóide, maior é a influência sobre o desenvolvimento vegetativo de plantas de *Passiflora* ssp. Houve,

em geral, correlação positiva entre os parâmetros de desenvolvimento vegetativo. Assim como entre os parâmetros relacionados à multiplicação dos nematóides (Tabelas 18 e 19).

Para as três espécies de *Passiflora* (*P. amethystina*, *P. serratodigitata* e *P. coccinea*) que foram feitos testes com plantas obtidas a partir de estacas e sementes, verificou-se que, em geral, aquelas oriundas de estaquia apresentaram maior quantidade de galhas/planta (Figuras 1 e 2), e devido à alta capacidade de reprodução do nematóide foram observados maiores valores de fator de reprodução.

## **Discussão**

De maneira geral, ocorreu supressão do crescimento das plantas inoculadas com *M. incognita* e *M. javanica*, assim como redução do peso fresco e seco de parte aérea, e queda no peso de raiz em decorrência da presença do nematóide. Segundo Hussey (1985), os efeitos de nematóides do gênero *Meloidogyne* sobre o crescimento das plantas, em geral, são variados e complexos. De maneira geral, esses efeitos relacionam-se à alteração na absorção e translocação de água e nutrientes, podendo retardar o crescimento de raiz, contribuindo para a supressão do desenvolvimento da planta e comprometendo seu crescimento, sem haver destruição direta dos tecidos das raízes. Loveys & Bird (1973) avaliaram a reação de plântulas de tomate a partir da infecção de juvenis de *M. javanica* e observaram decréscimo de massa fresca e área foliar dessas plântulas. Rossi & Montaldi (2004) e Ahuja *et al.* (1985) verificaram redução de peso seco e peso fresco de parte aérea, bem como do porte de plantas de rabanete em decorrência da presença de nematóides de galhas. Wallace (1974) avaliou a reação de plântulas de tomate a *M. javanica*, e a partir dos resultados concluiu que os

nematóides e as galhas formadas por eles prestavam o papel de dreno nas raízes, afetando, então, o crescimento da parte aérea.

Considerando estudos feitos com maracujazeiros, Sharma *et al.* (2001) avaliaram o efeito de *M. javanica* sobre o crescimento de um híbrido de *P. edulis* f. *flavicarpa* (EC-2) mostraram que houve redução de tamanho de plantas inoculadas em relação às não-inoculadas, assim como diminuição do peso de matéria fresca e do peso de matéria seca da parte aérea das plantas em todos os níveis de inóculo. El-Moor (2002), a partir de estudos baseados na avaliação da reação de progênies de *P. edulis* f. *flavicarpa* a nematóides do gênero *Meloidogyne*, verificou que houve diferença significativa entre plantas inoculadas, considerando parâmetros como comprimento de plantas, número de galhas por planta, peso fresco, peso seco, entre outros.

Considerando que algumas plantas das espécies em estudo, que foram inoculadas, apresentaram aumento de comprimento, de peso fresco e seco de parte aérea e peso fresco de raiz, estudos de Sharma *et al.* (2003), os quais se basearam em avaliação de reação de 10 genótipos de maracujazeiro-azedo ao nematóide *Rotylenchulus reniformis* em condições de casa-de-vegetação, obtiveram como resultados aumento do crescimento vegetativo (comprimento de parte aérea e peso seco da parte aérea e peso fresco de raiz). Situação semelhante ocorreu em plântulas de tomate inoculadas com *M. incognita*. Segundo Christie (1959), um dos possíveis mecanismos que levaria ao aumento de crescimento de plantas na presença do nematóide seria a formação excessiva de raízes laterais, o que favoreceria a absorção de maior quantidade de nutriente. Para Wallace (1971), baixos níveis de infecção freqüentemente estimulam o crescimento da planta.

Assim como neste estudo, Santos *et al.* (2002) ao avaliarem a reação de genótipos de maracujazeiro azedo ao nematóide de galhas, verificaram a formação de poucas galhas por

planta. El-Moor (2002) também verificou pequena quantidade de galhas por planta em seu estudo que avaliou genótipos de maracujazeiro azedo.

Para algumas espécies (*P. edulis edulis* nativo e *P. setacea*) houve a formação de um número relativamente alto de galhas, porém de tamanho reduzido, com baixa quantidade de massas de ovos por galha e baixo fator de reprodução. Estudos de Carneiro *et al.* (2005) mostram que a avaliação de genótipos de algodoeiro para *M. incognita*, a reprodução desse nematóide se mostrou baixa, apesar de ter havido a formação de galhas, o que levou a crer que houve penetração dos nematóides, apesar de ter havido falha na manutenção das células gigantes.

Sharma *et al.* (2005) avaliaram a reação de espécies de *Passiflora* a *M. incognita* em casa-de-vegetação incluindo *P. caerulea*, *P. gibertii* e *P. nitida*, e verificaram que das três espécies acima somente *P. nitida* apresentou fator de reprodução superior a 1. Quanto à reação das espécies a *M. javanica*, verificaram que *P. gibertii* e *P. nitida* apresentaram valores de fator de reprodução inferior a um, se assemelhando assim aos resultados obtidos neste estudo. Sharma *et al.* (2001), a partir de estudos voltados para a avaliação da reprodução de *M. javanica* em maracujazeiro azedo, verificaram que essa espécie de nematóide não apresentou facilidade de reprodução nesta espécie, ou seja, apresentou baixo fator de reprodução, sendo o mesmo verificado neste trabalho. Resultados semelhantes foram obtidos por Sharma *et al.* (2003), pois se verificou população final de *M. javanica* bem inferior à inicial quando inoculada em maracujazeiro azedo.

Considerando as correlações feitas, segundo Hallauer & Miranda Filho (1981), as mesmas são importantes no melhoramento genético, uma vez que medem o grau de associação, genético ou ambiental, entre dois ou mais caracteres. Portanto, é possível verificar que houve alta porcentagem de correlação significativa entre os parâmetros avaliados, já que houve, no

primeiro experimento, índice de 85,72% de correlação significativa e de 64,29% de correlação significativa no segundo experimento.

Portanto, verificou-se com o presente trabalho a influência da presença dos nematóides de galhas sobre o desenvolvimento de espécies de *Passiflora*, assim como o potencial desses nematóides de se reproduzirem nessas espécies, sendo esse tipo de informação bastante útil em programas de melhoramento que visem a exploração de características agronômicas desejáveis, em especial voltadas para obtenção de material resistente a doenças.

## Conclusões

*Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* de maneira geral, reduziram o desenvolvimento vegetativo das plantas das espécies de *Passiflora*, exceto para alguns casos, nos quais houve estímulo para o desenvolvimento de plantas inoculadas com *M. javanica*.

Verificou-se alto índice de significância para as correlações feitas entre comprimento de planta, peso de matéria seca e fresca da parte aérea, peso de matéria fresca de raiz, número de galhas por planta, número de massas de ovos por galha, população final e fator de reprodução.

Houve melhor multiplicação de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* em plantas de *Passiflora* obtidas de estacas.

Verificou-se que as espécies comerciais, *P. setacea*, *P. odontophylla*, *P. edulis* nativo e o híbrido *P. coccinea* X *P. setacea* se comportaram como resistentes a *M. incognita*.

Todas as espécies de *Passiflora* em estudo comportaram-se como resistentes a *M. javanica*.

Tabela 2 – Análise de variância dos parâmetros comprimento de plantas, peso de matéria fresca de parte aérea (PMFPA), peso de matéria seca da parte aérea (PMSPA) e peso fresco de raiz de plantas de *Passiflora* spp. (9 espécies silvestres, um híbrido interespecífico, um acesso de *P. alata* e 4 genótipos de *P. edulis* f. *flavicarpa*) inoculadas com *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* (1<sup>o</sup> experimento)

Causas de Variação	Comprimento de Plantas*			PMFPA**		PMSPA***		Peso fresco raiz****	
	G.L.	Q.M.	Prob.>F	Q.M.	Prob.>F	Q.M.	Prob.>F	Q.M.	Prob.>F
Repetições	3	21445,0075	0,00515	785,5083	0,00557	52,7586	0,09709	97,7703	0,11738
Nematóides	2	29330,6069	0,00333	2908,6813	0,00053	144,0198	0,0156	434,5986	0,00693
Resíduo (A)	6	1564,116		59,4356		15,759		32,6431	
Parcelas	11								
Tratamentos	13	15166,2069	0,00001	1902,2831	0,00001	127,0178	0,00001	205,0228	0,00001
Nemat. X Trat.	26	3027,4931	0,00083	423,5287	0,00067	23,3194	0,01201	49,4664	0,00948
Resíduo (B)	117	1238,1269		169,9476		12,3755		25,6021	
Total	167								

\*Média Geral: 119,2838

\*\*Média Geral: 34,0180

\*\*\* Média Geral: 8,8761

\*\*\*\* Média Geral: 15,4582

Coefficiente de Variação (A): 33,155%

Coefficiente de Variação (A): 22,66%

Coefficiente de Variação (A): 44,72%

Coefficiente de Variação (A): 36,96%

Coefficiente de Variação (B): 29,499%

Coefficiente de Variação (B): 38,322%

Coefficiente de Variação (B): 39,633%

Coefficiente de Variação (B): 32,732%

Tabela 3 – Análise de variância dos parâmetros relacionados à populações de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* inoculadas em plantas de *Passiflora* spp.(9 espécies silvestres, um híbrido interespecífico, um acesso de *P. alata* e 4 genótipos de *P. edulis* f. *flavicarpa*) (1<sup>o</sup> experimento)

Causas de Variação	G.L.	Número Galhas/planta*		Número Massas de ovos/galhas**		População final***		Fator de reprodução****	
		Q.M.	Prob.>F	Q.M.	Prob.>F	Q.M.	Prob.>F	Q.M.	Prob.>F
Repetições	3	9,0813	0,239	0,0097	0,26302	4344,211	0,3953	0,3094	0,4284
Nematóides	2	318,3152	0,00034	0,0957	0,00417	127202,9	0,00099	5,09135	0,00376
Resíduo (A)	6	4,9165		0,0056		3697,719		0,2876	
Parcelas	11								
Tratamentos	13	20,5354		0,0087	0,00008	9972,065	0,00001	0,5295	0,00001
Nemat. X Trat.	26	10,566	0,00001	0,0083	0,00001	8655,711	0,00001	0,506	0,00001
Resíduo (B)	117	2,5477	0,00001	0,0022		488,9832		0,0403	
Total	167								

\*Média Geral: 12,1591

Coeficiente de Variação (A): 18,22%

Coeficiente de Variação (B): 13,1275

\*\* Média Geral: 3,2036

Coeficiente de Variação (A): 2,33%

Coeficiente de Variação (B): 1,468%

\*\*\* Média Geral: 62,4657

Coeficiente de Variação (A): 97,34

Coeficiente de Variação (B): 35,4%

\*\*\*\* Média Geral: 3,3452

Coeficiente de Variação (A): 16,03%

Coeficiente de Variação (B): 6,005%

Tabela 4 – Análise de variância dos parâmetros comprimento de plantas, peso de matéria fresca de parte aérea (PMFPA), peso de matéria seca da parte aérea (PMSPA) e peso de raiz plantas de *Passiflora* spp. (9 espécies silvestres, um híbrido interespecífico, um acesso de *P. alata* e 4 genótipos de *P. edulis* f. *flavicarpa*) inoculadas com *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* (2<sup>o</sup> experimento)

Causas de Variação	G.L.	Comprimento de Plantas*		PMFPA**		PMSPA***		Peso fresco raiz****	
		Q.M.	Prob.>F	Q.M.	Prob.>F	Q.M.	Prob.>F	Q.M.	Prob.>F
Repetições	3	2369,2644	0,30983	28,331	0,52374	3,3666	0,60438	7,7982	0,72432
Nematóides	2	5489,5204	0,10056	799,7656	0,00161	36,0836	0,02613	4,915	0,7616
Resíduo (A)	6	1592,5464		29,8989		5,0496		17,0766	
Parcelas	11								
Tratamentos	3	9988,626	0,00025	2541,557	0,00001	155,5371	0,00001	224,489	0,00001
Nemat. X Trat.	6	655,8308	0,67723	180,0771	0,9188	17,1771	0,06064	20,7742	0,00895
Resíduo (B)	27	980,4951		87,5348		7,3802		5,6976	
Total	47								

\*Média Geral: 98,777

\*\* Média Geral: 23,1633

\*\*\* Média Geral: 6,837

\*\*\*\* Média Geral: 11,6258

Coefficiente de Variação (A): 40,40%

Coefficiente de Variação (A): 23,60%

Coefficiente de Variação (A): 32,86%

Coefficiente de Variação (A): 35,544%

Coefficiente de Variação (B): 31,70%

Coefficiente de Variação (B): 40,391%

Coefficiente de Variação (B): 39,729%

Coefficiente de Variação (B): 20,532%

Tabela 5 – Análise de variância dos parâmetros relacionados à populações de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* inoculadas em plantas de *Passiflora* spp. (9 espécies silvestres, um híbrido interespecífico, um acesso de *P. alata* e 4 genótipos de *P. edulis* f. *flavicarpa*) (2<sup>o</sup> experimento)

Causas de Variação	G.L.	Número Galhas/planta*		Número Massas de ovos/galha**		População final***		Fator de reprodução****	
		Q.M.	Prob.>F	Q.M.	Prob.>F	Q.M.	Prob.>F	Q.M.	Prob.>F
Repetições	3	2,2849	0,43324	0,0023	0,32839	212,7456	0,79619	0,0081	0,65439
Nematóides	2	35,583	0,00435	0,0157	0,01426	6830,8453	0,01039	0,11156	0,02121
Resíduo (A)	6	2,1512		0,0016		618,624		0,0141172	
Parcelas	11								
Tratamentos	13	3,6079	0,01827	0,0032	0,39599	1697,2858	0,00096	0,03832	0,00564
Nemat. X Trat.	26	3,17	0,01131	0,0043	0,2567	887,2516	0,00539	0,02756	0,00736
Resíduo (B)	117	0,91259		0,0031		219,8928		0,00726	
Total	167								

\*Média Geral: 11,140

Coefficiente de Variação (A): 13,165  
 Coeficiente de Variação (B): 8,575%

\*\* Média Geral: 3,19

Coefficiente de Variação (A): 1,274%  
 Coeficiente de Variação (B): 1,748%

\*\*\* Média Geral: 47,6571

Coefficiente de Variação (A): 52,189  
 Coeficiente de Variação (B): 31,116%

\*\*\*\* Média Geral: 3,221798

Coefficiente de Variação (A): 3,688  
 Coeficiente de Variação (B): 2,646%

Tabela 6 – Valores de comprimento de plantas de espécies de *Passiflora* inoculadas com *M. incognita*, *M. javanica* e de plantas não-inoculadas (1<sup>o</sup> experimento)

Comprimento de plantas (cm) Mudas via estaquia	Nematóides		
	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	Controle
<i>Passiflora amethystina</i>	127,81 B	181,25 AB	209,88 A
<i>Passiflora setacea</i>	78,7 A	47,25 A	78,39 A
<i>Passiflora nitida</i>	43,66 A	84,72 A	94,4 A
<i>Passiflora serratodigitata</i>	87,18 AB	114,33 A	30,66 B
<i>Passiflora caerulea</i>	87,7 B	193,3 A	154,9 A
<i>Passiflora gibertii</i>	111 A	149,06 A	132,41 A
<b>Mudas via sementes</b>			
Gigante amarelo	114,39 A	132,81 A	146 A
Yellow Master	108,63 B	112,46 A	172,96 A
#MAR-12	119,24 A	126,94 A	141,63 A
RC-3	112,14 B	132,1 AB	172,94 A
<i>Passiflora alata</i>	65,89 A	74,25 A	108,22 A
<i>Passiflora amethystina</i>	137,9 B	182,42 AB	199,62 A
<i>Passiflora coccinea</i>	55,4 B	62,19 B	136,95 A
<i>Passiflora serratodigitata</i>	82,32 B	105,22 B	191,25 A

Letras diferentes representam diferenças entre espécies de nematóides e controle pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tabela 7 – Valores de comprimento de plantas de espécies de *Passiflora* inoculadas com *M. incognita*, *M. javanica* e de plantas não-inoculadas (2<sup>o</sup> experimento)

Comprimento de parte aérea de plantas (cm)			
Médias para nematóides		Médias para genótipos	
<i>M. incognita</i>	78,85 a	<i>P. edulis</i> nativo	137,07 a
<i>M. javanica</i>	101,99 a	<i>P. odontophylla</i>	77,83 b
Controle	115,48 a	<i>P. coccinea</i> X <i>P. seaceat</i>	104,95 ab
		<i>P. coccinea</i>	75,24 b

Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 8 – Valores de peso de matéria fresca de parte aérea de plantas de espécies de *Passiflora* inoculadas com *M.incognita*, *M.javanica* e de plantas não-inoculadas (1<sup>o</sup> experimento)

Peso de matéria fresca de parte aérea (g) Mudas via estaquia	Nematóides		
	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	Controle
<i>Passiflora amethystina</i>	17,59 B	24,31 B	57,52 A
<i>Passiflora setacea</i>	17,94 A	5,84 A	20,85 A
<i>Passiflora nitida</i>	16,74 A	35,75 A	37,63 A
<i>Passiflora serratodigitata</i>	17,89 B	43,95 A	30,95 AB
<i>Passiflora caerulea</i>	10,33 A	20,89 A	24,21 A
<i>Passiflora gibertii</i>	31,95 A	57,74 B	38,74 AB
<b>Mudas via sementes</b>			
Gigante amarelo	40,12 A	59,49 A	38,39 A
Yellow Master	39,08 A	41,99 A	59,58 A
#MAR-12	49,92 A	53,2 A	52,61 A
RC-3	48,48 A	49,06 A	58,01 A
<i>Passiflora alata</i>	17,48 A	21,91 A	36,39 A
<i>Passiflora amethystina</i>	30,64 A	31,91 A	44,14 A
<i>Passiflora coccinea</i>	7,99 B	5,93 B	34,44 A
<i>Passiflora serratodigitata</i>	16,42 B	27,63 B	52,95 A

Letras diferentes representam diferenças entre espécies de nematóides e controle pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 9 – Valores de peso de matéria fresca de parte aérea de plantas de *Passiflora* inoculadas com *M.incognita*, *M.javanica* e de plantas não-inoculadas (2<sup>o</sup> experimento)

Peso de matéria fresca da parte aérea (g)			
Médias para nematóides		Médias para genótipos	
<i>M.incognita</i>	20,03 b	<i>P.edulis</i> nativo	43,11 a
<i>M.javanica</i>	18,19 b	<i>P.odontophylla</i>	8,83 c
Controle	31,25 a	<i>P.coccinea</i> X <i>P.setacea</i>	23,21 b
		<i>P.coccinea</i>	17,49 bc

Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 10 – Valores de peso seco de parte aérea de plantas de espécies de *Passiflora* inoculadas com *M.incognita*, *M.javanica* e de plantas não-inoculadas (1<sup>o</sup> experimento)

Peso de matéria seca de parte aérea (g) Mudas via estaquia	Nematóides		
	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	Controle
<i>Passiflora amethystina</i>	3,67 B	5,61 AB	10,76 A
<i>Passiflora setacea</i>	5,38 AB	1,66 B	8,53 A
<i>Passiflora nitida</i>	4,04 B	10,03 A	9,72 A
<i>Passiflora serratodigitata</i>	7,16 A	9,77 A	8,11 A
<i>Passiflora caerulea</i>	4,75 B	5,83 AB	11,49 A
<i>Passiflora gibertii</i>	16,09 A	8,45 B	11,28 A
<b>Mudas via sementes</b>			
Gigante amarelo	11,02 A	16,29 A	10,4 A
Yellow Master	9,46 A	12,08 A	14,64 A
#MAR-12	13,85 A	13,01 A	14,8 A
RC-3	11,73 A	12,89 A	12,08 A
<i>Passiflora alata</i>	4,29 A	5,73 A	8,62 A
<i>Passiflora amethystina</i>	7,37 A	8,24 A	13,14 A
<i>Passiflora coccinea</i>	1,95 A	1,34 A	5,25 A
<i>Passiflora serratodigitata</i>	4,51 A	7,43 A	10,2 A

Letras diferentes representam diferenças entre espécies de nematóides e controle pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 11 – Valores de peso seco de parte aérea de plantas de espécies de *Passiflora* inoculadas com *M.incognita*, *M.javanica* e de plantas não-inoculadas (2<sup>o</sup> experimento)

Peso de matéria seca da parte aérea (g)			
Médias para nematóides		Médias para genótipos	
<i>M.incognita</i>	6,12 ab	<i>P.edulis</i> nativo	10,09 a
<i>M.javanica</i>	5,82 b	<i>P.odontophylla</i>	2,04 c
Controle	8,56 a	<i>P.coccinea</i> X <i>P.setacea</i>	9,03 ab
		<i>P.coccinea</i>	6,18 b

Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 12 – Valores de peso fresco de raiz de plantas de espécies de *Passiflora* inoculadas com *M. incognita*, *M. javanica* e de plantas não-inoculadas (1<sup>o</sup> experimento)

Peso de matéria fresca de raiz (g) Mudas via estaquia	Nematóides		
	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	Controle
<i>Passiflora amethystina</i>	13,12 B	19,85 B	26,31 A
<i>Passiflora setacea</i>	16,4 A	3,51 A	14,53 A
<i>Passiflora nitida</i>	17,64 A	19,7 A	20,37 A
<i>Passiflora serratodigitata</i>	11,16 A	14,82 A	10,61 A
<i>Passiflora caerulea</i>	9,28 A	9,58 A	25,28 A
<i>Passiflora gibertii</i>	23,84 B	19,57 B	30,01 A
<b>Mudas via sementes</b>			
Gigante amarelo	14,67 A	20 A	18,62 A
Yellow Master	14,47 A	14,94 A	18,63 A
#MAR-12	14,62 A	17,08 A	16,75 A
RC-3	15,72 A	16,2 A	18,74 A
<i>Passiflora alata</i>	8,82 A	9,98 A	14,6 A
<i>Passiflora amethystina</i>	13,92 A	16,14 A	17,53 A
<i>Passiflora coccinea</i>	6,65 B	8,94 B	12,67 A
<i>Passiflora serratodigitata</i>	7,5 B	10,16 B	16,16 A

Letras diferentes representam diferenças entre espécies de nematóides e controle pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 13 – Valores de peso fresco de raiz de plantas de espécies de *Passiflora* inoculadas com *M. incognita*, *M. javanica* e de plantas não-inoculadas (2<sup>o</sup> experimento)

Peso de matéria fresca de raiz (g) Mudas obtidas via estaquia	Nematóides		
	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	Controle
<i>Passiflora coccinea</i> X <i>Passiflora setacea</i>	16,25 A	11,95 A	13,83 A
<i>Passiflora coccinea</i>	12,75 A	13,13 A	8,67 A
<b>Mudas obtidas via sementes</b>			
<i>Passiflora odontophylla</i>	3,74 A	5,14 A	7,9 A
<i>Passiflora edulis</i> nativo	15,83 aA	13,95 A	16,33 A

Letras diferentes representam diferenças entre espécies de nematóides e controle pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 14 – Valores de número de galhas/planta em plantas de espécies de *Passiflora* inoculadas com *M. incognita*, *M. javanica* e de plantas não-inoculadas (1<sup>o</sup> experimento)

Número de galhas/planta Mudas via estaquia	Nematóides		
	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	Controle
<i>Passiflora amethystina</i>	229,2 abA	126,08 abA	0 aB
<i>Passiflora setacea</i>	106 bcdA	18,37 cB	0 aB
<i>Passiflora nitida</i>	290,41 aA	78,24 abcB	0 aB
<i>Passiflora serratodigitata</i>	268,2 aA	6,45 cB	0 aB
<i>Passiflora caerulea</i>	157,59 abcA	14,06 cB	0 aB
<i>Passiflora gibertii</i>	99,12 bcdA	21,68 cAB	0 aB
<b>Mudas via sementes</b>			
Gigante amarelo	51,03 cdAB	7,64 cB	0 aB
Yellow Master	34,16 dAB	4,54 aB	0 aB
#MAR-12	42,12 dAB	5 cB	0 aB
RC-3	81,24 cdA	7,54 cB	0 aB
<i>Passiflora alata</i>	61,10 cdAB	20,42 cB	0 aB
<i>Passiflora amethystina</i>	170,93 abcA	187,91 aA	0 aB
<i>Passiflora coccinea</i>	93,12 cdA	54,45 bcAB	0 aB
<i>Passiflora serratodigitata</i>	110 bcdA	46,11 bcAB	0 aB

Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letra minúscula representa diferenças entre progênieis ou espécies. Letra maiúscula representa diferenças entre espécies de nematóides e controle.

Tabela 15 – Valores de número de galhas/planta em plantas de espécies de *Passiflora* inoculadas com *M. incognita*, *M. javanica* e de plantas não-inoculadas (2<sup>o</sup> experimento)

Número de galhas/planta Mudas via estaquia	Nematóides		
	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	Controle
<i>Passiflora coccinea</i> X <i>P. setacea</i>	77,96 aA	5,73 abB	0 aB
<i>Passiflora coccinea</i>	66,75 aA	42,28 aAB	0 aB
<b>Mudas via sementes</b>			
<i>Passiflora odontophylla</i>	21,24 bA	1,2 bA	0 aB
<i>Passiflora edulis</i> nativo	97,35 aA	2,11 abB	0 aB

Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letra minúscula representa diferenças entre progênieis ou espécies. Letra maiúscula representa diferenças entre espécies de nematóides e controle.

Tabela 16 – Valores de número de massas de ovos/galha em plantas de espécies de *Passiflora* inoculadas com *M. incognita*, *M. javanica* e de plantas não-inoculadas (1<sup>o</sup> experimento)

Número de massas de ovos/galha Mudas via estaquia	Nematóides		
	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	Controle
<i>Passiflora amethystina</i>	0,782 abcdeA	0,443 a AB	0 aB
<i>Passiflora setacea</i>	0,02 fB	0,074 aB	0 aB
<i>Passiflora nitida</i>	0,867 abcdA	0,05 aB	0 aB
<i>Passiflora serratodigitata</i>	1,382 aA	0,120 aB	0 aB
<i>Passiflora caerulea</i>	0,930 abcA	0,179 aB	0 aB
<i>Passiflora gibertii</i>	1,237 abA	0,703 aA	0 aB
<b>Mudas via sementes</b>			
Gigante amarelo	0,048 fB	0,008 aB	0 aB
Yellow Master	0,035 fB	0,720 aA	0 aB
#MAR-12	0,103 efB	0,530 aA	0 aB
RC-3	0,234 cdefB	0,196 aB	0 aB
<i>Passiflora alata</i>	0,159 defB	0,133 aB	0 aB
<i>Passiflora amethystina</i>	0,627 abcdefA	0,107 aB	0 aB
<i>Passiflora coccinea</i>	0,517 bcdefA	0,476 aAB	0 aB
<i>Passiflora serratodigitata</i>	0,565 bcdefA	0,017 aB	0 aB

Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letra minúscula representa diferenças entre progênies ou espécies. Letra maiúscula representa diferenças entre espécies de nematóides e controle.

Tabela 17 – Valores de número de massas de ovos/galha em plantas de espécies de *Passiflora* inoculadas com *M. incognita*, *M. javanica* e de plantas não-inoculadas (2<sup>o</sup> experimento)

Número de massas de ovos/galha			
Médias para nematóides		Médias para genótipos	
<i>M. incognita</i>	0,389 a	<i>P. edulis</i> nativo	0,085 a
<i>M. javanica</i>	0,289 a	<i>P. odontophylla</i>	0,23 a
Controle	0 b	<i>P. coccinea</i> X <i>P. setacea</i>	0,125 a
		<i>P. coccinea</i>	0,34 a

Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 18 – Valores de população final de nematóides em plantas de espécies de *Passiflora* obtidas inoculadas com *M. incognita*, *M. javanica* e de plantas não-inoculadas (1<sup>o</sup> experimento)

População final nematóides/planta Mudas via estaquia	Nematóides		
	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	Controle
<i>Passiflora amethystina</i>	37768,16 bcA	2887,97 aB	0 aB
<i>Passiflora setacea</i>	965,74 eA	43,33 aA	0 aA
<i>Passiflora nitida</i>	47018,96 bA	362,49 aB	0 aB
<i>Passiflora serratodigitata</i>	88866,94 aA	212,33 aB	0 aB
<i>Passiflora caerulea</i>	34336,66 bcA	875,08 aB	0 aB
<i>Passiflora gibertii</i>	9446,53 dA	141,87 aA	0 aB
<b>Mudas via sementes</b>			
Gigante amarelo	1023,29 eA	176,31 aA	0 aA
Yellow Master	42,5 eA	123,21 aA	0 aA
#MAR-12	263,97 eA	54,26 aA	0 aA
RC-3	1044,32 deA	0 aA	0 aA
<i>Passiflora alata</i>	3052,41 deA	0 aA	0 aA
<i>Passiflora amethystina</i>	34251,32 bcA	2044,24 aB	0 aB
<i>Passiflora coccinea</i>	6737,24 deA	1056,66 aA	0 aA
<i>Passiflora serratodigitata</i>	24296,03 cA	171,01 aB	0 aB

Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letra minúscula representa diferenças entre progênies ou espécies. Letra maiúscula representa diferenças entre espécies de nematóides e controle.

Tabela 19 – Valores de população final de nematóides em plantas de espécies de *Passiflora* obtidas inoculadas com *M. incognita*, *M. javanica* e de plantas não-inoculadas (2<sup>o</sup> experimento)

População final de nematóides Mudas via estaquia	Nematóides		
	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	Controle
<i>Passiflora coccinea</i> X <i>P. setacea</i>	4092,99 bA	1227,91 aA	0 aA
<i>Passiflora coccinea</i>	12935,3 aA	1462,87 aB	0 aB
<b>Mudas via sementes</b>			
<i>Passiflora odontophylla</i>	1825,32 bA	158,54 aA	0 aA
<i>Passiflora edulis</i> nativo	1943,33 bA	199,16 aA	0 aA

Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letra minúscula representa diferenças entre progênies ou espécies. Letra maiúscula representa diferenças entre espécies de nematóides e controle.

Tabela 20 – Valores de fator de reprodução (Pf/Pi) de plantas de espécies de *Passiflora* obtidas inoculadas com *M. incognita*, *M. javanica* e de plantas não-inoculadas (1<sup>o</sup> experimento)

População final nematóides/planta Mudas via estaquia	Nematóides		
	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	Controle
<i>Passiflora amethystina</i>	7,553 bcA	0,577 aB	0 aB
<i>Passiflora setacea</i>	0,188 eA	0,008 aA	0 aA
<i>Passiflora nitida</i>	9,401 bA	0,072 aB	0 aB
<i>Passiflora serratodigitata</i>	17,77 aA	0,043 aB	0 aB
<i>Passiflora caerulea</i>	6,867 bcA	0,174 aB	0 aB
<i>Passiflora gibertii</i>	1,886 deA	0,028 aA	0 aA
<b>Mudas via sementes</b>			
Gigante amarelo	0,202 eA	0,032 aa	0 aA
Yellow Master	0,008 eA	0,028 aA	0 aA
#MAR-12	0,052 eA	0,01 aA	0 aA
RC-3	0,207 eA	0 aA	0 aA
<i>Passiflora alata</i>	0,609 eA	0 aA	0 aA
<i>Passiflora amethystina</i>	6,849 bcA	0,407 aB	0 aB
<i>Passiflora coccinea</i>	1,347 deA	0,211 aA	0 aA
<i>Passiflora serratodigitata</i>	4,857 cdA	0,013 aB	0 aB

Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letra minúscula representa diferenças entre progênies ou espécies. Letra maiúscula representa diferenças entre espécies de nematóides e controle.

Tabela 21 – Valores de fator de reprodução (Pf/Pi) de plantas de espécies de *Passiflora* obtidas inoculadas com *M. incognita*, *M. javanica* e de plantas não-inoculadas (2<sup>o</sup> experimento)

Fator de reprodução (Pf/Pi) Mudas via estaquia	Nematóides		
	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	Controle
<i>Passiflora coccinea</i> X <i>P. setacea</i>	0,818 bA	0,245 aA	0 aA
<i>Passiflora coccinea</i>	2,586 aA	0,292 aB	0 aB
<b>Mudas via sementes</b>			
<i>Passiflora odontophylla</i>	0,364 bA	0,027 aA	0 aA
<i>Passiflora edulis</i> nativo	0,388 bA	0,039 aA	0 aA

Médias seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letra minúscula representa diferenças entre progênies ou espécies. Letra maiúscula representa diferenças entre espécies de nematóides e controle.

Tabela 22 – Matriz de correlação linear de parâmetros usados na avaliação da reação de 12 genótipos de *Passiflora* spp.(4 progênies de *P. edulis* f. *flavicarpa*, 1 acesso de *P. alata* e 7 espécies silvestres) a *Meloidogyne incognita* e a *Meloidogyne javanica* (1 – altura da planta; 2 – peso de matéria fresca da parte aérea; 3 – peso de matéria seca da parte aérea; 4 – peso fresco de raiz; 5 – quantidade de galhas/planta; 6 - quantidade de massas de ovos/galha; 7 – população final; 8 – fator de reprodução) (1<sup>o</sup> experimento)

Variáveis	1	2	3	4	5	6	7	8
1	_____	0,5756	0,4509	0,4526	-0,106*	-0,1590	-0,1627	-0,1524
2	_____	_____	0,8153	0,4980	-0,3019	-0,1771	-0,2949	-0,2653
3	_____	_____	_____	0,4622	-0,2740	-0,1580	-0,2632	-0,2325
4	_____	_____	_____	_____	-0,1126*	-0,1072*	-0,1563	-0,1349*
5	_____	_____	_____	_____	_____	0,4143	0,7293	0,6520
6	_____	_____	_____	_____	_____	_____	0,6367	0,6104
7	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	0,9823
8	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____

\* Valores não-significativos a 5% de probabilidade

Tabela 23 – Matriz de correlação linear de parâmetros usados na avaliação da reação de 4 espécies silvestres de *Passiflora* spp. a *Meloidogyne incognita* e a *Meloidogyne javanica* (1 – altura da planta; 2 – peso de matéria fresca da parte aérea; 3 – peso de matéria seca da parte aérea; 4 – peso fresco de raiz; 5 – quantidade de galhas/planta; 6 – quantidade de massas de ovos/galha; 7 – população final; 8 – fator de reprodução) (2<sup>o</sup> experimento)

Variáveis	1	2	3	4	5	6	7	8
1	_____	0,7347	0,6330	0,5212	-0,1287*	-0,2817	-0,4134	-0,3664
2	_____	_____	0,8333	0,6226	0,0469*	-0,3495	-0,2940	-0,2635*
3	_____	_____	_____	0,7702	0,0850*	-0,3168	-0,2450*	-0,2480*
4	_____	_____	_____	_____	0,3707	-0,4930*	-0,0194*	-0,0768*
5	_____	_____	_____	_____	_____	0,2389*	0,4493	0,3681
6	_____	_____	_____	_____	_____	_____	0,5253	0,5103
7	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	0,9738
8	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____

\*Valores não-significativos a 5% de probabilidade

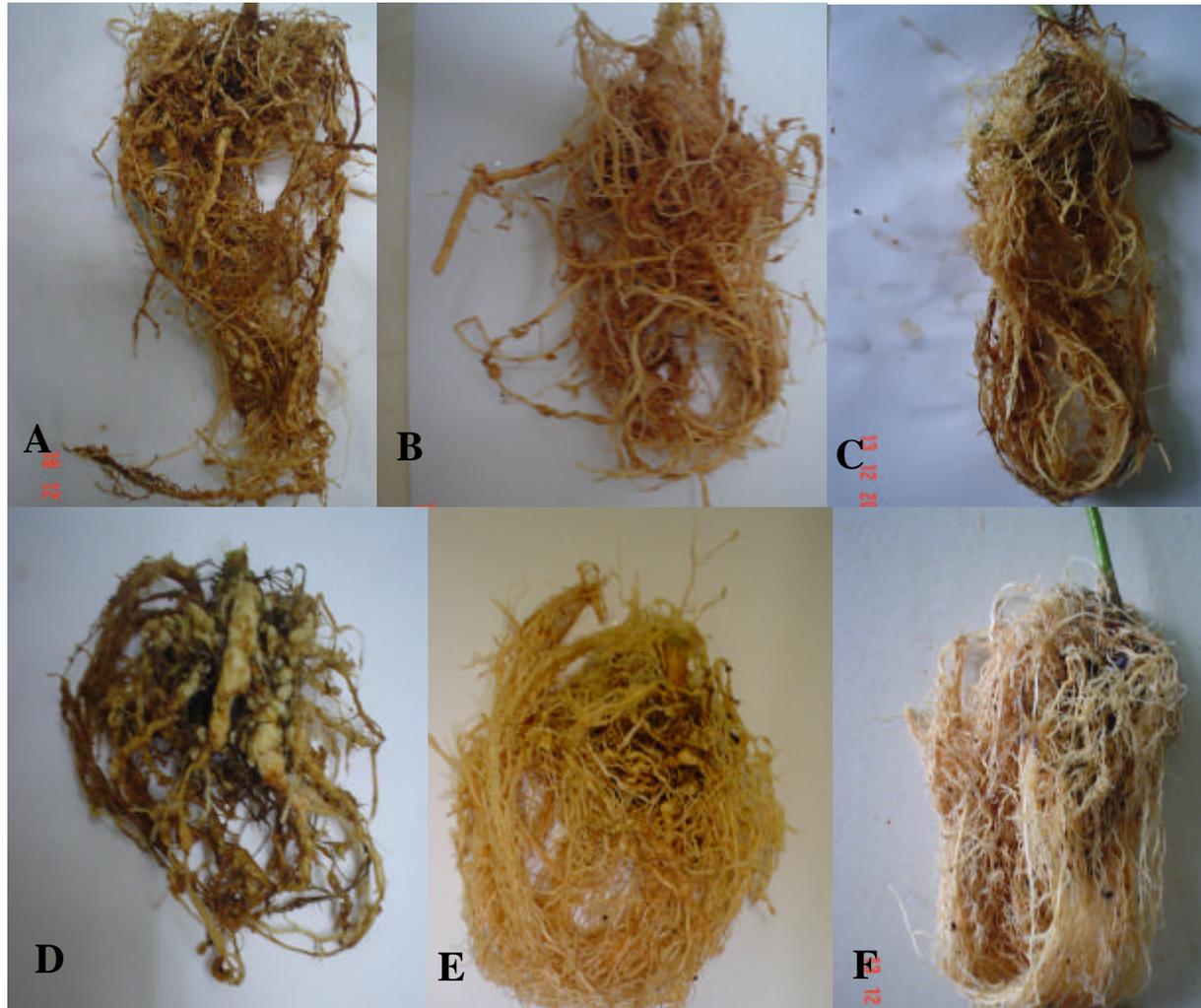


Figura 1- Fotografias, mostrando o sistema radicular de *Passiflora* spp. (A)- *P.amethystina* (estaca) inoculada com *M. incognita*; (B)- *P.amethystina* (estaca) inoculada com *M. javanica*; (C)- *P.amethystina* (estaca) não-inoculada; (D)- *P.amethystina* (semente) inoculada com *M. incognita*; (E)- *P.amethystina* (semente) inoculada com *M. javanica*; (F)- *P.amethystina* (estaca) não-inoculada

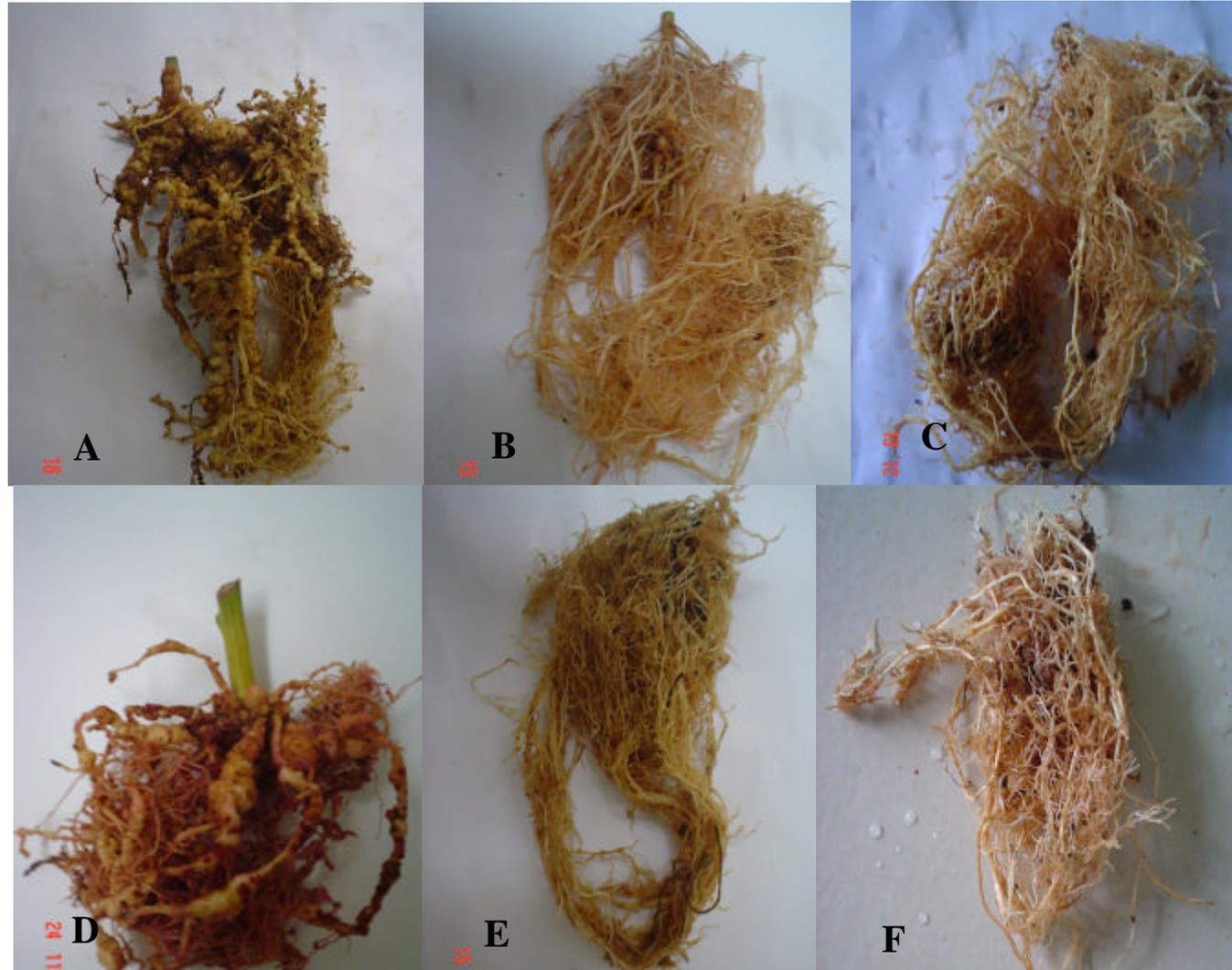


Figura 2- Fotografias, mostrando o sistema radicular de *Passiflora serratodigitata*: (A)- via estaquia inoculada com *M. incognita*; (B)- via estaquia inoculada com *M. javanica*; (C)- via estaquia não-inoculada; (D)- via semente inoculada com *M. incognita*; (E)- via semente inoculada com *M. javanica*; (F)- via semente não-inoculada

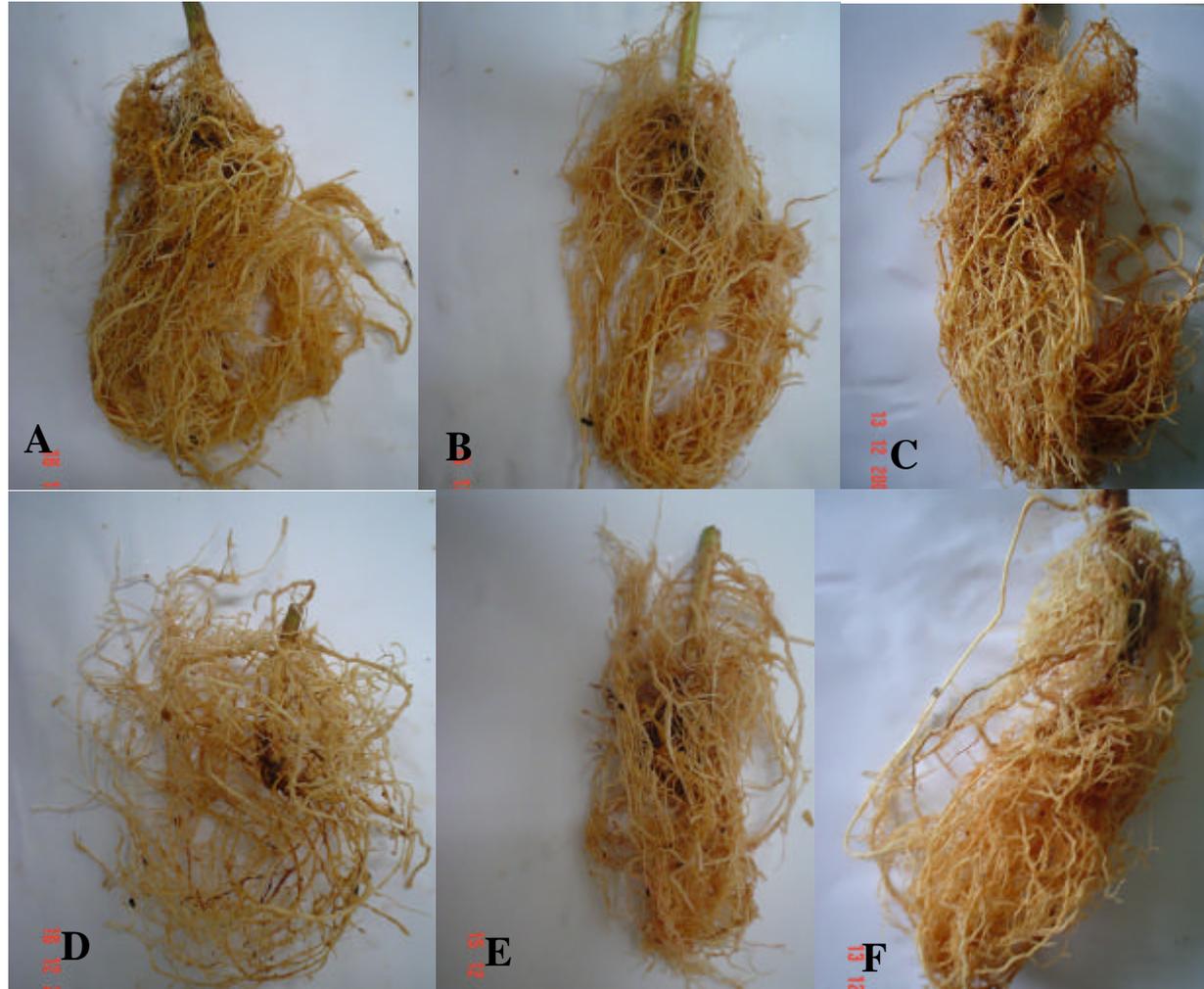


Figura 3- Fotografias, mostrando o sistema radicular do genótipo RC-3 de *P. edulis* f. *flavicarpa*: (A)- via estaquia inoculada com *M. incognita*; (B)- via estaquia inoculada com *M. javanica*; (C)- via estaquia não-inoculada; e *P. alata*: (D)- via semente inoculada com *M. incognita*; (E)- via semente inoculada com *M. javanica*; (F)- via semente não-inoculada

## Referências Bibliográficas

- AGRIANUAL. Anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo : FNP – Consultoria e Comércio. 496p. 2004.
- AGRIOS, G. N. Plant disease caused by nematodes. In: AGRIOS, G. N. Plant Pathology. San Diego: Academic Press, Inc., p. 565-597. 1997.
- AJUHA, S. & MUCHOPADHYAYA, M. C. Effect of nematode population of *Meloidogyne incognita* on their reproduction and growth of radish and carrot. Bulletin of Entomology 26 (2): 214-217. 1985.
- ALEXANDRE, R. S.; JUNIOR A. W.; NEGREIROS, J. R. S.; PARIZZOTO, A. & BRUCKNER, C. H. Germinação de sementes de genótipos de maracujazeiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira 39 (12):1239-1245. 2004.
- ALLARD, R. W. Principles of plant breeding. New York: Wiley. 1966.
- BAKER, C. J. & ORLANDI, E. W. Active oxygen in plant pathogenesis. Annual Review Phytopathology 33: 299-322. 1997.
- BARBOSA, C. J. & SANTOS FILHO, H. P. Doenças causadas por vírus e similares. In: Maracujá: fitossanidade. Frutas do Brasil. Embrapa. 2003.
- BARBOSA, L. V. Citologia de híbridos somáticos de *Passiflora* spp. obtidos por fusão de protoplastos. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 97p. (Tese Doutorado). 1998.
- BENT, A. F. Plant disease resistance genes: Function meets structure. Plant Cell 8: 1757-1771. 1996.
- BERNACCI, L. C.; MELETTI, L. M. & SOARES-SCOTT, M. D. Maracujá-doce: o autor, a obra e a data da publicação de *Passiflora alata*. Revista Brasileira de Fruticultura 25:355-356. 2003.
- BONETTI, S. I. Inter-relacionamento de micronutrientes com o parasitismo de *Meloidogyne exigua* em mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Viçosa: UFV, 1981. 74p. (Dissertação de Mestrado).
- BRAGA, F. M. & JUNQUEIRA, N. T. V. Uso potencial de outras espécies do gênero *Passiflora*. In: Informe Agropecuário, Belo Horizonte, 21 (206): 72-75. 2000.
- BRIGGS, F. N. & KNOWLES, P. F. Introduction to plant breeding. New York: Reinhold. 1967.
- BUSO, G. S. C. Análise genética de espécies silvestres de arroz (*Oryza* spp.) nativas do Brasil: estrutura de populações, diversidade genética e relações filogenéticas utilizando marcadores moleculares. Brasília, DF: Universidade de Brasília - UnB, 324p. Tese (Doutorado) – Universidade de Brasília. 1998.

- CANTO-SAENZ, M. The nature of resistance to *Meloidogyne incognita*. In: BARKER, K.R.; CARTER, C.C.'SASSER, J.N.(Ed.). An advanced treatise on *Meloidogyne*. Raleigh: Department of Plant Pathology, p.225-231. 1985.
- CARNE, W. M. Additions to the plant disease of South Western Austrália. J. Proc. R. Soc. West. Australia 14: 24-28. 1927.
- CARNEIRO, R. M. G.; NEVES, D. I.; FALCÃO, R.; PAES, N. S.; CIA, E.; SÁ, M. F. G Resistência de genótipos de Algodoeiro a meloidogyne incógnita raça 3. Reprodução e Histopatologia. Nematologia Brasileira, 29 (1): 1-10. 2005.
- CASTRO, C. Aspectos moleculares e bioquímicos de interações planta-patógeno. Revisão Anual de Patologia de Plantas 7: 269-368. 1999.
- CEREDA, E. & PAPA, R. C. R. Enraizamento de estacas das espécies de maracujazeiro *Passiflora alata* Dryand e *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. sob nebulização. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 10. Fortaleza, CE, 1989. Anais... Fortaleza, Sociedade Brasileira de Fruticultura, p. 375-378. 1989.
- CHRISTIE, J. R. Plant nematodes: their bionomics and control. Gainesville, Florida: University of Florida, 25 p. 1959.
- COHN, E. Nematode disease in citrus. In: WEBSTER, J. (Ed.). Economic nematology. London: Academic Press, Inc., p. 215-244. 1972.
- COHN, E. & DUNCAN, L. W. Nematode parasites of subtropical and tropical fruit trees. In: M. LUC, R. A.; SIKORA e BRIDGE, J. (Ed). Plant-parasite nematodes in subtropical and tropical agriculture. Walingford: CAB International. P. 347-362. 1990.
- CRONQUIST, A. The evolution and classification oh flowering plants. In: CRONQUIST, A., The New York Botanical Garden, Bronx, 554p. 1988.
- CUNHA, M. A. P. Formação de frutos em maracujazeiro: sucesso e insucesso. Embrapa-CNPMF. 2 p., 1998.
- CUNHA, M. A. P.; BARBOSA, L. V. & FARIA, G. A. Maracujá: produção e qualidade na Passicultura. Embrapa. 2004.
- DUVICK, D. N. Influence of morphology and sterility on breeding methodology. In: FREY, K. J. Plant breeding. Iowa: Iowa State University Press, p. 85-138. 1967.
- EISENBACK, J. D. (Ed.). Root-knot nematode taxonomic database. Wallingford: CAB International. 1997.
- EL-MOOR, R. D. Melhoramento genético do maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg) visando a resistência ao nematóide de galhas do gênero *Meloidogyne* spp. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 78p, Dissertação de Mesrtado. 2002.

EVANS, A. A. F. Reproductive mechanisms. In: PERRY, R. N.; WRIGHT, D. J. (Ed.). The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic nematodes. Wallingford, CAB International, p.133-154. 1998.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. & BRAGA, M. F. Germoplasma e melhoramento do maracujazeiro-desafios da pesquisa. Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. P. 187-210. 2005

FERRAZ, L. C. B. Problemas causados por nematóides. In: RUGGIERO, C. Maracujá. (Ed.). Ribeirão Preto: Legis Summa, p. 124-133. 1987.

FERRAZ, L. C. C. B. As meloidoginoses da soja: passado, presente e futuro.(SILVA, J. F. V. (Org). In: Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja. Embrapa Soja. 2001.

FERREIRA, F. R. Germoplasma de maracujá. In: Reunião técnica sobre pesquisa em maracujazeiro no Brasil: Embrapa-CNPMP, p. 48-53. 1998.

FERREIRA, F. R.; OLIVEIRA, J. C. Germoplasma de *Passiflora* no Brasil. In: São José, A. R. A cultura do maracujá no Brasil. Jaboticabal: FUNEP, p. 187-200. 1991.

FERREIRA, G. Propagação do maracujazeiro. Informe Agropecuário 21(206): 18-24. 2000.

FERREIRA, M. E. & GRATAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genéticas. Brasília: Embrapa- Cenargen, 220p. 1998.

FLEG, J. J. M. & HOPPER, D. J. Extraction of free-living stages from soil. In: SOUTHEY, J. F. (Ed) Laboratory methods for work with plants and soil nematodes. Commonwealth Agricultural Bureaux. Herts Technology Bulletin 2: 5-22. 1970.

GOODEY, J. B.; FRANKLIN, M. T. & HOOPER, D. J. The nematode parasites of plants catalogued under their hosts. Common. Agriculture Bureaux, 214p. 1965.

GUERRA, N.B. & LIVERA, A.V.S. Correlação entre o perfil sensorial e determinações físicas e químicas do abacaxi cv. pérola. Revista Brasileira de Fruticultura 2(1): 32-35. 1999.

HALLAUER, A. R. & MIRANDA FILHO, J. B. Quantitative genetics in maize breeding. Ames: The Iowa University Press, 467p. 1981.

HAMMOND-KOSACK, K. E. & JONES, J. D. G. Plant disease resistance genes. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 48: 575-607. 1997.

HUSSEY, R. S. Host-parasite relationships and associated physiological changes. In: J.N. SASSER; C.C. CARTER (Ed.) An advanced treatise on *Meloidogyne*. Raleigh: North Caroline State University graphics 1: 143-154. 1985.

HUSSEY, R. S. & BAKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including new technique. Plant Disease Reporter 57: 1025-1028. 1973.

ITI Tropicals. Disponível em: [www.passionfruitjuice.com](http://www.passionfruitjuice.com). Acesso em: 31 out. de 2005.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* 48: 62. 1964.

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

JUNQUEIRA, N. T. V.; CHAVES, R. C.; MANICA, I.; PEIXOTO, J. R.; PEREIRA, A. V. & FIALHO, J. F. Propagação do maracujazeiro-azedo por enxertia em estacas herbáceas enraizadas de espécies de passifloras nativas. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*. Número 39, 15p. Embrapa. 2002.

JUNQUEIRA, N. T. V.; ANJOS, J. R. N.; SHARMA, R. D.; SANZONOVICZ, C. & ANDRADE, L. R. M. Doenças do maracujazeiro. In: Encontro de Fitopatologia, Viçosa, MG. Anais... Viçosa: UFV, p.83-115. 1999.

KIRBY, M. F. Reniform and root-knot nematodes on passionfruit in Fiji. *Nematropica* 8 (1):21-25. 1978.

KLEIN, A. L.; FERRAZ, L. C. C. B. & OLIVEIRA, J. C. Comportamento de diferentes maracujazeiros em relação ao nematóide formador de galhas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 19 (2): 207-209. 1984.

LANZA, M. A.; GUIMARÃES, T. C. & SHUSTER, I. Aplicação de marcadores moleculares no melhoramento genético. *Informe Agropecuário, Belo Horizonte* 21 (284): 97-108. 2000.

LEISTER, D.; BALLVORA, A.; SALAMINI, F. & GEBHARDT, C. A. A PCR-based Approach for isolating pathogen resistance genes from potato with potencial for wide application in plants. *Nature Genetics* 14: 421-429. 1996.

LOPES, S. C. Citogenética do maracujá. In: São José, A. R. Maracujá: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. Campinas: ITAL, 267 p. 1994.

LOVEYS, B. R. & BIRD, A. F. The influence of nematode on photosynthesis in tomato plants. *Physiological plant pathology* 3: 525-529. 1973.

MAI, W. F. & MULLIN, P. G. Plant-parasitic nematodes: a pictoria key to genera. 5. ed. New York: Stage House, Cornell University Press, 277p. 1996.

MARTIN, G. B.; BROMMONSCHNKE, S. H.; CHUNWONGSE, J.; FRARY, A.; GANAL, M. W.; SPIVEY, R. W. U. T.; EARLE, E. D. & TANKSLEY, S. D. Map-based cloning of a protein kinase gene conferring disease resistance in tomato. *Science* 262: 1432-1436. 1993.

McSORLEY, R. Nematological problems in tropical and subtropical fruit tree crops. *Nematropica* 22(1): 103-116. 1992.

- MELETTI, L. M. M. Maracujá-roxo. Revista Brasileira de Fruticultura 27 (2): 194-348. 2005.
- MELETTI, L. M. M. & NAGAI, V. Enraizamento de estacas de sete espécies de maracujazeiro (*Passiflora* spp.). Revista Brasileira de Fruticultura 14(2): 163-168. 1992.
- MELETTI, L. M. M.; BERNACCI, L. C.; SCOTT, M.D.S.; FILHO, J. A. A. & MARTINS, A. L. M. Revista Brasileira de Fruticultura 25 (2): 275-278. 2003.
- MELETTI, L. M. M. & BRUCKNER, C.H. Melhoramento genético. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. (Ed.). Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, p.345-385. 2001.
- MELETTI, L. M. M; SANTOS, R. R. & MINAMI, K. Melhoramento do maracujazeiro-amarelo: obtenção do cultivar “composto IAC-27” Scientia Agrícola 57 (3): 491-498. 2000.
- MILNE, D. L. Nematode pests of miscellaneous sub-tropical crops. In: KEETCH, D. P.; HEYS, J. (Ed.). Nematology in Southern Africa Science Bulletin. Republic of South Africa: Department of Agriculture and Fisheries, 400: 42-46. 1982.
- MULLIS, K. & FALOONA, F. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalysed chain reaction. Methods in Enzymology 155: 335. 1987.
- OLIVEIRA, J. C.; NAKAMURA, K.; MAURO, A. O. & CENTURION, M. A. P. C. Aspectos gerais do maracujazeiro. In: São José, A. R (Ed) Maracujá: produção e mercado. Vitória da Conquista: Universidade Estadual da Bahia, p. 27-37. 1994.
- OLIVEIRA, J. C. & RUGGIERO, C. Aspectos sobre o melhoramento do maracujazeiro-amarelo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 5, 1998. Jaboticabal, FUNEP, p. 292-302. 1998.
- OLIVEIRA, J. C.; SALOMÃO, T. A; RUGGIERO, C. & ROSSINI, A. C. Variações observadas em frutos de *Passiflora alata* Ait. Proceedings of the tropical region- American Society of Horticultural Science 25: 343-345. 1982.
- PEREIRA, M. G.; PEREIRA, T. N. S. & VIANA, A. P. Marcadores moleculares aplicados ao melhoramento genético do maracujá. In: Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Embrapa. 2005.
- PONTE, J. J.; LEMOS, J. W. V.; CASTRO, F. E. & MARIA, L. Comportamento de plantas frutíferas tropicais em relação a nematóides das galhas. Fitopatologia Brasileira 1:29-33. 1976.
- POPE, W. T. The Edible passionfruit in Hawaii. Hawaii Agr. Expt. Sta. Bul. 74: 22. 1935.
- REITZ, R. (Ed.). Flora ilustrada catarinense. Passifloráceas. Itajaí: Herbário Barbosa Rodriguez, 130 p. 1980.
- RITZINGER, C. H. S. P; SHARMA, R. D. & JUNQUEIRA, N. T. V. Nematóides e seu controle. Capítulo 12. In: Maracujá produção: aspectos técnicos. Embrapa Mandioca e

- Fruticultura (Cruz das Almas, BA)-Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 104p. (Frutas do Brasil;15). 2002.
- ROSSI, C. E. & MONTALDI, P. T. Root-knot nematode: cultivars reaction and damage to radish. *Horticultura Brasileira* 22 (1): 72-75. 2004.
- RUGGIERO, C. Enxertia do maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.). A cultura do maracujazeiro no Brasil. Jaboticabal: FUNEP, p. 43-59. 1991.
- RUGGIERO, C. Maracujá – do plantio à colheita. In: Anais do 5º Simpósio sobre a cultura do maracujazeiro, 10 a 13 de fevereiro, Jaboticabal. 388p. 1998.
- RUGGIERO, C.; SÃO JOSE, A. R.; VOLPE, C. A.; OLIVEIRA., J. C.; DURIGAN, J. F.; BAUMGARTNER, J. G.; SILVA, J. R.; NAKAMURA, K.; FERREIRA, M. E.; KAVATI, R. & PEREIRA, V. P. Maracujá para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília. Embrapa. 1996.
- SANTOS, S. T.; PEIXOTO, J. R.; RAMOS, M. L. & MATTOS, J. K. A. Reação de genótipos de maracujazeiro azedo aos nematóides de galhas do gênero *Meloidogyne* spp. XVII Congresso Brasileiro de Fitopatologia (Resumo; anais). Belém. 2002.
- SANTOS, C. C. F. & SANTOS FILHO, H. P. Doenças causadas por bactérias. In: Maracujá: fitossanidade. Frutas do Brasil. Embrapa, 22-24. 2003.
- SANTOS FILHO, H. P. & JUNQUEIRA, N. T. V. (Ed.). Maracujá: fitossanidade. Frutas do Brasil. Embrapa. 86p. 2003.
- SANTOS FILHO, H. P. & SANTOS, C. C. F. Doenças causadas por fungos. In: Maracujá: fitossanidade. Frutas do Brasil. Embrapa, p.12-21. 2003.
- SÃO JOSÉ, A. R. A cultura do maracujazeiro: produção e mercado. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 255p. 1994.
- SHARMA, R. D.; JUNQUEIRA, N. T. V. & GOMES, A. C. Pathogenicity and Reproduction of *Meloidogyne javanica* on Yellow Passionfruit Híbrido. *Nematologia Brasileira*, 25(2):247-249, 2001.
- SHARMA, R. D. & SHER, S. A. Nematodes associated with nursery seedlings in Bahia, Brazil. *Arquivo do Instituto Biológico, São Paulo*, 42: 1-4. 1975.
- SHARMA, R. D.; JUNQUEIRA, N. T. V. & GOMES, A. C. Reação de espécies de *Passiflora* a nematóides de galhas. IV Reunião Técnica de Pesquisa em maracujazeiro. Embrapa. 2005.
- SHARMA, R. D.; JUNQUEIRA, N. T. V. & GOMES, A. C. Reaction of passionfruit genotypes to the reniform nematode, *Rotylenchus reniformis*. *Nematologia Brasileira*, 25(2):211-215. 2003.

- SHARMA, R. D. & LOOF, P. A. A. Nematodes associated with different plants at the Centro de Pesquisa do Cacau, Bahia. *Revista Theobroma* 4: 38-43. 1972.
- SILVA JUNIOR, P. F.; TIHOHOD, D. & OLIVEIRA, J. C. Avaliação da resistência de maracujazeiros (*Passiflora* spp.) a uma população de *Meloidogyne incognita* raça 1. *Nematologia Brasileira*, Brasília 12: 103-109. 1988.
- SOUZA, J. S. I. & MELETTI, L. M. M. Maracujá: espécies, variedades, cultivo. Piracicaba: FEALQ, 179p. 1997.
- STASKAWICS, B. J.; AUSUBEL, F. M.; BAKER, B. J. & JONES, J. D. G. Molecular genetics of plant-disease resistance. *Science*, 268, p.661-667. 1995.
- STEPHEN, K.; MCFERSON, J. R. & WESTMAN, A. L. Using molecular markers in genebanks: identify, duplication, contamination and regeneration, *Analysis, Characterization and Conservation of PGR*, 16p. 1997.
- STOREY, W. B. 1950. Chromosome numbers of some species of *Passiflora* occurring in Hawaii. *Pacific Science* 4 :7-42, 1950.
- TEIXEIRA, C. G. Moléstias e pragas. In: ITAL. Maracujá: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. Campinas, 267 p. 1994.
- TORRES FILHO, J. Doenças do maracujá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) na região da Ibiapaba, Ceará, Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 10: 223. 1985.
- VANDERPLANK, J. *Passion flowers*, 2.ed. Cambridge: The MIT Press, 224 p. 1996.
- VASCONCELLOS, M. A. S.; BRANDÃO FILHO, J. U.T. & VIEITES, R. L. Maracujá-doce. In: BRUCKNER, C. H.;PICANÇO, M. C. Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria e mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, 472p. 2001.
- WALLACE, H.R. The influence of the density of nematode populations on plants. *Nematologica* 17:154-166. 1971.
- WALLACE, H. R. The influence of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*, on photosynthesis and nutrient demand by roots of tomato plants. *Nematologica* 20: 27-33. 1974.
- ZONTA, E. P. & MACHADO, A. A. SANEST- Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores. SEI Número - 066060, categoria A. 48p. 1995.

# **DIVERSIDADE GENÉTICA DE ESPÉCIES DE *Passiflora*, POTENCIAIS FONTES DE RESISTÊNCIA A DOENÇAS, COM BASE EM MARCADORES RAPD**

## **RESUMO**

Considerando a grande variabilidade genética do maracujazeiro, programas de melhoramento genético têm sido conduzidos visando a obtenção de variedades mais produtivas e resistentes à doenças. Portanto, o presente estudo buscou avaliar a diversidade genética de espécies de *Passiflora*, a partir da utilização de marcadores moleculares RAPD. Após a extração das amostras de DNA genômico, as mesmas foram amplificadas via PCR utilizando-se a técnica de RAPD. As amostras foram então aplicadas em gel de agarose onde foi feita a separação eletroforética. Foram utilizados oito *primers*, os quais geraram 194 marcadores RAPD, sendo todos polimórficos. Verificou-se, a partir das distâncias genéticas, a formação de um grupo constituído a partir das variedades comerciais. Os demais genótipos se mostraram bem distantes geneticamente entre si. Foi possível verificar a ampla diversidade genética entre as espécies do gênero *Passiflora*, as quais se apresentam como potenciais fontes de resistências a doenças.

Palavras-chave: *Passiflora*, marcadores moleculares.

## **GENETIC DIVERSITY OF *Passiflora*'s SPECIES AS POTENTIAL SOURCES OF DISEASE RESISTANCE, BASED ON RAPD MARKERS.**

### ABSTRACT

Considering the broad genetic variability passion fruit genotypes, this research evaluated the genetic diversity of *Passiflora* spp. using RAPD as molecular markers. After extraction of genomic DNA from the samples, each DNA sample was amplified via PCR by using RAPD technique. Then, electrophoresis was conducted in agarose gel. Eight primers were used and they generated 194 'amplicons', and all of them were polymorphic. Phylogenetic analysis according to genetic distance distinguished one group with commercial genotypes. It was possible to detect a wide genetic variability within the genes *Passiflora*, therefore indicating these species as a potential source of resistance to plant diseases.

Key words: *Passiflora*, molecular markers.

## **Introdução**

Paralelo à expansão do cultivo do maracujazeiro, tem-se o aumento em número e severidade de problemas fitossanitários que afetam essa cultura, causando-lhe redução de produtividade e longevidade (Torres Filho, 1985; Ponte, 1990).

Considerando as várias estratégias de controle de enfermidades em plantas cultivadas, tem-se o uso de variedades resistentes a patógenos, que se mostra relativamente simples e eficiente, com baixo custo de utilização e reduzido impacto ambiental em relação à aplicação de agroquímicos. O melhoramento genético tradicional de plantas cultivadas tem alcançado grande êxito na obtenção de cultivares resistentes a patógenos, mas a eficiência na introdução e transferência de genes de resistência de genótipos silvestres ou de espécies aparentadas é limitada pela necessidade de cruzamento, seguido de retro-cruzamentos e/ou autofecundações, com seleção para resistência nas progênes, acompanhada pela recuperação das características originais desejáveis do genitor-receptor (Figueira, 2000).

O conhecimento da variabilidade genética presente nos potenciais genitores é de grande importância para o melhoramento genético voltado para o desenvolvimento de materiais superiores, quanto a caracteres agronômicos, a partir de hibridações inter e intra-específicas, visando à transferência de genes de interesse, como genes de resistência a doenças encontradas nas espécies silvestres, que são transferidos para espécies cultivadas (Bruckner, 1997). A identificação de marcadores moleculares pode resultar em ferramenta com potencial para selecionar precocemente genes de resistência (Figueira, 2000).

Marcadores de DNA são diferenças nas seqüências de nucleotídeos, as quais podem ser identificadas, podem caracterizar-se como diferenças genéticas em nível de DNA, geradas por mutações de ponto ou por aberrações cromossômicas, as quais são repassadas aos seus

descendentes, ou seja, tem-se assim poliformismos de DNA, que podem ser visualizados por meio de procedimentos laboratoriais. Estudos como o de Carneiro *et al.* (2002), Viana *et al.* (2003), Muschner *et al.* (2003) e Ganga *et al.* (2004) se baseiam em diferentes tipos de marcadores moleculares visando a avaliação de diversidade genética em maracujazeiro. Tem-se então que os marcadores moleculares se mostram como uma ferramenta auxiliar voltada para a caracterização e quantificação de diversidade genética (Pereira *et al.*, 2005).

Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade genética entre espécies de *Passiflora* utilizando marcadores do tipo RAPD.

## Material e Métodos

Foram avaliadas quatro variedades de maracujazeiro-azedo (Yellow Master FB 200, Gigante Amarelo, RC-3 e MAR-12), um híbrido (*Passiflora coccinea* X *P. setacea*), *Passiflora alata* e nove espécies silvestres (*P. setacea*, *P. coccinea*, *P. nitida*, *P. serratodigitata*, *P. gibertii*, *P. caerulea*, *P. amethystina*, *P. odontophyla* e *P. edulis* nativo) (Tabela 24). Folhas de cada variedade foram coletadas e delas extraiu-se o DNA genômico a partir do método CTAB. Foram amplificadas amostras de DNA de cada material genético utilizando-se a técnica de RAPD.

As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 13 $\mu$ L, contendo Tris-HCL 10mM (pH 8,3), KCl 50mM, MgCl<sub>2</sub> 3mM, 100 $\mu$ M de cada um dos desoxiribonucleotídios (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 0,4 $\mu$ M de um *primer* (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA), uma unidade de enzima Taq polimerase e, aproximadamente, 15ng de DNA. Para a obtenção de marcadores RAPD foram utilizados oito *primers* decâmeros: OPD (04, 07, 08, 10 e 16), OPDG-17 e OPDH (12 e 16). As amplificações foram efetuadas em termociclador programado para 40 ciclos, cada um constituído pela seguinte seqüência: 15 segundos a 94<sup>0</sup>C, 30 segundos a 35<sup>0</sup>C e 90 segundos a 72<sup>0</sup>C. Após os 40 ciclos foi procedida a etapa de extensão final de seis minutos a 72<sup>0</sup>C, e finalmente, a temperatura foi reduzida para 4<sup>0</sup>C. Após a amplificação, foram adicionados a cada amostra 3 $\mu$ l de uma mistura de azul de bromofenol (0,25%) e glicerol (60%) em água. Essas amostras foram aplicadas em gel de agarose (1,2%), corado com brometo de etídio, submerso em tampão TBE (Tris-Borato 90mM, EDTA 1mM). A separação eletroforética foi de aproximadamente quatro horas, a 90 volts. Ao término da corrida, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta.

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

Tabela 24 – Acessos de *Passiflora* spp. utilizados na obtenção de marcadores RAPD

<b>Nº de Espécies</b>	<b>Acesso</b>
1- <i>P. edulis</i>	Yellow Máster
2- <i>P. edulis</i>	RC3
3- <i>P. edulis</i>	MAR-12
4- <i>P. edulis</i>	Gigante Amarelo
5- <i>P. alata</i>	Comercial
6- <i>P. serratodigitada</i>	CPAC MJ 11-01
7- <i>P. coccinea</i>	CPAC MJ 08-02
8- Híbrido ( <i>P. coccinea</i> X <i>P. setacea</i> )	Híbrido
9- <i>P. setacea</i>	CPAC MJ 12-01
10- <i>P. nitida</i>	CPAC MJ 01-18
11- <i>P. amethystina</i>	CPAC MJ 13-01
12- <i>P. caerulea</i>	CPAC MJ 14-01
13- <i>P. odontophylla</i>	CPAC MJ 09-01
14- <i>P. gibertii</i>	CPAC MJ 22-01
15- <i>P. edulis</i> nativo	CPAC MJ 21-01

## Resultados

A partir dos oito *primers* utilizados foram gerados 194 marcadores RAPD, obtendo-se a média de 24,25 marcadores por *primer*. Todos os marcadores se mostraram polimórficos, o que, associado à alta porcentagem de marcadores/*primer* indicou elevada diversidade genética entre espécies do gênero *Passiflora* (Tabela 21).

A distância genética entre os genótipos avaliados variou entre 0,043 e 0,798 (Tabela 22). As menores distâncias genéticas foram verificadas entre as variedades comerciais e a maior distância foi correspondente à distância entre *P. amethystina* e *P. edulis*.

Na análise de agrupamento com base nas distâncias genéticas, verificou-se a formação de um grupo contendo variedades comerciais de maracujazeiro azedo. A 0,30 de distância genética, não houve nenhum agrupamento entre as demais espécies analisadas. Verificou-se também que houve agrupamento do híbrido interespecífico com os seus genitores *P. setacea* e *P. coccinea* (Figura 5).

## Discussão

Diante dos dados obtidos, resultados semelhantes foram obtidos por Aukar *et al.* (2002), os quais também verificaram em análise de espécies de *Passiflora* a presença de apenas marcadores RAPD polimórficos.

Fajardo *et al.* (1998), utilizando marcadores RAPD, verificaram grande variabilidade entre algumas espécies de *Passiflora* e pouca variação entre outras. O mesmo foi observado neste estudo, que mostrou maior similaridade entre algumas espécies. Informações como essas podem auxiliar em monitoramento de hibridações.

Cassiano *et al.* (1998) e Vieira *et al.* (1997) também analisaram espécies de maracujá através de marcadores moleculares do tipo RAPD visando à caracterização e o relacionamento filogenético entre elas.

Pio Viana *et al.* (2003) estimaram a diversidade genética entre genótipos de maracujazeiro amarelo e outras espécies de *Passiflora* utilizando marcadores moleculares do tipo RAPD e assim como neste trabalho, verificaram baixa dissimilaridade entre os genótipos de maracujazeiro amarelo e maior variabilidade entre as demais espécies.

Aukar *et al.* (2002) verificaram baixa média de similaridade para a espécie *P. amethystina* e outras espécies, o que revelou a diferença genética dessa espécie em relação às demais.

Tabela 25 – *Primers* utilizados para a obtenção dos marcadores RAPD e respectivos número de bandas polimórficas e monomórficas de 15 genótipos de *Passiflora* spp.

<b>Primers</b>	<b>Seqüência 5'® 3'</b>	<b>Número de bandas polimórficas</b>	<b>Número de bandas monomórficas</b>
OPD-04	TCTGGTGAGG	32	0
OPD-07	TTGGCACGGG	27	0
OPD-08	GTGTGCCCCA	24	0
OPD-10	GGTCTACACC	33	0
OPD-16	AGGGCGTAAG	13	0
OPG-17	ACGACCGACA	23	0
OPH-12	ACGCGCATGT	23	0
OPH-16	TCTCAGCTGG	19	0
<b>Total</b>		<b>194</b>	<b>0</b>

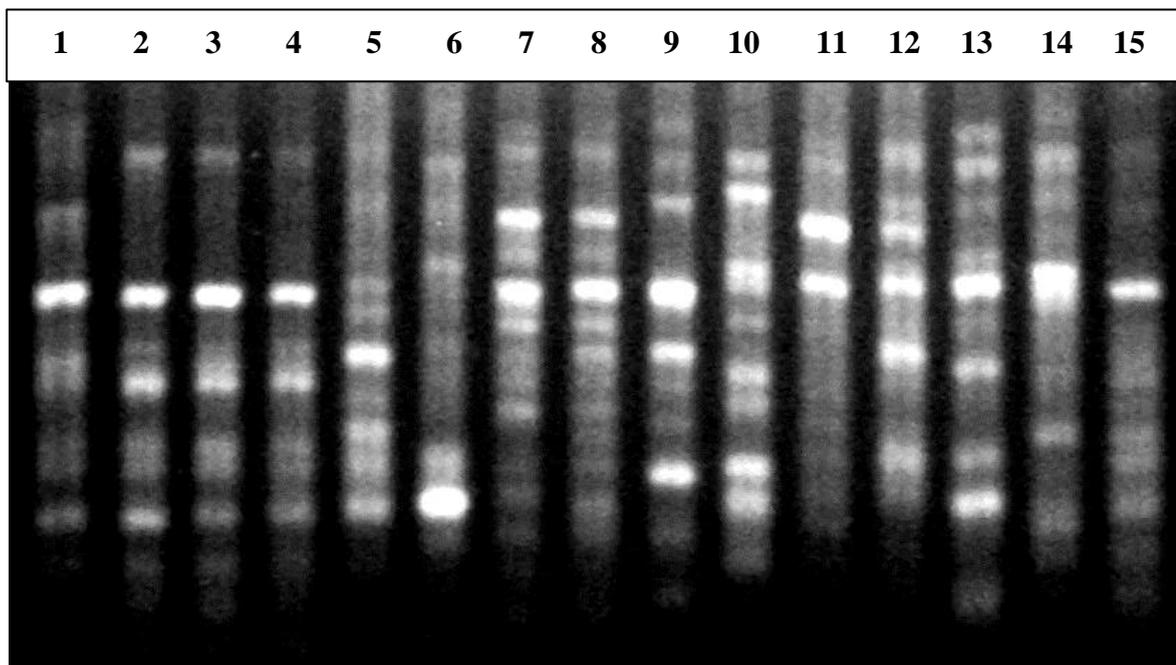


Figura 4 – Produtos de amplificação de DNA genômico de 15 acessos de maracujazeiro gerados com a utilização do *primer* OPD-08.

Tabela 26 – Matriz de distâncias entre 15 acessos de maracujazeiro, baseada em 194 marcadores RAPD

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	0.000	0.088	0.101	0.200	0.634	0.605	0.522	0.489	0.528	0.671	0.610	0.556	0.687	0.653	0.425
2	0.088	0.000	0.043	0.126	0.609	0.577	0.576	0.510	0.546	0.650	0.604	0.500	0.696	0.707	0.450
3	0.101	0.043	0.000	0.140	0.626	0.622	0.597	0.570	0.580	0.673	0.630	0.562	0.679	0.686	0.432
4	0.200	0.126	0.140	0.000	0.627	0.694	0.593	0.614	0.589	0.714	0.683	0.592	0.698	0.732	0.489
5	0.634	0.609	0.626	0.627	0.000	0.632	0.614	0.628	0.579	0.553	0.631	0.644	0.645	0.673	0.609
6	0.605	0.577	0.622	0.694	0.632	0.000	0.681	0.692	0.670	0.707	0.738	0.687	0.724	0.763	0.699
7	0.522	0.576	0.597	0.593	0.614	0.681	0.000	0.323	0.545	0.673	0.649	0.607	0.675	0.725	0.640
8	0.489	0.510	0.570	0.614	0.628	0.692	0.323	0.000	0.306	0.695	0.617	0.586	0.661	0.761	0.640
9	0.528	0.546	0.580	0.589	0.579	0.670	0.545	0.306	0.000	0.695	0.632	0.560	0.692	0.780	0.636
10	0.671	0.650	0.673	0.714	0.553	0.707	0.673	0.695	0.695	0.000	0.638	0.656	0.697	0.685	0.704
11	0.610	0.604	0.630	0.683	0.631	0.738	0.649	0.617	0.632	0.638	0.000	0.460	0.676	0.649	0.798
12	0.556	0.500	0.562	0.592	0.644	0.687	0.607	0.586	0.560	0.656	0.460	0.000	0.695	0.663	0.727
13	0.687	0.696	0.679	0.698	0.645	0.724	0.675	0.661	0.692	0.697	0.676	0.695	0.000	0.767	0.684
14	0.653	0.707	0.686	0.732	0.673	0.763	0.725	0.761	0.780	0.685	0.649	0.663	0.767	0.000	0.765
15	0.425	0.450	0.432	0.489	0.609	0.699	0.640	0.640	0.636	0.704	0.798	0.727	0.684	0.765	0.000

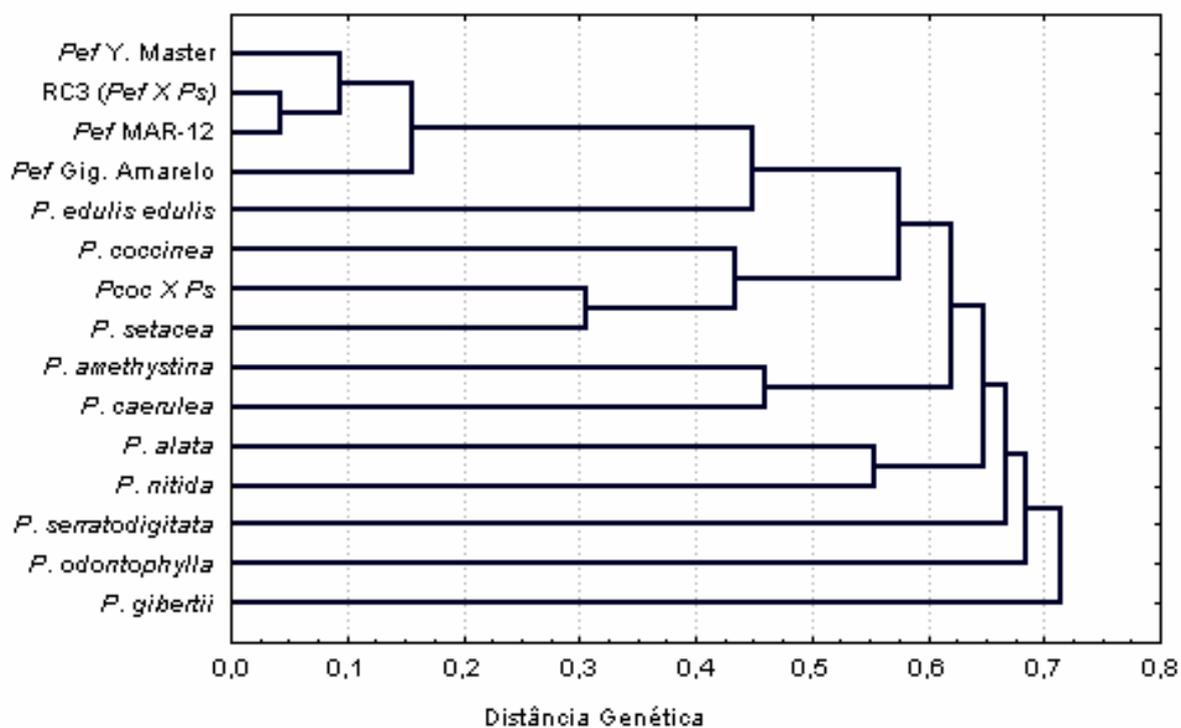


Figura 5 – Análise de agrupamento de 15 acessos de *Passiflora* spp. com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 194 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento.

## **Conclusão**

Verificou-se apenas a formação de marcadores polimórficos, o que possibilitou identificar ampla diversidade genética entre as espécies de *Passiflora* spp.

## Referências Bibliográficas

- AUKAR, A. P. A.; LEMOS, E. G. M. & OLIVEIRA, J. C. Genetic variations among passion fruits species using RAPD markers. *Revista Brasileira de Fruticultura* 24: 738-740. 2002.
- BRUCKNER, C. H. Perspectivas do melhoramento do maracujazeiro. In: Manica, I. (Ed). *Maracujá: temas selecionados*. Porto Alegre, RS: Cinco Continentes, 70p. 1997.
- CASSIANO, A. P. A. A.; LEMOS, E.G.M. & OLIVEIRA, J.C., Avaliação de espécies de *Passiflora* através de marcadores moleculares RAPD. *Genetics and Molecular Biology* 21 (3): , 214. 1998. Suplemento.
- CARNEIRO, M. S.; CAMARGO, L. E. A.; COELHO, A. S. G.; VENCOSKY, R.; LEITE, R. P.; STENZEL, N. M. C. & VIEIRA, M. L. C. RAPD-based genetic linkage maps of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.). *Genome* 45: 670-676. 2002.
- CRUZ, C. D. Programa GENES: Aplicativo Computacional em Estatística Aplicada à Genética (GENES - Software for Experimental Statistics in Genetics). *Genetic Molecular Biology* 21(1): 1415-4757. 1997.
- FAJARDO, D.; ANGEL, F.; GRUM, M.; TOHME, J.; LOBO, M. & ROCA, W. M Genetic variation analysis of the genus *Passiflora* L. using RAPD markers. *Euphytica* 101:341-347. 1998.
- FIGUEIRA, A. Progresso na caracterização molecular de plantas resistentes: genes e marcadores. In: Resumos do XXXIII Congresso Brasileiro de Fitopatologia 25 (suplemento): 254- 256. 2000.
- GANGA, M. D. R.; RUGGIERO, C.; LEMOS, E. G.; GRILI, V. G.; GONÇALVES, M. M.; CHAGAS, E. A. & WICKERT, E. Diversidade genética em maracujazeiro amarelo utilizando marcadores moleculares. *Revista Brasileira de Fruticultura* 25: 494-498. 2004.
- MUSCHNER, V. C.; LORENZ, A. P.; CERVI, A. C.; BONNATO, S. L; SOUZA-CHIES, T. T.; SALZANO, F. M. & FREITAS, L. B. A first molecular phylogenetic analysis of *Passiflora*. *American Journal of Botany* 90: 1229-1236. 2003.
- PONTE, J. J. Relatório ao CNPq-período 1989/1990. UFC, Fortaleza, 14p. (mimeografado). 1990.
- STATSOFT INC. Statistics for Windows (Computer program manual) Tulsa, OK. StatSoft Inc. 2300 East 14 Street, Tulsa, 1999.
- TORRES FILHO, J. Doenças do maracujá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) na região da Ibiapaba, Ceará, Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 10: 223. 1985.

VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SOUZA, M. M.; MALDONADO, J. F. & AMARAL, A. T. Diversidade genética entre genótipos comerciais de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) e entre espécies de *Passiflora* nativas determinadas por marcadores RAPD. Revista Brasileira de Fruticultura 2:489-493. 2003.

VIEIRA, M.L.C.; OLIVEIRA, C.A.; MAYEDA, L.Y.; DORNELAS, M.C. & FUNGARO, M.H.P. Estudo do cariótipo e da variabilidade genética detectada por RAPD em espécies de maracujazeiro (*Passiflora* L.). Brazilian Journal of Genetics 20(3) : 88. 1997. Suplemento.

# CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE ESPÉCIES DE *Passiflora* POR MARCADORES MOLECULARES DO TIPO “RESISTANCE GENE ANALOGS”

## RESUMO

A cultura do maracujá é afetada por diversos problemas fitossanitários, os quais contribuem para quebras de produção e para a redução da vida útil dos plantios, podendo, em algumas situações, até inviabilizar seu cultivo. Resposta diferenciada de acessos de espécies de *Passiflora* tem sido observada para diversos patógenos, em especial ao nematóide de galhas. Neste trabalho, buscou-se avaliar a diversidade genética de oito espécies silvestres (*P. setacea*, *P. nitida*, *P. serratodigitata*, *P. caerulea*, *P. gibertii*, *P. odontophyla*, *P. edulis* nativo, *P. coccinea*) e de um híbrido interespecífico de *Passiflora* (*P. setacea* x *P. coccinea*), utilizando marcadores moleculares do tipo *Resistance Gene Analogs* (RGAs). Foi feita a amplificação via PCR com seis combinações de *primers* degenerados do tipo “RGA” (S2+As1, S2+As2, S2+As3, S2+LM637 e F1+As2 e S2+R1). Verificou-se grande diversidade no perfil eletroforético de RGAs, com a identificação de 99 *amplicons*, sendo detectados 96 polimorfismos entre, pelo menos, um par de acessos. A análise de sequência de um dos *amplicons* monomórficos mostrou que tais fragmentos possuem vários motivos típicos de genes de resistência, confirmando a identidade desses marcadores dentro da classe de RGAs. Verificou-se também variável dissimilaridade genética entre os acessos para o conjunto de marcadores RGAs obtidos no presente trabalho. Esses dados indicam a disponibilidade de marcadores moleculares do tipo RGA potencialmente úteis em sistemas de seleção assistida dentro de programas de melhoramento genético voltados para resistência a doenças.

Palavras-chave: *Passiflora*, marcadores moleculares RGAs.

## **GENETIC CHARACTERIZATION OF *Passiflora* spp. USING RGAS (RESISTANCE GENES ANALOGS) AS MOLECULAR MARKERS**

### **ABSTRACT**

The passion fruit culture has been affected by many phytosanitary problems. These problems contribute to reduction of fruit yield and to shorten culture life period, making passion fruit cultivation impossible. Considering the different responses of *Passiflora* spp. to several pathogens, especially for the root-knot nematode, this research had the intention to evaluate the genetic diversity of eight wild species and one hybrid interspecific of *Passiflora* (*P. setacea*, *P. nitida*, *P. serratodigitata*, *P. caerulea*, *P. gibertii*, *P. odontophylla*, *P. edulis* native, *P. coccinea* e *P. setacea* X *P. coccinea*), by using RGAs (“resistance gene analogs”) as molecular markers. Amplification by PCR was used with six RGAs primer combinations (S2+As1, S2+As2, S2+As3, S2+LM637, F1+As2 and S2+R1). Ninety-nine amplicons were detected, 96 polymorphic and three monomorphic. Variable genetic dissimilarity was observed among the species evaluated. These results indicate potential availability of RGA molecular markers to assist selection in the breeding programs towards resistance to plant diseases.

Key words: *Passiflora*, molecular markers, RGAs.

## Introdução

A cultura do maracujá é afetada por diversos problemas fitossanitários, os quais contribuem para quebras de produção e para a redução da vida útil dos plantios, podendo, em muitas situações, até inviabilizar seu cultivo. Por ser o centro de origem do maracujá, o Brasil apresenta germoplasma cultivado e silvestre com grande diversidade genética, representando rica fonte de alelos de interesse para os programas de melhoramento, que podem ser transferidos via hibridação interespecífica e intra-específica. Esse acervo genético pode servir como base para o desenvolvimento de materiais superiores, principalmente com relação a caracteres de interesse agrônomo, incluindo resistência a pragas e patógenos (Bruckner, 1997). De fato, as espécies de maracujá não-cultivadas têm contribuído para o melhoramento genético por representarem fontes de resistência a doenças ou a pragas, maior longevidade, melhor adaptação a condições adversas, período de florescimento ampliado, maior concentração de componentes químicos de interesse para a indústria farmacêutica e outras potencialidades, quase todas, ainda vastamente inexploradas (Meletti, 1999). Segundo Oliveira & Ruggiero (1998), estudos detalhados de caracterização da genética da resistência em espécies cultivadas e silvestres são essenciais para auxiliar na efetiva utilização do germoplasma de *Passiflora* em programas de melhoramento genético e como a identificação de materiais genéticos para uso como porta-enxertos resistentes a doenças.

Na última década, foi alcançado grande progresso na caracterização genética e molecular de fatores de avirulência e virulência presentes nos genomas de diferentes fitopatógenos (Staskawicz *et al.*, 2001). Foram também observados significativos avanços no isolamento, clonagem, localização genômica, caracterização da estrutura e demonstração da função de diversos genes de resistência a doenças (Staskawicz *et al.*, 1995; Bent, 1996; Baker

& Orlandi, 1997; Hammond-Kosack & Jones, 1997; Pan *et al.*, 2000). A caracterização molecular detalhada das seqüências codificadoras de diversos genes de resistência clonados indicou a presença de diferentes domínios estruturais muito conservados, os quais incluem: proteínas ricas em leucina (LRR), sítios de ligação a nucleotídeos (NBS), estruturas complexas de NBS-LRR e proteínas quinases (Staskawicz *et al.*, 1995; Hammond-Kosack & Jones, 1997).

A partir da constatação da presença de segmentos conservados, contendo seqüências similares dentro de um conjunto de genes bastante polimórficos, sugeriu-se então que essas regiões conservadas poderiam representar sítios de relevância biológica relacionados a genes de resistência e/ou regulação da expressão fenotípica desses genes (Bent, 1996). Essa informação permitiu o estabelecimento de nova classe de marcadores moleculares, buscando identificar regiões genômicas polimórficas associadas com fenótipos resistentes ou suscetíveis (Boiteux, 2000; Zhang *et al.*, 2002). Esses marcadores têm sido denominados de *Resistance Gene Analogs* (RGAs) e têm sido empregados como marcadores moleculares em diversas espécies vegetais (Leister *et al.*, 1996; Pan *et al.*, 2000; Mohler *et al.*, 2002, Zhang *et al.*, 2002).

Em relação à resistência a doenças, vários autores (Menezes *et al.*, 1994; Oliveira *et al.*, 1994a; Meletti & Bruckner, 2001; Fischer, 2003) relataram espécies silvestres da *Passiflora* como resistentes à morte precoce e a outras doenças causadas por patógenos de solo. Portanto, considerando que diferentes acessos de espécies de *Passiflora* apresentam resposta diferenciada a diversos patógenos e, em especial, ao nematóide de galhas, o presente trabalho buscou avaliar a diversidade genética de oito espécies silvestres e de um híbrido interespecífico de *Passiflora* utilizando marcadores moleculares do tipo RGAs. Considerando que não há relatos de clonagem e ou isolamento de genes de resistência para o gênero *Passiflora*, o presente trabalho teve os seguintes objetivos: (1) avaliar a utilidade de uma coleção de *primers* degenerados do tipo RGA em gerar polimorfismos entre acessos de *Passiflora*, que apresentam

resposta diferenciada para o nematóide das galhas (*M. incognita* e *M. javanica*); (2) avaliar a utilização de marcadores moleculares do tipo RGA em estudos de diversidade genética em *Passiflora*; (3) caracterizar, através de clonagem e seqüenciamento, alguns dos *amplicons* do tipo RGA presentes em diferentes acessos de espécies de *Passiflora*.

## Material e Métodos

Realizou-se o presente trabalho no laboratório de Melhoramento Vegetal e Análise Genômica da Embrapa Hortalças, Gama, DF, durante o período de novembro de 2005 a março de 2006. Folhas de oito espécies e um híbrido interespecífico de *Passiflora*, oriundo do banco de germoplasma da Embrapa Cerrados (CPAC), foram coletadas e utilizadas para a realização do processo de extração de DNA, a partir do método de CTAB 2X, descrito por Saghai-Marrof *et al.* (1984) modificado por Boiteux *et al.* (1999) e combinado com solventes orgânicos (álcool isoamílico e clorofórmio). Para o isolamento de RGAs foi utilizada uma estratégia de amplificação via PCR heterólogo, com seis combinações de iniciadores de transcrição *primers* (S2+As1, S2+As2, S2+As3, S2+LM637 e F1+As2 e S2 R1). Esses *primers* degenerados foram desenhados para o motivo NBS (*Nucleotide Binding Site*) presentes em genes de resistência (Leister *et al.*, 1996; Pan *et al.*, 2000).

Para a amplificação de DNA utilizou-se uma reação de 25µl contendo: 20mM Tris-HCl (pH 8,4), 50mM KCL, 1,2 mM de MgCl<sub>2</sub> (50mM); 2mM de cada deoxinucleotídeo trifosfato (dNTPs), 20ng de DNA genômico, 0,2 unidades da enzima Taq polimerase (Invitrogen) e 1,2µM de cada *primer*. As amplificações foram realizadas em placas de 96 poços em um termociclador (GeneAmp® PCR System 9700), programado para um ciclo de 5 minutos a 95°C, seguido de 35 ciclos repetidos de: 30 segundos a 95°C (desnaturação), 1 minuto a 37°C (anelamento) com ramp de 70% e 5 minutos a 72°C (extensão) e extensão final de 10 minutos a 72°C. Os produtos das reações de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose na concentração de 1,2% em tampão de TAE 1X, corados com brometo de etídeo (10mg/ml) e fotografados sob luz ultravioleta (302nm) em sistema de vídeo Eagleye<sup>TM</sup> (Stratagene®).

Os marcadores do tipo RGA gerados foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os diferentes acessos, com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei & Li, utilizando-se o Programa Genes (Cruz, 1997). A matriz de distâncias genéticas foi utilizada para realizar a análise de agrupamento, com o auxílio do Programa *Statistic* (Statsoft Inc., 1999), utilizando como critério de agrupamento o método UPGMA. Com base na análise de agrupamento, diferentes grupos de similaridade foram definidos de acordo com os nove genótipos de *Passiflora*.

Após a visualização das bandas formadas a partir do sistema de vídeo Eagleye<sup>®</sup>, foi feita a purificação de DNA de algumas delas, e, posteriormente, foi feita clonagem dessas seqüências a partir da utilização de um plasmídeo como vetor (pGEM<sup>®</sup>-T), o qual passou a conter os insertos (seqüências das bandas purificadas) de interesse. A partir de então, foi feita transformação bacteriana em *Escherichia coli*, a qual é competente para captar o DNA exógeno de interesse (plasmídeo com inserto). Foi feita então multiplicação dessas bactérias transformadas (em meio LB; triptona, extrato de levedura e NaCl) para que se obtivesse quantidade suficiente de material de interesse, possibilitando assim o seqüenciamento automático do DNA de interesse (banda do gel III – Figura 7). Após o seqüenciamento foi feita a comparação entre as seqüências obtidas de nucleotídeos, que foi posteriormente convertida em seqüências protéicas e seqüências contidas no banco de genes NCBI (NCBI-National Center for Biotechnology Information, 2006).

## Resultados

Os pares de *primers* utilizados revelaram um total de 99 marcadores, sendo três deles monomórficos, ou seja, houve uma média de 16,5 marcadores por *primer* (Tabela 23). A dissimilaridade genética entre as espécies avaliadas variou entre 0,4 (entre a espécie *P. setacea* e o híbrido *P. coccinea x P. setacea*) e 0,889 (entre *P. gibertii* e o híbrido *P. coccinea x P. setacea*) (Tabela 24).

Avaliou-se a correlação das distâncias genéticas entre as nove espécies avaliadas a partir de marcadores RAPD e do tipo RGAs e verificou-se, a partir da utilização do Coeficientes de Correlação de Pearson do programa Genes, que houve correlação significativa a 1% de probabilidade, pelo teste “t” entre as diferentes técnicas.

Quanto às seqüências obtidas, verificou-se que houve compatibilidade entre as mesmas e seqüências de proteínas relacionadas à resistência a doenças para diversas culturas (feijão, soja, arroz, cana-de-açúcar e outros), já contidas no banco de dados do NCBI, principalmente regiões NBS-LRR (ANEXO).

## Discussão

Apesar de ter havido a presença de bandas monomórficas, prevaleceu em 96,96% o polimorfismo, o que indica a grande diversidade genética das espécies avaliadas quanto a marcadores do tipo RGAs, ou seja, tem-se, então, grande potencial em termos de disponibilidade de material para programas de melhoramento voltados para resistência a doenças. Trabalhos como de Mutlu *et al.* (2006) mostraram a importância dos RGAs para a

caracterização de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), quanto a genes candidatos voltados para a resistência a doenças. Valencio (2005), a partir do estudo de caracterização de diferentes acessos de cebola, a partir da utilização de marcadores RGAs, pode verificar a utilidade dessa técnica para trabalhos de mapeamento genético. Cantanhêde (2004) verificou a eficiência da utilização de marcadores do tipo DR *analogs*, em relação à técnica de RAPD, quanto à detecção de polimorfismos entre linhagens que possuem resposta diferenciada quanto a doenças causadas por *Fusarium* spp. e *Stemphylium* spp. em cebola. Tan *et al.*(2003) e Collins *et al.* (2001) também verificaram a importância de análise de presença e sequenciamento de regiões conservadas NBS, o que auxilia na caracterização e manipulação de potenciais genes de resistência.

Portanto, dados gerados a partir da utilização de marcadores do tipo RGAs são valiosos para estudos mais detalhados de caracterização genética do maracujazeiro de forma a agregar informação quanto à obtenção de material resistente a doenças, em especial ao nematóide de galhas.

Tabela 27 – *Primers* do tipo RGAs (análogos de genes de resistência) utilizados para a obtenção dos marcadores moleculares e respectivos número de bandas polimórficas e monomórficas de nove genótipos de *Passiflora* spp.

<b>Primers</b>	<b>Seqüência 5'® 3'</b>	<b>Nº de bandas polimórficas</b>	<b>Nº de bandas monomórficas</b>
S2 + As1	GGIGGIGTIGGIAAIACIAC CAACGCTAGTGGCAATCC	20	0
S2 + As2	GGIGGIGTIGGIAAIACIAC IAAIGCIAGIGGIAAICC	12	0
S2 + As3	GGIGGIGTIGGIAAIACIAC IAGIGCIAGIGGIAGICC	9	1
S2 + LM 637	GGIGGIGTIGGIAAIACIAC ARIGCTARIGGIARICC	17	1
F1 + As2	GGAATGGGIGGIGTIGGIAARAC IAAIGCIAGIGGIAAICC	24	0
S2 + R1	GGIGGIGTIGGIAAIACIAC YCTAGTTGTRAYDATDAYYYTRC	14	1
<b>Total</b>		<b>96</b>	<b>3</b>

Tabela 28 – Matriz de distâncias entre nove acessos de *Passiflora* spp., baseada em 99 marcadores moleculares gerados com uso de *primers* do tipo RGAs

Acessos analisados		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	<i>P. setacea</i>	0,000	0,750	0,680	0,783	0,826	0,651	0,625	0,400	0,538
2	<i>P. nitida</i>	0,750	0,000	0,672	0,625	0,813	0,714	0,722	0,821	0,529
3	<i>P. serratodigitata</i>	0,680	0,672	0,000	0,627	0,729	0,737	0,655	0,735	0,771
4	<i>P. caeruleae</i>	0,783	0,625	0,627	0,000	0,400	0,660	0,543	0,778	0,579
5	<i>P. gibertii</i>	0,826	0,813	0,729	0,400	0,000	0,745	0,459	0,889	0,714
6	<i>P. odontophylla</i>	0,651	0,714	0,737	0,660	0,745	0,000	0,500	0,606	0,613
7	<i>P. edulis</i> nativo	0,625	0,722	0,655	0,543	0,459	0,500	0,000	0,679	0,714
8	<i>P. coc</i> x <i>P. set</i>	0,400	0,821	0,735	0,778	0,889	0,606	0,679	0,000	0,556
9	<i>P. coccinea</i>	0,538	0,529	0,771	0,579	0,714	0,613	0,714	0,556	0,000

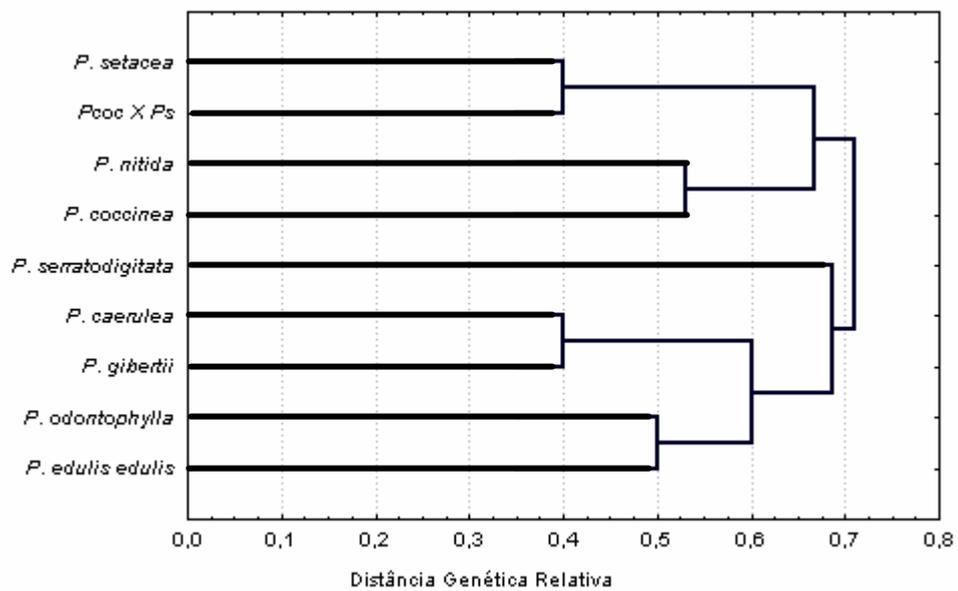


Figura 6 – Análise de agrupamento de nove acessos de *Passiflora* spp. com base na matriz de distâncias genéticas calculadas, utilizando-se 99 marcadores moleculares gerados com uso de *primers* RGAs.

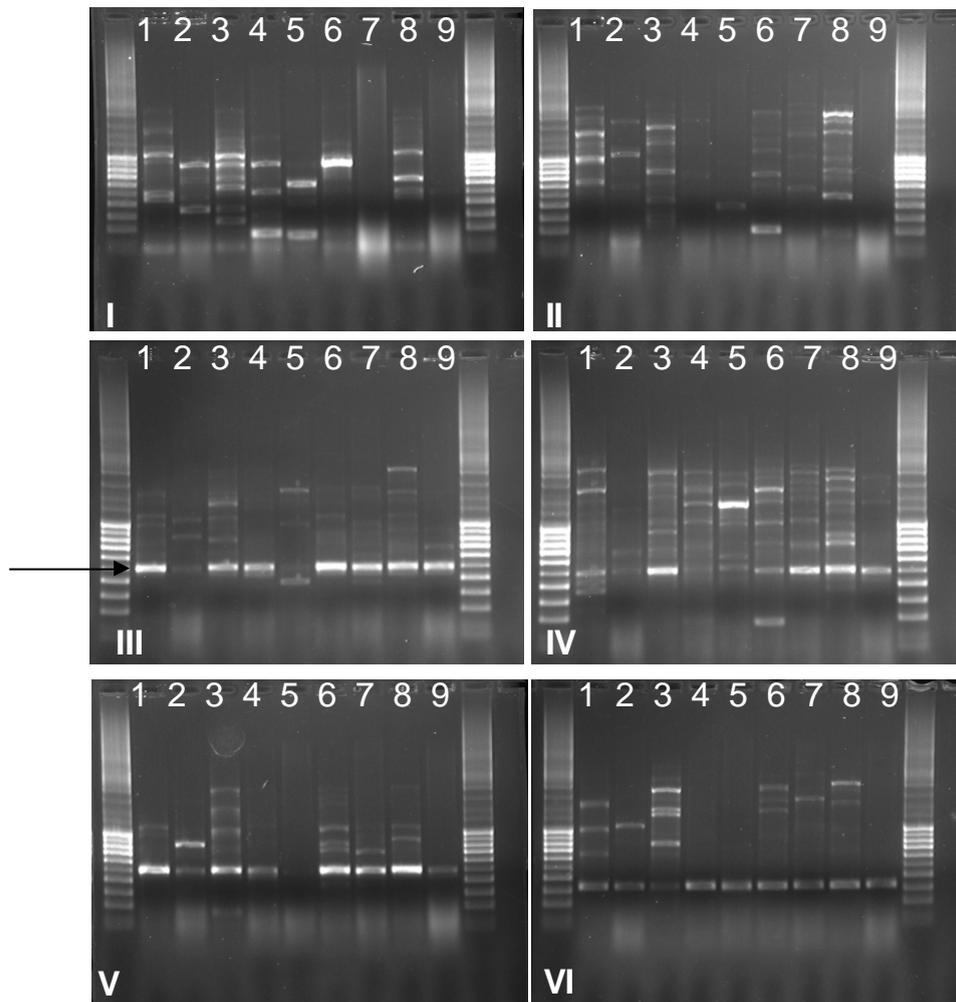


Figura 7 – Marcadores do tipo RGAs gerados. Espécies de *Passiflora* avaliadas: 1 – *P. setacea*; 2 – *P. nitida*; 3 – *P. serratodigitata*; 4 – *P. caerulea*; 5 – *P. gibertii*; 6 – *P. odontophylla*; 7 – *P. edulis edulis* nativo; 8 – *P. coccinea* X *P. setacea*; 9 – *P. coccinea*. Primers utilizados: I-S2As1; II-S2As2; III-S2Lm637; IV-F1As2; V-S2As3; VI-S2R1. A seta no gel III indica os *amplicons* utilizados para o seqüenciamento.

## Conclusões

A partir dos *primers* utilizados, foi detectada uma gama de *amplicons* polifórmicos em *Passiflora* spp.

Os *amplicons* seqüenciados mostraram-se compatíveis com seqüências relacionadas à resistência de planta a doenças.

## Referências Bibliográficas

- BAKER, C. J. & ORLANDI, E. W. Active oxygen in plant pathogenesis. *Annual Review Phytopathology* 33: 299-322. 1997
- BENT, A. F. Plant disease resistance genes: function meets structure. *Plant Cell* 8:1757-1771. 1996.
- BOITEUX, L. S. Characterization of the *Meloidogyne javanica* resistance locus employing molecular markers and isolation of candidate disease resistance loci in carrot genome. University of Wisconsin, Madison, 453p. 2000. Doctor of Philosophy Thesis, 2000.
- BOITEUX, L.S.; FONSECA, M.E.N. & SIMON, P.W. Effects of plant tissue and DNA purification method on RAPD-based genetic fingerprinting analysis in carrot (*Daucus carota* L.). *Journal of American Society for Horticultural Science* 124:32-38. 1999.
- BRUCKNER, C. H. Perspectivas do melhoramento do maracujazeiro. In: Manica, I. (Ed). Maracujá: temas selecionados. Porto Alegre, RS: Cinco Continentes. 70p. 1997
- CANTANHÊDE, I. S. L. Caracterização fenotípica, genética e molecular de genitores e populações segregantes e estimativas de parâmetros genéticos de atributos de interesse para melhoramento genético do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 81 p. Dissertação de Mestrado. 2004.
- COLLINS, N.; PARK, R.; SPIELMEYER, W.; ELLIS, J. & PRYOR, A. J. resistance gene analogs in barley and their relationship to rust resistance. *Gene* 44 (3): 375-381. 2001.
- CRUZ, C. D. Programa GENES: Aplicativo computacional em estatística aplicada à genética (GENES - Software for Experimental Statistics in Genetics). *Genetic Molecular Biology* 21(1): 1415-4757. 1997.
- FISCHER, I. H. Seleção de plantas resistentes e de fungicidas para o controle da “morte prematura” do maracujazeiro, causada por *Nectria hematococca* e *Phytophthora parasítica*. Dissertação de mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2003.
- HAMMOND-KOSACK, K. E. & JONES, J. D. G. Plant disease resistance genes. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48: 575-607. 1997.
- LEISTER, D.; BALLVORA, A.; SALAMINI, F. & GEBHARDT, C. A. A PCR-based approach for isolating pathogen resistance genes from potato with potential for wide application in plants. *Nature Genetics* 14:421-429. 1996.
- MELETTI, L. M. M. Maracujá: produção e comercialização. Campinas: Instituto Agrônomo, 64p. (IAC. Boletim Técnico, 181). 1999.

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

MENEZES, J. M. T.; OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. & BANZATO, D. A. Avaliação da taxa de pegamento de enxertos de maracujá-amarelo sobre espécies tolerantes à “morte prematura de plantas”. Científica 22 (1): 95:104, 1994.

MOHLER V.; KLAHR A.; WENZEL G. & SCHWARZ G. A resistance gene analog useful for targeting disease resistance genes against different pathogens on group 1S chromosomes of barley, wheat and rye. Theoretical and Applied Genetics, 105: 364-368. 2002.

MUTLU, N.; MIKLAS, P. N. & COYNE, D. P. resistance gene analog polymorphism (RGAP) co-localize with disease resistance and QTL in common bean. Molecular Breeding, 17: 127-135. 2005.

NCBI, disponível em <http://www.ncbi.nih.gov>. Acesso em 30 de março. 2006.

OLIVEIRA, J. C.; NAKAMURA, K.; CENTURION, M. A. P. C.; RUGGIERO, C.; FERREIRA, F. R.; MAURO, A. O. & SACRAMENTO, C. K. Avaliação de passifloráceas quanto à morte prematura de plantas. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, Salvador:SBF, 3: 827. 1994a.

OLIVEIRA, J. C. & RUGGIERO, C. Aspectos sobre o melhoramento do maracujazeiro-amarelo. In: Simpósio Brasileiro sobre a cultura do maracujazeiro. Jaboticabal, FUNEP, p.292-302. 1998.

PAN, Q.; LIU, Y.; BUDAI-HADRIAN, O. SELA, M.; CARMEL-GOREN, L. & ZAMIR, D.; FLUHR. Comparative genetics of nucleotide site-leucine rich repeat resistance gene homologues in the genomes of two dicotyledons: tomato and *Arabidopsis*. Genetics, 155:399-322, 2000.

RUGGIERO, C. Maracujá – do plantio à colheita. In: Anais do 50 Simpósio sobre a cultura do maracujazeiro, 10 a 13 de fevereiro, Jaboticabal. 388p. 1998.

SAGAHAI MARROOF, M. A.; SOLIMA, K. M.; JORGENSON, R. A. & ALLARD, R. W. Ribossomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proc. Nat. Acad. Sci. 81:8014-8018. 1984.

STASKAWICS, B. J.; AUSUBEL, F. M.; BAKER, B. J. & JONES, J. D. G. Molecular genetics of plant-disease resistance. Science 268: 661-667. 1995.

STASKAWICZ, B.J.; MUDGETT, M.B.; DANGL, J.L. & GALAN J. E. Common and contrasting themes of plant and animal diseases. Science 292: 2285-2289, 2001.

STATSOFT INC. Statistics for Windows (Computer program manual) Tulsa, OK. StatSoft Inc. 2300 East 14 Street, Tulsa, 1999.

TAN, H.; ZHANG, X.; KARACA, M.; SAHA, S.; JENKINS, J.; CREECH, R. & MA, D. Isolation of resistance gene analogs in cotton (*Gossypium Hirsutum* L.) based on conserved domains of plant disease resistance genes. *Euphytica* 134:1-7. 2003.

VALÊNCIO, A. G. R. B. Identificação de polimorfismo entre cultivares de cebola por meio de marcadores moleculares do tipo 'RGAs' (Resistance Genes Analogs). Universidade de Brasília, Dissertação de Mestrado. 2005.

ZHANG, L. P.; KHAN, A.; NINO-LIU, D. & FOOLAD, M. R. A molecular linkage map of tomato displaying chromosomal locations of resistance gene analogs *Lycopersicon hirsutum* cross. *Genome* 45:133-146. 2002.

## ANEXO

### Capítulo I

Tabela 1 – Valores percentuais de perda e de enraizamento de estacas de diferentes espécies e acessos do gênero *Passiflora*

Espécie/genótipo	Acesso/Código CPAC	Número de estacas	Perda (%)	Enraizamento (%)
<i>P. serratodigitata</i>	CPAC MJ 11-01	234	72,64	31,67
<i>P. coccinea</i>	CPAC MJ 08-02	240	62,5	47,13
<i>P. setacea</i>	CPAC MJ 12-01	144	54,38	46,73
<i>P. coccinea</i> X <i>P. setacea</i>	“Híbrido”	244	62,29	42,21
<i>P. amethystina</i>	CPAC MJ-13-01	144	9,72	93,00
<i>P. nitida</i>	CPAC MJ 01-18	214	61,21	46,39
<i>P. caerulea</i>	CPAC MJ 14-01	144	44,5	55,55
<i>P. gibertii</i>	CPAC MJ 22-01	144	36,15	63,88
<i>P. odontophylla</i>	CPAC MJ 09-01	144	93,8	6,25
<i>P. alata</i>	Comercial	294	90,13	15,64
<i>P. edulis</i>	Yellow Master FB 200	259	89,18	10,03
<i>P. edulis</i>	Vermelhinho	219	81,27	21,91
<i>P. edulis</i>	Redondão	247	90,28	10,93

## ANEXO

### Capítulo III

#### Produtos de sequenciamento dos *amplicons* obtidos a partir da utilização do primer S2LM637

##### *Amplicon 1 (Passiflora setacea):*

GAATTCACTAGTGATTAGGGCTAGGGGGAGGCCGTTTGCATAAAGCGTAGCACGTTTAATAGCTCA  
AGTATTCATCAGGGATGGCGCATATCGTCTGAAGGCATTTCCGGTTAAAGAGTTAGAGGGAATGATC  
ATACTCCATACTGTTCACTTCATATATATGCTCCACTCCATGTGCAATGAGCAACTGTTTATTTCTTG  
TAGTTATGATGATTCTGCTTCCTACACCAAACAGTCACAACCTCTGGGTAAGATTTCCAGCTGTTCC  
AAATTATCGACATCATCAAGAACTATGATACTTTGTTTGTGGCCACCTTTCTTTACCATGTTTGAAC  
CTCCATCATGGACACTTAGTTTCTTTCCATGAAAATTTGAAAAGAACTCTATCCTTACAGCAGCTAC  
ACCATTTTTTCTAACTCTTCTTTTACATCAGGAAGAAAGCATTTCCTTCAAACACTACTAGAATCCC  
GATCATATATAGCTGTACGATAGTCGTCTTCCCCACCCCCCAATCAATTCCCGCGGCC

Regiões genômicas correspondentes às seqüências contidas no NCBI resultantes do alinhamento com a seqüência acima obtida:

gi 62361283 gb AAX81320.1	resistance protein PLTR [Arachis hypo	98.6	1e-19
gi 62361213 gb AAX81285.1	resistance protein PLTR [Arachis hypo	97.1	3e-19
gi 28558777 gb AAO45748.1	MRGH5 [Cucumis melo]	87.8	2e-16
gi 47499347 gb AAT28431.1	potential resistance protein [Rosa ro	86.7	4e-16
gi 47499349 gb AAT28432.1	potential resistance protein [Rosa ro	85.9	6e-16
gi 29892671 gb AAP03074.1	NBS-LRR type R protein [Thinopyrum in	84.7	1e-15
gi 28371831 gb AAO38214.1	RCa2 [Manihot esculenta]	84.3	2e-15
gi 30088777 gb AAP13546.1	NBS-LRR type R protein [Triticum a...	83.2	4e-15
gi 62361227 gb AAX81292.1	resistance protein PLTR [Arachis hypo	83.2	4e-15
gi 62361128 gb AAX81243.1	resistance protein PLTR [Arachis hypo	82.8	5e-15
gi 47499359 gb AAT28437.1	potential resistance protein [Rosa ro	82.4	7e-15
gi 29892701 gb AAP03077.1	NBS-LRR type R protein [Triticum aest	82.4	7e-15
gi 1663551 gb AAC49510.1	disease resistance protein homolog	82.4	7e-15
gi 29892692 gb AAP03076.1	NBS-LRR type R protein [Triticum a...	82.0	9e-15
gi 18033111 gb AAL56987.1	functional candidate resistance prote	82.0	9e-15
gi 62361287 gb AAX81322.1	resistance protein PLTR [Arachis hypo	81.3	2e-14
gi 46948258 gb AAT07083.1	resistance protein [Rosa roxburghii]	80.5	3e-14
gi 22324566 gb AAM95614.1	PR-protein [Capsicum annuum]	80.5	3e-14
gi 62361237 gb AAX81297.1	resistance protein PLTR [Arachis hypo	80.5	3e-14
gi 84620684 gb ABC59491.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	80.5	3e-14
gi 47499363 gb AAT28439.1	potential resistance protein [Rosa ro	80.1	4e-14
gi 37781356 gb AAP44393.1	nematode resistance-like protein [Sol	79.7	5e-14

**Amplicon 2.1 (*Passiflora nitida*):**

GAATTCAGTGTGATTAAGGCTAGGGGGAGGCCNGCACAATGTTTCGCCATATTGATGGAGTGCT  
 GCTCGAAACCTTCTTGGGATGATCCTGTCCAAAGGCATGCCAACTCAGGAGTTCAAGTGATTTCT  
 CATATCCAATTCCTCCATTCTGAACACANCATCCACATCTTCGGACCTTAATGAACATTCATTTCTTG  
 TTGTTACAATGATTTTACTGCCTGGGCAGAACCATTCTTGGATTGAACAATGGCATGAAATTGGTC  
 TAGGTCATCCACATCATCTAGAACAAGAAAAACCTTTCTGCAGACATACCATATCTTTGATTCTAAT  
 GATCCCTTCATGTACACTGTTTATCTTTTTTGCTTTCTTCTCAAAAAATCTAAAAGAAGTTGCCT

Regiões genômicas correspondentes às seqüências contidas no NCBI resultantes do alinhamento com a seqüência acima obtida:

gi 84620688 gb ABC59493.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	72.0	7e-12
gi 73658512 emb CAJ271120.1	putative TIR-NBS-LRR resistance prot	68.9	6e-11
gi 71363579 gb AAZ30329.1	disease resistance-like protein [Popu	67.4	2e-10
gi 46948256 gb AAT07082.1	resistance protein [Rosa roxburghii]	65.5	6e-10
gi 28371834 gb AAO38215.1	RCa4 [Manihot esculenta]	55.5	7e-07
gi 73658510 emb CAJ27119.1	putative TIR-NBS-LRR resistance prot	55.5	7e-07
gi 13509360 emb CAC35379.1	RGA4.26 protein [Linum usitatissimum	51.6	9e-06
gi 70727708 gb AAZ07902.1	NBS-LRR protein [Ipomoea batatas]	50.8	2e-05
gi 37654111 emb CAD56824.1	putative resistance gene analogue pr	50.4	2e-05
gi 21745005 gb AAM77243.1	putative disease resistance gene a...	48.1	1e-04
gi 10178211 dbj BAB11635.1	TMV resistance protein N [Arabidopsi	48.1	1e-04
gi 7107240 gb AAF36334.1	unknown [Cicer arietinum]	48.1	1e-04
gi 82542037 gb ABB82026.1	TIR-NBS disease resistance-like prote	47.4	2e-04
gi 37654107 emb CAD56822.1	putative resistance gene analogue pr	47.0	2e-04
gi 7107236 gb AAF36332.1	unknown [Cicer arietinum]	46.6	3e-04
gi 7107266 gb AAF36347.1	unknown [Cajanus cajan]	46.2	4e-04
gi 7107254 gb AAF36341.1	unknown [Cajanus cajan]	46.2	4e-04
gi 28558778 gb AAO45749.1	MRGH63 [Cucumis melo]	45.8	5e-04
gi 21745015 gb AAM77248.1	putative disease resistance gene a...	43.5	0.003
gi 37654089 emb CAD56844.1	putative resistance gene analogue pr	43.1	0.003
gi 19070485 gb AAL83885.1	NBS-2 [Cucumis melo]	42.7	0.004
gi 1663549 gb AAC49509.1	disease resistance protein homolog	42.7	0.004
gi 71363572 gb AAZ30326.1	disease resistance-like protein [Popu	42.7	0.004
gi 71363566 gb AAZ30324.1	disease resistance-like protein [Popu	42.7	0.004
gi 49176592 gb AAT52223.1	Rgh18 [Cucumis melo]	42.4	0.006
gi 22947652 gb AAN08168.1	putative citrus disease resistance...	42.4	0.006
gi 21744983 gb AAM77232.1	putative disease resistance gene a...	42.4	0.006
gi 37654091 emb CAD56815.1	putative resistance gene analogue pr	42.4	0.006
gi 21745030 gb AAM77255.1	putative disease resistance gene a...	42.0	0.008
gi 82542043 gb ABB82029.1	TIR-NBS disease resistance-like prote	42.0	0.008
gi 8925783 gb AAF81616.1	resistance protein analog [Phaseolus v	41.2	0.013

***Amplicon 3.1 (Passiflora serratogitata):***

CCTTTGCATTTTCTCGCAATTTTTCTTCCAGGTTCTTCCAAATATGCATAGACATCCGAATACAAGG  
CATGTTTTGCAAATAGCAACCAGCAGTCATCTTCACTCAATTCTCTTAAACGATAAATTGGAAGTGT  
AAGCACCTTCGATACTACATTTTCATCTCGTGTGTCACAAGGACCTTGCTTCCTCGTGCAGAT  
TTCAATGGTAGCAATAGAGAATCCAAAATAATATTATTCCAGACATCATCCAAAACAAGTAAAATCCT  
TTCCCCGCTGACCTTCTTCTGTAGCTCAATTGCAAGCTCATTTGGTGACATGGAATCGATTTTCCTTG  
AGAATGCTGATTTCTTGAGAATGCTCTTGGCTAGCTTCAGAACATCAAACCTTCCGAAACGCATA  
CCCATGCTCTGAGTTTATCAAACCTCTGCATCACTCGACTGTCTTTATAAACGAGTTGTGAAAGTGT  
CGTCTTCCCCACCCCAATCGAATCCCCGCGGCC

Regiões genômicas correspondentes às seqüências contidas no NCBI resultantes do alinhamento com a seqüência acima obtida:

gi 84620710 gb ABC59502.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	152	6e-36
gi 53680938 gb AAU89656.1	resistance protein-like protein [Ponc	145	6e-34
gi 40644878 emb CAE46479.1	nucleotide binding site leucine-r...	142	5e-33
gi 53680902 gb AAU89638.1	resistance protein-like protein [Ponc	140	3e-32
gi 15487949 gb AAL01020.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	138	7e-32
gi 15487955 gb AAL01023.1	NBS/LRR resistance protein-like pr...	138	7e-32
gi 15487842 gb AAL00971.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	135	5e-31
gi 53680900 gb AAU89637.1	resistance protein-like protein [Ponc	132	7e-30
gi 62632825 gb AAX89383.1	NBS-LRR type disease resistance prote	132	7e-30
gi 7107262 gb AAF36345.1	unknown [Cajanus cajan]	131	9e-30
gi 62361159 gb AAX81258.1	resistance protein PLTR [Arachis hypo	131	1e-29
gi 33357781 gb AAQ16581.1	nbs-llr resistance protein [Saccharum	130	2e-29
gi 15487951 gb AAL01021.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	130	2e-29
gi 5817335 gb AAD52711.1	putative NBS-LRR type disease resis...	130	2e-29
gi 62632823 gb AAX89382.1	NBS-LRR type disease resistance prote	130	2e-29
gi 15487854 gb AAL00977.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	129	3e-29
gi 44921729 gb AAS49215.1	disease resistance protein [Glycine m	127	2e-28
gi 44921727 gb AAS49214.1	disease resistance protein [Glycine m	126	3e-28

***Amplicon 3.2 (Passiflora serratogitata):***

GCAGAGGTTTGATAAACTCAGAGCATGGGTATGCGTTTTCGGAAGAGTTTGATGTTCTGAAGCTAGC  
 CAAGAGCATTCTCAAGGAAATCAGCATTCTCAAGGAAATCGATTCCATGTCACCAAATGAGCTTGC  
 AATTGAGCTACAGAAGAAGGTCAGCGGGGAAAGGATTTTACTTGTGGATGATGTCTGGAATAA  
 TATTATTTGGATTCTCTATTGCTACCATTGAAATCTGCAGCACGAGGAAGCAAGGTCCTTGTGACA  
 ACACGAGATGAAAATGTAGTATCGAAGGTGCTTACAGGTTCCAATTTATCGTTTTAAGAGAATTGAGT  
 GAAGATGACTGCTGGTTGCTATTTGCAAAACATGCCTTGTATTCCGATGTCTATGCATATTTGGAAG  
 AACCTGGAAGAAAATTGCGAGAAAATGCAAAGGCCTCCCCCTAGCCCTAATCGAATTCCC GCG  
 GCCTTGGG

Regiões genômicas correspondentes às seqüências contidas no NCBI resultantes do alinhamento com a seqüência acima obtida:

gi	84620702	gb	ABC59499.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	98.2	9e-20
gi	84620647	gb	ABC59474.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	96.3	3e-19
gi	84620722	gb	ABC59506.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	92.4	5e-18
gi	53680908	gb	AAU89641.1	resistance protein-like protein [Ponc	89.7	3e-17
gi	53680902	gb	AAU89638.1	resistance protein-like protein [Ponc	89.7	3e-17
gi	53680906	gb	AAU89640.1	resistance protein-like protein [Ponc	88.6	7e-17
gi	53680896	gb	AAU89635.1	resistance protein-like protein [Ponc	87.0	2e-16
gi	84620664	gb	ABC59482.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	87.0	2e-16
gi	53680910	gb	AAU89642.1	resistance protein-like protein [Ponc	86.3	4e-16
gi	53680904	gb	AAU89639.1	resistance protein-like protein [Ponc	85.9	5e-16
gi	53680938	gb	AAU89656.1	resistance protein-like protein [Ponc	84.3	1e-15
gi	53680916	gb	AAU89645.1	resistance protein-like protein [Ponc	84.0	2e-15
gi	38045795	gb	AAR08868.1	resistance protein candidate [Vitis r	84.0	2e-15
gi	15487915	gb	AAL01004.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	84.0	2e-15
gi	15487898	gb	AAL00997.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	84.0	2e-15
gi	15487886	gb	AAL00991.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	84.0	2e-15
gi	15487876	gb	AAL00986.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	84.0	2e-15
gi	84620710	gb	ABC59502.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	83.6	2e-15
gi	62361159	gb	AAX81258.1	resistance protein PLTR [Arachis hypo	82.8	4e-15
gi	84620712	gb	ABC59503.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	82.8	4e-15
gi	53680926	gb	AAU89650.1	resistance protein-like protein [Ponc	82.4	5e-15
gi	53680900	gb	AAU89637.1	resistance protein-like protein [Ponc	82.0	7e-15
gi	40644895	emb	CAE46513.1	nucleotide binding site leucine-r...	82.0	7e-15
gi	40644878	emb	CAE46479.1	nucleotide binding site leucine-r...	82.0	7e-15
gi	53680912	gb	AAU89643.1	resistance protein-like protein [Ponc	79.7	3e-14
gi	53680898	gb	AAU89636.1	resistance protein-like protein [Ponc	79.3	4e-14
gi	44921729	gb	AAS49215.1	disease resistance protein [Glycine m	78.2	1e-13
gi	44921727	gb	AAS49214.1	disease resistance protein [Glycine m	77.8	1e-13
gi	3328063	gb	AAC26763.1	putative resistance protein [Phaseolus	77.4	2e-13

**Amplicon 4.1 (*Passiflora caerulea*):**

GGCGAGGCCTTTGCACTTCCTCACAATACTTCTTCCAATCCCTTCCAAGTCTCTATAGCATCGGGG  
 CTGCAACCATCGAAGGCAAGTTTTGAAAATAACAACCAGCAGTCATCTTCGCTCAATGCTTGCAAA  
 TGGTGACTTTGCACTGTAGACATGACTGAAGCGACACTTTTCATTTCTTGTGGTTACAAGGACCTTAC  
 TTCCTCGCGCAACAGATGTCAGTGGTGCCAACAAAAGTTCCCAGTCAGCATATGTATCATTCCACT  
 CATCATCCAGAACAAGTAGAACCCCTTTTGCCTTTTGTAGTTTCTGCTCTAGTTCAAGTTGAAGTTGATTT  
 AGCGACGTGGAATCACTGACAGATGACCCAATTTCCCTTGAGAATAGTTGCAGTCAGCTTGGGAACA  
 TCAAACCTTTCAGACACACATACCCAAGCTCTGAGTTTGTCAAATCTCTGCTTTACTCGACTGTCAT  
 TGAAACGAGCTGTGCAAGGGTCGTCTTCCCCACCCCCCAATCGAATCCCCGCGGCC

Regiões genômicas correspondentes às seqüências contidas no NCBI resultantes do alinhamento com a seqüência acima obtida:

gi		84620686		gb		ABC59492.1		NBS-LRR disease resistance-like pr...	174	2e-42
gi		84620702		gb		ABC59499.1		NBS-LRR disease resistance-like pr...	172	4e-42
gi		84620647		gb		ABC59474.1		NBS-LRR disease resistance-like pr...	171	2e-41
gi		84620722		gb		ABC59506.1		NBS-LRR disease resistance-like pr...	168	1e-40
gi		40644878		emb		CAE46479.1		nucleotide binding site leucine-r...	162	5e-39
gi		84620664		gb		ABC59482.1		NBS-LRR disease resistance-like pr...	160	2e-38
gi		84620712		gb		ABC59503.1		NBS-LRR disease resistance-like pr...	157	2e-37
gi		84620710		gb		ABC59502.1		NBS-LRR disease resistance-like pr...	155	7e-37
gi		40644895		emb		CAE46513.1		nucleotide binding site leucine-r...	150	2e-35
gi		15487915		gb		AAL01004.1		NBS/LRR resistance protein-like prote	142	6e-33
gi		62361120		gb		AAX81239.1		resistance protein PLTR [Arachis hypo	142	7e-33
gi		15487876		gb		AAL00986.1		NBS/LRR resistance protein-like prote	140	2e-32
gi		62632823		gb		AAX89382.1		NBS-LRR type disease resistance prote	140	3e-32
gi		53680916		gb		AAU89645.1		resistance protein-like protein [Ponc	139	4e-32
gi		15487898		gb		AAL00997.1		NBS/LRR resistance protein-like prote	139	4e-32
gi		15487886		gb		AAL00991.1		NBS/LRR resistance protein-like prote	139	4e-32
gi		53680908		gb		AAU89641.1		resistance protein-like protein [Ponc	138	1e-31
gi		53680902		gb		AAU89638.1		resistance protein-like protein [Ponc	138	1e-31
gi		53680900		gb		AAU89637.1		resistance protein-like protein [Ponc	137	1e-31
gi		33357781		gb		AAQ16581.1		nbs-llr resistance protein [Saccharum	137	2e-31
gi		44921727		gb		AAS49214.1		disease resistance protein [Glycine m	137	2e-31
gi		13111697		gb		AAC15224.2		putative resistance protein KNBS4 [Gl	136	3e-31
gi		15487894		gb		AAL00995.1		NBS/LRR resistance protein-like prote	136	4e-31
gi		53680906		gb		AAU89640.1		resistance protein-like protein [Ponc	135	5e-31
gi		53680938		gb		AAU89656.1		resistance protein-like protein [Ponc	134	1e-30
gi		62361159		gb		AAX81258.1		resistance protein PLTR [Arachis hypo	134	1e-30
gi		44921725		gb		AAS49213.1		disease resistance protein [Glycine m	133	3e-30
gi		38373629		gb		AAR19099.1		NBS-LRR type disease resistance prote	133	3e-30
gi		22652532		gb		AAN03742.1		NBS-LRR-like protein [Oryza sativa (j	131	1e-29

***Amplicon 4.2 (Pasiflora caerulea):***

CGGAATTCAGTGTGATTAGGGCTAGGGGGAGGCCTTTGCATTTTTTTCACAATTTGTCTTCCAGGT  
TCTTCTAAATACGAATAGTCATCCGAATACAAGGCATGTTTTGCAAATAACAACCAGCAGTCATCAT  
CACTCAATTCTCTTAAACGATAAATTGGAAGTGTGGCCATTACCAATGCTACCTTGTCTTGTCTGTG  
TGTAACCAGGACCTTACTTCCTTGTGCTGCAGATCTCAACGGCATCAATAGAAATCCCAGTCACG  
ATACTTATCATTCCAGACATCATCCAATACAAGCAAATCCTTTTTCCCTCCTATTTCCCTTCTAGCT  
GAAGTTGAAGTGCCTTTGGCGACATGGAATCACACTCAGAAAAACCAATTTCCCTTGAGAATATTCTT  
TGTTATCTTGAGAACATCAAACCTTCCGAAACGCATACCCATGCTCTGAGTTTATCAAACCTCTGC  
TCCACTCGACTATCTTTATAACGAGTTGTGAAAGTGTGCTCTTCCCCACCCCCCAATCGAATTCC  
CGCGGCC

Regiões genômicas correspondentes às seqüências contidas no NCBI resultantes do alinhamento com a seqüência acima obtida:

gi 84620686 gb ABC59492.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	203	3e-51
gi 84620647 gb ABC59474.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	202	4e-51
gi 53680926 gb AAU89650.1	resistance protein-like protein [Ponc	176	3e-43
gi 53680916 gb AAU89645.1	resistance protein-like protein [Ponc	175	9e-43
gi 40644895 emb CAE46513.1	nucleotide binding site leucine-r...	175	9e-43
gi 53680908 gb AAU89641.1	resistance protein-like protein [Ponc	174	2e-42
gi 53680902 gb AAU89638.1	resistance protein-like protein [Ponc	174	2e-42
gi 15487915 gb AAL01004.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	173	3e-42
gi 15487949 gb AAL01020.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	173	3e-42
gi 15487955 gb AAL01023.1	NBS/LRR resistance protein-like pr...	173	3e-42
gi 15487876 gb AAL00986.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	173	3e-42
gi 53680900 gb AAU89637.1	resistance protein-like protein [Ponc	172	4e-42
gi 15487898 gb AAL00997.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	172	7e-42
gi 15487886 gb AAL00991.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	172	7e-42
gi 53680904 gb AAU89639.1	resistance protein-like protein [Ponc	171	1e-41
gi 53680898 gb AAU89636.1	resistance protein-like protein [Ponc	171	1e-41
gi 15487871 gb AAL00984.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	170	2e-41
gi 15487842 gb AAL00971.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	169	5e-41
gi 53680896 gb AAU89635.1	resistance protein-like protein [Ponc	169	6e-41
gi 15487844 gb AAL00972.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	169	6e-41
gi 15487919 gb AAL01006.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	168	1e-40
gi 40644878 emb CAE46479.1	nucleotide binding site leucine-r...	168	1e-40
gi 62361120 gb AAX81239.1	resistance protein PLTR [Arachis hypo	167	2e-40
gi 53680906 gb AAU89640.1	resistance protein-like protein [Ponc	166	5e-40
gi 44921727 gb AAS49214.1	disease resistance protein [Glycine m	165	7e-40
gi 33357781 gb AAQ16581.1	nbs-llr resistance protein [Saccharum	162	8e-39

***Amplicon 6.1 (Passiflora odontophylla):***

GCCTTTGCATTTTCTCACAATTTGTCTTCCAGGTTCTTCCAAATATGCATATTCATCCGAATACAAGG  
 CATGTTTTGCAAATAATGACCAGCAGTCATCTTCACTCAATCCCTTAAATGATAACTTGGAAGTGT  
 AGACACCTCTAATACTACCCTTTCTCTCGTGTGTCACAAGGACCTTGCTTCCTTGTGCTGTAATT  
 TCAATGGTATCAATAGAGAATCCCACTTAATAGTATTCCAAACATCATCCAAAACAAATAAAATCCTT  
 TCCCCTCTGACCTTCTCCTCAAGCTCAATTGCGAGCGCATTGGTACTTGGAATCACAATCACGA  
 GAACCGATTTCTTGAGAATGCTCTTGATTAGTTTCAGAACATCAAGCTCTTCTGAAACACATACCC  
 ATACTCTGAGTTTATCAAACGTGTGCTTACCCGACTGTCTTTATAAACGAGTTGTGAAAAGTGTGCT  
 CTCCCCACCCCCCAATCGAATTCCCGCGGCC

Regiões genômicas correspondentes às seqüências contidas no NCBI resultantes do alinhamento com a seqüência acima obtida:

gi 84620686 gb ABC59492.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	103	3e-21
gi 15487915 gb AAL01004.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	103	3e-21
gi 84620647 gb ABC59474.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	102	6e-21
gi 15487876 gb AAL00986.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	101	1e-20
gi 84620702 gb ABC59499.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	101	1e-20
gi 15487919 gb AAL01006.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	94.0	2e-18
gi 84620664 gb ABC59482.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	93.6	3e-18
gi 15487967 gb AAL01029.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	92.8	5e-18
gi 84620722 gb ABC59506.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	92.8	5e-18
gi 77641433 gb ABB00559.1	I2 [Nicotiana tabacum]	92.0	8e-18
gi 77641393 gb ABB00541.1	I2 [Nicotiana tabacum]	92.0	8e-18
gi 15487951 gb AAL01021.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	91.7	1e-17
gi 40644878 emb CAE46479.1	nucleotide binding site leucine-r...	91.7	1e-17
gi 15487844 gb AAL00972.1	NBS/LRR resistance protein-like prote	91.3	1e-17
gi 62361159 gb AAX81258.1	resistance protein PLTR [Arachis hypo	91.3	1e-17
gi 48210046 gb AAT40545.1	putative plant disease resistant prot	90.9	2e-17
gi 77641140 gb ABB00431.1	I2 [Solanum melongena]	90.9	2e-17
gi 77641117 gb ABB00421.1	I2 [Capsicum annuum]	90.1	3e-17
gi 77641108 gb ABB00417.1	I2 [Capsicum annuum]	90.1	3e-17

***Amplicon 7.2 (Passiflora edulis nativo):***

AGTGATTAGGGCTAGGGGGAGGCCTGCCATGTTACCATTGATGGAGTGCTCCTCGAAACCTGT  
CCTATGGCGATGATCCTGTCCGAAGGCATGCAACTCAGGAGTTGAAGTGATTTCTCATCATCCAAT  
TCCTCCATTCTGAAGCGCTTCCACATCCTTCGGACCTTAATGAACCGTCTTTTCTTGTTGTTACTAT  
GATTTTACGTTTGGACAAACCATTCTTGATTGAACAAAGGCATGAAATTGGTCCAATCATCAACAT  
CATCAACAACAAGAAGGACCTTTCTGCACATACCATATCATTTGATTCTATGATCCCTTCGTGTAAC  
TGTTTATCTTTTCTGCTTTGCTTCTCAAAGATCAAAGAAACTGCCTTTGCAAAAACCAAGCATTGGTT  
GCTTTGAAACTTCTCTAACATCATGCGATAAAGCTTCTTCTTCAAAGTTGTTCAAGTTCATATGAAA  
AGCAATTTTCAATGTCGTCTTCCCACCTCCCATCGAATTCGCGGCCGCCATGGGGCGGTAGCAT  
GCAATTCCGCCAATTCGCCCTATATGAGTCGTATACATCATGACGTCGTTTTACGACGA

Regiões genômicas correspondentes às seqüências contidas no NCBI resultantes do alinhamento com a seqüência acima obtida:

gi 28371834 gb AAO38215.1	RCa4 [Manihot esculenta]	45.4	0.001
gi 84620688 gb ABC59493.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	40.0	0.054
gi 71363579 gb AAZ30329.1	disease resistance-like protein [Popu	38.9	0.12
gi 87136912 gb ABD27654.1	peptidase M48, Ste24p [Novosphingo...	32.7	8.6

***Amplicon 9.2 (Pasiflora coccinea):***

CTTTGAAGGAAAATGCTTTCTTCTTCATGTGAAAGAAAGCGTTAGAAAAGATCGGTGTAGCTGCTGT  
AAGGAAAGAGCTTCTTTCTCAAATTTTCATGGAAAGAAACCTGAGTGTCCAGGTTCAAATATGGTAA  
AGGAAAGGCTGCGCCACAAACGAAGTATCATAGTTCTTGATGATGTCCGATAATTTGGAACAGCTGG  
AAATCTTAGCCCAGAGTTGTGACTGGTTTGGTGTAGGAAGCAGAATCATCATAACTACAAGAAATA  
AACAGTTGCTCATTGCACATGGAGTGGAGCATATATAAAGTGAACAGTCTAGAGTATGATCATT  
TCTCCAACCTTTAAACCAAAATGCCTTCAGACGAAGCGCCATCCCTCATGAATACTCTGAGCTATCA  
AACGTGCTACGCTTTTATGCAAATGGCCCTCCCCCTAGCCTTAATCGAATTCGCCGCC

Regiões genômicas correspondentes às seqüências contidas no NCBI resultantes do alinhamento com a seqüência acima obtida:

gi 47499349 gb AAT28432.1	potential resistance protein [Rosa ro	112	3e-24
gi 62361213 gb AAX81285.1	resistance protein PLTR [Arachis hypo	112	6e-24
gi 47499351 gb AAT28433.1	potential resistance protein [Rosa ro	111	8e-24
gi 51477390 gb AAU04763.1	MRGH8 [Cucumis melo]	111	1e-23
gi 73658524 emb CAJ27126.1	putative TIR-NBS-LRR resistance prot	110	2e-23
gi 62361233 gb AAX81295.1	resistance protein PLTR [Arachis hypo	108	6e-23
gi 84620678 gb ABC59488.1	NBS-LRR disease resistance-like pr...	108	6e-23
gi 28371831 gb AAO38214.1	RCa2 [Manihot esculenta]	108	8e-23
gi 28558777 gb AAO45748.1	MRGH5 [Cucumis melo]	107	2e-22
gi 73658506 emb CAJ27118.1	putative TIR-NBS-LRR resistance prot	107	2e-22
gi 62361193 gb AAX81275.1	resistance protein PLTR [Arachis hypo	106	3e-22
gi 73658518 emb CAJ27123.1	putative TIR-NBS-LRR resistance prot	105	4e-22
gi 62361267 gb AAX81312.1	resistance protein PLTR [Arachis hypo	105	4e-22
gi 22324566 gb AAM95614.1	PR-protein [Capsicum annum]	105	5e-22
gi 11761674 gb AAG40138.1	disease resistance-like protein [Bras	105	5e-22
gi 47499355 gb AAT28435.1	potential resistance protein [Rosa ro	105	7e-22
gi 37781360 gb AAP44394.1	nematode resistance-like protein [Sol	103	2e-21
gi 37781280 gb AAP44392.1	nematode resistance-like protein [Sol	101	1e-20