

## Recursos genéticos de *Passiflora* en Embrapa Mandioca e Fruticultura

## Recursos Genéticos de *Passiflora* na Embrapa Mandioca e Fruticultura

Onildo Nunes de Jesus<sup>1</sup>, Cristina de Fatima Machado<sup>1</sup>, Taliane Leila Soares<sup>1</sup>, Tatiana Goês Junghans<sup>1</sup>, Eder Jorge de Oliveira<sup>1</sup> y Fabio Gelape Faleiro<sup>2</sup>

### 1. Importância econômica do maracujazeiro

O maracujá amarelo é cultivado de Norte a Sul do Brasil, proporcionando economia e renda para inúmeros municípios. A maior exploração comercial (mais de 95% da produção nacional) é feita com maracujá azedo ou casca amarela (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) devido ao seu maior rendimento industrial (Vianna-Silva *et al.*, 2008), enquanto que o maracujá roxo (*Passiflora edulis* Sims.) predomina na Austrália e África do Sul, onde é explorado para consumo como suco ou fruta fresca. A passicultura é explorada essencialmente em pequenas propriedades (1 a 5 ha) por agricultores familiares que utilizam como fonte contínua de renda, já que tem um longo período de safra. A produção brasileira de maracujá em 2010 foi de 920.158 mil t, obtidas em 62.243 mil ha (14,78 t ha<sup>-1</sup>) e 76% desta produção representada pela região Nordeste. Neste cenário, o Estado da Bahia é responsável por 52% da área plantada (77% do Nordeste) e 50% da produção brasileira (66% do Nordeste). Nos territórios baianos do Sertão Produtivo, Litoral Norte e Submédio Vale do São Francisco apenas cinco municípios cobrem 71% da área plantada na Bahia e 36%, 47% e 72% de toda produção do país, do Nordeste e da Bahia, respectivamente (IBGE, 2013; Figura 1). Apesar de a Bahia ser considerada o maior produtor de maracujá do país, a produtividade neste estado é considerada baixa (13,9 t ha<sup>-1</sup>) quando comparada ao potencial da cultura que é de 48 t ha<sup>-1</sup> (Freitas *et al.*, 2011).

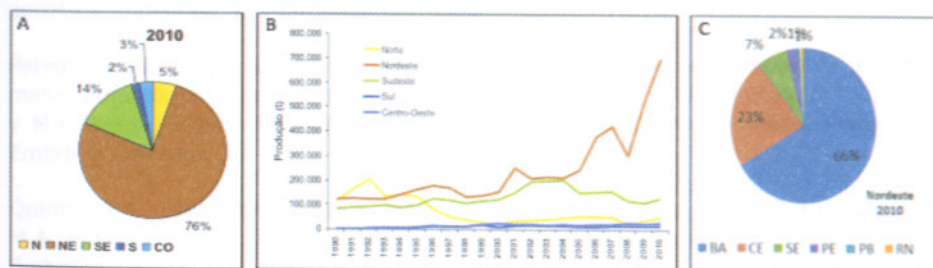


Figura 1. Distribuição da produção de maracujazeiro nas macrorregiões (A). Evolução anual da produção de maracujá no Brasil no período de 1990 a 2010 (B). Principais estados produtores de maracujá da região Nordeste (C) (IBGE, 2013). Nordeste (N); Sudeste (SE); Norte (N); Centro-Oeste (CO) e Sul (S). Estados: Bahia (BA); Ceará (CE); Sergipe (SE); Pernambuco (PE); Paraíba (PB) e Rio Grande do Norte (RN).

<sup>1</sup> Embrapa Mandioca e Fruticultura, 44380-000 Cruz das Almas, BA, Brasil. onildo.nunes@embrapa.br

<sup>2</sup> Embrapa Cerrados, Caixa Postal 08223, 73310-970 Planaltina, DF, Brasil. fabio.faleiro@embrapa.br

### 2. Recursos Genéticos de *Passiflora* na Embrapa

A utilização de recursos genéticos tem viabilidade fundamentada na coleta, introdução, conservação e intercâmbio de acessos de uma dada espécie ou cultura, bem como em sua caracterização e avaliação.

A conservação oferece suporte aos trabalhos de melhoramento genético, viabiliza o intercâmbio de germoplasma e, especialmente, a preservação da variabilidade genética, enquanto a caracterização e avaliação permitem conhecer qualidades e potencialidades do germoplasma. Problemas de germinação e armazenamento de sementes são muito comuns no gênero *Passiflora*, até mesmo no maracujá-azedo (Meletti *et al.*, 2002), e têm se mostrado um fator limitante para conservação da espécie nos Bancos de Germoplasma de *Passiflora*. Para viabilizar a utilização das diversas espécies de *Passiflora* para fins de conservação em bancos de germoplasma, melhoramento genético e uso como porta-enxertos é fundamental conhecer as características das sementes dessas espécies, assim como os procedimentos adequados para sua conservação, germinação e métodos apropriados para determinar a viabilidade das mesmas (Goedert, 1984).

Algumas das técnicas usadas para a obtenção de percentuais expressivos de germinação de sementes de maracujazeiro consistem na escarificação mecânica, ou química, a base de aplicação de ácidos, emprego de temperaturas alternadas, e aplicação de reguladores vegetais (Pereira e Andrade, 1994; Dias *et al.*, 2003; Severin *et al.*, 2003; Passos *et al.*, 2004; Osipi e Nakagawa, 2005; Junghans *et al.*, 2008). A germinação é influenciada por fatores externos (luz, temperatura, disponibilidade de água e de oxigênio) e internos (inibidores e promotores da germinação) às sementes, que podem atuar por si ou em interação com os demais (Nassif *et al.*, 1998; Kerbauy, 2004). No caso do maracujá os efeitos dessas variáveis parece ser genótipo dependente (Santos *et al.*, 1999; Duarte Filho *et al.*, 2000; Vasconcellos *et al.*, 2005; Osipi e Nakagawa, 2005). Uma alternativa para a conservação das sementes recalcitrantes e intermediárias seria a criopreservação (Santos, 2000; Ospina *et al.*, 2000). Essa técnica se caracteriza pela utilização de nitrogênio líquido na conservação de estruturas vegetativas e reprodutivas em temperaturas ultra-baixas (-150°C a -196°C) (González-Benito *et al.*, 1998; Salomão, 2002). Meletti *et al.* (2007) observaram comportamento diferenciado na germinação para as sementes criopreservadas de três espécies de maracujazeiro e sugerem pesquisas detalhadas para cada espécie.

O gênero *Passiflora* possui mais de 450 espécies, sendo o Brasil um dos principais centros de diversidade genética. Com a finalidade de evitar o risco da erosão genética e otimizar o uso dessas plantas, torna-se necessário o estabelecimento de estratégias efetivas de conservação *ex situ*, buscando-se resgatar a variabilidade existente, mantendo-a disponível para utilização em programas de melhoramento genético do maracujazeiro. Neste sentido, foi implantado na Embrapa o Banco de Germoplasma de maracujá, tendo como atividades principais a conservação da variabilidade genética do gênero *Passiflora* e a caracterização, avaliação, intercâmbio e documentação deste germoplasma. Essas atividades são conduzidas de forma integrada pelas Unidades descentralizadas da Embrapa, sediadas na região do cerrado: Planaltina - DF (Embrapa Cerrados); semiárido: Petrolina - PE (Embrapa Semiárido) e do recôncavo baiano: Cruz das Almas - BA (Embrapa Mandioca e Fruticultura). Cada Unidade realiza coleta, conservação, intercâmbio, documentação, caracterização e

avaliação de germoplasma de áreas representativas dos diversos agrossistemas dentro de sua abrangência estadual, que, em conjunto, forma a principal coleção ativa do país.

Atualmente, o BAG Embrapa de maracujá é constituído de 478 acessos pertencentes a espécies de interesse imediato e/ou potencial para o melhoramento genético do maracujazeiro (*P. actinia*, *P. alata*, *P. amethystina*, *P. ambigua*, *P. auriculata*, *P. caerulea*, *P. capsularis*, *P. cerasina*, *P. cerradensis*, *P. cincinnata*, *P. coccinea*, *P. eichleriana*, *P. elegans*, *P. foetida*, *P. galbana*, *P. gardneri*, *P. gibertii*, *P. haematostigma*, *P. hatschbachii*, *P. laurifolia*, *P. ligularis*, *P. malacophylla*, *P. maliformis*, *P. mendoncae*, *P. micropetala*, *P. miersii*, *P. misera*, *P. morifolia*, *P. mucronata*, *P. nitida*, *P. odontophylla*, *P. organensis*, *P. pohlii*, *P. edulis*, *P. picturata*, *P. phoenicia*, *P. quadrangularis*, *P. quadrifaria*, *P. racemosa*, *P. rubra*, *P. speciosa*, *P. serratodigitata*, *P. setacea*, *P. sidifolia*, *P. suberosa*, *P. subrotunda*, *P. tenuifila*, *P. trintae*, *P. tricuspis*, *P. villosa*, *P. vitifolia* e *P. watsoniana*), dentre os quais a espécie *Passiflora edulis* encontra-se representada em maior número. Os acessos oriundos de diversas regiões do Brasil são mantidos em condições de campo nas áreas experimentais das unidades descentralizadas da Embrapa, em telados e in vitro (uma duplicata de segurança com 32 acessos está sendo mantida na Embrapa Semiárido), além de conservação sob a forma de sementes. Espécies silvestres que apresentam comportamento umbrófilo, são mantidas em vasos dentro de telados. Sementes são conservadas em sacos de papel a 10°C, realizando-se periodicamente testes de germinação buscando monitorar a viabilidade do material conservado.

Quantificar essa variabilidade genética é fundamental para avaliar o comportamento dessas espécies e assim identificar recursos genéticos de grande valor, tanto aqueles passíveis de serem diretamente introduzidos em sistemas de produção de frutos, como aqueles cujo emprego seja importante em programas de melhoramento genético.

### 3. Caracterização de recursos genéticos de *Passiflora*

#### 3.1. Caracterização morfológica e molecular

O maracujazeiro apresenta uma ampla variabilidade, porém poucos têm sido utilizados efetivamente por falta de uma caracterização precisas dos materiais. Tradicionalmente, os melhoristas têm utilizado para caracterizar os acessos descritores morfoagronômicos.

A caracterização morfológica é a forma mais acessível e mais utilizada para quantificar a diversidade genética do Banco de Germoplasma, pois visa à diferenciação fenotípica entre os acessos com algumas características semelhantes, servindo como importante instrumento para a eliminação de materiais duplicados, além destes descritores terem papel fundamental na divulgação das características agrônomicas, sendo decisivos na escolha da nova cultivar além de permitirem estimação de parâmetros genéticos essenciais para os programas de melhoramento. Jesus *et al.* (2012), em estudo de análise conjunta de variáveis qualitativas e quantitativas, em que a caracterização fenotípica foi realizada em 21 acessos, sendo avaliados 35 descritores (12 quantitativos e 13 qualitativos), usando

o procedimento Ward-MLM, verificou que os grupos formados permitiram a distinção precisa de acessos de maracujazeiros. Além disso, a análise simultânea das características qualitativas e quantitativas utilizando a análise da diversidade fenotípica pelo método Ward-MLM foi eficiente na avaliação da diversidade genética entre os genótipos de maracujazeiros quando comparado com as análises individuais dessas variáveis. Gomes *et al.* (2013), em estudo de caracterização de acessos silvestres de maracujazeiro, com base em descritores qualitativos e quantitativos utilizando três espécies *P. suberosa*; *P. tenuifila* e *P. gibertii*. Esses autores observaram grande variabilidade em todas as variáveis estudadas. Entretanto, os descritores que obtiveram os maiores valores de desvio padrão entre os acessos analisados foram à largura da folha, comprimento do pecíolo, coloração externa da flor, massa total do fruto, peso da casca com semente, rendimento da polpa, sólidos solúveis, a relação teor de sólidos solúveis/acidez titulável e conteúdo de vitamina C.

A seleção de descritores mínimos é essencial para evitar uso desnecessário de recursos humanos e financeiros com descritores pouco informativos. Castro *et al.* (2012) avaliaram 24 acessos de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. com 28 descritores (20 quantitativos e 8 qualitativos), utilizando componentes principais, análise de Singh e correlação, concluíram que apenas 22 descritores são suficientes para descrever a variabilidade da espécie estudada.

Por outro lado, a distinção de cultivares realizada por características morfológicas, apresenta como desvantagens a necessidade de um grande número de descritores que são identificados em plantas inteiras ou adultas. Além disso, estes tipos de marcadores podem ser influenciados pelo ambiente (Padilha *et al.*, 2002) e podem ser modulados pelo efeito de um determinado patógeno, etapa de crescimento e clima (Narváez *et al.*, 2001).

Uma alternativa que pode complementar os descritores morfológicos é o uso de marcadores moleculares que tem permitido indicar com precisão as variações genéticas presentes no DNA de um organismo qualquer. Os descritores de ADN baseados no genótipo do indivíduo tem recebido maior atenção especialmente pelo seu potencial de distinção, uma vez que são mais abundantes que os morfológicos, não sofrem interação com o meio ambiente (Ude *et al.*, 2002) e são ideais para distinção de genótipos morfológicamente similares e geneticamente aparentados (Beyene *et al.*, 2005). Dentre as técnicas moleculares, destacam-se, o RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic*) os de microssatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeats*) e os AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) (Ferreira e Grattapaglia, 1998). No maracujazeiro destacam-se principalmente os marcadores baseados em sequências de microssatélites como os SSR (Oliveira *et al.*, 2005; Reis *et al.*, 2011; Cerqueira-Silva *et al.*, 2012a,b) e ISSR (Santos *et al.*, 2011). Apesar destes marcadores terem sido empregados para acessar a viabilidade genética de *Passiflora* ainda não foi identificado um marcador efetivo para a variabilidade genética intraespecífica do gênero, considerada baixa, quando comparada a uma ampla variação morfológica observada.

### 3.2. Viabilidade de grãos de pólen de *Passiflora*

Informações sobre viabilidade e desenvolvimento de grãos de pólen das passifloras silvestres são fundamentais para trabalhos de biologia reprodutiva e melhoramento genético, pois permitem obter maior sucesso nos cruzamentos controlados que tem como objetivo gerar novos híbridos com características de interesse agrônomo e ornamental. A determinação da viabilidade do pólen pode ser feita através de métodos diretos, tais como a indução da germinação *in vitro* (Alcaraz *et al.*, 2011; Sharafi *et al.*, 2011) e *in vivo* (Fakhim *et al.*, 2011; Dane e Ekici, 2011) ou métodos indiretos baseados em parâmetros citológicos, como a coloração (Abdelgadir *et al.*, 2012; Beyhan *et al.*, 2008). Entretanto, a germinação *in vitro* de pólen é o método mais utilizado em ensaios de viabilidade do pólen em programas de melhoramento genético ( Satish e Ravikumar, 2009).

Devido à grande variabilidade existente no Banco de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura, recentemente foi iniciada ações de pesquisas voltadas para investigação da fertilidade polínica desses materiais para a realização de cruzamentos direcionados, orientando a escolha de genitores e o planejamento dos cruzamentos. A viabilidade dos grãos de pólen de seis espécies do BAG-Maracujá: *P. cincinnata* Mast.; *P. edulis* Sims.; *P. edmundoi* Sacco; *P. galbana* Mast.; *P. gibertii* N.E.Br. e *P. suberosa* L. foi estimada por meio de dois corantes (Iugol e o 2,3,5-cloreto de trifeniltetrazólio) e pela germinação de pólen *in vitro* (três meios distintos) para posterior utilização como genitor masculino em programas de hibridação. Os dados obtidos nos testes *in vitro* indicaram efeito significativo ( $p \leq 0,05$ ) em todos os fatores estudados (espécies, meios de cultura e estádios de desenvolvimento floral) e suas interações. A coleta do pólen no momento da antese proporcionou melhores resultados de germinação de pólen para todas as espécies estudadas e o meio contendo: 0,03% de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0,02% de  $\text{Mg}(\text{SO}_4) \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,01% de  $\text{KNO}_3$ , 0,01% de  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 15% de sacarose, solidificado com 0,8% de ágar e pH ajustado para 7,0 proporcionou melhor germinação de pólen. Quanto ao estágio coleta do pólen e o corante observou-se que as maiores e menores porcentagens de grãos de pólen viáveis foram obtidas quando o pólen foi coletado de flores na antese e na pré-antese, respectivamente, independentemente do corante.

### 3.3. Sistema Reprodutivo e Interação Pólen-pistilo em *Passiflora*

Algumas ações de pesquisas relacionadas estudos sobre fertilização *in vivo*, interação pólen-pistilo e modo de reprodução das espécies, auxiliam no planejamento e na execução das estratégias a serem adotadas em cruzamentos de passiflora. Para a identificação do sistema reprodutivo de *Passiflora* foram realizadas autopolinização natural (flores protegidas e não manipuladas); autopolinização artificial (estigmas polinizados manualmente com grãos de pólen da mesma flor), polinização cruzada artificial (estigmas polinizados com pool de grãos de pólen de diferentes plantas da mesma espécie) em cinco espécies: *P. capsularis* L.; *P. gibertii* N. E. Brown.; *P. edmundoi* Sacco e *P. edulis* Sims. A autocompatibilidade (IAI  $< 0,30$ ; Ramirez e Brito, 1990) foi verificada em *P. gibertii*, *P. edmundoi* e *P. edulis*. As espécies *P. morifolia* e *P. capsularis* apresentaram IAC  $> 0,30$ , sendo consideradas autocompatíveis. Nas espécies auto-incompatíveis foi possível observar por meio da fluorescência uma inibição

do crescimento dos tubos na superfície estigmática (Figura 2b,c). Evidenciando assim, uma barreira pré-zigótica ocorreu nessa região, impedindo a autofecundação. Bruckner (1995) estabeleceu que a autoincompatibilidade do maracujazeiro é do tipo homomórfica esporofítica, sendo que a reação de incompatibilidade ocorre no estigma. Em contrapartida, as análises de estigmas submetidos à polinização compatível revelaram que os grãos de pólen de *P. capsularis* e *P. morifolia* ao entrarem em contato com células da superfície estigmática são hidratados e germinam emitindo tubos polínicos que penetram o estigma e subsequentemente se estendem através do tecido de transmissão do estilete até atingir o ovário, inclusive com penetração na micrópila e provável fertilização (Figura 2 e,f). Os resultados obtidos com este estudo podem auxiliar no planejamento de hibridações e no estabelecimento de programas de melhoramento genético de *Passiflora* a partir, do uso de genótipos compatíveis e de expressivo potencial ornamental e/ou comercial.

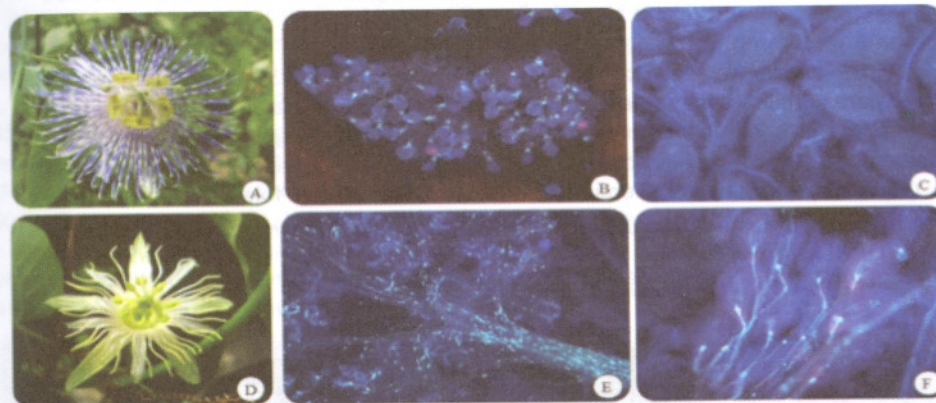


Figura 2. Espécies de *Passiflora* autoincompatíveis *P. gibertii* N. E. Brown. (a-c) e compatíveis *P. capsularis* L. (d-f) observadas por microscopia de fluorescência com anilina azul.

## 4. Uso dos recursos genéticos de *Passiflora* na Embrapa Mandioca e Fruticultura

### 4.1. Identificação de espécies promissoras para resistência a doenças

Doenças do solo constituem os principais obstáculos para o desenvolvimento do maracujazeiro já que a espécie mais plantada nos polos produtores (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) é suscetível às principais doenças que compromete a produtividade e longevidade do maracujazeiro, com destaque para a murcha do fusário ou fusariose, cujo agente causal é o fungo *Fusarium oxysporum* f.sp. *passiflorae*. O uso de porta-enxertos resistentes seria uma das alternativas de controle (Rocanto *et al.*, 2004) haja visto que a aplicação de defensivos químicos não tem sido eficiente para essas doenças (Torres Filho e Ponte, 1994). As espécies *P. nitida*, *P. gibertii* e *P. alata* têm mostrado resistência a doenças provenientes de solo (Menezes *et al.*, 1994; Roncatto *et al.*, 2004) sendo uma alternativa promissora para uso como porta-enxerto.

A Embrapa Mandioca e Fruticultura tem atuado recentemente no *screening* dos acessos do BAG-Maracujá, em condição de campo, visando identificação de genótipos tolerantes a doenças como fusariose, bacteriose, antracnose e virose. Oliveira *et al.* (2013) avaliaram 75 acessos de *Passiflora* spp. para resistência a doenças foliares e dos frutos com escala de notas. Para os sintomas de virose nas folhas, plantas e nos frutos apenas um acesso de *P. setacea* foi identificado como resistente, quanto à verrugose (*Cladosporium herbarum* Link) nos ramos, apenas *P. alata* e *P. cincinnata* foram mais resistentes. A maioria dos acessos de *P. alata*, *P. cincinnata* e *P. setacea* também apresentou resistência à antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) nos frutos. Quanto à doença fusariose, as principais ações realizadas pela Embrapa Mandioca e Fruticultura estão voltadas para a identificação de acessos promissores nas condições de campo e recentemente uma metodologia com inoculação em casa de vegetação (Silva, 2011; Silva *et al.*, 2013), porém a metodologia ainda precisa de adequações para uso efetivo na identificação de fontes de resistência nos germoplasmas.

A espécie *P. cincinnata* foi selecionada por Oliveira *et al.* (2013) como um genitor interessante para o melhoramento genético por apresentar resistência a doenças foliares (a exemplo de virose do endurecimento dos frutos), além de ser uma espécie típica de regiões semiáridas e portanto, com tolerância à seca. A avaliação das progênie para resistência à virose (Figura 3) permitiu selecionar híbridos promissores que foram utilizados para geração primeira geração de retrocruzamento - RC1 [(*P. edulis* x *P. cincinnata*) x *P. edulis*].

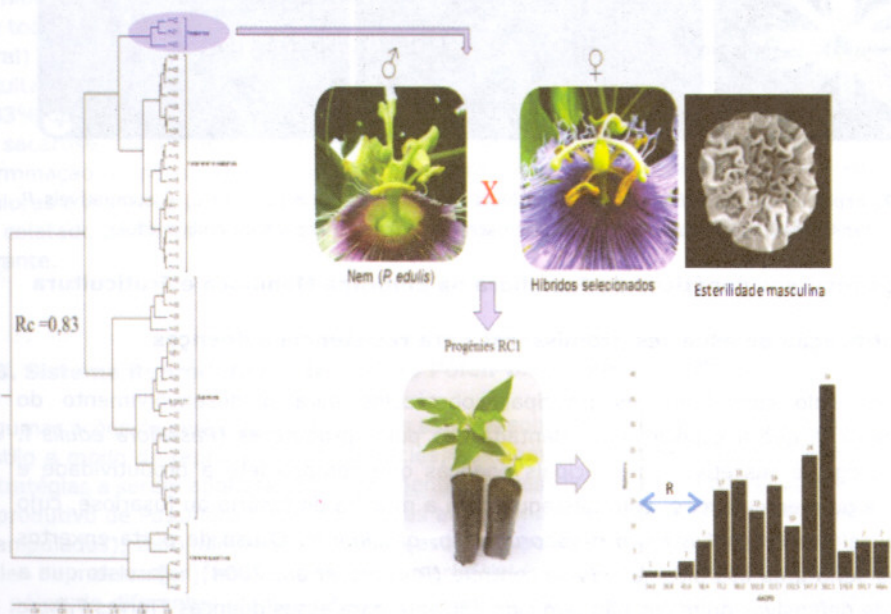


Figura 3. Esquema utilizado para desenvolvimento e avaliação de híbridos para resistência virose do endurecimento dos frutos. Rc: Coeficiente cofenético e R: planta selecionada como resistente na RC1.

#### 4.2. Hibridação interespecífica com fins ornamentais

Muitas espécies são utilizadas *in natura* por suas propriedades medicinais e por seus frutos comestíveis (Sousa e Meletti, 1997). Porém muitas delas são apreciadas mundialmente por seu valor ornamental, sendo suas sementes amplamente comercializadas, principalmente na América do norte e Europa (Ulmer e MacDougal, 2004). A exploração destes recursos genéticos possibilita o entendimento sobre aspectos biológicos e genéticos destas espécies para sua posterior incorporação aos programas de melhoramento genético, via cruzamentos interespecíficos, seja para a incorporação de características de importância econômica às espécies produtoras de frutos comerciais ou para fins ornamentais.

Em *Passiflora*, muitos híbridos interespecíficos foram obtidos com sucesso, tanto entre plantas dentro da mesma espécie quanto entre espécies afins. Este fato acontece porque as barreiras de incompatibilidade interespecífica são frágeis (Meletti *et al.*, 2005). Alguns híbridos interespecíficos com fins ornamentais já foram lançados no Brasil pela Embrapa Cerrados, a exemplo do BRS Roseflora [(*P. coccinea* x *P. setacea*) x *P. setacea*, Junqueira *et al.*, 2007], BRS Rubiflora [(*P. coccinea* x *P. setacea*) x *P. coccinea*, Faleiro *et al.*, 2007a] e BRS Estrela-do-Cerrado (*P. coccinea* x *P. setacea*, Faleiro *et al.*, 2007b). Outras hibridações interespecíficas bem sucedidas têm sido relatadas em *P. laurifolia* x *P. nitida*, *P. glandulosa* x *P. galbana*, *P. sidaefolia* x *P. actinia* e *P. caerulea* x *P. amethystina* (Junqueira *et al.*, 2008). Santos *et al.* (2012), também obtiveram êxito na obtenção de híbridos ornamentais de *Passiflora* a partir do cruzamento *P. foetida* var. *foetida* x *P. palmeri* var. *sublanceolata*. Outros conjuntos de híbridos ornamentais para vasos estão sendo avaliados pela Embrapa Mandioca e Fruticultura (Figura 4).



Figura 4. Exemplos de híbridos de maracujazeiro com fins ornamentais em avaliação pela Embrapa Mandioca e Fruticultura.

## 5. Referências bibliográficas

- Abdelgadir, H.A., S.D. Johnson y J. Van Staden. 2012. Pollen viability, pollen germination and pollen tube growth in the biofuel seed crop *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae). South African Journal of Botany 79, 132-139.
- Alcaraz, M.L., M. Montserrat y J.L. Hormaza. 2011. In vitro pollen germination in avocado (*Persea americana* Mill.): Optimization of the method and effect of temperature. Scientia Horticulturae 130, 152-156.
- Beyene, Y., A.M. Botha, y A.A. Myburg. 2005. A comparative study of molecular and morphological methods of describing genetic relationships in traditional Ethiopian highland maize. African Journal of Biotechnology 4(7), 586-595.
- Beyhan, N. y U. Serdar. 2008. Assessment of pollen viability and germinability in some European chestnut genotypes (*Castanea sativa* L.). Horticultural Science 35, 171-178.
- Bruckner, C.H., V.W.D. Casali, C.F. Moraes, C.F.; Regazzi, A.J.; Silva, E.A.M. 1995. Self-incompatibility in passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). Acta Horticulturae 370, 45-57.
- Castro, J. A., C.G. Neves, O.N. Jesus y E.J. Oliveira. 2012. Definition of morpho-agronomic descriptors for the characterization of yellow passion fruit. Scientia Horticulturae 145, 17-22.
- Cerqueira-Silva, C.B.M., E.S.L. Santos, L.D.H.C.S. Conceição, C.B. Cardoso-Silva, A.S. Pereira, A.C. Oliveira y R.X. Corrêa. 2012a. Genetic variation in a wild population of the sleep passion fruit (*Passiflora setacea*) based on molecular markers. Genetics and Molecular Research 11, 731-738.
- Cerqueira-Silva, C.B.M., E.S.L. Santos, A.M. Souza, G.M. Mori y E.J. Oliveira, R.X. Correa y A.P. Souza. 2012. Development and characterization of microsatellite markers for the wild South American *Passiflora cincinnata* (Passifloraceae). American Journal of Botany 99, e170-e172.
- Dane, F. y N. Ekici. 2011. Pollen tube growth of *Paeonia tenuifolia* L. (Paeoniaceae) *in vitro* and *in vivo*. Bangladesh Journal of Botany 40, 93-95.
- Dias, J.M.M., M.A. Couceiro, G.M. Ventura, D.L. de Siqueira, J.C. de Lima. 2003. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de maracujazeiro. Revista Ceres 50(291), 549-564.
- Duarte Filho, J., M.A. da S. Vasconcellos, C.M. Carvalho y S. Leonel. 2000. Germinação de sementes de *Passiflora giberti* N.E. Brown sob temperatura controlada. Revista Brasileira de Fruticultura 22(3), 468-470.
- Ferreira, M.E. y D. Grattapaglia. 1998. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 2ª ed. Embrapa Cenargen, Brasília, DF. 220 p., 1998.

- Freitas, J.P.X., E.J. Oliveira, A.J. Cruz Neto y L.R. Santos. 2011. Avaliação dos recursos genéticos de maracujazeiro amarelo. Pesquisa Agropecuária Brasileira 46, 1013-1020.
- Goedert, C.O. 1984. Seed dormancy of tropical forage grasses and implications for the conservation of genetic resources. Ph.D. Thesis. University of Reading. England.
- Gomes, D.G., C. do C. de Jesus, J. de S. Silva, C. de F. Machado. 2013. Caracterização de acessos silvestres de maracujazeiro com base em descritores morfoagronômicos. In: Jornada Científica Embrapa Mandioca e Fruticultura, 7, 2013, Cruz das Almas. **Anais...** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura.
- González-Benito, M.E. 1998. Cryopreservation as a tool for preserving genetic variability: its use with Spanish wild species with possible landscaping value. Acta Horticulturae 457, 133-142.
- Jesus, F.N. de., C. de F. Machado, C.A. da Ledo. 2012. Diversidade genética entre acessos de maracujazeiros avaliados a partir de caracteres morfoagronômicos. Anais...RECITEC.
- Junghans, T.G., A.J.C. Viana y D.T. Junghans. 2008. Remoção parcial do tegumento na germinação *in vitro* e *ex vitro* de sementes de *Passiflora giberti* N.E. Brown. Magistra, 20, 231-235.
- Kerbauy, G.B. 2004. Fisiologia vegetal. 1. ed. Rio de Janeiro - RJ: Guanabara Koogan. 452p.
- Meletti, L.M.M., W. Barbosa, R.F.A. Veiga y R. Pio. 2007. Crioconservação de sementes de seis acessos de maracujazeiro. Scientia Agraria Paranaensis 6, (1-2), 13-20.
- Meletti, L.M.M., P.R. Furlani, V. Álvares, M.D. Soares-Scott, L.C. Bernacci y J.A. Azevedo Filho. 2002. Novas tecnologias melhoram a produção de mudas de maracujá. O Agrônomo 54, 30-33.
- Meletti, L.M.M., M.D. Soares-Scott, L.C. Bernacci, y I.R.S. Passos. 2005. Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. pp. 55-78. In: Faleiro, F.G., N.T.V. Junqueira y M.F. Braga. (Org.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados.
- Narváez, C.H., M.H.P. Castro, J.B. Valenzuela y P.R. Hinrichsen. 2001. Patrones genéticos de los cultivares de vides de vinificación más comúnmente usados en Chile basados en marcadores de microsatélites. Agricultura Técnica 61(3), 249-261.
- Nassif, S.M.L., I.G. Vieira y G.D. Fernandes. 1998. Fatores externos (ambientais) que influenciam na germinação de sementes. Informativo Sementes IPEF.
- Oliveira, E.J., J.G. Padua, M.I. Zucchi, L.E.A. Camargo, M.H.P. Fungaro y M.L.C. Vieira. 2005. Development and characterization of microsatellite markers from the yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). Molecular Ecology Notes 5, 331-333.
- Oliveira, E.J. T.L. Soares, C.J. Barbosa, H.P. Santos Filho y O.N. Jesus. 2013. Severidade de doenças em maracujazeiro para identificação de fontes de resistência em condições de campo. Revista Brasileira de Fruticultura 35, 14-35, 2013.

Osipi, E.A.F. y J. Nakagawa. 2005. Efeito da temperatura na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryander). Revista Brasileira de Fruticultura 27(1), 179-181.

Ospina, J.A., C.L. Guevara, L.E. Caicedo y V. Barney. 2000. Effects of moisture on *Passiflora* seed viability after immersion in liquid nitrogen. pp.384-388. In: Engelmann, F. y T. Hiroko, T. (ed.). Cryopreservation of Tropical Plant Germplasm: Current research progress and application Japan International Research Center for Agricultural Sciences. Tsukuba.

Padilha L., C.T. Guimarães, M.G.G.C. Vieira, I.R.P. Creste, S.N. Parentoni, C.A.P. Pacheco, M.X. Santos, E.E.G. Gama y E. Paiva. 2013. Microssatélites fluorescentes na diferenciação de linhagens de milho. In: XXIV Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Anais....Florianópolis - SC, 2002, p-1-5. Disponível em: <www.abms.org.br/resumo37.doc> . Acessado em 21 de agosto de 2013.

Passos, I.R.S., G.V. da C. Matos, M.C.Z. Bazzo, L.M.M. Meletti, M.D.S. Scott, L.C. Bernacci y M.A.R. Vieira. 2004. Utilização do ácido giberélico para a quebra de dormência de sementes de *Passiflora nitida* Kunth germinadas *in vitro*. Revista Brasileira de Fruticultura 26(2), 380-381.

Pereira, T.S. y A.C.S. de Andrade. 1994. Germinação de *Psidium guajava* L. e *Passiflora edulis* Sims - efeito da temperatura, substrato e morfologia do desenvolvimento pós-seminal. Revista Brasileira de Sementes, 16(1), 58-62.

Ramirez, N.E. y Y. Brito. 1990. Reproductive biology of tropical palm swamp community in the Venezuelan llanos. American Journal of Botany 77, 1260-1271.

Reis, R.V., E.J. Oliveira, A.P. Viana, T.N.S. Pereira, M.G. Pereira, M.G.M. Silva. 2011. Diversidade genética em seleção recorrente de maracujazeiro amarelo detectada por marcadores microssatélites. Pesquisa Agropecuária Brasileira 46, 51-57.

Salomão, A.N. 2002. Tropical seed species' responses to liquid nitrogen exposure. Brazilian Journal Plant Physiology 14(2), 133-138.

Santos, I.R.I. 2000. Criopreservação: potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal 12, 70-84.

Santos, L.F., E.J. Oliveira, A.S. Silva, F.M. Carvalho, J.L. Costa y J.G. Padua. Markers as a tool for the assessment of genetic diversity in *Passiflora*. Biochemical Genetics 49, 540-554.

Santos, E.A., M.M. Souza, P.P. Abreu, L.D.H.C.S. Conceição, I.S. Araújo, A.P. Almeida Viana, F. Alex-Alan y J.C.O. Freitas. 2012. Confirmation and characterization of interspecific hybrids of *Passiflora* L. (*Passifloraceae*) for ornamental use. Euphytica 184, 389-399.

Santos, M.C., G.R.L. Sousa, J.R. Silva y V.L.M. Santos. 1999. Efeito da temperatura e substrato na germinação de sementes de *Passiflora edulis* Sims *flavicarpa* Deg. Revista Brasileira de Sementes 21, 1-6.

Satish, D. y R. Ravikumar. 2010. Standardization of *in vitro* pollen germination media in selected varieties of cotton and tomato. Karnataka Journal of Agricultural Sciences 23, 317-319.

Severin, C., A. Salinas, S. Gattuso, M. Gattuso, H. Busilacchi, M. Giubileo y A. Aguirre. 2000. *In vitro* seed germination of *Passiflora caerulea*. Journal of Tropical Medicinal Plants 4(1), 2000-97-101.

Silva, A.S. 2011. Avaliação de germoplasma de maracujazeiro para resistência à fusariose e caracterização molecular do agente patogênico. 90 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.

Sharafi, Y., Ali-Reza Motallebbi-Azar y A. Bahmani. 2011. *In vitro* pollen germination, pollen tube growth and longevity in some genotypes of loquat (*Eriobotria japonica* Lindl.). African Journal of Biotechnology 10, 8064-8069.

Silva, A.S., E.J. Oliveira, F. Haddad, F.F. Laranjeira, O.N. Jesus, S.A.S. Oliveira, M.A.P.C. Costa y J.P.X. Freitas. 2013. Identification of passion fruit genotypes resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*. Tropical Plant Pathology 38, 236-242.

Ude, G., M. Pillay, D. Nwakanma y A. Tenkouano. 2002. Analysis of genetic diversity and sectional relationships in *Musa* using AFLP markers. Theoretical and Applied Genetics 104, 1239-1245.

Vasconcellos, M.A.S., A.C. Silva, A.C. da Silva, F. de O. 2005. Ecofisiologia do maracujazeiro e implicações na exploração diversificada. In: Faleiro, F.G., N.T.V. Junqueiro y M.F. Braga. (Ed.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. 1. ed. Planaltina: Embrapa Cerrados 1, 295-313.

Vianna-Silva, T., E.D. Resende, A.P. Viana, S.M.F. Pereira, L. Almeida Carlos y L. Vitorazi. 2008. Qualidade do suco de maracujá-amarelo em diferentes épocas de colheita. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 28, 545-550.