

CULTURA DE TECIDOS E ENXERTIA EM *Passiflora* spp

MIRIAN NOGUEIRA RODRIGUES ALVES BACCARIN

ENGENHEIRO AGRÔNOMO

Orientador: Prof. Dr. Salim Simão

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração: Fitotecnia.

P I R A C I C A B A  
Estado de São Paulo - Brasil  
Junho - 1988

**CULTURA DE TECIDOS E ENXERTIA EM *Passiflora* spp**

MIRIAN NOGUEIRA RODRIGUES ALVES BACCARIN

Aprovada em: 12.09.1988

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Salim Simão

ESALQ/USP

Prof. Dr. Keigo Minami

ESALQ/USP

Prof. Dr. João Carlos de Oliveira

FCAVJ/UNESP



Prof. Dr. SALIM SIMÃO  
Orientador

**D E D I C A T Ó R I A**

Ao **Zé**, pelo companheirismo, paciência, estímulo e apoio, suportando os meus altos e baixos, sempre confiando que eu seria capaz de concluir esta dissertação, apesar de todas as dificuldades.

Aos nossos filhos **Mariana, Maria Clara e Pedro**, meu perdão por ter-me ausentado do lar muitas vezes; que um dia possam compreender a necessidade da mamãe se realizar também como profissional, pois isto nunca diminuiu em nada o meu amor de mãe.

À **Maria**, que tem sido meu braço direito, me substituindo em casa, meu agradecimento e carinho.

Aos meus pais, **José Brasil e Maria Rita**, com gratidão e afeto.

**A G R A D E C I M E N T O S**

Ao Prof.Dr. Salim Simão, orientador desta dissertação, pelas críticas e sugestões feitas, pela paciência e compreensão em orientar uma aluna que além de estudante é também mãe, por ter dado sempre o apoio que necessitava na hora certa, para que eu pudesse concluir este trabalho.

Ao Prof.Dr. Otto Jesu Crocomo, pela disponibilidade em ceder as instalações do CENA para elaboração deste trabalho.

Ao Prof. João Carlos de Oliveira, pela amizade, incentivo, companheirismo, dedicação e sugestões na parte de enxertia deste trabalho, minha gratidão, pois não há palavras que possam agradecer.

Ao Prof. Carlos Ferreira Damião, pela amizade, cooperação e sugestões na elaboração da parte de cultura de tecidos desta dissertação, o meu sincero agradecimento.

Ao Prof. Rubens Sader, pela colaboração na elaboração do Summary deste trabalho.

Aos amigos Márcia e Miguel pelo incentivo recebido,

Aos companheiros de serviço, Paula, Moisés e Giselda, pelo estímulo, amizade e compreensão.

À Mariza Bonafim, pelos serviços de datilografia,

À FAPESP pelo auxílio financeiro através da concessão de bolsa de estudo.

## SUMÁRIO

|  | Página |
|--|--------|
| LISTA DE FIGURAS.....  | vi     |
| LISTA DE QUADROS.....  | viii   |
| RESUMO.....  | ix     |
| SUMMARY.....   | xii    |
| 1. INTRODUÇÃO.....   | 01     |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA.....  | 05     |
| 2.1. Características das espécies utilizadas no presente estudo..... | 06     |
| 2.2. Propagação por cultura de tecidos.....                          | 08     |
| 2.3. Propagação por enxertia.....                                    | 30     |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS.....   | 39     |
| 3.1. Ensaio com cultura de tecidos.....                              | 39     |
| 3.1.1. Primeiro Ensaio.....  | 39     |
| 3.1.1.1. Metodologia.....  | 40     |
| 3.1.1.2. Meio de Cultura.....  | 42     |
| 3.1.2. Segundo Ensaio.....   | 44     |
| 3.1.3. Terceiro Ensaio.....  | 47     |
| 3.2. Propagação por sementes e enxertia.....                         | 49     |
| 3.2.1. Local do ensaio.....  | 49     |
| 3.2.2. Materiais.....  | 49     |
| 3.2.3. Preparo e condução das mudas.....                             | 49     |
| 3.2.4. Tratos Culturais.....   | 52     |
| 3.2.5. Delineamento Estatístico.....                                 | 52     |

|   | Página |
|---|--------|
| 3.2.6, Plantio em Local Definitivo.....     | 53     |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....              | 56     |
| 4.1. Ensaio com cultura de tecidos.....     | 56     |
| 4.1.1. Primeiro Ensaio.....                 | 56     |
| 4.1.2. Segundo Ensaio.....                  | 58     |
| 4.1.3. Terceiro Ensaio.....                 | 70     |
| 4.2. Propagação por Enxertia.....           | 72     |
| 5. CONCLUSÕES.....                          | 83     |
| 5.1. Propagação por Cultura de Tecidos..... | 83     |
| 5.2. Propagação por Enxertia.....           | 85     |
| LITERATURA CITADA.....                      | 86     |
| APÊNDICE.....                               | 95     |

## L I S T A   D E   F I G U R A S

| FIGURA |  | Página |
|--------|--|--------|
| 1      | Explantos de <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Deg., desenvolvendo em meio de NITSCH & NITSCH (1969), acrescido por 2 mg/l de cinetina.....  | 57     |
| 2      | Desenvolvimento de explantes de <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Deg. em meio NITSCH & NITSCH (1969), acrescido por 2 mg/l de cinetina.....   | 57     |
| 3      | Desenvolvimento da gema vegetativa junto a axila foliar, de explantes de <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Deg., em meio de NITSCH & NITSCH (1969), acrescido por 2 mg/l de 6 BAP..... | 60     |
| 4      | Detalhe do desenvolvimento da gema vegetativa mostrada na Figura 3.....  | 60     |
| 5      | Formação de <i>callus</i> e desenvolvimento da gema axilar de <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Deg. em meio de NITSCH & NITSCH (1969) contendo 6 BA e IAA.....                        | 62     |
| 6      | Detalhe da Figura 5.....   | 63     |
| 7      | Formação de <i>callus</i> de explantes de <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Deg. em meio NITSCH & NITSCH (1969) acrescido de 2 mg/l de cinetina e 0,1 mg/l de IAA.,                    | 65     |
| 8      | Formação de <i>callus</i> de explantes de <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Deg. em meio NITSCH & NITSCH (1969) acrescido de 2 mg/l de cinetina e 0,1 mg/l de IAA.,                    | 65     |

| FIGURA |   | Página |
|--------|---|--------|
| 9      | Formação de <i>callus</i> em meio NITSCH & NITSCH (1969), acrescido de 3 mg/l de 2,4-D e 100 mg/l de água de côco.....                        | 68     |
| 10     | Desenvolvimento de parte aérea de <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Deg. em meio NITSCH & NITSCH (1969) acrescido de 2 mg/l de 2 i-P..... | 70     |
| 11     | Porcentagem de pegamento dos enxertos, 30 dias após a enxertia.....   | 73     |
| 12     | Esquema da localização do campo de maracujazeiros, Coleção de espécies e o ensaio, FCAV - Campus de Jaboticabal.....                          | 101    |



## L I S T A   D E   Q U A D R O S

| QUADRO |  | Página |
|--------|--|--------|
| I      | Quantidade de fito-hormônio utilizada em seis meios de cultura testados para verificar o desenvolvimento de explantes de <i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicaarpa</i> Deg.....   | 45     |
| II     | Quantidade de fito-hormônio utilizada em dois meios de cultura.....  | 47     |
| III    | Taxa de pegamento de enxertia de maracujã amarelo, maracujã guaçu sobre maracujã-de-veado, maracujã guaçu, maracuja amarelo e as testemunhas de pê-franco. Valores em percentagem; avaliação após 30 dias de enxertia..... | 74     |
| IV     | Análise de variância de pegamento dos enxertos, 30 dias após a operação de enxertia. Dados de percentagem foram transformados em arco seno da $\sqrt{\text{percentagem}}$ .....  | 76     |
| V      | Quantidade de plantas que sobreviveram no campo, decorridos 8 e 20 meses. Nota de vigor vegetativo, 8 meses após plantio em local definitivo.....  | 78     |
| VI     | Relação numérica das covas com o respectivo tratamento (combinação enxerto X porta-enxerto) e a avaliação visual do vigor das plantas. Nota de vigor vegetativo, 8 meses após plantio em local definitivo.....             | 96     |

# CULTURA DE TECIDOS E ENXERTIA EM *Passiflora* spp

Autora: MIRIAN NOGUEIRA RODRIGUES ALVES BACCARIN

Orientador: PROF, DR, SALIM SIMÃO

## RESUMO

O presente trabalho objetivou estudar a propagação vegetativa do maracujazeiro, tanto via cultura de tecidos quanto via enxertia. No primeiro caso, preocupou-se em estabelecer condições para cultivo *in vitro* de explantes de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. (maracujã amarelo). A enxertia foi empregada visando estudar a compatibilidade de porta-enxertos para maracujã amarelo e maracujã guaçu (*Passiflora alata* Ait.).

Os explantes para cultivo *in vitro* foram retirados de plantas adultas e de plântulas de maracujazeiro amarelo. Foram feitos três ensaios, sendo que no primeiro, o meio de cultura foi o de NITSCH & NITSCH (1969), acrescido de 2 mg/l de cinetina. Observou-se que explantes retirados de plântulas não apresentaram problemas de contaminação interna, encontrando-se, ao contrário, grande percentagem de infecção em explantes provenientes de ramos de plantas adultas,

No segundo ensaio foram testadas seis variações do meio Nitsch & Nitsch, utilizando-se explantes de maracujã amarelo com um ano de idade e mantidos em casa de vegetação. Verificou-se

que meio básico sem fito-hormônios, permitiu pequeno crescimento dos explantes que cessou pronunciadamente ao final do primeiro mês de cultivo. Quando se acrescentou 6 BA (2 mg/l) ou 2 i-P (2 mg/l) houve desenvolvimento apenas de parte aérea. Ao se acrescentar 6 BA (0,5 mg/l) e IAA (1,0 mg/l) formaram-se pequenos *callus* e desenvolveu parte aérea. A combinação meio básico acrescida de cinetina (2 mg/l) e IAA (0,1 mg/l) apresentou formação de *callus* mais volumosos e menor desenvolvimento de parte aérea. Quando se acrescentou 2,4-D (3 mg/l) e leite de côco (100 mg/l) houve formação de *callus*.

No terceiro ensaio, os explantes que formaram *callus* nos seis tratamentos anteriores foram colocados em duas modificações do meio Nitsch & Nitsch contendo 6 BA (2 e 0,8 mg/l), GA<sub>3</sub> (0,1 e 0,5 mg/l) e IAA (0,05 e 0,02 mg/l) acrescidos de biotina (0,5 mg/l). Não foram encontradas diferenças no desenvolvimento dos explantes quando foram utilizadas várias dosagens de fito-hormônios combinadas com biotina.

Na propagação por enxertia (tipo inglês simples) foram plantadas as espécies maracujã amarelo, maracujã guaçu e maracujã-de-veado (*Passiflora giberti* N.E.Brown). Os porta-enxertos estavam com seis meses de idade. Os seguintes índices de pegamento foram observados: maracujã amarelo enxertado sobre maracujã-de-veado apresentou 65%, maracujã amarelo enxertado sobre maracujã guaçu 85%, maracujã guaçu sobre amarelo 90% e maracujã guaçu sobre maracujã-de-veado 65%. Maracujã amarelo e maracujã guaçu foram plantados como testemunhas.

O delineamento estatístico empregado foi o de Blocos Inteiramente Casualizados, com 6 tratamentos e 4 repetições. Não fo-

ram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos, entretanto, observou-se que o maracujá-de-veado apresentou menor compatibilidade como porta-enxerto em relação ao maracujá amarelo e guaçu.

Ao se plantar as mudas no campo observou-se que a combinação maracujá guaçu enxertado sobre maracujá-de-veado apresentou problemas de "quebramento" na região de enxertia. Já o maracujá amarelo mostrou-se suscetível à morte prematura de plantas, enquanto o maracujá-de-veado e maracujá guaçu foram tolerantes.

# TISSUE CULTURE AND GRAFTING IN *Passiflora* spp

Author: MIRIAN NOGUEIRA RODRIGUES ALVES BACCARIN

Adviser: PROF. DR. SALIM SIMÃO

## SUMMARY

The objective of this research was to study the passion fruit crop vegetative propagation by tissue culture (*in vitro*) or grafting. The grafting was used to verify the root stock compatibility for the yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) and the specie "guaçu" (*Passiflora alata* Ait.).

For the tissue culture it was used adult plant explants and also of seedlings of yellow passion fruit. Were made 3 experiments being the first one the media substrate related by NITSCH & NITSCH (1969) added of 2 mg/l of Kinetin. According to the obtained results it was observed that the seedling explants didn't show any problem of internal contamination, by other hand it was found higher infection percentage when it was used axillary bud explants.

In the second one it was tested 6 variations of the Nitsch & Nitsch media and it was utilized yellow passion fruit explants one year old kept at greenhouse conditions. Was verified that in the basic media without fitohormones a small explant growth which ceased at the end of the first month. When was added to the basic media 6

BA (2 mg/l) or 2 i-P (2 mg/l) there was a development only of the plant and, no root formation. When was used in the basic media 6 BA (0.5 mg/l) and, IAA (1.0 mg/l) it was observed *callus* formation and also the aerial part development. The combination of the basic media plus kinetin (2 mg/l) and, IAA (0.1 mg/l) showed a more volumous *cal-lus* formation and smaller aerial part development. When was added 2.4 D (3 mg/l) and coconut milk (100 mg/l) there was only a *callus* formation.

In the third one, the explants which presented *callus* in six previous treatments were placed in two modified Nitsch & Nitsch media with 6 BA (2 and 0.8 mg/l), GA<sub>3</sub> (0.1 and 0.5 mg/l) and IAA (0.05 and 0.02 mg/l) added with biotin (0.5 mg/l). There was no difference in the developing of explants when used several fitohormone doses combined with biotin.

The grafting propagation (English single type) was planted the species *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg (yellow passion fruit), *P. alata* Ait and *Passiflora giberti* N.E.Brown. The root stocks used in the grafting were six month old. The grafting sucess index observed were yellow fruit grafted on *P. giberti* N.E.Brown (65%), yellow passion fruit grafted on *P. alata* Ait (85%), *P. alata* Ait on yellow passion fruit (90%) and, *P. alata* on *P. giberti* N.E.Brown (65%). Yellow passion fruit and *P. alata* Ait were considered as control treatments.

The estatistical experimental design was the completely randomized constituted by 6 treatments and, 4 replications. There was no statistical difference between treatments. However, it was

observed that *P. giberti* N.E. Brown showed smaller compatibility as a rootstock in relation to the yellow passion fruit and *P. alata* Ait.

When the plants were planted in the field was noted that *P. alata* Ait grafted on *P. giberti* N.E. Brown presented breaking problems in the grafting region. The yellow passion fruit showed to be susceptible to the early plant death whereas, *P. giberti* N. E. Brown and *P. alata* Ait were more tolerant.

## 1. INTRODUÇÃO

A importância do maracujazeiro está associada ao valor decorativo de suas flores, às qualidades gustativas de seus frutos e às qualidades farmacológicas e alimentares do seu suco, cascas e sementes. A ação sedativa e tranquilizante, devido à presença de flavonoides, tem sido confirmada pelas pesquisas realizadas. A maior importância econômica do fruto de maracujã amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) está no produto industrializado, sob a forma de suco concentrado congelado a 35 graus brix e armazenado a menos de 18°C (MANICA, 1981).

Espécies de *Passiflora* são cultivadas comercialmente no Brasil, EUA (Havaí), Austrália, Sri Lanka, África do Sul, Papua, Nova Guiné, Quênia, Fiji, Martinica, Costa do Marfim, Ilhas Canárias, Suazilândia, Peru, República Dominicana, Turquia, República do Zaire, Angola, Índias Ocidentais, Suriname, Congo, Taiwan, Ilhas Cook, Indonésia e Filipinas (SUZUKI & LINS, 1987).

Segundo RUGGIERO (1987), a área cultivada com a cultura do maracujazeiro no Brasil em 1985 pode ser avaliada em torno de 12.000 ha, havendo evolução crescente em área plantada, o que coloca o Brasil como o primeiro produtor mundial. Dentre os maiores estados produtores, destacam-se Bahia, Sergipe e Minas Gerais, que apresentam



baixa produtividade média, em torno de 8 a 10 toneladas/ha. Por outro lado, na região de Presidente Prudente, situada no Estado de São Paulo, observa-se excelente produtividade, em torno de 40 a 50 toneladas/ha.

No Brasil, os plantios comerciais são formados basicamente por maracujá amarelo, embora se observe a existência de plantas originárias do cruzamento do maracujá amarelo com o roxo (*Passiflora edulis* Sims). Esta falta de controle é agravada pela inexistência de trabalhos de seleção visando definir populações com características ideais para as nossas condições. Também se verifica, com certa regularidade nos plantios existentes, plantas de baixo vigor, improdutivas ou de baixa produtividade, com características industriais inaceitáveis e muito susceptíveis a doenças (SUZUKI & LINS, 1987).

Os problemas agrônômicos, devido a ocorrência de pragas e doenças, levaram a cultura do maracujazeiro a se tornar transitória de uma região para outra. Ao lado de doenças como a murcha, antracnose e cladosporiose, consideradas problemas sérios no maracujazeiro, tem-se os prejuízos causados por pragas como: lagartas, percevejos e mosca das frutas, assim como o problema do parasitismo por nematoides,

OLIVEIRA (1987) enfatiza que a ocorrência de doenças é a principal dificuldade para o cultivo do maracujazeiro, sendo que as doenças do sistema radicular são as mais importantes. A murcha de Fusarium (*Fusarium oxysporum* Schl. f. *passiflorae*, Purss) é a principal doença do maracujazeiro, sendo limitante à cultura em determinadas regiões.

Trabalhos conduzidos por OLIVEIRA *et alii* (1986) com

espécies de maracujazeiros na região de Jaboticabal (SP) têm mostrado que algumas espécies de passifloráceas como: *P. giberti*, *Passiflora* spp e alguns cultivares de *P. alata* Ait vêm mostrando tolerância à morte prematura de plantas, cujo agente causal vem sendo associado a alguns fungos, como *Fusarium* e *Phytophthora*, bem como a outros agentes patogênicos ainda não identificados.

Com relação a propagação, o maracujazeiro pode ser multiplicado por diferentes processos, entre eles a propagação sexuada pelo emprego das sementes. Este processo que é atualmente o mais utilizado (RUGGIERO, 1987), leva à formação de lavouras heterogêneas, acarretando diferentes teores de Brix e diferentes cores de suco, prejudicando o aproveitamento industrial do produto.

Sendo assim, ZEMIGRANI (1987) sugere que novas técnicas de propagação, basicamente assexuadas, sejam utilizadas para que se obtenha pomares mais homogêneos, apresentando características desejáveis e compensadoras tanto para o agricultor como para a indústria,

A cultura de tecidos se constitui em um dos mais recentes métodos de propagação de plantas. Para diversas espécies de frutas, sejam tropicais ou temperadas, vários trabalhos já foram publicados descrevendo e otimizando as técnicas deste processo, sendo que diversas revisões tem focado os avanços mais recentes na área. Este método serve para propagação de plantas mais produtivas, sem o risco de se perder suas características, como pode ocorrer na propagação sexuada, via semente.

A enxertia, técnica utilizada na cultura do maracujazeiro há mais tempo que a cultura de tecidos, além de possibilitar a

propagação vegetativa das plantas, mantendo as características de plantas já selecionadas, pode trazer contribuições no que se refere à prevenção de problemas fitossanitários da cultura. A escolha de porta-enxerto adequado, principalmente ao maracujá amarelo e resistente à morte prematura de plantas traria grandes contribuições ao cultivo desta espécie.

O objetivo deste trabalho foi estudar a propagação vegetativa do maracujazeiro, tanto via cultura de tecidos quanto via enxertia. No primeiro caso, a preocupação fundamental foi estabelecer condições para o cultivo *in vitro* de explantes de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. No segundo caso, a enxertia foi empregada visando estudar a compatibilidade de porta-enxertos para maracujá amarelo e maracujá guaçu (*P. alata* Ait). Adicionalmente se testou a longevidade de plantas enxertadas em local com histórico de morte prematura de plantas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

O maracujazeiro pertence à família *Passifloraceae*, da ordem *Passiflorales*. Diferentes autores consideram como doze (BAILEY, 1971; JOLY, 1975) ou quatorze (LEITÃO FILHO & ARANHA, 1964; MANICA, 1981) o número de gêneros de *Passifloraceae*, enquanto que o número de espécies iria de trezentas e cinquenta (FOUQUÉ, 1972), quatrocentas (MARTIN & NAKASONE, 1970), quinhentas (BAILEY, 1971), quinhentas e trinta (PIZA JÚNIOR, 1966), até quinhentas e oitenta (LEITÃO FILHO & ARANHA, 1974).

Segundo LEITÃO FILHO & ARANHA (1974), no Brasil a família *Passifloraceae* é representada por apenas dois gêneros: *Dilkea* e *Passiflora*. O gênero *Passiflora*, cujo número de espécies é superior a 300, é originário da região tropical da América do Sul, localizando-se no Centro-Norte do Brasil o maior centro de distribuição geográfica do mesmo. Poucas espécies deste gênero ocorrem na Ásia e Austrália e uma única espécie ocorre em Madagascar.

Ainda segundo os mesmos autores, o gênero *Passiflora* apresenta plantas herbáceas ou sub-lenhosas, robustas, trepadeiras ou muito raramente erectas. As folhas são alternas, raramente opostas, inteiras, lobadas ou partidas; as flores são grandes, bonitas axilares, hermafroditas, muito raramente unissexuais.

ARRUDA NETO *et alii* (s.d.); MANICA (1981), relatam que este gênero apresenta na axila de cada folha, além de uma gavinha, uma gema florífera e uma gema vegetativa, a primeira originando uma flor e a segunda originando um ramo. Fazendo-se a eliminação desses ramos, as gemas adventícias existentes começarão a brotar e, caso os ramos daí resultantes sejam também eliminados, haverá formação das gemas complementares, as quais brotarão, dando formação a outros ramos.

O cultivo de maracujã em escala comercial teria começado no Brasil no início da década de 70, com *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg (maracujã amarelo). Além desta, embora em uma escala bem inferior são também cultivadas e difundidas no Brasil, *P. edulis*, *P. alata*, *P. quadrangularis*, *P. caerulea* e *P. laurifolia* e, mais esporadicamente, *P. ligularia*, *P. maliformis*, *P. raddiana* e *P. capsularis* (SALOMÃO & ANDRADE, 1987).

### 2.1. Características das espécies utilizadas no presente estudo

A espécie *Passiflora edulis* Sims possui duas variedades, o maracujazeiro roxo e o maracujazeiro amarelo. No Brasil e no Haváí há predominância do cultivo da variedade amarela, enquanto que na Austrália e na Índia é predominante a variedade roxa (RUGGIERO, 1987).

*P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. ou maracujã amarelo, vulgarmente conhecida por "maracujã de comer" ou "maracujã mirim", é uma planta mais vigorosa do que o maracujã roxo e distingue-se por apresentar nas folhas, ramos e gavinhas, uma pigmentação difusa de coloração amarelo-canário, brilhantes e não purpúreos como no caso de *Passiflora edulis* (maracujã roxo). A polpa é mais ácida, envolvendo

sementes de cor pardo-escuro e não pretas. As flores abrem-se ao meio-dia e fecham-se após as 20 horas (MANICA, 1981).

LEITÃO FILHO & ARANHA (1974), relatam ainda que, as folhas desta espécie são trilobadas e de bordos serrados. As flores são pequenas, coloridas de branco e púrpúreo, apresentando uma coroa filamentosa. O maracujá amarelo é encontrado na forma nativa desde Alagoas até o Paraná.

A espécie *Passiflora giberti* N.E. Brown foi introduzida em 1980, no Banco Ativo de Germoplasma de Passifloraceae de Jaboticabal (SP), através do CENARGEN-EMBRAPA. As sementes desta espécie são menores que as de maracujá amarelo, apresentam alto poder de germinação, mesmo armazenadas durante algum tempo. Em início de desenvolvimento, o caule é fino, de cor verde e a planta tende a formar touceiras. As folhas são trilobadas, menores que as do maracujá amarelo. As flores são de coroa dupla, de cor azul. Os frutos apresentam forma oval, pesam em média 20 a 40 gramas, possuem casca quebradiça e de coloração vermelho-cenoura quando maduros, são pobres em suco, porém de sabor agradável. Floresce de novembro a abril abundantemente; é uma espécie bastante rústica, de fácil adaptação, apresentando a característica de soltar ramos do sistema radicular (soboles). Foi introduzida com o nome vulgar de "maracujá-de-veado", posteriormente foi classificada como *Passiflora giberti* N.E. Brown pelo Prof. José Carlos Sacco. (OLIVEIRA\*).

OLIVEIRA *et alii* (1984) observaram que maracujá-de-veado apresenta germinação rápida quando comparada com sementes de ma-

---

\*Comunicação pessoal.

racujã amarelo, mas o desenvolvimento das plantas é lento. Os autores citam ainda que *P. giberti* é planta rústica, de fácil multiplicação vegetativa e resistente à morte prematura de plantas, diferenciando neste caso de plantas de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg que se mostraram bastante suscetíveis, em qualquer fase do desenvolvimento, a este problema fitossanitário.

A espécie *P. alata* Ait, segundo LEITÃO FILHO & ARANHA (1974), vulgarmente conhecida como "maracujã-guaçu" ou "maracujã-grande" ou ainda maracujã doce, é uma trepadeira vigorosa, com caule quadrangulado e fortemente alado. As folhas são oblongo-ovadas, com aproximadamente 14 cm de comprimento por 10 cm de largura. As flores são grandes, de coloração vermelho romã, cuja corola, composta por inúmeros filamentos, apresenta-se com as cores branca, purpúrea e violeta. Os frutos são ovais, obovais ou piriformes, de polpa muito perfumada, com sabor doce-acidulado, servindo para a preparação de refrescos.

BACCARIN *et alii* (1981) relatam que a germinação de *Passiflora alata* Ait é bastante irregular, sendo que devido a este facto, muitas vezes, torna-se necessário que se faça mais de uma semeadura ou que se plante um número de sementes maior do que o desejado, para que se obtenha a quantidade de plântulas necessárias para instalação de um experimento ou de um pomar.

## 2.2. Propagação por cultura de tecidos

A pesquisa com cultura de tecidos tem como um dos objectivos, possibilitar o desenvolvimento de plantas mais produtivas.

Segundo EVANS & SHARP (1981), isto é possível pelo facto de que a regeneração vegetal pode ser utilizada para recuperar e

multiplicar únicos variantes induzidos *in vitro*. Esta modificação genética em células vegetais pode ocorrer devido à mutagênese, por fusão de protoplasto ou inclusão de DNA. No entanto, os autores ressaltam que as plantas regeneradas podem conter muitas variações genéticas, sugerindo então, que a cultura de tecidos possa ser utilizada para induzir variabilidade genética ou recuperar a variabilidade genética natural pré-existente. Em ambos os casos, plantas variantes regeneradas podem ser utilizadas como complemento de programas de melhoramento já existentes.

Com relação às aplicações da biotecnologia na fruticultura, CALDAS & GRATTAPAGLIA (1986) relatam que nos últimos anos, a cultura de tecidos proporcionou maior disponibilidade de plantas de boa qualidade fitossanitária, sendo utilizada já em escala comercial para várias espécies de fruteiras, como: morangueiro, bananeira, citrus, macieira, mangueira, mamoeiro, entre outras. Além da cultura de meristemas e micropropagação clássica, técnicas como a de embriões somáticos permitem uma propagação rápida de material superior sadio. A cultura de tecidos pode contribuir também para o melhoramento de fruteiras por cultura de embriões, variação somaclonal, fusão de protoplastos ou cultura de anteras. Enquanto algumas destas aplicações já levaram a resultados práticos, outras ainda estão na sua infância e outras, como a cultura de anteras, podem ter utilidade mais limitada.

TULLMANN NETO (1986) observou que a capacidade de regeneração de tecidos em plantas varia enormemente. Em algumas espécies o processo de regeneração é rápido e em outras a morfogênese deixa de ocorrer. No geral, a regeneração de plantas tem sido mais facilmente conseguida a partir de explantes de dicotiledôneas do que em monocoti-



ledôneas.

### **A) Fontes de explantes**

A micropropagação pode ser conduzida de diversas maneiras. O sistema mais comumente utilizado, segundo CALDAS & GRATTAPAGLIA (1986), é aquele onde gemas axilares e/ou ápices são induzidos a crescer e proliferar em cultura.

GAMBORG & SHYLUK (1981) relatam que, quase sempre, qualquer parte de um vegetal pode ser cultivada *in vitro*. Órgãos vegetais como raízes, porções de caules, embriões, antera, ovários, óvulos, etc., podem ser cultivados assepticamente sobre ou em meio nutritivo. As culturas de tecido são geralmente iniciadas pela inoculação de seções estéreis de tecido sobre meio solidificado em agar. Dentro de 2 a 4 semanas, dependendo da espécie vegetal, uma massa de células desorganizadas, denominada *callus* é produzida. Tais *calli* podem ser subcultivados indefinidamente, pela transferência de pequena porção para outros meios de cultivo.

Segundo EVANS & SHARP (1981), para uma dada espécie ou variedade, um explante em particular pode ser necessário para obtenção de sucesso na regeneração de uma determinada planta.

Ainda, conforme os mesmos autores, o tamanho e o formato do explante a ser utilizado podem ser críticos. Um aumento no número de células presentes em determinado explante, aumenta também a probabilidade de obtenção de culturas viáveis.

Os explantes devem ser retirados de plantas saudáveis, jovens e, de preferência, cultivadas em estufas ou casas de vegetação, onde é possível obter menor contaminação por microorganismos e onde a

planta é mantida à temperatura e umidade relativa controladas (GEORGE & SHERRINGTON, 1984).

Neste sentido, NAKAYAMA (1966) pode observar que segmentos de talos (0,5 a 1,0 cm de longitude), retirados de brotos tenros, vigorosos e sem lesões de *Passiflora caerulea* L., previamente desinfetados com álcool, permitiram obter resultados satisfatórios quando cultivados *in vitro*, encontrando-se, ao contrário, grande porcentagem de infecção, naqueles proveninetes de ramos de plantas velhas ou de ramos velhos provenientes de plantas jovens.

ROBLES (1978 e 1979) cultivou gemas axilares e entrenós, respectivamente, de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. (maracujá amarelo) e *P. mollissima* Bailey e, obteve sucesso no desenvolvimento de *callus* e multiplicação vegetativa. Para tanto, tratou estes explantes com álcool etílico (70%), por 1 minuto e, em seguida com hipoclorito de cálcio a 4%, por 5 minutos e, depois enxaguou 3 vezes com água destilada. As plantas mães eram jovens (6 a 8 meses de idade, respectivamente) e foram cultivadas em estufa à temperatura de 25°C e umidade relativa de 45%.

Utilizando explantes de folhas, ramos, gavinhas, flores e raízes, previamente desinfetados em solução de 10% de Clorox (0,525% de hipoclorito de sódio) e 0,1% de Tween-20 (Furex monolaurato), por 5 - 10 minutos, lavados em seguida em água destilada estéril, SCORZA & JANICK (1980) obtiveram o florescimento de *Passiflora suberosa* L. As plantas mães deste estudo cresceram em casa de vegetação (24°C de dia e 18°C à noite) ou em câmaras de crescimento (25°C de dia e 20°C à noite) e foram provenientes de uma espécie de *P. suberosa* L.

coletada no sul da Flórida, de onde foram propagadas vegetativamente. Não há dados sobre idade das plantas mães.

KLIMASZEWSKA (1981) cultivou pecíolos de 21 espécies de plantas tropicais, representando 14 famílias. Entre estas espécies, encontrava-se *Passiflora caerulea* L. (maracujá-mirim). Os pecíolos foram coletados em duas estações: primavera e verão, sendo destacados das folhas no estágio em que a lâmina foliar estava completamente desenvolvida e, foram retirados de brotos jovens de um ano. O material do experimento foi obtido de uma coleção do Jardim Botânico da Universidade de Wrocław.

HAKKAART & VERSLUYS (1981), na Holanda, conseguiram eliminar vírus causador de mosaico em *P. caerulea*, através do cultivo *in vitro* de meristemas desta espécie.

TSAY *et alii* (1985) obtiveram indução de *callus* quando cultivaram anteras de plantas da geração F<sub>1</sub>, resultante do cruzamento de (*P. edulis* X *P. edulis* f. *flavicarpa*) X *P. edulis* f. *flavicarpa*.

Vários clones de maracujá provenientes de Araguari (MG) foram cultivados *in vitro*, sendo retirados segmentos terminais de tecidos mais tenros, esterilizados em etanol 70% por 3 minutos e NaCl 1,5% + tween por 25 minutos e em seguida enxaguados com duas águas autoclavadas (ZEMIGRANI, 1987).

## **B) Meios de Cultura**

Em seu estado natural, as plantas exigem elementos relativamente simples para seu crescimento, enquanto que plantas em cultura de tecido têm necessidades mais complexas e raramente são auto-

tróficas.

GAMBORG (1975) relata que o meio nutritivo deve conter componentes essenciais, como os sais inorgânicos, fonte de carbono e energia e as vitaminas. Outros componentes são opcionais, tais como, os fito-hormônios ou reguladores de crescimento, os compostos orgânicos nitrogenados, ácidos orgânicos e substâncias complexas.

Segundo GAMBORG & SHYLUK (1981) e AKINS & VASIL (1985) os seguintes nutrientes inorgânicos são exigidos em quantidades milimolares: N, P, K, Ca, B e Mg. A concentração ótima de cada nutriente, para aquisição de máximas taxas de crescimento, varia consideravelmente. Conforme o primeiro autor, para a maioria dos objetivos, o meio nutritivo deverá conter um mínimo de 25 e o máximo de 60 mM de nitrogênio inorgânico.

AKINS & VASIL (1985) relatam que, de todos os nutrientes minerais, a forma do nitrogênio (oxidado ou reduzido, orgânico ou inorgânico), provavelmente é responsável pelo efeito mais pronunciado no crescimento e diferenciação em tecidos cultivados.

As células podem crescer sem nitrato, mas muitas vezes há efeitos benéficos e ocasionalmente necessidade de, para crescimento, utilizar-se amônia ou outra fonte de nitrogênio reduzido. A quantidade de amônia varia entre 2 e 20 mM sendo que, possivelmente, sua melhor concentração varia entre 2 e 8 mM. Quantidades excedentes a 8 mM podem resultar em reduções de crescimento. É também possível o cultivo *in vitro* utilizando-se fontes de nitrogênio tais como uréia, glutamina ou caseína hidrolizada (GAMBORG & SHYLUK, 1981).

Ainda segundo os mesmos autores, o potássio deve ser suprido em concentrações de 20 mM ou mais, enquanto que AKINS & VASIL

(1985) ressaltam que o potássio em concentrações de 1 mM já é suficiente para o crescimento de cenoura em culturas em suspensão.

Brown *et alii* (1976), citados por AKINS & VASIL (1985), observaram que foi necessário um nível alto de potássio (20 mM) para se obter mais elevado potencial de embriogênese.

GAMBORG & SHYLUK (1981) consideram como ótimas concentrações de P, Mg, Ca e S, 1 a 3 mM. Quanto aos nutrientes essenciais requeridos em concentrações micromoleculares, encontram-se o Fe, Mn, Zn, B, Cu e Mo.

Como fontes de carbono, os autores GAMBORG & SHYLUK (1981) e AKINS & VASIL (1985) não divergem, tendo como padrão a sacarose, na quantidade de 2 - 3% ou glucose. Outros carboidratos como frutose, lactose, maltose, galactose e amido têm sido testados, mas com resultados inferiores.

Segundo GAMBORG & SHYLUK (1981) muitos meios ainda contêm o myo-inositol, sendo que este não é absolutamente necessário, mas a inoculação de cerca de 100 mg/l promove crescimento celular.

Entre as vitaminas, destacam-se como limitantes a tiamina, o ácido nicotínico e piridoxina. Alguns meios também podem conter pantetonato e biotina, mas estas, geralmente, não são consideradas como fatores limitantes ao crescimento (GAMBORG & SHYLUK, 1981).

SALA & CELLA (1983) observaram que algumas culturas cresceram somente na presença de certos compostos orgânicos, tais como, endosperma líquido (exemplo: água de côco), e extratos de levedura ou malte. Tais meios são, portanto, quimicamente indefinidos pois, a composição e concentração das substâncias adicionadas são variáveis.

NAKAYAMA (1966) observou que o meio básico de Fox & Miller (1959) foi mais eficaz do que o meio de Heller citado por GAUTHERET, 1959, para o cultivo de segmentos de talos de *Passiflora caerulea* L., pois o referido meio continha as necessidades minerais e energéticas em forma mais eficaz que o meio de Heller.

Gemas axilares de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg e de *P. mollissima* Bailey foram cultivadas por ROBLES (1978) nos meios de Blaydes (1966), Heller (GAUTHERET, 1959), Murashige & Skoog (1962) e Nitsch (NITSCH, NITSCH & HAMON, 1968) na ausência ou presença de 2 mg/l de AIA, 2,4 - D e cinetina, sozinhos ou combinados. O autor verificou que para *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg, o melhor meio foi o de Blaydes, seguido pelo de Nitsch, Murashige & Skoog e, finalmente o de Heller. Para *P. mollissima* o melhor meio foi o de Nitsch, seguido pelo de Blaydes, Murashige & Skoog e, por último, o de Heller. •

Em trabalho posterior, ROBLES (1979) observou o potencial morfogenético de entrenós de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg e *P. mollissima* Bailey quando cultivados no meio básico de Nitsch sem substâncias de crescimento e na presença de 2 mg/l de cinetina.

SCORZA (1980) obteve florescimento *in vitro* de *P. suberosa* L., quando cultivou explantes de várias partes da planta em meio de Murashige & Skoog, com 3% de sacarose, acrescido de vitaminas como a tiamina, piridoxina, ácido nicotínico e glicina.

Fragmentos de pecíolos de *P. caerulea* L., cultivados em várias modificações do meio Murashige & Skoog (1962), apresentaram variações na capacidade de organogênese (KLIMASZEWSKA, 1981).

TSAY *et alii* (1985) conseguiram indução de *callus* a-

través de anteras de passifloraceae, quando utilizaram também o meio de Murashige e Skoog, omitindo o NaFe EDTA, acrescido de 2 mg/l de NAA, 1 mg/l de BA e 6% de sucrose.

ZEMIGRANI (1987) testou diversos meios para cultura *in vitro* para clones de maracujá oriundos de Araguari (MG). O autor observou que os melhores meios, na primeira fase do experimento, foram o meio Murashige & Skoog acrescido de 2,5 mg/l de BAP e o meio Murashige & Skoog acrescido de 0,2 mg/l de BAP, 0,1 mg/l de NAA e 1,0 mg/l de tiamina. Posteriormente foi feita a transferência do material de maracujá *in vitro*, com fins de manutenção do mesmo, para meio de Murashige & Skoog, acrescido de 2,0 mg/l de BAP, 1,0 mg/l de tiamina e 0,1 mg/l de ANA.

### **B<sub>1</sub>) Ação das citocininas e das auxinas em passifloraceas**

Segundo ZEMIGRANI (1987) existem três grupos principais de fito-hormônios, auxinas, giberelinas e citocininas. Alguns desses ocorrem naturalmente, isto é, são produzidos pela própria planta, por exemplo, ácido indolacético (AIA) e outros que produzidos sinteticamente como o 2,4 - Diclorofenoxiacético são chamados de reguladores de crescimento.

Skoog & Miller (s.d.), citados por TULMANN NETO (1986), descobriram que a iniciação de raízes e ramos é basicamente regulada pelas interações entre os fito-hormônios, auxinas e citocininas. Trabalhando com "callus" de culturas de fumo demonstraram que ambos os fito-hormônios são necessários para o crescimento do tecido, pois, o padrão de organogênese é determinado pelas suas concentrações relativas no meio nutriente. Uma concentração relativamente alta de cito-

cinina induziu iniciação de brotos e suprimiu enraizamento e, por outro lado, uma concentração relativamente alta de auxina favoreceu iniciação de raízes e inibiu formação de brotos.

As citocininas são derivadas da adenina e estão presentes sobretudo, nos tecidos em ativa divisão celular (GAMBORG & SHYLUK, 1981; SALA & CELLA, 1983).

Supõe-se que as citocininas são sintetizadas nos ápices vegetativos e que, destes, sejam transportadas para as partes aéreas das plantas. Elas estimulam a expansão foliar, retardam o envelhecimento das folhas e determinam o desenvolvimento das gemas, com exceção das gemas dormentes, pois estas contêm auxinas (SALA & CELLA, 1983).

GEORGE & SHERRINGTON (1984) observaram que as citocininas em culturas de tecidos, possuem o efeito de estimular a divisão celular, promover a iniciação direta ou indireta de raízes adventícias, estimular a proliferação de gemas axilares e em altas concentrações (0,5 a 10 mg/l), geralmente, inibir a formação de raízes.

Os mesmos autores, relatam que as citocininas promovem formação de raízes adventícias quando utilizadas em combinação com auxinas, pois um balanço entre as quantidades de auxinas e citocininas, normalmente resulta em melhor organogênese, assim como a formação de gemas axilares, seja diretamente de explantes ou indiretamente a partir de *callus* é regulada pela interação entre auxinas e citocininas.

Da mesma forma, SALA & CELLA (1983) enfatizam que a relação quantitativa entre citocininas e auxinas é de extrema importância para cultura de células vegetais *in vitro*, pois, desta depende,



em muitos casos, a manutenção das células no estado indiferenciado ou a sua diferenciação em raízes e brotos até o desenvolvimento da planta completa.

Ainda segundo SALA & CELLA (1983), pouco se sabe sobre o mecanismo de ação primária das citocininas. A semelhança química com as bases purínicas dos ácidos nucleicos (DNA e RNA) têm sugerido que estas podem interferir de alguma maneira em qualquer um dos ácidos nucleicos da célula. Existe a idéia de que elas agem inserindo-se na molécula do tRNA (RNA de transferência) e interferem assim na síntese das proteínas, mas isto não foi ainda comprovado. Foi demonstrado que células de soja (*Soja hospida*) e de fumo (*Nicotiana tabacum*) cultivadas *in vitro* sintetizam normalmente o DNA, mesmo em ausência de citocinina, mas não em grau de efetuar a mitose. Isto sugeriu que estas podem regular o ciclo celular, controlando um evento crítico na fase G<sub>2</sub> na mitose.

As citocininas incluem a zeatina de origem natural, que recebeu este nome pois foi isolada da espiga do milho (*Zea mays*) e, as sinteticamente produzidas, 6 - furfurilaminopurina (cinetina), 2 - isopentiniladenina (2 iP) e 6 - benzilaminopurina (6 BAP), (SALA & CELLA, 1983; GEORGE & SHERRINGTON, 1984).

MILLER (1961) relata que a descoberta da cinetina ocorreu no laboratório de Skoog, quando este cultivou *in vitro* segmentos de *Nicotiana tabacum*. Devido à capacidade de causar citocinese, ou seja, acelerar a divisão celular, o composto descoberto recebeu o nome de cinetina.

O mesmo autor afirma que, em várias espécies vegetais,

a formação de *callus* ocorre quando se associa cinetina e IAA, sendo um exemplo, o fumo, onde observou que, aparentemente, a síntese de DNA e a mitose requerem ambos os compostos. Em hipocôtilos de couve-flor, no entanto, a cinetina não teve efeito no aumento do peso fresco devido ao IAA e aumentou-o quando o IAA foi omitido do meio. O autor concluiu que, no geral, a germinação tem sido inibida pela aplicação de auxina e promovida pela cinetina.

Da mesma forma, NAKAYAMA (1966) observou o desenvolvimento de gemas de *Passiflora caerulea* L. quando incorporou ao meio de cultura a cinetina (1 mg/l) ou, quando aumentou a relação cinetina/IAA.

ROBLES (1978) afirma que para o cultivo *in vitro* de *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. mollissima* duas fases de cultura são necessárias, sendo que, para a primeira das espécies citadas, os melhores resultados foram obtidos quando o cultivo foi feito na presença de cinetina, seguido de uma passagem para meio com AIA. Para *P. mollissima*, a presença de cinetina durante as duas fases de cultivo foi suficiente.

O mesmo autor em 1979, trabalhando com as mesmas espécies de passifloráceas já citadas, observou que para ambas, somente a adição de cinetina (2 mg/l) assegurou a diferenciação de plântulas. Isto levou o autor a concluir que a quantidade de auxina que as plantas contêm, no momento de se iniciar o cultivo, é suficiente para o equilíbrio adequado com a cinetina.

Para que ocorra floração de *P. suberosa*, SCORZA & JANICK (1980) afirmam que a presença de uma citocinina é imprescindível. Pa-

ra formação de gemas e flores os tecidos necessitam de BA (ou 6 - BA), pois, os autores observaram que a produção de brotos dependeu de altas concentrações de BA ou então, baixas concentrações de BA, mas com longo período de exposição (50 dias). A produção de flores aumentou quando utilizaram pequenas concentrações de BA ou pequenas exposições a alta concentração.

Outra observação feita pelos autores acima citados, foi que explantes de tecidos basais ou juvenis não floresceram mesmo na presença de BA. Isto levou-os a sugerir que deve haver um outro fator presente no tecido dos explantes, que provocava a iniciação do florescimento em conjunto com a citocinina.

KLIMASZEWSKA (1981) realizou experimentos com *P. caerulea* utilizando várias concentrações de cinetina, BA e zeatina. A autora relata que houve estímulo na formação de *callus*, quando utilizou citocinina na presença de NAA e que início de germinação ocorreu quando utilizou concentrações de cinetina e BA na ordem de 1 e 2 mg/l. Altas concentrações de citocinina inibiram a organogênese.

As auxinas são estimulatórias da expansão celular e são indispensáveis nos meios de cultura, quer estejam sôzinhas ou com outros hormônios, para o crescimento da maior parte das células vegetais.

Segundo SALA & CELLA (1983), o mecanismo de transporte das auxinas, assim como a presença de eventuais aceptores químicos são desconhecidos. As auxinas causam vários efeitos em plantas completas e em tecidos e células cultivadas *in vitro*, tais como alongamento de gemas devido à estimulação da expansão celular, crescimento de raízes,

inibição de queda de folhas, promovem crescimento dos frutos impedindo a separação dos mesmos da planta e determinam a dominância apical,

Algumas auxinas foram isoladas de tecidos vegetais, como por exemplo, o ácido indolacético (IAA) e outras, como o ácido  $\alpha$ -nftalenoacético e o ácido 2,4 - dicloro-fenoxiacético (2, 4-D), foram sintetizados em laboratórios.

SALA & CELLA (1983) citam que as auxinas naturais são sintetizadas pelas células dos ápices vegetativos das plantas, de folhas jovens e de frutos em maturação, sendo que, destes são transportados para as regiões inferiores, onde exercem a sua função.

GEORGE & SHERRINGTON (1984) relatam que uma auxina geralmente necessita ser incorporada ao meio de cultura para que ocorra indução de *callus* a partir dos explantes. Uma proporção mais alta de citocinina do que auxina geralmente é requerida na indução de explantes de brotos, enquanto que para rizogênese, normalmente, é feito um tratamento com misturas contendo mais auxinas do que citocininas,

O processo de embriogênese somática é iniciado em meios contendo altos níveis de auxinas (especialmente 2,4-D), mas embriões não são formados até que a concentração de auxina seja reduzida, Uma auxina também é, invariavelmente, requerida para promover o crescimento inicial de explantes de meristemas e brotos. Baixa concentração de auxina é usada em combinação com altos níveis de citocininas, em um segundo estágio, quando multiplicação de brotos é requerida, embora, em muitos casos, somente uma citocinina já é suficiente (GEORGE & SHERRINGTON, 1984).

NAKAYAMA (1966) cultivou *Passiflora caerulea* *in vitro*

e observou que o IAA, quando incorporado ao meio básico de Fox e Miller, favoreceu à formação de raízes e aumentou a atividade cambial, quando utilizado nas concentrações de 10 mg/l e 1 mg/l, enquanto que, uma pequena concentração (0,1 mg/l) do regulador de crescimento, já foi capaz de inibir a diferenciação de parte aérea.

Da mesma forma, ROBLES (1978) verificou que a presença de 2,4-D e IAA diminuíram a porcentagem de gemas em crescimento de *P. edulis* f. *flavicarpa*, mas favoreceram enraizamento. No entanto, em *P. mollissima*, os resultados da presença de auxinas não foram semelhantes, observando-se um efeito contrário destas auxinas, pois estas não estimularam o desenvolvimento de gemas e diminuíram a porcentagem de explantes que diferenciaram em raiz. O autor concluiu que para *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg, os melhores resultados foram obtidos quando realizou cultivo na presença de cinetina seguido de uma passagem para meio contendo AIA. Para *P. mollissima* a presença de cinetina nas duas fases de cultivo foi suficiente. A presença de 2,4-D não foi desejável na multiplicação das duas espécies.

Explantes de *Passiflora caerulea* apresentaram boa formação de tecidos de *callus* em meio de Murashige e Skoog com NAA ou IAA. Experimentos conduzidos na primavera e no verão mostraram que a combinação auxina + citocinina favoreceu o crescimento de *callus*, quando utilizadas as seguintes quantidades: 2 mg/l de NAA + 4 mg/l de cinetina, ou 2 mg/l de NAA + 1 mg/l de BA na primavera e, 2 mg/l de NAA + 2 ou 4 mg/l de BA, ou 2 mg/l de NAA + 2 ou 4 mg/l de Zeatina, no verão. A autora concluiu que o 2,4-D, particularmente associado a BA ou zeatina, foi favorável na formação de *callus* e que a combinação

auxina + cinetina foi desfavorável ao desenvolvimento dos explantes (KLIMASZEWSKA, 1981).

TSAY *et alii* (1985) cultivaram anteras de passifloraceae e relataram que, apesar de terem usado várias auxinas e citocininas, somente algumas protuberâncias parecidas com raízes foram produzidas.

As giberelinas constituem um outro grupo de fitohormônios. Pouco ou nada se sabe sobre o local de síntese, sobre o transporte da giberelina na planta e sobre o mecanismo de ação primário do hormônio. Os efeitos práticos evidenciáveis nas plantas são bem conhecidos, como por exemplo, estimulam o crescimento das plantas e a expansão foliar, aumentam as dimensões dos frutos e interrompem a latência das sementes induzindo a germinação (SALA & CELLA, 1983).

Mais de 30 diferentes giberelinas já foram isoladas em diferentes plantas, mas a  $GA_3$  é a giberelina mais abundante nos fungos, sendo que as outras giberelinas possuem uma estrutura química semelhante, diferindo da  $GA_3$  por pequenas modificações estruturais (SALA & CELLA, 1983).

Segundo ZEMIGRANI (1987) o mais extraordinário efeito da giberelina sobre a planta é com relação ao crescimento. Estas podem também aumentar as dimensões dos frutos e interromper a latência da semente, induzindo a germinação. O ácido giberêlico mais empregado é o  $GA_3$ .

Quando o  $GA_3$  é adicionado ao meio de cultura, ele geralmente produz efeitos semelhantes ao das auxinas. Altas concentrações de  $GA_3$  (1-8 mg/l) induzem o crescimento de células indiferencia-

das de *callus* e podem promover o crescimento de *callus* em combinação com auxinas e baixos níveis de citocininas (GEORGE & SHERRINGTON, 1984).

Normalmente o  $GA_3$  inibe formação de raízes, sendo que esta inibição geralmente é manifestada na presença de auxinas, embora se encontre na literatura alguns resultados contraditórios. Nanda *et alii* (1972), citados por GEORGE & SHERRINGTON (1984), obtiveram formação de raízes de *Ipomoea fistula* na presença de  $GA_3$ . Varga e Humphries (1974), citados por GEORGE & SHERRINGTON (1984), também mostraram que, apesar da formação de raízes a partir da base do pecíolo foliar de *Phaseolus* ter sido inibida por aplicação local, ela foi promovida quando  $GA_3$  foi aplicada na lâmina foliar.

Segundo GEORGE & SHERRINGTON (1984) pequenas quantidades de  $GA_3$  (0,1 mg/l) são normalmente adicionadas em culturas de meristemas. Estas quantidades nem sempre são benéficas ou absolutamente necessárias. Alguns trabalhos mostraram resultados favoráveis no desenvolvimento de culturas de meristemas com o uso de  $GA_3$ , enquanto que outros, relataram que adição de baixas concentrações de  $GA_3$  (0,03 mg/l) em meio contendo auxinas e citocininas, ou apenas citocininas, impediu crescimento de meristemas e inibiu proliferação de *callus*.

Na literatura consultada não foram encontrados trabalhos que tratassem do efeito das giberelinas em maracujazeiros, indicando que novos estudos ainda devam ser realizados neste sentido,

### **C) Condições ambientais para a cultura de plantas**

Existem vários fatores ambientais que influenciam o crescimento de *callus* e células cultivadas em suspensão. Os princi-

tais fatores são luz e temperatura, sendo que o pH e a aeração também são importantes.

### C<sub>1</sub>) Luz

SALA & CELLA (1983) relatam que muitas células vegetais tornam-se verdes quando cultivadas *in vitro* à luz, mas no entanto, até hoje não foi possível obter um crescimento *in vitro* em condições autotróficas, pois é sempre indispensável a presença, no meio de cultura, de sacarose ou de outra fonte de energia sob forma de energia química. O crescimento de células *in vitro* também à luz e em condições nas quais se tem produção de pigmentos verdes é, por isso, sempre heterotrófico.

Em geral, a luminosidade é provida por Gro Lux<sup>r</sup> ou fontes similares, ou ainda, lâmpadas fluorescentes brancas na intensidade de cerca de 300 a 10.000 lux ( $\approx 0,2 - 5 \text{ mw cm}^{-2}$ ) (GAMBORG & SHYLUK, 1981).

Segundo TULMANN NETO (1986) as lâmpadas fluorescentes tem sido preferidas, pois tem maior balanço espectral e, quando comparadas com lâmpadas incandescentes, possuem três vezes mais eficiência na conversão da energia elétrica em luminosa e menor quantidade liberada de calor.

O crescimento de plantas propagadas *in vitro*, geralmente não é inibido pela luz, a qual é muitas vezes, requerida para se obter bons resultados. Por outro lado, explantes em início de divisão celular e crescimento de tecidos de *callus* são, muitas vezes, impedidos pela luz. Esta é uma diferença marcante, no que diz respeito aos tecidos de diferentes espécies de plantas (GEORGE & SHERRINGTON, 1984).



Neste sentido, ROBLES (1978) observou que houve maior porcentagem de gemas de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg, e *P. mollissima* Bailey em crescimento, quando colocadas na luz do que no escuro, sendo que esta diferença não foi significativa para cada espécie. Em particular, *P. mollissima* apresentou crescimento de gemas favorável na luminosidade, quando se utilizou os meios de Blaydes (77,5%) e de Murashige & Skoog (70%), enquanto que ao se utilizar o meio de Nitsch, o desenvolvimento de gemas foi melhor quando as mesmas ficaram no escuro durante os sete primeiros dias. O autor observou ainda que *P. edulis* f. *flavicarpa* apresentou melhor enraizamento quando foi utilizado o meio de Nitsch no escuro.

Entrenós de *P. edulis* f. *flavicarpa* e de *P. mollissima* foram colocados a brotar em condições de luminosidade (3000 lux por 18 horas/dia) por ROBLES (1979). O autor obteve formação de *callus*, acúmulo de amido, diferenciação e formação de tecidos vasculares para ambas as espécies.

SCORZA & JANICK (1980) relataram que entrenós de ramos de *P. suberosa* L., quando cultivados em meio básico de Murashige & Skoog acrescidos de 0,1 mg/l de BA e mantidos por 0 - 6 semanas no escuro, antes de serem transferidos para condições de luminosidade (1.500 lux, por 16/8 horas/dia), apresentaram poucas gemas e nenhuma formação de flores enquanto no escuro. No entanto, exposição no escuro por um período superior a 6 semanas não impediu o desenvolvimento de flores, enquanto que uma reexposição na luz, alternado por mais 4 semanas no escuro, aparentemente, reduziu a floração. Observaram ainda que entrenós de ramos cultivados em meio básico contendo 3% de sacarose não floresceram no escuro, indicando que a luz é essencial para

floração *in vitro* para este nível de sacarose. Os autores concluíram que o efeito da luz na floração, além de necessitar de fotoindução é desconhecido e que, a produção de açúcar através de fotossíntese pode ser um fator chave.

Indução de *callus* através de anteras de cruzamento (*P. edulis* X *P. edulis* f. *flavicarpa*) X *P. edulis* f. *flavicarpa* foi obtida por TSAY *et alii* (1985), tanto em condições de luminosidade como no escuro.

## C<sub>2</sub>) Temperatura

Segundo GAMBORG & SHYLUK (1981) a taxa de crescimento de plantas cultivadas *in vitro* está intimamente relacionada à temperatura.

GEORGE & SHERRINGTON (1984) observaram que a temperatura média utilizada na maioria dos experimentos realizados foi de 25°C, com variações oscilando entre 17 e 32°C. Os autores ressaltam que a temperatura a ser utilizada para cada espécie necessita ser melhor pesquisada, pois, embora diferentes espécies de plantas venham sendo multiplicadas com sucesso à temperatura citada, existem na literatura freqüentes exemplos que mostram que as espécies exigem distintas temperaturas ótimas.

Sendo assim, TULMANN NETO (1986) relata que em experimentos realizados com *Gladiolos evortulans* foi observado que estas plantas só poderiam crescer *in vitro* quando expostos à temperatura de 2°C por 4 a 6 semanas antes da transferência para o solo.

Frave (1977), citado por GEORGE & SHERRINGTON (1984), observou que explantes de lâmina foliar de *Vitis* spp. sobreviveram em

cultivo a 20° e 25°C, mas não se desenvolveram. Crescimento só foi satisfatório a 29°C; a 32 e 34°C os explantes sobreviveram apenas por um pequeno espaço de tempo.

GAMBORG & SHYLUK (1981) citam que crescimento de plantas pode ocorrer à temperaturas abaixo de 20°C, enquanto que algumas linhagens celulares podem crescer à temperaturas bem elevadas, entre 32 e 33°C.

Em trabalhos realizados com cultura de tecidos em maracujazeiros as temperaturas utilizadas tem sido de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , conforme ROBLES (1978, 1979), sendo que estas se enquadram dentro da faixa de temperatura recomendada para a maioria das culturas.

### C<sub>3</sub>) pH

O pH é uma importante variável do meio de cultura. Segundo GAMBORG & SHYLUK (1981) as células vegetais cultivadas *in vitro* requerem pH ácido, sendo que um pH inicial ótimo situa-se na faixa entre 5,5 e 5,8.

Da mesma forma, AKINS & VASIL (1985) observaram que a maior parte dos meios de cultura têm o pH ajustado em uma faixa entre 5,5 e 5,8, sendo este ajustamento realizado antes da esterilização, sem se considerar o que poderá ocorrer durante o desenvolvimento do explante no meio de cultivo.

Ambos os autores concordam que a concentração do ion hidrogênio no meio de cultura muda durante o crescimento dos explantes. Esta flutuação tem sido rigorosamente controlada em culturas de células em suspensão, tendo sido demonstrado que o pH normalmente diminui durante o início do cultivo, tendendo a 5,0. Posteriormente, o

pH tende a aumentar, podendo alcançar o nível de 6,0 ou mais,

Neste sentido, Rashid & Reinert (1983), citados por AKINS & VASIL (1985), constataram que embriogênese a partir de pólen de *Nicotiana tabacum* em meio de filtro esterilizado, teve o pH aumentado significativamente, de 5,8 para 6,8.

WITHERELL & DOUGALL (1976), trabalhando com suspensões embriogênicas de cenoura, observaram que houve bom crescimento a pH entre 5,0 e 6,0, sendo relativamente menor o pH ótimo para embriogênese, ou seja, 5,4.

Singha (1982), citado por GEORGE & SHERRINGTON (1984), relata que houve aumento da acidez do meio MS após autoclavado.

GEORGE & SHERRINGTON (1984) observaram que os compostos responsáveis pela mudança do pH foram os sulfatos ferrosos e o nitrato de cálcio.

BHOJWANI & RAZDAN (1983) consideram uma faixa mais ampla para o ajustamento do pH, variando entre 5,0 e 6,0. Os autores relatam que, em geral, pH acima de 6,0 produz diretamente um meio sólido e pH abaixo de 5,0 não permite que o agar se transforme em gelatina de maneira satisfatória.

Murashige & Skoog (1962), citados por GEORGE & SHERRINGTON (1984), recomendam adição de agar e um pré-aquecimento do meio em autoclave, por alguns minutos, antes do ajustamento do pH, porque isto evitaria mudanças durante o processo de autoclave.

Trabalhos com cultura de tecidos em maracujazeiros têm sido realizados com o valor pH em faixa de 5,7 (SCORZA & JANICK, 1980), 5,8 (ROBLES, 1978 e 1979) até pH 6,0 (NAKAYAMA, 1966 e KLIMASZEWSKA,

1981): Nestes trabalhos o pH foi ajustado antes da esterilização dos meios de cultivo.

### 2.3. Propagação por enxertia

#### A) Considerações Gerais

Segundo SÃO JOSÉ (1986) no Brasil são muitos os fatores que têm contribuído para a redução da produtividade das culturas de maracujazeiro, tais como: falhas na polinização (quer seja natural ou artificial), presença de pragas nas lavouras (lagartas, percevejos, etc.), doenças (bacteriose, antracnose, verrugose, etc.), nematóides, morte prematura da planta (devido a alguns fungos - *Fusarium* e *Phytophthora*, principalmente e outros agentes patogênicos desconhecidos) e má aplicação dos tratamentos culturais (como adubações, pulverizações, capinas, etc.).

A murcha do maracujazeiro foi relatada no Brasil por CARVALHO & CARVALHO (1968) no Vale do Ribeira, Estado de São Paulo e por CALVAZARA (1970) no Pará. De acordo com CARVALHO & CARVALHO (1968) o agente causal é o fungo *Fusarium oxysporum* f. *passiflorae*.

OLIVEIRA (1987), YAMASHIRO (1987), enfatizam que a ocorrência de doenças é a principal dificuldade para o cultivo do maracujazeiro, sendo que as doenças do sistema radicular são as mais importantes. A murcha de *Fusarium*, causada por *Fusarium oxysporum* Schl, f. *passiflorae* Purss, provoca amarelecimento das folhas novas, com posterior murchamento de toda a planta e finalmente a sua morte. Os resultados ressaltam que devido às características do agente causal da murcha, parasita facultativo, o controle químico é pouco eficiente,

No controle desta doença, os autores recomendam o uso de mudas enxertadas sobre porta-enxertos resistentes, além de algumas práticas culturais existentes.

OLIVEIRA *et alii* (1979) relataram o comportamento de algumas espécies e variedades de *Passiflora* transplantadas ao redor de covas onde o problema de morte prematura de plantas havia sido constatado. Os autores acreditam que a solução do problema, quer por desenvolvimento ou seleção de cultivares ou porta-enxertos resistentes ou por outros meios, esclarecida ou não a sua natureza, é passo decisivo para o sucesso da cultura do maracujazeiro.

CARVALHO (1974) recomenda a propagação por enxertia na conservação de clones de maracujazeiros devidamente comprovados como sendo altamente produtivos, com frutos de boa qualidade, bem como garantir boa sanidade às plantas, através do uso de porta-enxertos resistentes às pragas e moléstias.

OLIVEIRA *et alii* (1980) relataram que *Passiflora alata* Ait. é vegetativamente menos rústico que *P. edulis* e *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg., mas, por outro lado, é aparentemente mais tolerante à bacteriose, antracnose e verrugose, devendo por isto, ser utilizado como porta-enxerto para as duas passifloráceas citadas.

BACCARIN *et alii* (1981), observaram que o maracujá amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa* Deg.) mostrou-se moderadamente resistente ao ataque de *Meloidogyne javanica*, enquanto que *P. giberti* N. E. Brown e *P. alata* Ait. comportaram-se como susceptíveis, não sendo, por isto, recomendados como porta-enxertos em locais sabidamente infestados pelo nematóide, a menos que medidas preventivas de controle contra nematóides tenham sido adotadas durante a formação das mudas.

O estudo de porta-enxertos adequados, principalmente para o maracujazeiro amarelo, que possui maior expressão econômica no Brasil, seria de grande interesse por permitir, desde que se obtenha o porta-enxerto adequado, a solução para o problema de morte de plantas através do sistema radicular (RUGGIERO, 1987).

#### **B) Trabalhos realizados com propagação por enxertia em maracujazeiros**

GIACOMETTI (1954) recomenda o uso de *P. laurifolia* como cavalo em locais onde ocorram infestações por nematóides e cita que na Austrália e África do Sul, *P. edulis* foi enxertado sobre *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg., visando controle da murcha de *Fusarium*, uma vez que esta última mostrou-se resistente ao fungo.

PURSS (1958) inoculou plântulas de *P. edulis* Sims com *Fusarium oxysporum* f. *passiflorae*, visando observar se existiam plantas desta espécie que se mostrassem resistentes à murcha de *Fusarium*. O autor observou que, após 90 dias da inoculação, todas as plantas apresentaram sintomas da doença vindo a morrer. O autor recomenda o uso de porta-enxertos resistentes à doença como: *P. aurantia*, *P. herbetiana*, *P. suberosa*, *P. caerulea* e linhagens de *P. edulis* f. *flavicarpa*, sendo estas últimas as mais promissoras.

BLACKER (1960) recomenda o uso de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. como porta-enxerto para *P. edulis* Sims, pois o maracujã amarelo mostrou-se resistente às espécies de *Fusarium* causadoras de podridão de raízes e colo de plantas de maracujã roxo. O autor indica a enxertia em fenda cheia como melhor método.

KIELY & COX (1961), no controle de fusariose através de enxertia, recomendam os seguintes cuidados: a) as gemas a serem en-

xertadas sobre os porta-enxertos resistentes devem provir de plantinhas novas da variedade desejada; b) o tipo de enxertia deve ser o de garfagem e os porta-enxertos estarão aptos à operação quando apresentarem cerca de 9 polegadas em altura (23 cm) e 1/8 polegadas de diâmetro (3 - 4 cm); c) no transplante para o campo, o plantio deve ser raso, para que o solo não toque a parte superior suscetível da muda.

COX & KIELY (1961) relataram que *P. caerulea*, *P. incarnata*, *P. herbertiana* e *P. edulis* f. *flavicarpa* mostraram resistência à murcha de *Fusarium*, mas somente *P. edulis* f. *flavicarpa* mostrou-se adequado como porta-enxerto para *P. edulis* Sims (maracujã roxo), pois a variedade *P. edulis* f. *flavicarpa* foi considerada satisfatória, quando utilizada como porta-enxerto para *P. edulis* Sims, mostrando-se resistente à murcha de *Fusarium*. Os autores observaram ainda que, a combinação copa/porta-enxerto utilizada mostrou-se mais resistente ao frio do que pomares de maracujazeiros provenientes de sementes.

Carvalho (1965), citado por PIZA JÚNIOR (1966), recomenda que a enxertia seja efetuada em setembro, empregando-se garfos contendo duas gemas vegetativas com a brotação iniciada, os quais serão cortados em bisel na extremidade superior e em cunha com 3 ou 4 cm de comprimento na extremidade inferior.

Em áreas contaminadas por *Fusarium*, FRANCO (1974) em trabalho de revisão de literatura, recomenda, como controle mais adequado, o uso de porta-enxertos resistentes. O autor observou que linhagens de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. foram as que mais se destacaram quanto a resistência à fusariose, sendo por isto recomendadas como porta-enxerto para este fim.



PALAMIN JR. (1975) realizou enxertias de maracujá amarelo sobre maracujá alata, utilizando os métodos de enxertia em fenda cheia e inglês simples, obtendo percentagem de pegamento dos enxertos de 50% e 68%, respectivamente, após 30 dias de enxertia.

D'AVILA (1975) comparou os métodos de enxertia inglês simples e fenda cheia para maracujá amarelo enxertado sobre maracujá amarelo e obteve 70% e 32% de pegamento, respectivamente. O autor relata que a ocorrência de morte dos enxertos, em ambos os métodos de enxertia, foi acentuada nos primeiros 15 dias, diminuindo até os 20 dias e, a partir daí, não houve mais mortes.

BRODRICK & MULDER (1976) recomendam que o maracujazeiro amarelo seja utilizado como porta-enxerto para o maracujazeiro roxo ou então que se utilize pomares oriundos de sementes de Maracujá amarelo como medida de controle para podridão do tronco causada por *Phytophthora*.

CORRÊA (1977), em Jaboticabal (SP), relata que enxertias tipo inglês simples de maracujazeiro amarelo sobre alata, realizadas em fevereiro, embora apresentassem bom pegamento (70%), não apresentaram bom desenvolvimento do conjunto copa/porta-enxerto. O autor sugere a realização da enxertia em época do ano mais adequada,

MACHADO (1977) realizou enxertias por garfagem utilizando como porta-enxerto, os maracujazeiros amarelo e alata e como copa, o maracujazeiro amarelo. A melhor combinação foi maracujá amarelo enxertado sobre maracujá amarelo, pois apresentou maior teor de matéria seca acumulada do que a outra combinação.

CORRÊA (1978) estudou dois tipos de enxertia (inglês

simples e fenda cheia), utilizando como copa, garfos de maracujazeiro amarelo, sendo que destes, uma parte provinha de plantas adultas e outra, de "seedlings". O autor observou que a enxertia tipo fenda cheia apresentou melhores resultados que o inglês simples, obtendo até 95% de pegamento. Os garfos de "seedlings" e de plantas adultas não apresentaram diferenças significativas quanto ao pegamento. O autor fez ainda as seguintes considerações: os garfos de "seedlings" parecem aumentar o período de juvenilidade da planta formada; o maior número de morte dos enxertos foi observada nos primeiros 45 dias após a enxertia; as mudas enxertadas desenvolveram-se menos do que aquelas que não sofreram enxertia.

RUGGIERO & CORRÊA (1978) citam que em estudos realizados com enxertias efetuadas nos meses de fevereiro e outubro, onde foram retiradas as medidas de desenvolvimento do peso seco da parte aérea, em intervalos de 15 dias até 165 dias após a enxertia, observaram que o desenvolvimento das plantas enxertadas foi inferior ao das plantas provenientes de sementes. Os autores ressaltam que o maracujá amarelo não floresce, nas condições de Jaboticabal, por um período de 3 meses, recomendando que a enxertia seja realizada no início da brotação primaveril.

YAMASHIRO & LANDGRAFF (1979), na Bahia, observaram que *Passiflora alata* Ait mostrou-se resistente à murcha de *Fusarium* quando utilizado como porta-enxerto para *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. Maracujá alata conferiu maior precocidade a copa, sem alterar a qualidade dos frutos e permitiu também o uso de solos mais úmidos, além de possibilitar a formação de pomares mais uniformes e produtivos, me-

diante seleção fenotípica de matrizes. Posteriormente, YAMASHIRO & CARDOSO (1982), constataram a ocorrência de murcha de Fusarium em *P. alata* Ait. no Estado de São Paulo.

OLIVEIRA *et alii* (1982) observaram que, dentro da espécie *P. alata* Ait., havia comportamento diferencial de acordo com a origem das sementes. Algumas variações como as cultivares Jaboticabal, Dobrada e Lavras, apresentaram muitas plantas resistentes enquanto que a Monte Alto e Comprido foram muito susceptíveis. Os autores ressaltam que deve ser levado em conta que o agente patogênico ainda é desconhecido.

OLIVEIRA *et alii* (1984) estudaram o comportamento de espécies de *P. edulis* enxertadas sobre *P. giberti* N.E. Brown (maracujá-de-veado). O método de enxertia utilizado foi o de fenda cheia, com porta enxerto com idade de 5 a 7 meses após semeadura e os garfos de *P. edulis* eram provenientes de "seedlings" e plantas adultas. Os autores observaram que, após o plantio em local definitivo, as plantas apresentaram menor desenvolvimento inicial e menor capacidade de recuperação após desfolhamento severo (causado pela ocorrência de doenças da parte aérea), quando comparadas com o maracujazeiro amarelo. A produtividade das plantas enxertadas foi menor, mas os frutos e a qualidade do suco não apresentaram alterações. Os autores recomendam a enxertia de maracujá amarelo sobre cavalo resistente para locais contaminados com possíveis agentes patogênicos.

PACE (1984) testou quatro métodos de enxertia para o maracujazeiro amarelo em porta-enxertos de *P. caerulea* L., já instalados em local definitivo. Os processos comparados foram a borbulhia

em T invertido, a garfagem inglesa, a garfagem lateral e a garfagem de topo em fenda cheia. O autor concluiu que, nas condições testadas, o método de enxertia garfagem lateral foi o que apresentou os melhores resultados, mostrando com isso ser o sistema mais recomendado.

OLIVEIRA *et alii* (1986) relatam que vários agentes patogênicos como *Fusarium oxysporum* f. *passiflorae* PURSS, *Phytophthora cinnamomi* Rands e *Fusarium* sp tem sido a causa da morte de muitas culturas de maracujá amarelo no Brasil. Os autores plantaram várias espécies de passifloraceas em local sabidamente contaminado com o(s) agente(s) patogênico(s) desconhecido(s), responsável por morte prematura de plantas e observaram que as espécies *P. giberti* N.E. Brown, *Passiflora* spp (maracujá-de-cobra) mostraram-se resistentes. *P. caerulea* e *P. macrocarpa*, apresentaram algumas plantas tolerantes. Em *P. alata* Ait observaram que as cultivares Comprido e Monte Alto apresentaram-se susceptíveis, enquanto as cultivares Jaboticabal, Dobrada, Lavras, Campinas, Bico Duro e Gripp, apresentaram plantas resistentes, concordando com as observações já efetuadas por OLIVEIRA *et alii* (1982) e YAMASHIRO & CARDOSO (1982).

TERBLANCHE *et alii* (1987), na África, relataram que *Passiflora caerulea* mostrou maior resistência à podridão de raízes causada por *Phytophthora* e podridão do colo causada por *Fusarium* do que as espécies *P. edulis* e *P. edulis* f. *flavicarpa*. Ensaio por um período de 3 anos, efetuados com enxertias de garfos de plantas adultas e "seedlings" de *P. edulis* sobre *P. caerulea* e *P. edulis* f. *flavicarpa*, produziram aproximadamente 41% e 74%, respectivamente. A taxa de mortalidade para *P. edulis* enxertado sobre *P. caerulea* foi de 8%, quando

comparado com 66% para *P. edulis* enxertado sobre *P. edulis* f. *flavica* *carpa* e 58% para plântulas de *P. edulis*. Os autores observaram ainda que *P. caerulea* mostrou-se altamente tolerante a nematóides formadores de galhas (*Meloidogyne* sp.) e solos salinos; exposições à temperaturas de  $-1,5^{\circ}\text{C}$  aparentemente não causaram danos a esta espécie. *P. edulis* enxertado sobre *P. caerulea* não apresentou problemas.

SEIXAS *et alii* (1987) enxertaram mudas de *Passiflora edulis* Sims f. *flavica* *carpa* Deg. sobre *P. macrocarpa* em casa de vegetação e posteriormente foram levadas para local com histórico de morte prematura de plantas e com infestação de nematóides (*Meloidogyne* sp.). A taxa de pegamento do enxerto foi de 44% em enxertia tipo fenda cheia. Os autores recomendam *P. macrocarpa* como porta-enxerto para *P. edulis* Sims f. *flavica* *carpa* Deg., devido a alta frequência de plantas tolerantes à morte prematura de plantas, tolerância à *Meloidogyne* sp., a não observância de diferença entre o tamanho e qualidade dos frutos, mas sugerem que programas de melhoramento genético sejam efetuados a fim de aumentar a tolerância de *P. macrocarpa* à morte prematura de plantas e à bacteriose (*Xanthomonas passiflorae*, Pereira).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Ensaio com cultura de tecidos**

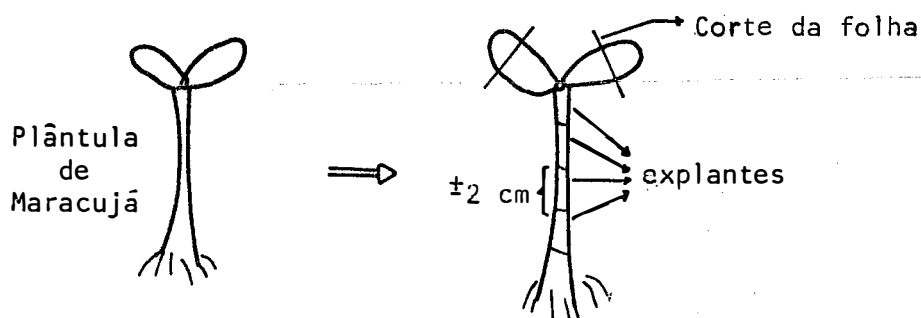
O presente trabalho foi executado no Laboratório de Cultura de Tecidos do CENA (Centro de Energia Nuclear na Agricultura), em Piracicaba.

##### **3.1.1. Primeiro Ensaio**

Os explantes para cultivo *in vitro* foram retirados de plantas adultas e *seedlings* de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. (maracujá amarelo).

A planta adulta de maracujazeiro amarelo, que forneceu os explantes, encontrava-se no Campus da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ). Os explantes constituíram-se de gemas existentes junto a cada axila foliar nos ramos da planta,

Outra parte dos explantes foi retirada de plântulas oriundas de sementes provenientes de Jaboticabal (SP), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus de Jaboticabal (UNESP) e, cultivadas em casa de vegetação. Neste caso, os explantes constituíram-se de pequenos segmentos do hipocótilo, conforme esquema a seguir,



### 3.1.1.1. Metodologia

#### A) Explantes de plantas adultas

##### A<sub>1</sub>) Coleta do Material

Os ramos provenientes da planta adulta de maracujá amarelo foram cortados com auxílio de tesoura e mantidos dentro de um balde com água e levados ao laboratório de cultura de tecidos.

Estes ramos foram retirados de planta com um ano e meio de idade, da espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg, sendo utilizados somente os ramos mais novos e que se mostrassem mais vigorosos.

No laboratório, foram retiradas as gemas axilares da porção do meio do ramo até o ápice, por apresentarem tecido mais jovem.

Com o objetivo de se fazer a desinfecção do material levado ao laboratório, para posterior cultivo *in vitro*, procedeu-se a esterilização do mesmo.

A esterilização do explante é necessária, pois, os tecidos internos da planta são geralmente estéreis, enquanto que a parte superficial é recoberta por vários tipos de microorganismos (SALA & CELLA, 1983).

Inicialmente foi feita a eliminação de todas as folhas dos ramos, seguido de lavagem destes em água corrente. Com auxílio de lâmina para barbear, fez-se a retirada das gemas axilares, sendo estas mantidas em placas de Petri, contendo água destilada.

A seguir, estas placas foram levadas para uma câmara asséptica de fluxo laminar. Nesta, as gemas axilares foram colocadas em um becker contendo solução de hipoclorito de sódio (20%), durante 30 minutos, seguido de lavagens (quatro vezes) em água estéril.

A seguir, os explantes foram inoculados em meio de NITSCH & NITSCH (1969), ainda na câmara asséptica. Durante a transferência dos explantes para o meio de cultura evitou-se repasses com o braço acima do explante e este foi mantido o mais próximo possível do fluxo laminar. As pinças e os bisturis foram flambados antes de se iniciar o trabalho e a cada uso, pois, a transferência foi realizada sob bico-de-chama. As placas de petri e as toalhas de papel utilizadas nesta operação, foram previamente autoclavadas.

## **B) Explantes provenientes de plântulas**

As plântulas, também da espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. e cultivadas em casa de vegetação, foram levadas com 1 mês de idade ao laboratório de cultura de tecidos para retirada dos explantes. Estes *seedlings* apresentavam de 15 - 20 cm de comprimento e contavam somente com as duas folhas cotiledonares.

Primeiramente foi feita a lavagem da plântula toda em água corrente para retirada de impurezas e terra das raízes. A seguir as raízes e as duas folhas primárias foram retiradas e descartadas com auxílio de tesoura, restando apenas o hipocótilo de cada plântula,



Com auxílio de bisturi esterilizado e constantemente imerso em álcool etílico 70%, os hipocótilos das plântulas foram divididos em pequenos segmentos (explantes), de aproximadamente 2 cm cada um, sendo colocados em placas de Petri contendo água destilada.

Estas placas de Petri contendo os explantes foram levadas para uma câmara asséptica de fluxo laminar, onde realizou-se a esterilização dos mesmos em solução de hipoclorito de sódio (20%) por 30 minutos, sendo em seguida lavados por quatro vezes com água esterilizada.

Ainda sob câmara asséptica foi feita a inoculação dos explantes em meio de cultura sólido (Nitsch & Nitsch, 1969), tomando-se todos os cuidados já descritos para se evitar a contaminação do meio.

### 3.1.1.2. Meio de Cultura

O meio de cultura utilizado no primeiro ensaio foi o de NITSCH & NITSCH (1969), acrescido de 2 mg/l de cinetina.

O meio constou do seguinte:

| MACRONUTRIENTES                                  |          |
|--|----------|
| $\text{KNO}_3$ -----                             | 950 mg/l |
| $\text{NH}_4\text{NO}_3$ -----                   | 720 mg/l |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ----- | 185 mg/l |
| $\text{CaCl}_2$ -----                            | 166 mg/l |
| $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -----                   | 68 mg/l  |

| MICRONUTRIENTES   |            |
|---|------------|
| MnSO <sub>4</sub> · 4 H <sub>2</sub> O -----                | 25 mg/l    |
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> -----                        | 10 mg/l    |
| ZnSO <sub>4</sub> -----                                     | 10 mg/l    |
| Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2 H <sub>2</sub> O ----- | 0,25 mg/l  |
| CuSO <sub>4</sub> · 5 H <sub>2</sub> O -----                | 0,025 mg/l |
| VITAMINAS   |            |
| Ácido Fólico -----  | 0,5 ml/l   |
| Pirotina . HCl -----  | 0,5 mg/l   |
| Inositol -----  | 100 mg/l   |
| Ácido Nicotínico -----                                      | 5 mg/l     |
| Tiamina - HCl -----   | 0,5 mg/l   |
| AMINOÁCIDO  |            |
| Glicina -----   | 2 mg/l     |
| FITOHORMÔNIOS   |            |
| IAA -----   | 0,1 mg/l   |
| Cinetina -----  | 2 mg/l     |
| AGAR -----  | 8 g/l      |
| Sacarose -----  | 20 g/l     |

O pH foi ajustado para 5,8.

O meio foi autoclavado a 120°C (1 atm.) por 20 minutos e a pressão atmosférica foi de 15 lb/pol<sup>2</sup>.

Este meio de cultura foi distribuído em 200 frascos de vidro contendo 10 ml de meio de cada frasco. Em 100 frascos foram colocados explantes retirados dos ramos da planta adulta e em 100 frascos, explantes provenientes das plântulas.

Após inoculação dos explantes em câmara asséptica, os recipientes foram selados com papel alumínio e, em seguida, transferidos para a sala de crescimento de culturas do CENA. Os frascos foram mantidos à luz (lâmpadas fluorescentes Silvânia, GRO-lux), com fotoperíodo de 12/12 horas e temperatura de  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Foi feito acompanhamento do desenvolvimento dos explantes semanalmente.

### **3.1.2. Segundo Ensaio**

Foram testadas seis variações do meio NITSCH & NITSCH, sendo que os explantes inoculados foram retirados somente de plantas perfeitamente sadias de maracujá amarelo com um ano de idade e mantidas até então em casa de vegetação. Neste experimento os explantes constituíram-se de entrenós de ramos, cortando-se as folhas e deixando-se as gemas existentes junto a axila foliar dos ramos das plantas.

Os seis meios testados apresentavam diferentes composições de fito-hormônios, como pode ser observado no Quadro 1.

Quadro 1 - Quantidade de fito-hormônio utilizada em seis meios de cultura testados para verificar o desenvolvimento de explantes de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.

| fito-hormônio           | mg/l  | mg/l | mg/l          | mg/l  | mg/l               | mg/l  |
|-------------------------|-------|------|---------------|-------|--------------------|-------|
| meio                    | 6-BAP | IAA  | Cine-<br>tina | 2,4-D | Água<br>de<br>côco | 2 i-P |
| Meio 1-NNB              | 0     | 0    | 0             | 0     | 0                  | 0     |
| Meio 2-NNB <sub>1</sub> | 2     | 0    | 0             | 0     | 0                  | 0     |
| Meio 3-NNB <sub>2</sub> | 0,5   | 1,0  | 0             | 0     | 0                  | 0     |
| Meio 4-NNB <sub>3</sub> | 0     | 0,1  | 2             | 0     | 0                  | 0     |
| Meio 5-NNB <sub>4</sub> | 0     | 0    | 0             | 3     | 100                | 0     |
| Meio 6-NNB <sub>5</sub> | 0     | 0    | 0             | 0     | 0                  | 2     |

NNB = Meio Básico contendo somente os sais orgânicos e inorgânicos, vitaminas, aminoácidos de NITSCH & NITSCH (1969), como segue:

Meio Básico = NNB

| MACRONUTRIENTES                        |          |
|--|----------|
| KNO <sub>3</sub>                       | 950 mg/l |
| NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>        | 720 mg/l |
| MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O | 185 mg/l |
| CaCl <sub>2</sub>                      | 166 mg/l |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>        | 68 mg/l  |

| MICRONUTRIENTES   |            |
|---|------------|
| MnSO <sub>4</sub> . 4 H <sub>2</sub> O -----                | 25 mg/l    |
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> -----                        | 10 mg/l    |
| ZnSO <sub>4</sub> -----                                     | 10 mg/l    |
| Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> . 2 H <sub>2</sub> O ----- | 0,25 mg/l  |
| CuSO <sub>4</sub> . 5 H <sub>2</sub> O -----                | 0,025 mg/l |
| VITAMINAS   |            |
| Ácido Fólico -----  | 0,5 ml/l   |
| Piroadoxina . HCl -----                                     | 0,5 mg/l   |
| Inositol -----  | 100 mg/l   |
| Ácido Nicotínico -----                                      | 5 mg/l     |
| Tiamina , HCl -----   | 0,5 mg/l   |
| AMINOÁCIDO  |            |
| Glicina -----   | 2 mg/l     |
| AGAR -----  | 8 g/l      |
| Sacarose -----  | 20 g/l     |

O pH foi ajustado para 5,8.

Foram preparados 50 frascos para cada um dos seis meios, contendo cada frasco 10 ml de meio. Estes meios foram esterilizados em autoclave à temperatura de 120°C durante 20 minutos e pressão atmosférica de 15 lb/pol<sup>2</sup>.

Após inoculação dos explantes em câmara asséptica, os recipientes foram selados com papel alumínio e, em seguida, transferi-

dos para sala de crescimento de culturas do CENA. Os frascos foram mantidos à luz (lâmpadas fluorescentes Silvânia, Gro-lux), com fotoperíodo de 12/12 horas e temperatura de  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

O acompanhamento do desenvolvimento dos explantes foi realizado semanalmente.

### 3.1.3. Terceiro Ensaio

Após três meses da inoculação do experimento 2, aqueles explantes testados nos seis ensaios que formaram *callus*, foram transferidos para dois tipos de meios, que receberam a denominação de meio 1 e meio 2, como segue:

Quadro II - Quantidade de fito-hormônio utilizada em dois meios de cultura.

| fito-hormônio          | mg/l  | mg/l            | mg/l |
|------------------------|-------|-----------------|------|
| meios                  | 6-BAP | GA <sub>3</sub> | IAA  |
| Meio 1 = NNB + Fito-h. | 2     | 0,1             | 0,05 |
| Meio 2 = NNB + fitoh.  | 0,8   | 0,5             | 0,02 |

NNB = meio básico contendo os sais orgânicos, inorgânicos, vitaminas e aminoácido, baseado no meio NITSCH & NITSCH (1969), como segue:

#### Meio Básico = NNB

| MACRONUTRIENTES                 |          |
|---------------------------------|----------|
| KNO <sub>3</sub>                | 950 mg/l |
| NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> | 720 mg/l |

|   |       |            |
|---|-------|------------|
| MgSO <sub>4</sub> . 7 H <sub>2</sub> O                | ----- | 185 mg/l   |
| CaCl <sub>2</sub>                                     | ----- | 166 mg/l   |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                       | ----- | 68 mg/l    |
| <hr/>   |       |            |
| MICRONUTRIENTES                                       |       |            |
| <hr/>   |       |            |
| MnSO <sub>4</sub> . 4 H <sub>2</sub> O                | ----- | 25 mg/l    |
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>                        | ----- | 10 mg/l    |
| ZnSO <sub>4</sub>                                     | ----- | 10 mg/l    |
| Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> . 2 H <sub>2</sub> O | ----- | 0,25 mg/l  |
| CuSO <sub>4</sub> . 5 H <sub>2</sub> O                | ----- | 0,025 mg/l |
| <hr/>   |       |            |
| VITAMINAS   |       |            |
| <hr/>   |       |            |
| Ácido Fólico  | ----- | 0,5 ml/l   |
| Piroadoxine . HCl                                     | ----- | 0,5 mg/l   |
| Inositol  | ----- | 100 mg/l   |
| Ácido Nicotínico                                      | ----- | 5 mg/l     |
| Tiamina . HCl   | ----- | 0,5 mg/l   |
| <hr/>   |       |            |
| AMINOÁCIDO  |       |            |
| <hr/>   |       |            |
| Glicina   | ----- | 2 mg/l     |
| <hr/>   |       |            |
| AGAR  | ----- | 8 g/l      |
| Sacarose  | ----- | 20 g/l     |
| <hr/>   |       |            |

O pH foi ajustado para 5,8.

Estes meios foram acrescidos de biotina a 0,5 mg/l.

Neste caso, foram preparados 30 frascos de cada meio, sendo que estes foram mantidos nas mesmas condições dos dois meios an-

teriores. Apenas os frascos que os continham eram maiores, levando 30 ml de meio cada um.

Foi feito acompanhamento do desenvolvimento dos inóculos semanalmente.

### **3.2. Propagação por sementes e enxertia**

#### **3.2.1. Local do ensaio**

O experimento foi instalado no ripado do Setor de Horticultura do Departamento de Agricultura e Horticultura da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

#### **3.2.2. Materiais**

Foram plantadas as espécies *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. (maracujá-amarelo), *Passiflora alata* Ait cv. "Jaboticabal" (maracujá guaçu) e *Passiflora giberti* N.E. Brown (maracujá-de-veado).

#### **3.2.3. Preparo e condução das mudas**

##### **A) Extração e preparo das sementes**

Foram utilizadas sementes dos diferentes maracujazeiros, obtidos de frutos maduros coletados no campo experimental da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - "Campus" de Jaboticabal.

Os frutos selecionados foram cortados ao meio, retirando-se as sementes com auxílio de uma colher. Em seguida, foram colocadas durante 6 dias em um recipiente de louça para fermentação da mucilagem aderente, de acordo com o método descrito por



CARVALHO (1974).

Após a fermentação, as sementes foram lavadas, sendo em seguida colocadas sobre papel para secarem à sombra.

### **B) Semeadura**

A semeadura foi realizada em início de abril, em terriço de mata, o qual foi colocado em recipientes plásticos de 32 x 18 cm, com capacidade de 7 litros. As sementes foram colocadas em número de 10 a 15 por recipiente, em pequenos sulcos de 1 cm de profundidade, recobrando-se com solo esterilizado. Após a semeadura foi feita uma boa irrigação.

### **C) Desbaste**

O desbaste foi feito a partir de 20 dias após a semeadura, quando as plântulas começaram a se desenvolver. Apenas a plântula mais vigorosa foi mantida em cada recipiente plástico, sendo as demais descartadas.

### **D) Enxertia**

O método de enxertia utilizado foi o denominado Inglês simples, ou garfagem de bisel simples. (SIMÃO, 1971).

Utilizou-se como copa, garfos dos maracujazeiros amarelo e maracujá doce, obtidos de plântulas cultivadas no ripado do Setor de Horticultura da ESALQ.

Ramos dos enxertos com aproximadamente 30 cm foram preparados e conservados em água até a operação de enxertia. Os garfos para enxertos foram preparados no momento da enxertia, deixando-se 2

gemas por garfo e em sua parte superior eliminou-se partes do entrenô a mais ou menos 0,8 cm acima da gema.

As plantas utilizadas como cavalo estavam com aproximadamente 6 meses de idade, pois a enxertia foi realizada em fins de setembro. Estes porta-enxertos apresentavam cerca de 50 a 70 cm de altura, na época de enxertia.

O porta-enxerto e o enxerto apresentavam diâmetro semelhante, sendo ambos cortados em bisel de mais ou menos 1,5 cm e a 20 - 30 cm da região do colo, havendo coincidência nas áreas preparadas.

Após a junção porta-enxerto X enxerto, a região foi rigorosamente envolvida com fita plástica, tomando-se o cuidado adicional de proteger o garfo e o local do enxerto a fim de evitar ressecamento dos tecidos expostos.

Em seguida, colocou-se recipientes plásticos transparentes (5 X 15 cm) sobre o conjunto porta-enxerto e enxerto, visando com isto, obter-se efeito de câmara úmida, prolongando a vida útil do garfo e reduzindo o ressecamento e atividade metabólica do mesmo. Decorridos dez dias, estes recipientes foram retirados.

Três semanas (20 dias) após a enxertia, a fita plástica foi retirada pois já se observara bom pegamento dos enxertos.

### **E) Tutoramento**

O maracujazeiro, por ser planta trepadeira necessita ser tutorada mesmo em viveiro. No presente estudo, este foi feito com bambus colocados ao lado de cada planta e os ramos foram presos com fita plástica.

### 3.2.4. Tratos Culturais

Foi feito o controle de lagartas *Dione juno juno* (Cr., 1779) da família Donaidae no ripado, com pulverização de Thiodan EC a 75 ml/100 l, devido a alta incidência destas naquele local. Semanalmente efetuou-se eliminação das brotações dos porta-enxertos.

As plantas enxertadas foram mantidas no ripado da ESALQ (Setor de Horticultura) para melhor desenvolvimento dos enxertos e aguardando a época do início das chuvas (setembro-outubro) para serem levadas para o campo. Estas plantas foram, portanto, levadas para o campo 12 meses após a enxertia.

### 3.2.5. Delineamento Estatístico

O delineamento estatístico utilizado foi o Inteiramente Casualizado, com 6 tratamentos e 4 repetições. Cada repetição foi constituída de 5 plantas.

| <u>Tratamentos</u> | <u>Enxerto</u>               | <u>Porta-enxerto</u> |
|--------------------|------------------------------|----------------------|
| T <sub>1</sub>     | Mar. amarelo                 | Mar. de veado        |
| T <sub>2</sub>     | Mar. amarelo                 | Mar. alata           |
| T <sub>3</sub>     | Mar. alata                   | Mar. amarelo         |
| T <sub>4</sub>     | Mar. alata                   | Mar. de veado        |
| <hr/>              |                              |                      |
| <u>Testemunhas</u> |                              |                      |
| T <sub>5</sub>     | Maracujá amarelo (pê franco) |                      |
| T <sub>6</sub>     | Maracujá alata (pê franco)   |                      |

Avaliou-se taxa de pegamento da enxertia, após 30 dias,

Considerou-se como pegamento aquelas combinações em que o enxerto apresentou boa soldadura ao porta-enxerto, coloração típica de tecido vivo e aspecto túrgido.

### **3.2.6. Plantio em Local Definitivo**

Em condições climáticas ótimas para a instalação da cultura, as mudas foram plantadas em local com histórico de morte prematura de plantas (agente desconhecido). Neste local, o Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus de Jaboticabal, mantinha populações de maracujazeiros amarelo e outras espécies para o estudo de morte prematura e/ou repentina, pois a ocorrência de morte de plantas de maracujá amarelo e outros era frequente e estava devidamente constatada e bem distribuída no local.

Após o plantio as plantas foram marcadas com etiquetas de alumínio, para que não houvesse problemas em uma futura identificação. Fez-se também, para orientação no reconhecimento dos materiais, marcação numérica dos moirões de sustentação e um croquis. No apêndice, às páginas 97 a 102 encontram-se o croquis das instalações dos maracujazeiros no campo e o Quadro VI, os quais relacionam o número da cova, tratamentos e nota de vigor efetuada oito meses após a instalação no campo.

#### **A) Preparo de covas e sistema de sustentação**

O ensaio foi instalado no campo nos moldes da exploração comercial desta fruta (CARVALHO, 1974). O sistema de sustentação era composto de moirões de Eucalíptus previamente tratados, com dimensões de 2,40 m de altura e diâmetro de 12 a 20 cm; estes foram finca-

dos 60 cm no solo, ficando livre 1,80 m. No topo dos moirões fixou-se um único fio de arame de aço nº 16. Os moirões foram fixados a cada 6 m na rua, sendo que o espaçamento entre ruas foi de 3 m, a fim de permitir o trânsito de máquinas agrícolas de médio porte.

As covas foram espaçadas a cada dois metros dos moirões, portanto entre um moirão e outro colocou-se duas covas, separadas entre si de 2 metros. As dimensões das covas foram de 0,3 X 0,3 X 0,3 m, feitas manualmente. No preparo das covas colocou-se 150 g de adubo mineral, na fórmula 0-32-16.

Durante a operação de plantio retirou-se o recipiente plástico, evitando danificar o bloco de terra e eliminando-se as raízes expostas. Observou-se que o colo da planta ficasse no nível do solo. Após o plantio colocou-se estaca de bambu em cada planta, a fim de conduzir as plantas até o arame de sustentação. Quando as mesmas ultrapassaram o arame, o broto terminal foi podado. Posteriormente conduziu-se dois brotos laterais, um para cada lado do bambu, sendo que daí para frente as plantas tiveram livre crescimento.

## **B) Tratos Culturais**

Após o plantio foram feitas três aplicações de 50 g de sulfato de amônio, em cobertura e em intervalos de 30 dias. No ano agrícola seguinte, adubou-se com 200 g de adubo composto (18 - 9 - 28). Nas linhas efetuou-se o controle de ervas daninhas através de capina manual, alternando-se com herbicida Glifosate (200 ml/20 l de água). Nas entrelinhas efetuou-se controle do mato com roçadeira mecânica.

O controle de doenças foi efetuado a partir de outubro, aproximadamente a cada 20 dias, pulverizando-se suspensão de oxiclorto de cobre a 0,25% e Triona a 1%. O controle de pragas no campo não foi necessário.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Ensaio com cultura de tecidos

#### 4.1.1. Primeiro Ensaio

Após 15-20 dias de cultivo, quando se utilizou material proveniente de plantas adultas de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. (maracujá amarelo) e plântulas da mesma espécie, mas cultivadas em casa de vegetação, foi observado que, embora os tecidos mais velhos possuam capacidade de originar *callus*, a contaminação por microrganismos, como bactérias e fungos endógenos, impediu o desenvolvimento dos mesmos.

Situação idêntica a esta foi relatada por NAKAYAMA (1966).

Ainda coincidindo com os resultados observados pelo autor acima citado, observou-se no presente trabalho que os explantes provenientes de plântulas, por serem vigorosos e sem lesões, não apresentaram problemas de contaminação interna, demonstrando capacidade regenerativa, com desenvolvimento de parte aérea, embora não se tenha observado nesta fase do trabalho, desenvolvimento de sistema radicular, como pode ser observado nas Figuras 1 e 2,



Figura 1 - Explantes de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg., desenvolvendo em meio de NITSCH & NITSCH (1969), acrescido por 2 mg/l de cinetina,



Figura 2 - Desenvolvimento de explantes de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. em meio NITSCH & NITSCH (1969), acrescido por 2 mg/l de cinetina.



No presente trabalho, observou-se que os explantes retirados da porção superior das plântulas e que continham células meristemáticas desenvolveram-se bem melhor do que aqueles provenientes do restante do hipocótilo das plântulas.

De acordo com os resultados obtidos nos cultivos iniciais verificou-se que o meio básico de Nitsch & Nitsch (1969) acrescido de 2 mg/l de cinetina, conforme também utilizou ROBLES (1979) em seu experimento, permitiu o crescimento e desenvolvimento dos explantes utilizados, coincidindo com os resultados do autor acima citado.

No presente trabalho o procedimento na esterilização dos explantes foi semelhante ao utilizado por ROBLES (1978, 1979) e SCORZA (1980) e, assim como ocorreu nestes; observou-se que os mesmos desenvolveram-se sem problemas de contaminação, quando se procedeu a desinfecção com hipoclorito de sódio, seguido de lavagem em água esterilizada.

#### 4.1.2. Segundo Ensaio

Com o objetivo de se desenvolver uma técnica que possibilitasse a regeneração direta ou indireta (através de *callus*) *in vitro* de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. foram testadas variações do meio de cultivo Nitsch & Nitsch com diferentes fito-hormônios.

As plantas doadoras no segundo ensaio tinham um ano de idade, estavam sadias e foram cultivadas em casa de vegetação, o que possibilitou a obtenção de explantes sem problemas de contaminação, já que estes desenvolveram-se bem quando cultivados *in vitro*.

O material utilizado neste experimento possuía idade próxima e procedência semelhante ao utilizado por ROBLES (1978, 1979) e apresentou resultados igualmente satisfatórios conforme já havia observado o referido autor.

Quando foram testadas seis modificações do meio NITSCH & NITSCH (1969), verificou-se que o meio básico (contendo somente os sais orgânicos, inorgânicos, algumas vitaminas e um aminoácido) permitiu um pequeno crescimento dos explantes que cessou pronunciadamente ao final do primeiro mês de cultivo.

NAKAYAMA (1966) já observara que o meio básico de FOX & MILLER e o meio de HELLER, quando utilizados sem substâncias de crescimento, haviam permitido um pequeno crescimento de explantes de *Passiflora caerulea* que cessara rapidamente. Segundo o autor, este comportamento se explica pelo esgotamento de alguns "fatores" presentes nos tecidos originais.

O crescimento observado foi o desenvolvimento de uma gema vegetativa junto a axila foliar existente no entrenó utilizado como explante.

Ao se utilizar o meio básico acrescido de 6-benzilaminopurina (6 BA, na dose de 2 mg/l) verificou-se desenvolvimento apenas de parte aérea, vindo a comprovar o que foi relatado anteriormente, na revisão de literatura deste trabalho, por NAKAYAMA (1966), ROBLES (1978, 1979), SCORZA & JANICK (1980) e KLIMASZEWSKA (1981), que as citocininas têm, no geral, a função de promover o desenvolvimento de parte aérea. (Figuras 3 e 4).

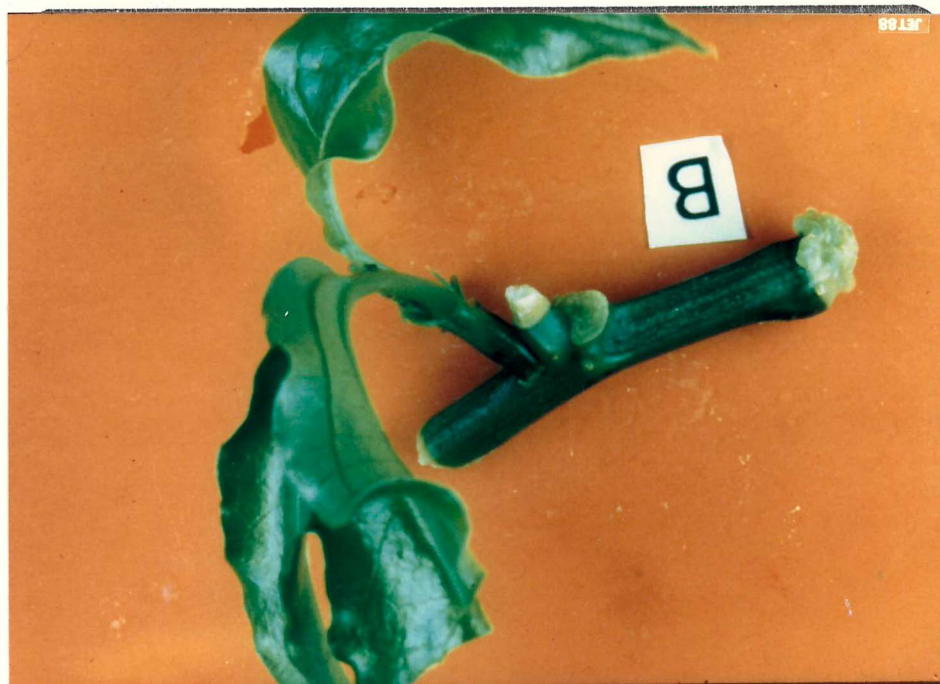


Figura 3 - Desenvolvimento da gema vegetativa junto a axila foliar, de explantes de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg., em meio de NITSCH & NITSCH (1969), acrescido por 2 mg/l de 6 BAP.

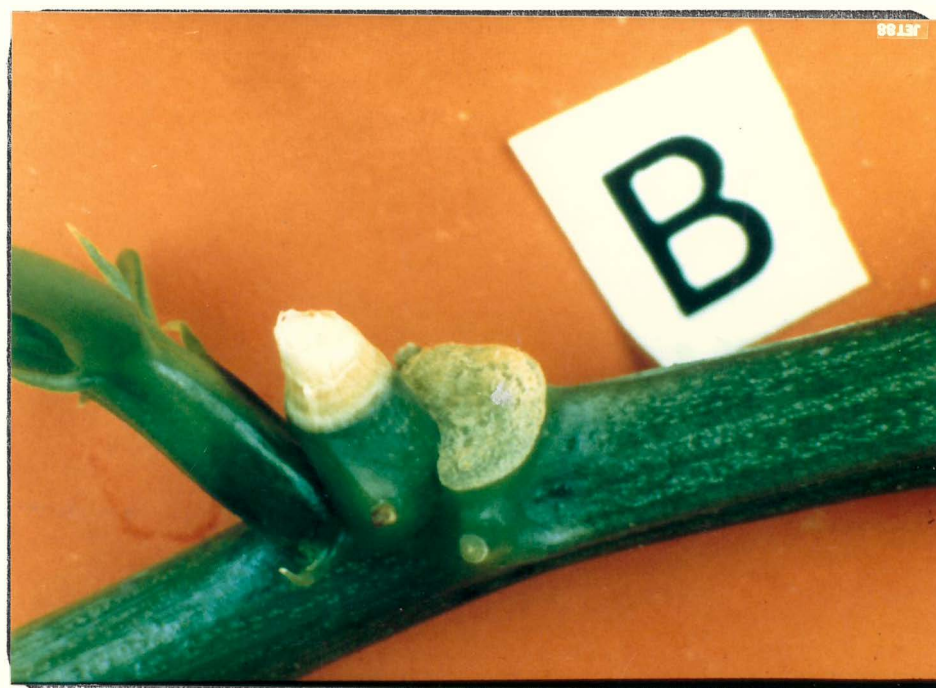


Figura 4 - Detalhe do desenvolvimento da gema vegetativa mostrada na Figura 3.

Com relação ao uso de 6 BA em cultura de tecidos de *P. suberosa*, SCORZA & JANICK (1980) relatam que esta citocinina constitui um requerimento indispensável para que ocorra o florescimento *in vitro* da citada passifloraceae, embora ressaltem os autores que explantes basais ou provenientes de tecidos jovens não floresceram na presença de 6 BA.

Os autores observaram ainda que altas concentrações de 6 BA (2 mg/l) e de auxinas inibiram florescimento *in vitro* de *P. suberosa*. A produção de flores aumentou quando utilizaram pequenas concentrações de 6 BA (0,01; 0,1 mg/l) ou quando fizeram pequenas exposições a altas concentrações de 6 BA.

Por outro lado para que ocorresse produção de brotos, os autores verificaram que houve necessidade de altas concentrações de 6 BA (2 mg/l) ou então baixas concentrações de 6 BA mas somente após um longo período de exposição (50 dias) dos explantes no meio de cultivo.

KLIMASZEWSKA (1981) observou que altas concentrações de citocininas (cinetina-4 mg/l e 6 BA-4 e 8 mg/l) inibiram a organogênese, quando cultivou fragmentos de pecíolos de *Passiflora caerulea* em meio de MURASHIGE & SKOOG modificado. Início de germinação ocorreu quando utilizou 1 e 2 mg/l de cinetina e 6 BA, sendo que esta situação foi idêntica a ocorrida no presente trabalho.

Conforme pode ser observado na revisão de literatura, segundo ZEMIGRANI (1987), o 6 BAP parece ter sido essencial na propagação *in vitro* de maracujazeiros, pois este fito-hormônio esteve presente nos dois meios que apresentaram melhores resultados (nas propor-

ções de 2,5 mg/l quando sozinho e 0,2 mg/l quando acompanhado por uma auxina (NAA) e pela tiamina).

Por outro lado, quando se utilizou, no presente trabalho, o meio básico acrescido de 6 BA (0,5 mg/l), mais o ácido indolacético (IAA - 1,0 mg/l), observou-se formação de *callus* e desenvolvimento da gema vegetativa junto a axila foliar, com consequente formação de parte aérea. Não foi observada formação de raízes. (Figuras 5 e 6).

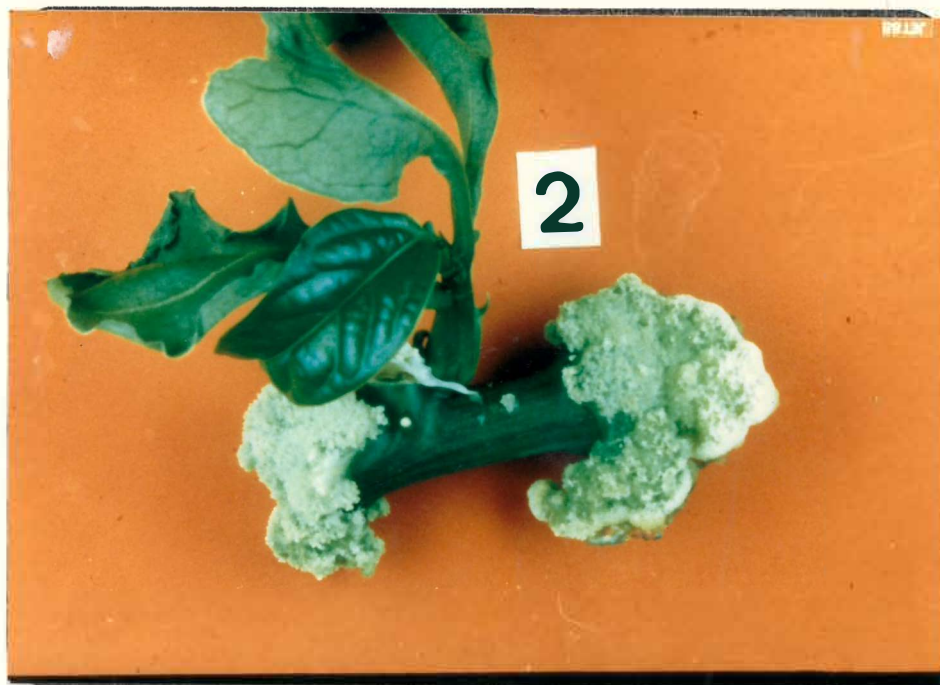


Figura 5 - Formação de *callus* e desenvolvimento da gema axilar de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. em meio de NITSCH & NITSCH (1969) contendo 6 BA e IAA.



Figura 6 - Detalhe da Figura 5.

Skoog, citado por NAKAYAMA (1966), observou que a regulação do crescimento e morfogênese dependem das relações quantitativas dos fatores de crescimento. Assim, observou-se no presente trabalho que ao incrementar-se o meio de cultivo, ou seja, quando se utilizou além de uma citocinina, uma auxina, houve modificação no resultado observado. No geral sabe-se que quando se coloca uma auxina em um meio de cultura, há tendência de formação de raízes e que a relação quantitativa entre citocininas e auxinas é de extrema importância, pois determinará ou não a diferenciação dos tecidos (SALA & CELLA, 1983).

Utilizando-se as combinações acima citadas observou-se que não houve desenvolvimento de raízes e atribuí-se isto a vários fatores, sendo que um deles seria o balanço de citocinina e auxina utilizado, onde a quantidade de IAA (1,0 mg/l) não foi capaz de inibir

diferenciação de brotos de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg, e favorecer a formação de raízes como haviam relatado em trabalhos anteriores NAKAYAMA (1966) e ROBLES (1978). Nestes, a presença de uma auxina sozinha ou combinada favoreceu enraizamento, chegando até mesmo a inibir a diferenciação de brotos.

No entanto, com relação à formação de *callus* KLIMASZEWSKA (1981) relata que a combinação auxina mais citocinina, favoreceu crescimento de *callus* e não houve formação de raízes, sendo que com relação ao uso de uma auxina mais 6 BA, a autora utilizara 2 mg/l de NAA + 1,0 mg/l de 6 BA na primavera e, 2 mg/l de NAA + 2 ou 4 mg/l de 6 BA no verão. O resultado do presente trabalho coincide, em parte, com o da autora, pois foi observada organogênese e formação de *callus*, com ausência de formação de raízes. Observa-se que a proporção entre auxina e citocinina utilizada pela autora no experimento da primavera é semelhante à utilizada no presente estudo e isto leva a sugerir que novas modificações no balanço entre auxina e citocinina devam ser testadas para avaliações de resultados, possivelmente diferentes dos observados no presente.

Outra modificação utilizada, no presente estudo, consistiu de meio básico acrescido de cinetina (2 mg/l) mais IAA (0,1 mg/l). Apesar de ser esta uma combinação semelhante a anterior, ou seja, combinou-se uma citocinina com uma auxina, verificou-se formação de *callus* mais volumosos e desenvolvimento de parte aérea, mas com menor vigor do que anteriormente se observara. Também nesta combinação, não se notou formação de raízes. (Figuras 7 e 8).



Figura 7 - Formação de *callus* de explantes de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. em meio NITSCH & NITSCH (1969) acrescido de 2 mg/l de cinetina e 0,1 mg/l de IAA.



Figura 8 - Formação de *callus* de explantes de *P. edulis* F. *flavicarpa* Deg. em meio NITSCH & NITSCH (1969) acrescido de 2 mg/l de cinetina e 0,1 mg/l de IAA.



Sabe-se que, em várias espécies vegetais, a formação de *callus* ocorre quando se associa cinetina e IAA, não sendo isto uma regra geral (MILLER, 1961). Portanto, os resultados acima observados, comprovam o que foi relatado por MILLER (1961) e sugerem que o menor desenvolvimento vegetativo observado tenha aí a sua explicação.

Cinetina parece ser um requerimento indispensável para o cultivo *in vitro* de passifloráceas, conforme também observaram NAKAYAMA (1966), ROBLES (1978, 1979), sendo que o último autor citado, inclusive, afirma que somente a adição de cinetina (2 mg/l), assegurou a diferenciação de plântulas de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. e *Passiflora mollissima*.

Da mesma forma, KLIMASZEWSKA (1981) relata em seu trabalho que citocininas (cinetina e 6 BA) na presença de NAA favoreceram formação de *callus*, mas concluiu que esta combinação auxina + cinetina foi desfavorável ao desenvolvimento dos explantes.

NAKAYAMA (1966) relata que *P. caerulea*, quando cultivada *in vitro* na presença de 1 mg/l de cinetina, apresentou boa formação de brotos e na presença de IAA foi favorecida a formação de raízes, sendo que este efeito do IAA não foi observado no presente trabalho.

Por outro lado ZEMIGRANI (1987), em trabalho posterior, não utilizou com melhores resultados a citada citocinina e sim o 6 BA. Isto leva a sugerir que, talvez a cinetina não seja indispensável para o cultivo *in vitro* de maracujazeiros, podendo ser substituída pelo 6 BA.

A não formação de raízes pode ter sido a razão pela

qual KLIMASZEWSKA (1981) tenha considerado desfavorável a combinação auxina + citocinina. Acredita-se que a razão exposta acima e também observada por MILLER (1961) seja válida para o ocorrido no presente trabalho, onde não foi observada rizogênese. Sugere-se, ainda, que o balanço utilizado no presente estudo, entre cinetina e IAA não foi o adequado para promover formação de raízes ou ainda que, talvez sejam necessárias duas fases de cultivo para obtenção de desenvolvimento de parte aérea e raízes, onde na primeira fase, se utilize somente a cinetina seguindo-se uma passagem para meio contendo AIA, conforme já observou ROBLES (1978) em cultivo de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg.

Com relação ao balanço a ser utilizado entre uma auxina e citocinina FLICK *et alii* (1983) relatam que, em geral, uma auxina sozinha ou combinada com uma concentração bastante baixa de uma citocinina é importante na indução de primórdios radiculares. No presente estudo não foi observado o efeito de uma auxina sozinha, sugerindo-se que esta possa ser uma alternativa em estudos posteriores e, as combinações utilizadas: (0,1 mg/l de IAA) + (2,0 mg/l de cinetina) e (0,5 mg/l de 6 BA) + (1,0 mg/l de IAA), não tiveram uma concentração bastante baixa das citocininas em relação à das auxinas.

ROBLES (1978) relatou que houve melhor formação de raízes quando realizou cultivo de explantes de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg em meio NITSCH & NITSCH na obscuridade. O meio de MURASHIGE & SKOOG se mostrou falho no cultivo desta passiflorácea. Fica aí mais uma hipótese que pode ser testada para observação de resultados, possivelmente satisfatórios, já que no presente trabalho todos os ensaios foram realizados em condições de luminosidade.

ZEMIGRANI (1987), no entanto, obteve sucesso no cultivo de clones de maracujá *in vitro*, quando utilizou o meio de Murashige & Skoog. Observe-se, entretanto, que este autor não especifica qual a variedade de maracujazeiro utilizada ou de que variedade provêm os clones utilizados, levando a sugerir que, provavelmente, para *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. o meio mais eficaz para cultivo *in vitro* do maracujá amarelo seja o de Nitsch & Nitsch, conforme já observara ROBLES (1978, 1979).

Formação intensa de *callus*, com tamanho volumoso e cor verde-clara, foi observado quando se utilizou meio básico acrescido de 2,4 - D e Água de côco (Figura 9).



Figura 9 - Formação de *callus* em meio NITSCH & NITSCH (1969), acrescido de 3 mg/l de 2,4-D e 100 mg/l de água de côco.

Esta formação intensa de *callus* já era esperada, pois sabe-se que o 2,4-D, principalmente se associado a água de côco, no geral, produz intensa proliferação celular. Observações de formações de *callus* devido à presença de 2,4-D foi relatada por KLIMASZEWSKA (1981).

ROBLES (1978) relatou que a presença do 2,4-D não foi desejável na multiplicação *in vitro* de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg, e de *P. mollissima* porque, segundo o autor, na presença desta auxina, os *calli* formados na base das gemas não diferenciaram nenhum órgão,

Com relação à coloração verde-claro observada nos *callus* obtidos, esta se deve à presença de luz, conforme relatado por SALA & CELLA (1983),

Quando se utilizou no presente estudo a combinação meio básico + 2-isopenteniladenina (2 i-P) houve desenvolvimento apenas de parte aérea, da mesma forma que havia sido observado anteriormente quando se utilizara meio básico + 6 BA. Não foi observado nesta combinação (meio básico + 2 i-P), formação de *callus* e desenvolvimento de raízes. (Figura 10).

O 2 i-P é uma citocinina e como tal, no geral, promove desenvolvimento de parte aérea, sendo que o resultado acima observado era de se esperar que ocorresse. Na literatura consultada não foram encontrados trabalhos realizados com esta citocinina,

Observa-se que o efeito produzido pelo 2 i-P foi bastante semelhante ao do 6 BA, pois ambos são citocininas, valendo então as mesmas considerações feitas anteriormente sobre os efeitos do 6 BA,



Figura 10 - Desenvolvimento de parte aérea de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. em meio de NITSCH & NITSCH (1969) acrescido de 2 mg/l de 2 i-P.

#### 4.1.3. Terceiro Ensaio

Três meses após a montagem do segundo ensaio, os explantes (pequenas porções de *callus* dos experimentos que, na etapa anterior, originaram *callus*) foram transferidos para duas variações do meio de NITSCH & NITSCH (1969), acrescido de 6 BA, GA<sub>3</sub>, IAA e biotina.

Nesta fase do trabalho observou-se que aqueles tratamentos que anteriormente haviam regenerado *callus*, quando transferidos para os meios testados no terceiro estágio, converteram-se em estruturas clorofiladas que começaram a diferenciar-se, emitindo porções de mudas. No entanto, estas pequenas mudas apresentaram um leve desenvolvimento de primórdios radiculares, que cessaram rapidamente,

havendo desenvolvimento praticamente só de parte aérea,

Nos dois tipos de meios testados os resultados observados foram muito semelhantes, não havendo diferenças entre as quantidades dos fitohormônios utilizadas e o efeito da biotina,

GAMBORG & SHYLUK (1981) observaram que, com relação às vitaminas necessárias a determinado meio de cultura, parece haver absoluta necessidade de tiamina, sendo que alguns meios podem conter outra vitamina, como por exemplo a biotina. No entanto, esta última parece não ser considerada como fator limitante ao crescimento,

No presente trabalho, a presença da biotina não apresentou efeito diferente do da tiamina (já utilizada nos dois ensaios anteriores), ou seja, não impediu o desenvolvimento dos *callus*, mas também, na concentração utilizada e na presença de IAA, 6 BA e  $GA_3$ , não foi capaz de promover desenvolvimento de plantas completas, ou seja, de parte aérea e raiz,

Vários trabalhos de pesquisa mostraram que o ácido giberélico ( $GA_3$ ) tem demonstrado não ser essencial ao crescimento de plantas *in vitro*. No entanto, outros relataram que o  $GA_3$  parece ser essencial para a cultura de meristemas de algumas espécies, embora nem todos sejam unânimes nesta afirmativa,

Já foi relatado que normalmente o  $GA_3$  inibe a formação de raízes, principalmente na presença de auxinas. Existem, no entanto, trabalhos conflitando tais resultados, o que leva a concluir que o efeito do  $GA_3$  nas plantas varia de uma espécie para outra, necessitando ser testado em determinada espécie em estudo, para se ter certeza se o seu efeito será benéfico ou não para esta espécie.

No presente estudo observou-se que, embora a presença do GA<sub>3</sub> em combinação com 6 BA e IAA tenha inicialmente induzido o crescimento de células indiferenciadas de *callus*, não foi suficiente, nas combinações e concentrações utilizadas, para promover desenvolvimento de planta completa, com parte aérea e raiz.

Em vista do exposto e com base nos trabalhos já realizados com maracujazeiros o ácido giberélico não deverá ser recomendado para regeneração de *callus* de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. (maracujá amarelo).

#### 4.2. Propagação por Enxertia

Das três espécies de maracujazeiros, semeadas no rípio do Setor de Horticultura da ESALQ observou-se que o maracujá guaçu apresentou germinação bastante irregular, conforme já haviam relatado YAMASHIRO & LANDGRAFF (1979) e BACCARIN *et alii* (1981). Sabendo-se de antemão que este problema provavelmente ocorreria, foram plantadas o dobro de sementes desta espécie, para evitar-se novas semeaduras.

As sementes de *P. giberti* (maracujá-de-veado) apresentaram germinação mais rápida do que *P. alata* e *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. (maracujá amarelo), embora o desenvolvimento desta espécie fosse mais lento. A mesma situação já fora observada por OLIVEIRA *et alii* (1984).

Após 6 meses de semeadura, com as mudas já desenvolvidas, efetuou-se a enxertia. No Quadro III são encontradas as porcentagens de pegamento dos enxertos, após 30 dias de enxertia. Na Figura II, o diagrama elucidativo, mostrando em proporções a taxa de pegamento dos enxertos.

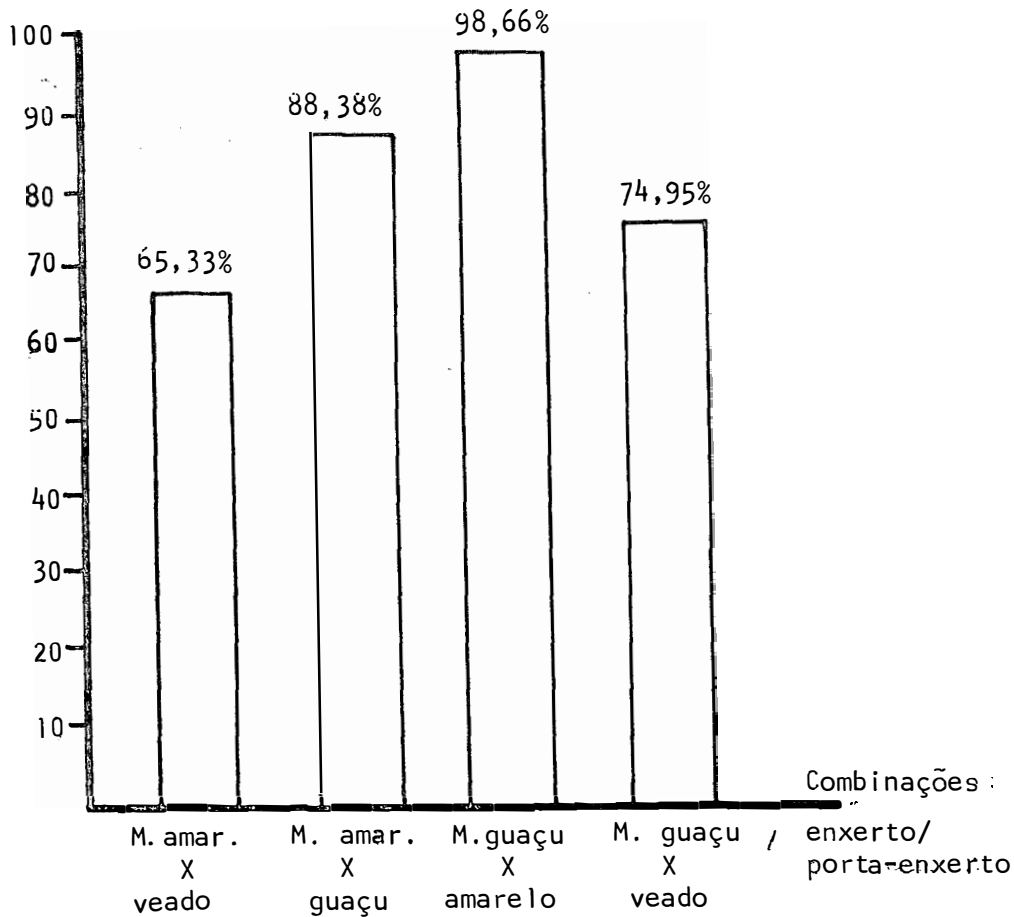


Figura 11 - Percentagem de pegamento dos enxertos, 30 dias após a enxertia.

Observou-se a média geral de 84% de pegamento dos enxertos após 30 dias. O tratamento amarelo/veado apresentou o menor pegamento, 65,33%, enquanto o tratamento guaçu/amarelo apresentou taxa de pegamento de 98,66%. Esses resultados foram superiores aos obtidos por PALAMIN JR. (1975), D'AVILA (1975), CORRÊA (1977) e, semelhante ao obtido por CORRÊA (1978).



Quadro III - Taxa de pegamento de enxertia de maracujá amarelo, maracujá guaçu sobre maracujá-de-veado, maracujá guaçu, maracujá amarelo e as testemunhas de pé-franco. Valores em porcentagem; avaliação após 30 dias de enxertia.

| TRATAMENTOS                          | REPETIÇÕES  |             |             |             |             |           | MÉDIA | MÉDIA % |
|--------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-----------|-------|---------|
| T <sub>1</sub> - Amarelo X<br>Veados | 60 (50,77)  | 60 (50,77)  | 60 (50,77)  | 80 (63,43)  | 80 (63,43)  | (53,93) a | 65,33 |         |
| T <sub>2</sub> - Amarelo X<br>Guaçu  | 80 (63,43)  | 100 (90,00) | 80 (63,43)  | 80 (63,43)  | 80 (63,43)  | (70,07) a | 88,38 |         |
| T <sub>3</sub> - Guaçu X<br>Amarelo  | 100 (90,00) | 100 (90,00) | 80 (63,43)  | 100 (90,00) | 100 (90,00) | (83,36) a | 98,66 |         |
| T <sub>4</sub> - Guaçu X<br>Veados   | 40 (39,23)  | 100 (90,00) | 80 (63,43)  | 40 (39,23)  | 40 (39,23)  | (59,97) a | 74,95 |         |
| T <sub>5</sub> - Amarelo             | 100 (90,00) | 100 (90,00) | 100 (90,00) | 100 (90,00) | 100 (90,00) | -         | -     |         |
| T <sub>6</sub> - Guaçu               | 100 (90,00) | 100 (90,00) | 100 (90,00) | 100 (90,00) | 100 (90,00) | -         | -     |         |
| Média Geral                          |             |             |             |             |             |           |       | 84%     |

Os valores entre parênteses referem-se ao arco seno  $\sqrt{\text{da porcentagem}}$ .

Dos enxertos efetuados, pode-se observar que maracujá-de-veado, quando utilizado como cavalo, apresentou menor percentagem de pegamento (65,33% para garfos de maracujá amarelo e 74,95% para garfos de maracujá-guaçu), quando comparado com porta-enxertos de maracujá guaçu (88,38%) e maracujá amarelo (98,66%).

Atribui-se esta menor percentagem ao fato de que, conforme OLIVEIRA *et alii* (1984) já haviam observado, *P. giberti* apresenta, na fase inicial de crescimento, desenvolvimento mais lento do que as outras espécies de passifloráceas, sendo ainda, nesta fase inicial, pouco rústica e com caule delicado e um pouco mais fino do que maracujá guaçu e amarelo. No entanto, os autores relatam que a espécie maracujá-de-veado, quando estabelecido no campo é rústica e vigorosa, sendo recomendada pelos autores como porta-enxerto em locais contaminados com possíveis agentes patogênicos.

Vale ressaltar que, no presente estudo, a espécie *P. giberti* N.E.Brown não foi utilizada como copa, devido ao fato de não apresentar interesse econômico, pois possui frutos pequenos e pobres em suco, sendo a sua utilização bastante restrita.

Com base nesses dados, foi feita análise de variância, procurando-se verificar se as diferenças nas percentagens de pegamento entre os diversos tratamentos eram estatisticamente significativas. O Quadro IV, a seguir, apresenta os resultados os resultados desta análise.

Quadro IV - Análise de variância de pegamento dos enxertos, 30 dias após a operação de enxertia. Dados de percentagem foram transformados em arco seno da  $\sqrt{\text{percentagem}}$ .

| CAUSAS DE VARIAÇÃO             | G.L. | SQ        | QM       | F         |
|--------------------------------|------|-----------|----------|-----------|
| $(T_1 + T_4)$ vs $(T_2 + T_3)$ | 1    | 1724,12   | 1724,12  | 7,04 *    |
| $T_1$ vs $T_4$                 | 1    | 32,60     | 32,60    | 0,13 n.s. |
| $T_2$ vs $T_3$                 | 1    | 352,98    | 352,98   | 1,44 n.s. |
| Tratamentos                    | 3    | 2109,7032 | 703,2344 | 2,87 n.s. |
| Resíduo                        | 12   | 2937,2617 | 244,7718 | -         |
| Total                          | 15   | 5046,9650 |          |           |

C.V. = 23,59%  $\hat{s}(m) = 7,82$  DMS = 32,84

N.S. = não significativo

\* significativo ao nível de 5%.

Os resultados apresentados no Quadro IV, mostram que não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos. O coeficiente de variação encontrado foi de 23,59%, sendo relativamente alto, o que provavelmente mascara o efeito do tratamento.

Em vista disto, resolveu-se desdobrar a análise de variância, testando-se as combinações apresentadas acima no Quadro IV.

Quando se comparou as combinações maracujã amarelo X maracujã guaçu e maracujã guaçu X maracujã amarelo contra as combinações em que maracujã-de-veado foi usado como porta-enxerto, observou-se diferença estatística entre os tratamentos, mostrando que o maracujã-de-veado, quanto ao pegamento de enxertia, apresentou menor compã-

tibilidade. A incompatibilidade (ou rejeição) parcial na combinação maracujã guaçu X maracujã-de-veado acentuou-se posteriormente, ocorrendo "quebramento" da muda na região de enxertia, resultando na perda de quase todas as plantas.

Possivelmente este fato ocorreu devido às diferenças fisiológicas das duas espécies. Enquanto *P. giberti* apresenta plantas menores, com caule e ramos mais finos e delicados, com folhas lobadas e pequenas, a espécie *P. alata* Ait apresenta plantas muito vigorosas, com folhas grandes e inteiras, com caule mais grosso, o que, provavelmente, causou a quebra na região de enxertia, devido a incompatibilidade apresentada entre estas duas espécies,

Quanto às enxertias de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg, sobre *P. alata* e de *P. alata* sobre *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg., houve bom pegamento inicial e não se observou grandes perdas por morte dos enxertos até a época de plantio no campo.

No presente estudo, as enxertias foram efetuadas em fins de setembro, sendo que esta parece ser a época mais adequada, conforme já relataram vários autores (CARVALHO, 1965; CORRÊA, 1977 e RUGGIERO & CORRÊA, 1978).

Com relação ao método de enxertia utilizado, a maioria dos autores consideram o tipo inglês simples como mais eficiente (PALAMIN JR., 1975; D'AVILA, 1975 e PACE, 1984). Por outro lado CORRÊA (1978), recomenda a enxertia tipo fenda cheia, pois obteve melhores resultados de pegamento quando utilizou este método.

No presente estudo, observa-se que a percentagem de pegamento dos enxertos, quando se utilizou o método inglês simples, foi

satisfatório com bom índice de pegamento.

Com 12 meses, as plantas enxertadas e as não enxertadas foram plantadas em local definitivo, onde já se constatara histórico de morte prematura em plantas de maracujazeiro amarelo, cujo agente causal é ainda desconhecido.

No Quadro V, são encontrados o total de plantas de cada tratamento que foram levadas ao campo, a quantidade das mesmas que sobreviveram após 8 e 20 meses, e o valor médio da avaliação visual de vigor vegetativo aos 8 meses após plantio em local definitivo. No apêndice, encontram-se as avaliações individuais do vigor das plantas.

Quadro V - Quantidade de plantas que sobreviveram no campo, decorridos 8 e 20 meses. Nota de vigor vegetativo, 8 meses após plantio em local definitivo.

| TRATAMENTOS                     | Nº plantas no plantio (set.) | Nº de plantas no campo após 8 meses | Nº de plantas no campo após 20 meses | Nota de vigor, Valor Médio |
|---------------------------------|------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------|
| T <sub>1</sub> Amarelo X Veado  | 13                           | 13                                  | 9 <sup>63/100</sup>                  | 2,46                       |
| T <sub>2</sub> Amarelo X Guaçu  | 17                           | 15                                  | 9 <sup>53/100</sup>                  | 2,86                       |
| T <sub>3</sub> Guaçu X Amarelo  | 19                           | 10                                  | 3 <sup>16/100</sup>                  | 2,70                       |
| T <sub>4</sub> Guaçu X Veado    | 13                           | 4                                   | 1 <sup>8/100</sup>                   | 1,75                       |
| T <sub>5</sub> Amarelo (pê fr.) | 20                           | 15                                  | 5 <sup>25/100</sup>                  | 3,87                       |
| T <sub>6</sub> Guaçu (pê fr.)   | 20                           | 20                                  | 15 <sup>75/100</sup>                 | 4,10                       |

Obs.: No cálculo de valor médio de vigor vegetativo, considerou-se apenas as plantas vivas após 8 meses de plantio em local definitivo.

Inicialmente, observou-se que as plantas desenvolveram-se relativamente bem. De um modo geral, aquelas que foram enxertadas apresentaram desenvolvimento vegetativo menos vigoroso do que as provenientes de sementes, situação esta, também relatada por CORRÊA (1978), RUGGIERO & COBRÊA (1978) e OLIVEIRA *et alii* (1984).

Observou-se também que, das espécies utilizadas, as plantas pé-franco de maracujá guaçu, foram as que melhor se desenvolveram, apresentando-se muito vigorosas, sobressaindo-se sobre as demais.

Conforme pode ser visualizado no Quadro V, observou-se que, decorridos aproximadamente 7 a 8 meses do plantio definitivo no campo, plantas de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. (maracujá amarelo), tanto aquelas provenientes de sementes, quanto as utilizadas como porta-enxerto, tiveram maior número de parcelas perdidas do que as demais espécies utilizadas, com exceção de *P. alata* enxertado sobre *P. gibertii* N.E. Brown.

Observou-se ainda que, posteriormente, aos 20 meses, a morte de plantas desta espécie foi quase total, mostrando que maracujá amarelo é susceptível ao(s) agente(s) patogênico(s) desconhecido(s), responsável por morte prematura de plantas.

Os resultados do presente trabalho mostraram-se concordes com os de OLIVEIRA *et alii* (1986) no Brasil, TERBLANCHE *et alii* (1987) na África, onde estes autores relataram que vários agentes patogênicos haviam causado morte de muitas culturas de maracujazeiro amarelo.

Por outro lado, em trabalhos mais antigos GIACOMETTI

(1954), PURSS (1958), BLACKE (1960), COX & KIELY (1961) e FRANCO (1974), haviam recomendado a espécie *P. edullis* f. *flavicarpa* Deg. como porta-enxerto para *P. edulis* Sims, por ser esta espécie resistente à murcha de Fusarium.

Provavelmente, nestes locais, o agente causal que ocorreu foi somente *Fusarium oxysporum* f. *passiflorae* e não mais de um agente patogênico como acredita-se que tenha ocorrido no local onde foi instalado o presente experimento. Conforme se observou nestes estudos, possivelmente o maracujá amarelo seja resistente à murcha de Fusarium quando esta ocorre isoladamente, ou então, pode ser que esteja ocorrendo uma nova espécie ou mutação de Fusarium, ou outro agente patogênico, que seja letal ao maracujazeiro amarelo.

Neste sentido, torna-se necessário que novos estudos sejam efetuados, para que se comprove com certeza qual(is) agente(s) patogênico(s) vem ocorrendo na região de Jaboticabal.

Com relação à perda de grande número de plantas de *P. alata* Ait enxertadas sobre *P. giberti* N.E.Brown, isto ocorreu devido a quebra na região da enxertia, conforme já relatado anteriormente.

Plantas de maracujá guaçu pê-franco, maracujá amarelo enxertadas sobre maracujá guaçu e maracujá amarelo enxertadas sobre maracujá-de-veado, nas condições do presente estudo, continuaram a se desenvolver de maneira satisfatória nas avaliações feitas 8 e 20 meses após a instalação no campo.

Observa-se no Quadro V que, guardadas as proporções, maracujá amarelo enxertado sobre maracujá-de-veado, foi o tratamento que apresentou menor número de parcelas perdidas.

Os resultados do presente trabalho coincidiram com os de OLIVEIRA *et alii* (1984) e OLIVEIRA *et alii* (1986), pois *P. giberti* N.E.Brown além de ser compatível como porta-enxerto para *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg., mostrou-se resistente à morte prematura de plantas desta espécie, que vem ocorrendo no campo experimental da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, cujo agente patogênico não foi determinado, apesar de se fazerem diversas tentativas neste sentido.

Estes resultados indicam que maracujá-de-veado deve ser recomendado como porta-enxerto para locais onde se constate morte prematura de plantas de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg.

Maracujá guaçu pê-franco ou quando usado como porta-enxerto, apresentou o melhor desenvolvimento vegetativo, com perda de poucas parcelas. Trabalhos realizados anteriormente por YAMASHIRO & LANDGRAFF (1979), OLIVEIRA *et alii* (1982), OLIVEIRA *et alii* (1986), relataram que *P. alata* possui cultivares resistentes à morte prematura de plantas. No presente experimento, utilizou-se *P. alata* cultivar "Jaboticabal", que mostrou-se resistente, conforme já observado anteriormente, sendo por isto recomendado como porta-enxerto para maracujá amarelo em locais contaminados por agente(s) causador(es) da morte prematura de plantas.

É importante ainda ressaltar que a perda de muitas parcelas das 3 espécies testadas, constatadas aos 8 e 20 meses e observadas no Quadro V, pode ter ocorrido tanto por morte prematura de plantas, como também por diversos problemas que normalmente se encontram quando se instala uma cultura no campo, ou seja, é possível que algu-



mas parcelas tenham se perdido por excesso ou falta de chuvas, concorrência de doenças da parte aérea (principalmente *Pseudomonas passiflorae*), as quais provocam queda prematura de folhas e morte de ramos da ponta para a base, chegando em alguns casos a matar a planta, embora todos estes fatores tenham sido controlados preventivamente.

As observações efetuadas quanto a avaliação visual do desenvolvimento das plantas, conforme nota de vigor no Quadro V, com a finalidade de manter a produtividade, sugere que espaçamentos entre plantas sejam reduzidos; atualmente, o uso de enxertia só seria viável em culturas já estabelecidas em local onde esteja ocorrendo morte repentina de plantas. A longo prazo, após isolamento de clones com ótimas características agronômicas, a adoção da técnica da enxertia em maracujã amarelo deverá ser usada com vantagens.

## **5. CONCLUSÕES**

### **5.1. Propagação por Cultura de Tecidos**

#### **A) Primeiro Ensaio**

Segmentos de talo de aproximadamente 2 cm de longitude, retirados de plântulas cultivadas em casa de vegetação e, previamente desinfetados em solução de hipoclorito de sódio (20%), não apresentaram problemas de contaminação interna, demonstrando capacidade regenerativa, com desenvolvimento de parte aérea, encontrando-se ao contrário, grande percentagem de infecção em explantes provenientes de ramos de plantas adultas oriundas do campo.

Explantes retirados da porção superior das plântulas e que continham células meristemáticas, desenvolveram-se bem melhor do que aqueles provenientes do restante do talo.

O meio básico de Nitsch & Nitsch (1969) acrescido de 2 mg/l de cinetina permitiu o crescimento e desenvolvimento dos explantes utilizados neste trabalho.

#### **B) Segundo Ensaio**

O meio básico de Nitsch & Nitsch (1969) contendo somente os sais orgânicos e inorgânicos, sem substâncias de crescimento,

permitiu um pequeno crescimento dos explantes, que cessou pronunciadamente ao final do primeiro mês de cultivo.

Quando se procedeu o cultivo de explantes em meio básico acrescido de 2 mg/l de 6 BA, houve desenvolvimento apenas de parte aérea, o mesmo ocorrendo na presença de 2 mg/l de 2 i-P.

Por outro lado, meio básico acrescido de 0,5 mg/l de 6 BA e 1,0 mg/l de IAA, ocasionou formação de pequenos *calli* e desenvolvimento de parte aérea. Não houve formação de raízes.

Meio básico acrescido de 2 mg/l de cinetina e 0,1 mg/l de IAA apresentou formação de *calli* mais volumosos do que na combinação anterior e desenvolvimento de parte aérea, mas com menor vigor do que se observara anteriormente.

A combinação meio básico + 3 mg/l de 2m<sup>4</sup>-D e 100 mg/l de água de côco causou formação intensa de *calli*.

### C) Terceiro Ensaio

Quando foram testados dois meios de cultura acrescidos de biotina (0,5 mg/l), 6 BAP (2,0 e 0,8 mg/l), GA (0,1 e 0,5 mg/l) e IAA (0,05 e 0,02 mg/l), não se observou variação nos resultados dos dois tratamentos, não havendo diferenças entre as quantidades dos fito-hormônios utilizados e o efeito da biotina.

No presente experimento, a presença de biotina, não foi fator limitante ao crescimento de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg.

Embora a presença de GA<sub>3</sub> em combinação com 6 BA e IAA tenha, inicialmente, induzido o crescimento de células indiferenciadas de *callus*, não foi suficiente, nas combinações e concentrações utili-

zadas, para promover desenvolvimento de planta completa, com parte aérea e raiz, não devendo, por isto, ser recomendado para regeneração de *callus* de *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg.

### 5.2. Propagação por Enxertia

Nas condições do presente experimento, a enxertia tipo inglês simples foi suficiente na propagação das espécies de maracujazeiros testados, pois, *Passiflora giberti* N.E.Brown, *Passiflora alata* Ait. e *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg., mostraram-se compatíveis como porta-enxertos.

Embora *P. giberti* N.E.Brown seja compatível como porta-enxerto para *P. alata* Ait, este quando estabelecido no campo apresentou problemas de "quebra" na região de enxertia, devendo, por isto, ser recomendado com precaução, quando utilizado como cavalo para esta passifloracea.

*P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. mostrou-se suscetível à morte prematura de plantas, enquanto que *P. giberti* N.E.Brown e *P. alata* Ait, cv. "Jaboticabal" foram resistentes, sendo por isto, recomendadas como porta-enxerto para locais onde ocorram morte prematura de plantas.

A compatibilidade de enxertia, quando se utilizou *P. giberti* N.E.Brown, foi inferior ao maracujá amarelo e maracujá guaçú.

## LITERATURA CITADA

- AKINS, P.O. & BASIL, I.K. Nutrition of planta tissue cultures. In: VASIL, I.K. *Cell culture and somatic cell genectics of plants*; Academic Press, 1985. p.129-329.
- ARRUDA NETO, J.S.; GRISI JÚNIOR, C.; LOPES, J.J. *A cultura do maracujã*. Campinas, CATI, S.D. 18p. (mimeografado).
- BACCARIN, M.N.R.A.; FERRAZ, L.C.C.B.; OLIVEIRA, J.C. Suscetibilidade de espécies de *Passiflora* ao nematóide formador de galhas *Meloidogyne javanica*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS, 1º, Jaboticabal, 1981. *Anais*, p. 84-85.
- BAILEY, L.H. *Manual of cultivated plants*, 12. ed, New York, The Macmillan, 1971. p. 689-691.
- BHOJWANI, S.S. & RAZDAN, M.K. *Plant tissue culture; theory and practice*. Elsevier, Amst., Tissue culture media, 1983. cap. 3, p. 25-42.
- BLACKER, G.W.J. Grafting passionfruit vines. *New Zealand Journal de Agriculture*, 101(4):401-405, 1960.

- BRODRICK, H.T. & MULDER, N.J. Control of Phytophthora stem-rot of granadillas in South Africa. *The Citrus and Subtropical Fruit Journal*, :15-18, 1976.
- CALDAS, L.S. & GRATTAPAGLIA, D. Aplicações da biotecnologia na fruticultura: presente e futuro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Cruz das Almas, **8**(3):7-17, 1986.
- CALVAZARA, B.B.G. *Fruteiras: abacaxizeiro, cajuzeiro, goiabeira, maracujazeiro, muricizeiro*. Belém, IPEAN, 1970. 42p. (Culturas da Amazônia, 1).
- CARVALHO, A.M. de Melhoria cultural do maracujazeiro. In: SIMPÓSIO CULTURA DO MARACUJÁ, Campinas, 1974, p.1-9.
- CARVALHO, A.M. de & CARVALHO, A.M.B. Nota preliminar sobre a ocorrência de *Fusarium* sp. em plantas de maracujá no Estado de São Paulo, *Ciência e Cultura*, **20**(2):256-6, 1968.
- CORREIA, L. de S. *Propagação do maracujazeiro (Passiflora spp) através de sementes, estaquia e enxertia: revisão bibliográfica*, Jaboticabal, FCAV, 1977. 25 p.
- CORREIA, L. de S. *Contribuição ao estudo da enxertia por garfagem em maracujá (Passiflora edulis f. flavicarpa Deg.), durante a fase de viveiro*. Jaboticabal, FCAV, 1979, (Dissertação de mestrado).
- COX, J.E. & KIELY, T.B. Fusarium resistant rootstocks for passion vines. *The Agricultural Gazette*, 314-318, 1961.

- D'AVILA, G.M. *Estudos sobre propagação vegetativa do maracujã amarelo (Passiflora edulis f. flavicarpa Deg.)*. Jaboticabal, FCAV, 1975. 21 p. (Trabalho de graduação).
- EVANS, D.A. & SHARP, W.R. Growth and behavior of cell cultures: embryogenesis and organogenesis. In: THORPE, T.A. *Plant tissue culture*. New York, Academic Press, 1981. p.45-113.
- FLOCK, C.E.; EVANS, D.A.; SHARP, W.R. Organogenesis. In: EVANS, D. A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. *Handbook of plant cell culture*. 1983. v.1, cap.2, p.13-63.
- FOUQUÉ, A. Espécies frutiêres d'Amérique tropicale. 4. Les Passifloracées. *Fruits*, **27**(5):368-82, 1972.
- FRANCO, J.M. A murcha de *Fusarium* do maracujã (*Passiflora edulis* Sims) causada por *Fusarium oxysporum* Schlecht. f. *passiflorae* Purss: revisão bibliográfica. Jaboticabal, FCAV, 1974. 12p. (Trabalho de graduação).
- GAMBORG, O.L. Callus and cell culture. *Plant tissue culture methods*, Canadá, **1**:1-10, 1975.
- GAMBORG, O.L. & SHYLUK, J.P. Nutrition, media and characteristics of plant cell and tissue cultures. In: THORPE, T.A. *Plant tissue culture*. New York, Academic Press, 1981. p.21-44.
- GEORGE, E.F. & SHERRINGTON, P.D. *Plant propagation by tissue culture*. Handbook and Directory of Commercial Laboratories, 1984. 709 p.

- GIACOMETTI, D. O maracujã, *Passiflora* sp. Minas Gerais, Inst.Agric., 1954. 15 p.
- HAKKAART, F.A. & VERSLUYS, J.M.A. Virus in *Passiflora caerulea* eliminated by meristem culture. *Vakblad voor de Bloemisterij*, **36** (1): 24-25, 1981. apud *Horticultural Abstracts*, **51**(6):4848, 1981.
- JOLY, A.B. *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. 2.ed. São Paulo, Nacional, 1975. p. 468-481.
- KIELY, T.B. & COX, J.E. Fusarium resistant rootstocks for passion vines. *Agric. Gaz.*, New South Wales, **72**(6):314-318, 1961.
- KLIMASZEWSKA, K. Plant regeneration from petiole segments of some species in tissue culture. *Acta Agrobotanica*, **34**(1):5-28, 1981.
- LEITÃO FILHO, H.F. & ARANHA, C. Botânica do maracujazeiro. In: SIMPÓSIO DA CULTURA DO MARACUJÁ, Campinas, 1974.
- MACHADO, G. *Contribuição ao estudo da enxertia de maracujã amarelo* (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.). Jaboticabal, FCAV, 1977. 19 p. (Trabalho de graduação).
- MANICA, I. *Fruticultura tropical*. 1. Maracujã. São Paulo, Agronômica Ceres, 1981. 151 p.
- MARTIN, F.W. & NAKASONE, H.Y. The edible species of passiflora. *Economy Botany*, **24**(3):333-43, 1970.
- MILLER, C.O. Kinetin and related compounds in plant growth. *Annual R. of Plant. Physiol.*, **12**:395-408, 1961.



- NAKAYAMA, F. Cultivo "in vitro" de tecidos de *Passiflora caerulea*.  
*Revista de La Facultad de Agronomia*, **42**(1):63-76, 1966.
- NITSCH, J.R. & NITSCH, C. *Nature*, 163-85, 1969.
- OLIVEIRA, J.C. de; RUGGIERO, C.; NAKAMURA, K. Observação sobre uma  
doença do maracujazeiro (*Passiflora* sp.). In: REUNIÃO DA SOCIEDADE  
BRASILEIRA DE GENÉTICA, 13º, outubro, 1979. *Anais*, p.24.
- OLIVEIRA, J.C.de; SALOMÃO, T.A.; RUGGIERO, C.; ROSSINI, A.C. Observa-  
ções sobre o cultivo de *Passiflora alata* Ait (maracujã-guaçú). *Re-  
vista Brasileira de Fruticultura*, **2**:1, 1980.
- OLIVEIRA, J.C.de; RUGGIERO, C.; NAKAMURA, K.; FERREIRA, F.R. Varia-  
ções observadas em frutos de *Passiflora alata* Ait. *Proc. of the  
Tropical Region Am. Soc. for Hort. Sci.*, **25**:343-345, 1982.
- OLIVEIRA, J.C.de; RUGGIERO, C.; NAKAMURA, K.; BAPTISTA, M. Comporta-  
mento de *Passiflora edulis* enxertada sobre *P. giberti* N.E. Brown,  
In: *Anais*, vol.3, p. 989-993.
- OLIVEIRA, J.C.de; NAKAMURA, K.; RUGGIERO, C.; FERREIRA, F.R. Determi-  
nação de fonte de resistência em Passifloraceas quanto a morte pre-  
matura de plantas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 8º,  
Brasília, 26 a 31 de jan., 1986. *Anais*. p. 403-408.
- OLIVEIRA, J.C.de Melhoramento genético. In: RUGGIERO, C. *Maracujã-  
cultura*, Jaboticabal, FCAV, 1987. p. 218-246.

- PACE, C.A.M. Comparação de quatro métodos de enxertia para o "maracujazeiro amarelo" *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 7º, Florianópolis, 1984. *Anais*, vol.3, p. 983-988.
- PALAMIN JÚNIOR, O. *Estudos sobre enxertia de maracujã amarelo (Passiflora edulis f. flavicarpa Deg.) em maracujã alata (Passiflora alata Dryander)*. Jaboticabal, FMVA, 1975, 23p. (Trabalho de graduação).
- PIZA JÚNIOR, C. de T. *Cultura do maracujã*. Campinas, DATE, 1966, 102 p. (Boletim técnico, 5).
- PURSS, G.S. Studies of the resistance of species of *Passiflora* to Fusarium wilt (*F. oxysporum* f. *passiflorae*). *Queensland J. Agric. Sci.*, 15(2):95-99, 1958.
- ROBLES, M.J.M. Multiplication vegetative "in vitro", des bourgeons axillaires de *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener et de *P. mollissima* Bailey. *Fruits*, 33(10):693-699, 1978.
- ROBLES, M.J.M. Potential morphogênétique des entrenoeuds de *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener et *P. mollissima* Bailey en culture "in vitro". *Turrialba*, 29(3):224-228, 1979.
- RUGGIERO, C. & CORRÊA, L. de S. Propagação do maracujazeiro. In: SIMPÓSIO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 2º, Jaboticabal, 1978, p. 24-28.

- RUGGIERO, C. *Maracujá: considerações gerais sobre a cultura no Brasil*. 1- Cultura do maracujazeiro. Ribeirão Preto, Legis Summa, 1987. p.5-7.
- SALA, F. & CELLA, R. *Culturas e células vegetais: métodos e aplicações*. 1983. 61 p. (Série Botânica, 1).
- SALOMÃO, T.A. & ANDRADE, V.M. de M. Botânica. In: RUGGIERO, C. *Maracujá- considerações gerais sobre a cultura no Brasil*. 1- Cultura do maracujazeiro. Ribeirão Preto, Legis Summa, 1987. p. 20-39.
- SÃO JOSÉ, A.R. Maracujá: Brasil já é grande produtor mundial. *TODA FRUTA*, 7:22-23, 1986.
- SCORZA, R. & JANICK, J. "In vitro" flowering of *Passiflora suberosa* L. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 105(6):892-897, 1980.
- SEIXAS, L.F.Z.; OLIVEIRA, J.C. de; TIHOHOD, M.; RUGGIERO, C. Comportamento de *Passiflora macrocarpa* como porta-enxerto para *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. cultivado em local com histórico de morte prematura de plantas e nematoides do maracujazeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9º, Campinas, 22 a 27 de nov., 1987. *Anais*. p.57.
- SIMÃO, S. *Manual de Fruticultura*, Ed. Agron. "Ceres" Ltda, São Paulo, 1971. 530 p.
- SUZUKI, O.Y. & LINS, W.B.A. Considerações econômicas brasileiras. In: RUGGIERO, C. *Maracujá: considerações gerais sobre a cultura no Brasil*. 1- Cultura do maracujazeiro. Ribeirão Preto, Legis Summa, 1987. p. 8-19.

- TERBLANCHE, J.H.; GRECH, N.; FREAN, R.; CRABBÉ, F.; JOUBERT, A. Good news for passion fruit industry. Information Bulletin, *Citrus and Subtropical Fruit Research Institute*, **164**:1-2, 4-5, 1986. apud *Horticultural Abstracts*, **6**:5013, 1987.
- TSAY, H.S.; HSU, J.Y.; YANG, T.P.; YANG, C.R. Anther culture of passion fruit (*Passiflora edulis*). *Journal of Agriculture Research of China*, **33**(2):126-131, 1984. apud *Horticultural Abstracts*, **55**(8):6476, 1985.
- TULMANN NETO, A. *Utilização da técnica de cultura de tecidos no melhoramento de plantas*. Piracicaba, Seção de Radiogênica, 1986. 34 p. (mimeografado).
- WITHEREL, D.F. & DOUGALL, D.K. Sources of nitrogen supporting growth and embryogenesis in cultured wild carrot tissue. *Physiol. Plant.*, **37**:97-103, 1976.
- YAMASHIRO, T. & LANDGRAFF, J.H. Maracujã-açú (*Passiflora alata* Ait), porta-enxerto resistente à fusariose do maracujazeiro (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 5º, Pelotas, 1979. p.918-921.
- YAMASHIRO, T. & CARDOSO, R.M.G. Ocorrência de murcha de *Fusarium* em maracujã-açú (*Passiflora alata* Ait) no Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica*, **8**(1-2):57, 1982.

- YAMASHIRO, T. Principais doenças do maracujazeiro amarelo no Brasil,  
In: RUGGIERO, C. *Maracujã-cultura*, Jaboticabal, FCAV, 1987. p.146-  
159.
- ZEMIGRANI, M.M. *Cultura de tecidos vegetais-maracujã*, Jaboticabal,  
1987. 23 p. (Relatório de estágio realizado na bioplanta tecnolo-  
gia de plantas).

**A P E N D I C E**

Quadro VI - Relação numérica das covas com o respectivo tratamento (combinação enxerto X porta-exerto) e a avaliação visual do vigor das plantas, Nota de vigor vegetativo, 8 meses após plantio em local definitivo,

| Nº DA COVA | TRATAMENTOS    | VIGOR |
|------------|----------------|-------|
| 452 A      | T <sub>5</sub> | 0     |
| 452 B      | T <sub>3</sub> | 3     |
| 454 A      | T <sub>1</sub> | 3     |
| 454 B      | T <sub>2</sub> | 3     |
| 455 A      | T <sub>3</sub> | 0     |
| 455 B      | T <sub>3</sub> | 4     |
| 456 A      | T <sub>6</sub> | 4     |
| 456 B      | T <sub>1</sub> | 4     |
| 457 A      | T <sub>5</sub> | 0     |
| 457 B      | T <sub>6</sub> | 5     |
| 458 A      | T <sub>4</sub> | 0     |
| 458 B      | T <sub>2</sub> | 0     |
| 460 A      | T <sub>1</sub> | 2     |
| 460 B      | T <sub>6</sub> | 4     |
| 461 A      | T <sub>6</sub> | 4     |
| 461 B      | T <sub>2</sub> | 4     |
| 462 A      | T <sub>6</sub> | 3     |
| 462 B      | T <sub>5</sub> | 5     |
| 464 A      | T <sub>4</sub> | 2     |
| 464 B      | T <sub>3</sub> | 0     |
| 468 A      | T <sub>3</sub> | 0     |
| 468 B      | T <sub>4</sub> | 0     |
| 469 A      | T <sub>5</sub> | 4     |
| 469 B      | T <sub>4</sub> | 0     |
| 486 A      | T <sub>6</sub> | 3     |
| 486 B      | T <sub>5</sub> | 3     |
| 487 A      | T <sub>6</sub> | 5     |

Quadro VI - Relação numérica das covas com o respectivo tratamento (combinação enxerto X porta-enxerto) e avaliação visual do vigor das plantas. Nota de vigor vegetativo, 8 meses após plantio em local definitivo.

| Nº DA COVA | TRATAMENTOS    | VIGOR |
|------------|----------------|-------|
| 487 B      | T <sub>6</sub> | 4     |
| 502 A      | T <sub>2</sub> | 2     |
| 502 B      | T <sub>2</sub> | 4     |
| 503 A      | T <sub>3</sub> | 2     |
| 503 B      | T <sub>3</sub> | 0     |
| 504 A      | T <sub>6</sub> | 4     |
| 504 B      | T <sub>1</sub> | 3     |
| 501 A      | T <sub>6</sub> | 5     |
| 501 B      | T <sub>3</sub> | 3     |
| 497 A      | T <sub>1</sub> | 3     |
| 497 B      | T <sub>2</sub> | 2     |
| 498 A      | T <sub>3</sub> | 0     |
| 498 B      | T <sub>5</sub> | 4     |
| 499 A      | T <sub>5</sub> | 0     |
| 499 B      | T <sub>5</sub> | 4     |
| 493 A      | T <sub>5</sub> | 4     |
| 493 B      | T <sub>1</sub> | 2     |
| 492 A      | T <sub>5</sub> | 4     |
| 492 B      | T <sub>6</sub> | 4     |
| 491 A      | T <sub>6</sub> | 4     |
| 491 B      | T <sub>6</sub> | 4     |
| 519 A      | T <sub>4</sub> | 0     |
| 519 B      | T <sub>5</sub> | 5     |
| 520 A      | T <sub>1</sub> | 3     |
| 520 B      | T <sub>2</sub> | 3     |
| 521 A      | T <sub>1</sub> | 1     |
| 521 B      | T <sub>1</sub> | 1     |



Quadro VI - Relação numérica das covas com o respectivo tratamento (combinação enxerto X porta-enxerto) e a avaliação visual do vigor das plantas, Nota de vigor vegetativo, 8 meses após plantio em local definitivo,

| Nº DA COVA | TRATAMENTOS    | VIGOR |
|------------|----------------|-------|
| 524 A      | T <sub>2</sub> | 3     |
| 524 B      | T <sub>2</sub> | 2     |
| 525 A      | T <sub>6</sub> | 3     |
| 525 B      | T <sub>4</sub> | 0     |
| 526 A      | T <sub>3</sub> | 0     |
| 526 B      | T <sub>2</sub> | 3     |
| 527 A      | T <sub>2</sub> | 4     |
| 527 B      | T <sub>2</sub> | 2     |
| 530 A      | T <sub>3</sub> | 4     |
| 530 B      | T <sub>4</sub> | 0     |
| 531 A      | T <sub>2</sub> | 3     |
| 531 B      | T <sub>2</sub> | 2     |
| 532 A      | T <sub>6</sub> | 4     |
| 532 B      | T <sub>5</sub> | 3     |
| 533 A      | T <sub>5</sub> | 0     |
| 533 B      | T <sub>5</sub> | 4     |
| 535 A      | T <sub>4</sub> | 1     |
| 535 B      | T <sub>3</sub> | 0     |
| 542 A      | T <sub>1</sub> | 2     |
| 542 B      | T <sub>6</sub> | 5     |
| 543 A      | T <sub>3</sub> | 2     |
| 543 B      | T <sub>6</sub> | 5     |
| 544 A      | T <sub>2</sub> | 3     |
| 544 B      | T <sub>1</sub> | 3     |
| 545 A      | T <sub>2</sub> | 3     |
| 545 B      | T <sub>1</sub> | 2     |
| 536 A      | T <sub>5</sub> | 5     |
| 536 B      | T <sub>5</sub> | 2     |

Quadro VI - Relação numérica das covas com o respectivo tratamento (combinação enxerto X porta-enxerto) e a avaliação visual do vigor das plantas, Nota de vigor vegetativo, 8 meses após plantio em local definitivo.

| Nº DA COVA | TRATAMENTOS    | VIGOR |
|------------|----------------|-------|
| 560 A      | T <sub>5</sub> | 1     |
| 560 B      | T <sub>4</sub> | 2     |
| 559 A      | T <sub>5</sub> | 0     |
| 559 B      | T <sub>6</sub> | 4     |
| 558 A      | T <sub>2</sub> | 0     |
| 558 B      | T <sub>3</sub> | 0     |
| 557 A      | T <sub>4</sub> | 2     |
| 557 B      | T <sub>3</sub> | 3     |
| 556 A      | T <sub>3</sub> | 3     |
| 556 B      | T <sub>4</sub> | 0     |
| 555 A      | T <sub>1</sub> | 3     |
| 555 B      | T <sub>3</sub> | 3     |
| 553 A      | T <sub>4</sub> | 0     |
| 553 B      | T <sub>4</sub> | 0     |
| 552 A      | T <sub>6</sub> | 5     |
| 552 B      | T <sub>5</sub> | 5     |
| 551 A      | T <sub>6</sub> | 3     |
| 551 B      | T <sub>3</sub> | 4     |
| 528 A      | T <sub>5</sub> | 5     |
| 528 B      | T <sub>3</sub> | 0     |

Avaliação visual do vigor das plantas; notas de 0 a 5, conforme é apresentado a seguir;

0 - planta morta

1 - planta mal desenvolvida, com baixa capacidade de produção,

2 a 4 - plantas com desenvolvimento intermediário,

5 - plantas vigorosas, bem desenvolvidas,

## TRATAMENTOS

- T<sub>1</sub> - Maracujá amarelo X Maracujá-de-veado
- T<sub>2</sub> - Maracujá amarelo X Maracujá Guaçu
- T<sub>3</sub> - Maracujá Guaçu X Maracujá Amarelo
- T<sub>4</sub> - Maracujá Guaçu X Maracujá-de-veado
- T<sub>5</sub> - Maracujá Amarelo (pê-franco)
- T<sub>6</sub> - Maracujá Guaçu (pê-franco)

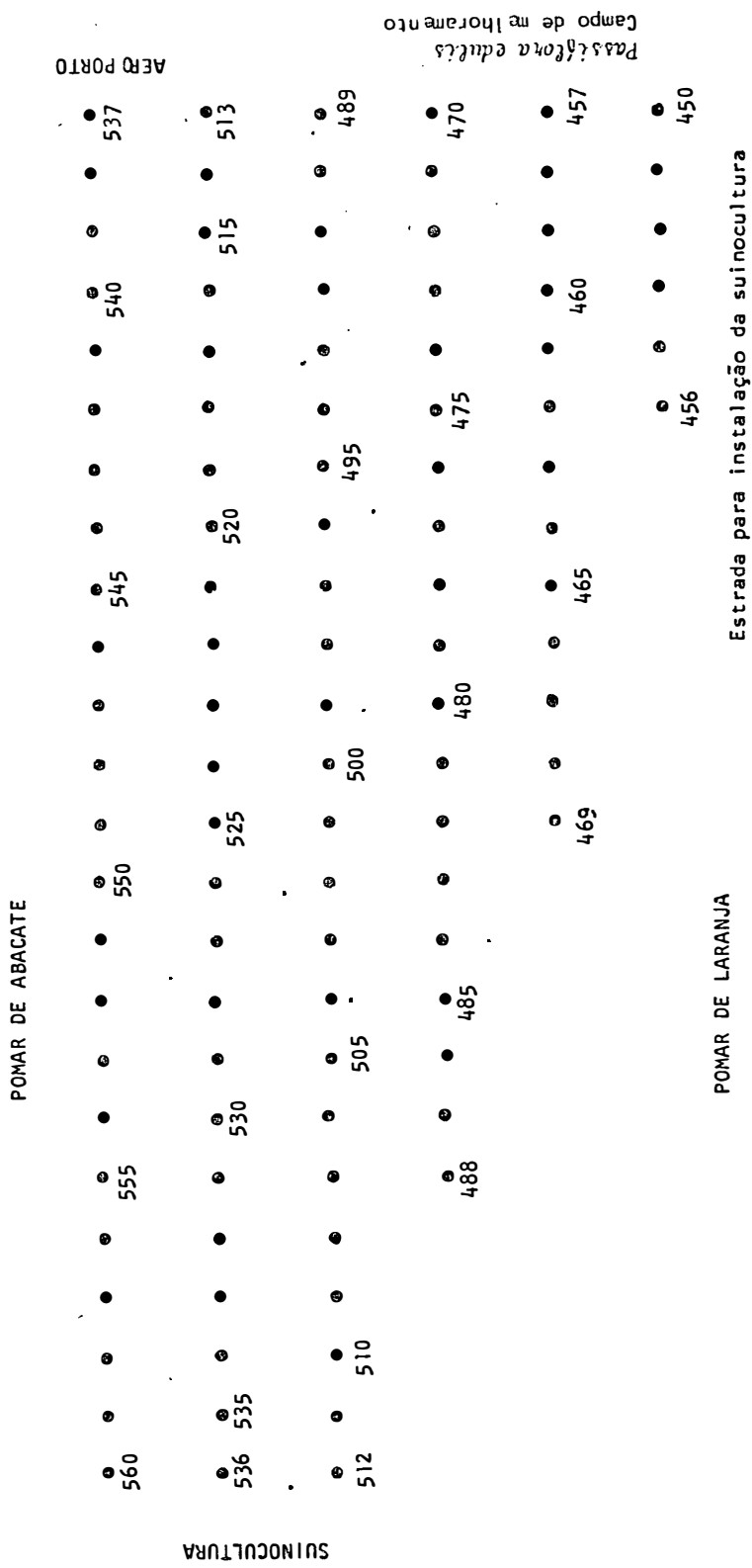


Figura 12 - Esquema da localização do campo de maracujazeiros, Coleção de espécies e o ensaio. FCAV - Campus de Jaboticabal,