

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE DOUTORADO**

**ESPÉCIES DE *Passiflora* L. E SUAS COMBINAÇÕES DE  
ENXERTIA NO MANEJO DA FUSARIOSE**

**LUCAS KENNEDY SILVA LIMA**

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA  
FEVEREIRO – 2018**

# **ESPÉCIES DE *Passiflora* L. E SUAS COMBINAÇÕES DE ENXERTIA NO MANEJO DA FUSARIOSE**

**LUCAS KENNEDY SILVA LIMA**

Lic. em Ciências Agrárias

Universidade Federal da Paraíba, 2011

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Fitotecnia).

**Orientador:** Prof. Dr. Eduardo Augusto Girardi

**Coorientador:** Dr. Onildo Nunes de Jesus

**Coorientador:** Dr. Fernando Haddad

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA**

**FEVEREIRO – 2018**

## FICHA CATALOGRÁFICA

L732e

Lima, Lucas Kennedy Silva  
Espécies de Passiflora L e suas combinações de enxertia  
no manejo da fusariose. / Lucas Kennedy Silva Lima.\_  
Cruz das Almas, BA, 2018.  
141f.; il.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Augusto Girardi  
Co-Orientador: Prof. Dr. Onildo Nunes de Jesus

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da  
Bahia, Centro de Ciências Agrária, Ambientais e Biológicas,  
Doutorado em Ciências Agrárias .

1.Maracujá – Melhoramento Genético. 2. Passiflora  
3.Enxertia. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,  
Centro de Ciências Agrária, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 634.425

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.  
Responsável pela Elaboração - Neubler Nilo Ribeiro da Cunha (*Bibliotecário - CRB5/1578*)  
(os dados para catalogação foram enviados pelo usuário via formulário eletrônico)

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE DOUTORADO**

**ESPÉCIES DE *Passiflora* L. E SUAS COMBINAÇÕES DE  
ENXERTIA NO MANEJO DA FUSARIOSE**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE  
LUCAS KENNEDY SILVA LIMA**

Realizada em 26 de Fevereiro de 2018

Prof. Dr. Eduardo Auusto Girardi  
Embrapa Mandioca e Fruticultura  
Examinador Interno (Orientador)

Profa. Dra. Ana Cristina Fermino Soares  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFPB  
Examinador Interno

Prof. Dr. Quelmo Silva de Novaes  
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB  
Examinador Externo

Dr. Francisco Ferraz Laranjeira Barbosa  
Embrapa Mandioca e Fruticultura  
Examinador Externo

Dr. Fábio Gelape Faleiro  
Embrapa Cerrados  
Examinador Externo

## DEDICATÓRIA

A toda minha família em especial meus pais Antônio Lima das Neves e Maria José Silva das Neves pelo carinho apoio e educação.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela saúde, força de vontade, sabedoria e perseverança para seguir em frente diante as dificuldades.

A toda minha família, meus pais Antônio Lima e Maria José, minhas irmãs Leilane e Layane, sobrinhos Maria Alice e Felipe Gabriel e cunhado Deivid Kessil pelo apoio em todos os momentos. Agradeço também à minha namorada Maria de Fátima “Querida” pelo apoio, carinho, paciência, amizade e companheirismo.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias pela oportunidade em realizar o Doutorado nesta instituição. A Embrapa Mandioca e Fruticultura onde foi realizada a maior parte da pesquisa pela infraestrutura apoio técnico e financeiro para deslocamento e custeio dos experimentos, diárias e análises. Ao Instituto Federal de Ciência e Tecnologia de Guanambi pela condução do experimento em Guanambi, referente ao capítulo 2. A Capes pela concessão da bolsa de doutorado durante esses quatro anos, pois sem a mesma, seria impossível a consolidação deste trabalho. Ao CNPq pelo financiamento do projeto do capítulo 2.

Ao meu orientador Dr. Eduardo Augusto Girardi, mesmo estando distante fisicamente na maior parte deste processo, sempre esteve disponível para orientar e ajudar em todos os momentos do curso desde o planejamento dos experimentos até as correções dos artigos e tese. Servindo de exemplo profissional pela sua competência, caráter, assiduidade e responsabilidade.

Ao meu Coorientador Dr. Onildo Nunes de Jesus, pela imensa contribuição em todas as etapas de minha formação enquanto doutorando, pela constante disponibilidade em ajudar, orientar e corrigir as falhas, pelo incentivo em todos os momentos, pela amizade construída durante esse período, servindo de inspiração como orientador e profissional da mais extrema competência e como ser humano, sempre preocupado com o próximo.

Ao agricultor Paulo Aparecido e toda sua família pela parceria na disponibilidade da área e execução dos tratamentos culturais do experimento conduzido em Brumado-BA do capítulo 2 desta tese.

Ao Dr. Raul Rosa pela colaboração nas atividades executadas em Brumado-BA, referente ao capítulo 2 desta tese.

À Dra. Taliane Leila Soares pelos ensinamentos e pela contribuição nas análises de anatomia, correção dos artigos e submissão.

Aos professores e pesquisadores Dr. Saulo e Dr. Fernando Haddad pelas contribuições nas correções, análise de dados e ensinamento.

A todos os estagiários integrantes e ex-integrantes da Equipe do Maracujá Sidnara, Idália, Zanon, Regiana, Mariana, Bruno, Plácido, Alírio, Pedro, Daniela, Anne, Fernanda, Kelly, Naiara, Lucas Jr., Gabriela, Milena e Carlos pela colaboração nos experimentos em campo e amizade construída neste período.

Aos técnicos Antônio Marcos e Vinícios e funcionários de campo João, Nailton e Amós pelo imenso apoio nas atividades de casa de vegetação e campo. Aos técnicos Pedro Lucena, Francisco Paulo e analistas Leandro Rocha e Elaine, dos laboratórios de fitopatologia e pós-colheita pelo treinamento e apoio nas análises. Ao laboratório de cultura de tecidos pela contribuição para execução dos cortes e avaliações das imagens de anatomia. À amiga Graziela pela ajuda nos protocolos de isolamento e repicagem de fungos no laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Às amigas construídas durante esse período em especial aos amigos Zanon, Sidnara e Idália pela amizade, pelos momentos de descontração no café, ajuda na condução dos trabalhos e apoio durante esses quatro anos.

Aos funcionários Santana, Celeste e Alcides que durante esse período convivemos quase que diariamente pelo apoio e incentivo.

Aos amigos Leonardo e Renata pela indicação do curso e acolhida em Cruz das Almas, sempre serei grato. A Mariana e meu afilhado Vitor Hugo pelo carinho e amizade. Aos amigos João Vitor e Danilo pela amizade e momentos de descontração.

Agradeço também a todos que contribuíram de forma direta e indireta para a concretização deste trabalho e em meu processo de formação profissional e pessoal.

A todos o meu muito obrigado!

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO .....	8
ABSTRACT .....	10
REFERENCIAL TEÓRICO .....	12
<b>ARTIGO 1</b>	
INITIAL VEGETATIVE GROWTH AND GRAFT REGION ANATOMY OF YELLOW PASSIONFRUIT ON <i>Passiflora</i> spp. ROOTSTOCKS .....	34
<b>ARTIGO 2</b>	
COMPORTAMENTO DE <i>Passiflora edulis</i> PROPAGADO VIA ENXERTIA EM ÁREAS COM PRESENÇA E AUSÊNCIA DE <i>Fusarium</i> spp.....	55
<b>ARTIGO 3</b>	
MÉTODOS DE PROPÁGAÇÃO E ESTRESSE HÍDRICO CONDICIONAM A SUSCEPTIBILIDADE DE MARACUJAZEIRO AMARELO A <i>Fusarium</i> <i>oxysporum</i> f. sp. <i>passiflorae</i> EM CONDIÇÕES CONTROLADAS .....	85
<b>ARTIGO 4</b>	
A ALTURA DE ENXERTIA NÃO É RELEVANTE NO CONTROLE DA FUSARIOSE E NO DESEMPENHO AGRONÔMICO DE <i>Passiflora gibertii</i> COMO PORTA-ENXERTO.....	116
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	140

## ESPÉCIES DE *Passiflora* L. E SUAS COMBINAÇÕES DE ENXERTIA NO MANEJO DA FUSARIOSE

Autor: Lucas Kennedy Silva Lima

Orientador: Dr. Eduardo Augusto Girardi

Coorientador: Dr. Onildo Nunes de Jesus

**RESUMO:** O Brasil é o principal produtor e consumidor mundial de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims). No entanto, a fusariose (*Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* - *Fop*) tem limitado a produção e vida útil da cultura em diversas regiões. A identificação de fontes de resistência é uma etapa crucial para o desenvolvimento de cultivares, no entanto não há uma metodologia rápida para a seleção de genótipos resistentes em condições de casa de vegetação. Como alternativa para a convivência com a fusariose, destaca-se o uso de mudas enxertadas em espécies de maracujá resistentes. Assim, neste trabalho: *i*) avaliou-se o desempenho de plantas de maracujá enxertado em espécies silvestres (*P. alata*, *P. nitida* e *P. gibertii*) em casa de vegetação e campo; *ii*) determinou-se o efeito da altura de enxertia no desenvolvimento e reação a *Fop* das plantas enxertadas em casa de vegetação e campo e *iii*) estudou-se uma metodologia alternativa para identificação de fontes de resistência ao *Fop* sob condições controladas. As mudas enxertadas do maracujá azedo apresentaram melhor desempenho vegetativo e compatibilidade anatômica quando utilizado *P. gibertii* como porta-enxerto com pegamento de 98%, sendo similar a *P. edulis* enxertada em si com 93%. A enxertia de *P. edulis*/*P. gibertii* realizada aos 5 e 10 cm proporciona maior pegamento com 87 e 92%, respectivamente, sendo superior a enxertia de 20 e 30 cm com 62%. Nas condições de campo, não houve efeito da altura de enxertia no crescimento, produção e sobrevivência e quando *P. gibertii* foi enxertado em *P. edulis* ocorreu manifestação de sintomas do *Fop* na espécie resistente (*P. gibertii*), no entanto, quando utilizados como porta-enxerto, não só *P. gibertii* como as demais espécies silvestres foram resistentes ao patógeno com

destaque para *P. gibertii* com 8% de mortalidade, enquanto *P. edulis*/*P. edulis* apresentou incidência superior a 70%. A produção de *P. edulis* enxertada em espécies silvestres é, em média, 50% inferior à planta pé-franco, porém superior ao material não enxertado (430%) em áreas infestadas por fusariose. Quanto à metodologia de inoculação, as mudas de maracujazeiro propagadas por sementes e submetidas a déficit hídrico apresentaram maior incidência de fusariose (71%) quando comparadas com plantas constantemente irrigadas (49%). A enxertia em *P. gibertii* pode ser utilizada como medida paliativa de controle da fusariose até obtenção de variedade com resistência.

**Palavras-chave:** *Passiflora* spp. inoculação, enxertia, anatomia, interação planta x patógeno.

***Passiflora* L. SPECIES AND THEIR GRAFTING COMBINATIONS FOR THE  
CONTROL OF THE *Fusarium* wilt**

Author: Lucas Kennedy Silva Lima

Advisor: Dr. Eduardo Augusto Girardi

Co-advisor: Dr. Onildo Nunes de Jesus

**ABSTRACT:** Brazil is the main producer and consumer of yellow or sour passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). However, *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* - *Fop*) has limited production and shelf life in several regions. The identification of resistance sources is a crucial step for the development of cultivars, however there is no quick methodology for the selection of resistant genotypes under greenhouse conditions. As an alternative to living with *Fusarium* wilt, the use of seedlings grafted on resistant passion fruit species stands out. Thus, in this work: *i*) the performance of passion fruit plants grafted on wild species (*P. alata*, *P. nitida* and *P. gibertii*) was evaluated in greenhouse and field; *ii*) the effect of grafting height on the development and reaction to *Fop* of the grafted plants in greenhouse and field was determined; and *iii*) an alternative methodology was used to identify sources of resistance to *Fop* under controlled conditions. The grafted seedlings of passion fruit showed better vegetative performance and anatomical compatibility when using *P. gibertii* as a 98% grafted rootstock, similar to *P. edulis* grafted with 93%. The grafting of *P. edulis*/*P. gibertii* making at 5 and 10 cm gives greater glue with 87 and 92%, respectively, being superior to the grafting of 20 and 30 cm with 62%. In the field conditions there was no effect of grafting on the production and survival growth and when *P. gibertii* was grafted on *P. edulis* there was manifestation of *Fop* symptoms in the resistant species, however when used as a rootstock, not only *P. gibertii* as the other wild species were resistant to the pathogen, with emphasis on *P. gibertii* with 8% mortality caused by *Fop*, while *P. edulis*/*P. edulis* presented an incidence higher than 70%. The production of *P. edulis* grafted on wild species is on average 50% lower than the non grafted plant, but higher than the non

grafted material (430%) in areas infested by *Fusarium* wilt. Regarding the inoculation methodology, seedlings propagated by seeds and submitted to water deficit showed a higher incidence of *Fusarium* wilt (71%) when compared to constantly irrigated plants (49%). The grafting *in P. gibertii* can be used as a palliative measure of control of *Fusarium* wilt until obtaining variety with resistance.

**Keywords:** *Passiflora* spp. Inoculation, Grafting, Anatomy, Plant x pathogen interaction.

## REFERENCIAL TEÓRICO

### ***Importância social e econômica do maracujazeiro***

O maracujazeiro é uma planta tropical de origem sul americana pertencente à família *Passifloraceae*, composta por 17 gêneros e mais de 600 espécies, das quais 120 são nativas do Brasil, apresentando ampla diversidade genética. O gênero *Passiflora* é o mais importante economicamente e compreende um grande número de espécies que crescem como trepadeiras perenes ou semiperenes. No geral, as passifloráceas estão adaptadas a uma ampla variedade de temperatura do ar (0-40 °C), altitudes (0-4.500 m) e de ecossistemas (de floresta tropical úmida até regiões áridas) (PÉREZ, 2007; YOCKTENG et al., 2012). *Passiflora edulis* Sims o maracujazeiro amarelo, roxo ou azedo, a espécie mais cultivada (GANGA et al., 2004; ULMER e MACDOUGAL 2004; PÉREZ, 2007; BERNACCI et al., 2008; ZERBINI et al., 2009; YOCKTENG et al., 2012). As plantas do gênero *Passiflora* são amplamente cultivadas para a produção de frutas, cosméticos e produtos farmacológicos e na floricultura (PÉREZ, 2007; GOSMANN et al., 2011; YOCKTENG et al., 2012).

O cultivo do maracujá azedo em escala comercial no Brasil é considerado uma atividade recente que se desenvolveu de forma maciça nas quatro últimas décadas (MELETTI, 2011), permitindo que o país se tornasse o principal produtor mundial de maracujá amarelo, produzindo 703 mil toneladas em 50 mil hectares em 2016 com rendimento de 14,1 t ha<sup>-1</sup>. A produção é concentrada principalmente na região Nordeste (70%), especialmente no estado da Bahia, que é responsável por 48,7% da produção nacional (IBGE, 2018).

O cultivo é realizado principalmente pela agricultura familiar, com pomares de 3 a 5 hectares, e, devido à grande demanda por mão-de-obra nas operações de cultivo, o nível de ocupação é elevado, o que confere forte caráter social à cultura. Especialistas apontam que cada hectare de maracujá gera de três a quatro empregos diretos e ocupa de sete a oito pessoas, nos diversos elos da cadeia produtiva (NOGUEIRA et al., 2003; MELETTI, 2011; AGRIANUAL, 2016).

O potencial econômico do maracujá amarelo no Brasil se deve ao retorno rápido do capital, à preferência dos frutos pelos mercados interno e externo, além do aroma agradável, elevados teores de açúcares e de compostos como, alcaloides, flavonoides, carotenoides e vitaminas A e C, que definem a qualidade do suco (ZERAİK et al., 2011).

As condições edafoclimáticas brasileiras são ideais para o cultivo do maracujá amarelo em todas as regiões, o que, associado ao aumento no consumo, impulsionou a expansão da passicultura para todas as macrorregiões do país (MELETTI, 2011). No entanto, as mesmas condições que favorecem a produção da cultura também beneficiam os principais fitopatógenos que limitam a sua produtividade. Com isso, o potencial produtivo da cultura, estimado em torno de 50 t ha<sup>-1</sup> (MELETTI et al., 2000) é reduzido atualmente a 14,1 t ha<sup>-1</sup> (IBGE, 2018). Agravando ainda mais esse cenário, a vida útil dos pomares reduziu-se de três a cinco anos à condição anual e itinerante (ZERBINI et al., 2009; NOGUEIRA FILHO et al., 2010a,b; CAVICHIOLI et al., 2011a,b; MELETTI et al., 2011). Em função disso, ao longo dos anos, tem-se observado oscilação na produção nacional, fazendo com que o país importasse maracujá do Equador e Colômbia na forma de suco concentrado nos anos de baixa produção, sendo observado nos anos de 2013 e 2014 (MAPA, 2016).

### ***Doenças do maracujá azedo***

Dentre os principais fitopatógenos que dificultam a produção do maracujá amarelo em diversas regiões do país, destacam-se: bacteriose causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (Pereira) Dye; antracnose *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz. & Sacc.); virose do endurecimento dos frutos *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV, *Potyvirus*); fusariose causadas pelos fungos *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* e *F. solani* (*Nectria haematococca*), verrugose *Cladosporium cladosporioides* e podridão da raiz causada por *Phytophthora parasítica* (sin.: *P. parasitica* J. F. Dastur) (FISCHER e REZENDE, 2008).

A utilização de cultivares resistentes é considerada a melhor estratégia de convívio em áreas com histórico de tais doenças, por não apresentar custos adicionais com aquisição de insumos e mão-de-obra. No entanto, não estão disponíveis no mercado cultivares resistentes (FREITAS et al., 2015; SANTOS et al., 2015; FREITAS, 2016). Isso se deve à rápida expansão da cultura e ações mais recentes de melhoramento genético, sobretudo para incorporação de genes de resistência.

Embora o gênero *Passiflora* possua ampla variabilidade genética, a obtenção de plantas resistentes a essas doenças entre genótipos de *P. edulis* é dificultada. A variabilidade intraespecífica para o caráter é muito baixa, não apresentando níveis de resistência que possam oferecer resultados satisfatórios no controle de doenças (JUNQUEIRA et al., 2005; SANTOS et al., 2015; FREITAS et al., 2016).

A fusariose e a virose do endurecimento dos frutos não possuem método de controle curativo, ou seja, uma vez presentes no pomar, a única solução é erradicar as plantas, o que pode levar a perdas de produção superiores a 80% de acordo com o estágio fenológico afetado (FISCHER e REZENDE, 2008; FREITAS 2015). O controle de tais patógenos é muito difícil, pois o método químico não resulta em efeitos expressivos na supressão da doença (ALABOUVETTE et al., 2009; FISCHER et al., 2010).

Uma vez que há menor produção e, conseqüentemente menor renda, o capital do pequeno agricultor destinado a investimento diminui gradativamente. Ao se sentir desestimulado a investir na cultura, estabelece-se um círculo vicioso, em que a não adoção de certas práticas de cultivo do maracujá contribui cada vez mais com a incidência de doenças e queda na produção (JESUS, 2013).

### **Fusariose**

A murcha da fusariose, tendo como agente causal o fungo *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* se destaca entre as principais doenças que acomete o maracujazeiro, sendo uma doença causada por patógeno de solo cujo controle é complexo. A doença foi relatada pela primeira vez em 1951 na Austrália (MCKNIGHT, 1951), a partir desse ponto foi reportada afetando pomares comerciais no Brasil

(CARVALHO e CARVALHO, 1968); Panamá (ESQUIVEL e LABRADOR, 1977), África do Sul (GRECH e RIJKENBERG, 1991) e Venezuela (BAUTISTA e SALAS, 1995). As informações não são precisas quanto ao agente causal (*F. solani* ou *F. oxysporum*). Porém registros demonstram que *F. solani* foi reportada em Uganda (EMECHEBE e MUKIIBI, 1976), Suriname (POWER e VERHOEFF, 1984), Taiwan (LIN e CHANG, 1985), Venezuela (CEDEÑO et al., 1990) e Zimbábue (COLE et al., 1992), citado por (FISCHER e REZENDE 2008). No Brasil a doença está presente na maioria das regiões produtoras e vem causando decréscimo da produtividade e constantes migrações da cultura (FISHER, 2005; FISCHER e REZENDE 2008; BUENO et al., 2014; CARVALHO et al., 2015; PREISIGKE et al., 2015).

Por vezes, a sintomatologia das plantas acometidas pela fusariose é confundida, a depender da espécie (*F. oxysporum* e *F. solani*); com isso, alguns autores agrupam ambos e denominam como morte prematura, que também é utilizado quando o agente causal é desconhecido. De modo geral, a literatura reporta as mortes causadas por *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* como murcha do maracujazeiro, murcha ou fusariose (LIBERATO, 2002; MANICOM et al, 2003; VIANA et al., 2003; SANTOS FILHO e SANTOS, 2003), enquanto *F. solani* está relacionado à podridão do colo (LIBERATO, 2002; FISCHER et al., 2005; FISCHER e REZENDE, 2008).

Ambas as espécies do gênero *Fusarium* vivem no solo saprofiticamente, se alimentando de matéria orgânica e restos de cultura, e podem sobreviver por vários anos por meio das estruturas de resistência denominadas clamidósporos (AGRIOS, 2004; BEDENDO, 2011). Esses patógenos atacam o sistema radicular e/ou vascular da planta, causando sua morte precocemente. O número de plantas pode diminuir drasticamente, bem como o período produtivo dos pomares, tornando a exploração econômica inviável em áreas muito afetadas (DARIVA et al., 2015).

As espécies silvestres possuem potencial ornamental, alimentício, medicinal e funcionais. Também são de grande importância para os programas de melhoramento genético, por possuírem genes de resistência às principais doenças ou serem utilizadas como porta-enxerto visando à produção em áreas com histórico de morte prematura (SANTOS et al., 2012; YOCKTENG et al., 2012; FREITAS

2015; OCAMPO et al., 2016; FREITAS et al., 2016). Existem relatos de espécies resistentes a fusariose como *P. gibertii* N. E. Br., *P. cincinnata* Mast., *P. capsularis* L., *P. nitida* Kunth, *P. laurifolia* L., *P. morifolia* Mast., *P. foetida* L. e *P. alata* Curtis (RONCATTO et al., 2004; CAVICHIOLI et al., 2011b; CAVICHIOLI et al., 2011a; YOCKTENG et al., 2012).

A penetração do patógeno nas raízes está associada a ferimentos, causados por nematoides, implementos agrícolas, fissuras de crescimento natural, danos causados pela retração das partículas do solo, bem como de forma direta (NELSON, 1981; MENDGEN et al., 1996; LIBERATO e COSTA, 2001; FISCHER e REZENDE, 2008; ORTIZ e HOYO 2012). Após penetração o micélio avança intra e intercelularmente através do córtex da raiz até os vasos do xilema, que posteriormente é utilizado pelo patógeno para uma rápida colonização. Sua difusão pelo xilema ocorre através de esporos, principalmente os microconídios, que são transportados passivamente por fluxo de massa (NELSON, 1981; MACHARDY e BECKMAN, 1981; BISHOP, 1982). À medida que a doença progride, o fungo pode invadir tecidos adjacentes ao xilema, tais como o córtex e floema, causando cancrs ou fissuras externos no caule (NELSON, 1981).

Sintomatologicamente a murcha do maracujazeiro inicia-se com o amarelecimento das folhas jovens, murcha dos ramos ponteiros, seguido da murcha generalizada das folhas, que permanecem ou não aderidas aos ramos, e frutos verdes, quando presentes, também murcham (SANTOS FILHO e SANTOS, 2003; ORTIZ e HOYOS, 2012). O sistema vascular apresenta coloração ferruginosa na raiz, haste e ramos, podendo chegar a extensão de dois metros acima da linha do solo, típicas do ataque de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*, essa coloração ocorre em função da ação de fenol-oxidase produzida pelo patógeno que é transportada pela seiva (KIELY e COX, 1961; SANTOS FILHO e SANTOS, 2003; ORTIZ e HOYOS, 2012). O processo de murcha ocorre mediante o colapso dos vasos do xilema, devido à própria presença física de estruturas do patógeno, como hifas e esporos, além de toxinas fúngicas (fumonisinas, a zearalenona, a moniliformina e o ácido fusárico) e estruturas de defesa produzidas pela planta (géis, tiloses, calose

e proliferação de células do parênquima (AGRIOS, 2004; MICHEREFF et al., 2005; FISCHER et al., 2010; ORTIZ et al., 2014).

A podridão do colo causada por *F. solani* evolui das raízes para o colo, ou o oposto. Com a evolução da doença, ocorre a destruição dos vasos com formação de necrose tanto na região do colo como nas raízes, o que causa os sintomas reflexos de amarelecimento seguido de murcha e seca da folhagem (VIANA et al., 2003; FISCHER e REZENDE, 2008). A doença é conhecida por interagir com *Phytophthora*, nematóides, formigas e ataques de cupins, provocando fissuras que favorecem a penetração do patógeno (EMECHEBE e MUKIIBI 1976; LIN e CHANG 1985; CEDEÑO et al., 1990). Segundo Manicom et al. (2003), a lesão não progride no caule a uma altura superior a 50 cm. Como também podendo ocorrer ausência de descoloração do caule (ORTIZ e HOYOS, 2012).

Nas doenças do sistema radicular, a interação patógeno-hospedeiro ocorre no solo, ambiente altamente complexo e dinâmico, influenciado por vários fatores direta e indiretamente (MAFFIA e MIZUBUTI, 2005). Desse modo, o controle químico é extremamente complexo e, muitas vezes, inviável do ponto de vista econômico e ambiental (FISCHER et al., 2010; CAVICHIOLI et al., 2011a). A melhor estratégia seria a utilização de cultivares resistentes (FREITAS et al., 2015; SANTOS et al., 2015; FREITAS et al., 2016), no entanto, tais cultivares não estão disponíveis no mercado. Desse modo, métodos alternativos como a enxertia estão sendo estudados como estratégia para produção em áreas com ocorrência da morte prematura (RONCATTO et al., 2004; NOGUEIRA FILHO et al, 2010a,b,c,d; CAVICHIOLI et al., 2011b; SANTOS et al., 2016).

A alta diversidade genética do gênero *Passiflora* permite a identificação de espécies resistentes à fusariose com potencial para utilização como porta-enxerto. *P. gibertii* N. E. Br., *P. cincinnata* Mast., *P. capsularis* L., *P. nitida* Kunth, *P. laurifolia* L., *P. morifolia* Mast., *P. foetida* L. e *P. alata* Curtis são reportadas na literatura como resistentes à morte prematura e apresentam atributos para utilização como porta-enxertos (RONCATTO et al., 2004; CAVICHIOLI et al., 2011b; CAVICHIOLI et al., 2011a).

Hibridações interespecíficas utilizando espécies silvestres resistentes à fusariose configuraram-se entre as principais estratégias para obtenção de híbridos de *P. edulis* resistentes à fusariose, embora estudos avaliados a viabilidade dessas progênes e sua sobrevivência aos fitopatógenos em condições de campo sejam escassos. Freitas et al. (2016) obtiveram híbridos a partir do cruzamento entre *P. edulis* e *P. muchonata* e os avaliaram quanto à resistência ao *F. solani* por meio de inoculação. Os autores identificaram híbridos resistentes que posteriormente deverão ser retrocruzados com o doador recorrente para recuperação das características da espécie comercial.

Medidas de controle biológico utilizando *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma* sp. e por meio de fungicidas (oxicloreto de cobre, procloraz e tiabendazol) foram avaliados por Fischer et al. (2010) no controle do *F. solani* em condições de campo. Os autores demonstraram que tais medidas de controle não são eficientes na supressão da podridão-do-colo em pomares com histórico da doença. A retomada da produção nessas áreas é limitada em função da permanência do patógeno por muitos anos no solo.

Estudos avaliando a supressividade de *F. oxysporum* por meio da utilização de resíduos orgânicos (folhas de eucalipto, bagaço do coco babaçu e casca de mandioca), *in vitro* e *in vivo* demonstraram em condições de casa de vegetação que a concentração de 60 g kg<sup>-1</sup> de bagaço do coco babaçu e 80 g kg<sup>-1</sup> de casca de mandioca foram eficientes no controle da fusariose. A utilização de resíduo de eucalipto não suprimiu o desenvolvimento da murcha do fusário no maracujazeiro (FERREIRA et al., 2015).

### ***Propagação via enxertia***

A propagação do maracujazeiro pode ser realizada por sementes ou vegetativamente, por enxertia ou estaquia (SÃO JOSÉ et al., 1994). O método de propagação mais comum é via sexuada por sementes, obtidas a partir da polinização cruzada, ocorrendo o desenvolvimento de indivíduos distintos levando a formação de pomares heterogêneos (SOUSA e MELETTI, 1997). A propagação via enxertia vem sendo estudada como alternativa de produção em áreas afetadas

por doenças como *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* e *F. solani* (RONCATTO et al., 2004; CAVICHIOLI et al., 2011b; CAVICHIOLI et al., 2011a).

Há diversos estudos relatando a enxertia do maracujazeiro durante a fase de produção de mudas (CAVICHIOLI et al., 2009; LENZA, et al., 2009; CORRÊA et al., 2010; NOGUEIRA FILHO, 2011; RONCATTO et al., 2011; MORGADO et al., 2015; SANTOS et al., 2016), com uso da enxertia hipocotiledonar (CAVICHIOLI et al., 2009; NOGUEIRA FILHO, et al., 2010a; RONCATTO et al., 2011; NOGUEIRA FILHO, et al., 2011b; SANTOS et al., 2016), convencional (LENZA et al., 2009; CORRÊA et al., 2010; RONCATTO et al., 2011; MORGADO et al., 2015; LIMA et al., 2017) e utilizando câmara úmida (CAVICHIOLI et al., 2009; CORRÊA et al., 2010), porta-enxertos obtidos a partir de hibridações interespecíficas (CHAVES et al., 2004; PIRES et al., 2009; LIMA et al., 2017), aspectos anatômicos da região de enxertia (NOGUEIRA FILHO et al., 2010c; NOGUEIRA FILHO et al., 2010d; OLIARI et al., 2016; LIMA et al., 2017) e ainda diferentes fixadores para enxertia (SANTOS et al., 2016). Esses estudos confirmam a eficiência da técnica de enxertia para a produção de mudas, com a recomendação de diversas espécies como porta-enxertos promissores para posterior avaliação em campo.

Em condições de campo, estudando o desenvolvimento vegetativo e a produtividade do maracujazeiro amarelo enxertado em *Passiflora edulis*, *P. alata* e *P. gibertii* em área com histórico de morte prematura utilizando dois sistemas de enxertia (hipocotiledonar e convencional) e um tratamento-testemunha (pé-franco de *P. edulis*), Cavichioli et al. (2011a) demonstraram que as três espécies estudadas podem ser utilizadas como porta-enxertos, com diferentes níveis de compatibilidade. Os autores afirmaram que plantas enxertadas em *P. gibertii* apresentaram menor crescimento vegetativo, frutos com menor massa e menor produtividade, e que a enxertia hipocotiledonar resultou em maior produtividade. Os autores não apresentam dados de sobrevivência, porém salientam que apesar do baixo vigor essas espécies podem ser utilizadas em programas de melhoramento genético.

Cavichioli et al. (2011b) demonstraram que plantas de *P. edulis* enxertadas em *P. gibertii* e *P. alata* apresentaram sobrevivência de 91% e 60%,

respectivamente, em área com histórico de morte prematura, enquanto *P. edulis* utilizando como porta-enxerto obteve sobrevivência de apenas 8,6%, evidenciando desse modo, a resistência aos principais fitopatógenos de solo.

Apesar do número de estudos, a utilização de mudas enxertadas em pomares comerciais é limitada a algumas regiões. Diversos autores associam a pequena adoção ao menor vigor e produtividade das mudas enxertadas. Além disso, o tempo entre a semeadura e plantio é maior, onerando a produção das mudas e exigindo mão-de-obra especializada na técnica (MELETTI et al., 2005, CAVICHIOLI et al., 2011a; NOGUEIRA FILHO et al., 2011).

### ***Inoculação do FOP***

Os métodos de inoculação do *Fusarium* em condições controladas são necessários para a identificação de fontes de resistência ao patógeno em curto espaço de tempo, reduzindo os custos de avaliação, minimizando o efeito do ambiente e incidência de outros patógenos, além de possibilitar a avaliação de diversos genótipos simultaneamente. No entanto, até o momento, não foi efetivamente descoberta uma técnica totalmente confiável de inoculação que expresse toda patogenicidade em ambiente controlado. Vários estudos de inoculação de *Fusarium* têm sido realizados com a cultura do maracujazeiro em ambiente controlado (FISCHER et al., 2005; FISCHER et al., 2010; BUENO et al. 2010; DARIVA, 2011; SILVA et al., 2011; FLORES et al., 2012; SILVA et al., 2013; FLORES e BRUCKNER, 2014), no entanto as pesquisas não tem apresentado resultados consistentes e aplicáveis, que propicie total acurácia para avaliação do comportamento de genótipos sob condições controladas.

Observação em campo tem demonstrado que plantas cultivadas em área com histórico de fusariose manifestam sintomas de forma acentuada quando submetidas a baixa disponibilidade hídrica, seguido de período chuvoso e posterior restrição hídrica. Essas observações são pertinentes para aplicação em condições controladas, pois as plantas inoculadas e submetidas a restrição hídrica poderão se comportar como as plantas produzidas em campo, manifestando sintomas de murcha após restrição hídrica e rehidratação.

### **Caracterização anatômica**

A caracterização anatômica possibilita identificar estruturas constitutivas que estão associadas à penetração do patógeno, seja por meio de barreiras já existentes na planta (constitutivas), como parede celular, tricomas, estômatos e compostos fenólicos, ou por meio de estruturas e substâncias pré-formadas, a exemplo de tiloses, saponinas e glicosídeos cianogênicos. Após penetração e/ou reconhecimento do patógeno a resistência pode-se ainda dar-se através de interações bioquímicas, mediante síntese de enzimas, espécies reativas de oxigênio, proteínas relacionadas à fitopatogenicidade e fitoalexinas (LO et al., 2008).

Os estudos que buscam identificar os mecanismos histopatológicos ou histoquímicos associados à interação patógeno-hospedeiro no gênero *Passiflora* são escassos e pouco conclusivos (ORTIZ et al., 2014; FORERO et al., 2015). No entanto, vários estudos realizados com outras culturas têm demonstrado a importância dessa linha de pesquisa na compreensão de patossistemas, identificando mecanismos de resistências e distinção entre espécies resistentes e suscetíveis que são fundamentais para o desenvolvimento de cultivares resistentes (OLIVAIN e ALABOUVETTE, 1999; FERREIRA et al., 2007; KNIGHT e SUTHERLAND, 2011; LI et al., 2011; COVARELLI et al., 2012; KNIGHT e SUTHERLAND, 2013).

Dentre as espécies do gênero *Passiflora*, alguns acessos das espécies *P. gibertii*, *P. alata*, *P. nitida* e *P. setacea* são descritos como resistentes à fusariose (RONCATTO, et al., 2004; CAVICHIOLI et al. 2011a; CAVICHIOLI et al. 2011b). Porém, não se sabe quais estruturas ou interações bioquímicas estão presentes nestas espécies e que lhes conferem resistência ao *Fop*. Dessa forma, há carências de estudos que elucidem as diferenças anatômicas em resposta à infecção do *Fop*, buscando reconhecer prováveis mecanismos de defesa ou estruturas constitutivas presentes em espécies potencialmente resistentes.

## REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL. **Maracujá Irrigado - Custo de Produção de 2015**. Informe econômico FNP, São Paulo, 2016. Disponível em: <<http://www.agriannual.com.br/>>. Acesso em: 17 de junho de 2016.
- AGRIOS, G. N. **Diseases caused by fungal-like organisms**. In: AGRIOS, G. N. *Plant Pathology*. 5 ed. São Paulo: Elsevier Academic Press, 2004. p. 404-414.
- ALABOUVETTE, C.; OLIVAIN, C.; MIGHELI, Q.; STEINBERG, C. Microbiological control of soil-borne phytopathogenic fungi with special emphasis on wilt-inducing *Fusarium oxysporum*. **New Phytologist**, v. 184, n. 3, p. 529-544, 2009.
- BAUTISTA, D.; SALAS, A. Crescimento vegetativo, reprodutivo y rendimientos de la parchita conducida em emparrado. **Agronomia Tropical**, v. 45, p. 331-345, 1995.
- BEDENDO, I.; AMORIM, L. Ambiente e Doença. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. Cap. 7, p. 133-148.
- BERNACCI, L. C.; SOARES SCOTT, M. D.; JUNQUEIRA, N. T. V.; PASSOS, I. R. S.; MELETTI, L. M. M. *Passiflora edulis* SIMS: the correct taxonomic way to cite the yellow passion fruit (and of others colors). **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 30, n. 2, p. 566- 576, 2008.
- BISHOP, C. D.; COOPER, R. M. An ultrastructural study of vascular colonization in three vascular wilt diseases I. Colonization of susceptible cultivars. **Physiological Plant Pathology**, v. 23, n. 3, p. 323–343, 1982.
- BUENO, C. J.; FISCHER, I. H.; PARISI, M. C. M.; FURTADO, E. L. Comportamento do maracujazeiro amarelo, variedade afruvec, ante uma população de *Fusarium solani*, agente causal da podridão do colo. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 533-537, 2010.
- BUENO, C. J.; FISCHER, I. H.; ROSAC, D. D.; FIRMINOD, A. C.; HARAKAVAE, R.; OLIVEIRA, C. M. G.; FURTADO, E. L. *Fusarium solani* f. sp. passiflorae: a new

forma specialis causing collar rot in yellow passion fruit. **Plant Pathology**, v. 63, n. 2, p. 382–389, 2014.

CARVALHO, A. B.; COELHO, V. J.; ARAÚJO, K. L.; SIQUEIRA, K. A.; NEVES, S. M. A. S.; SOARES, M. A.; NEVES, L. G. Genetic variability of *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. passiflorae isolates from Pantanal, Amazon and Cerrado biomes of Mato Grosso, Brazil. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 53, p. 4990-4997, 2015.

CARVALHO, A. M. B.; CARVALHO, A. M. Nota preliminar sobre a ocorrência de *Fusarium* sp. em plantas de maracuja, no Estado de São Paulo. **Ciência e Cultura** v. 20, n. 2, p. 265-266, 1968.

CAVICHIOLO, J. C.; CORRÊA, L. C.; BOLIANI, A. C.; OLIVEIRA, J. C. de. Uso de câmara úmida em enxertia hipocotiledonar de maracujazeiro-amarelo sobre três porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 31, n; 2, p. 532-538, 2009.

CAVICHIOLO, J. C.; CORRÊA, L. de S.; BOLIANI, A. C.; SANTOS, P. C. dos. Desenvolvimento e produtividade do maracujazeiro-amarelo enxertado em três porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 558-566, 2011a.

CAVICHIOLO, J. C.; CORRÊA, L. de S.; GARCIA, M. J. de M.; FISCHER, I. H. Desenvolvimento, produtividade e sobrevivência de maracujazeiro-amarelo enxertado e cultivado em área com histórico de morte prematura de plantas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 567-574, 2011b.

CEDEÑO, L.; PRÜ, E. L. P.; MARQUES, N. J.; TAVIRA, M. E. *Nectria haematococca*, agente causal de la muerte repentina de la parchita em Venezuela. **Fitopatología Venezolana**. v. 3, p. 15-18, 1990.

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

COLE, D. L.; HEDGES, R.; NDOWORA, T. A wilt of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) caused by *Fusarium solani* and *Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae*. **Tropical Pest Management** v. 38, n. 4, p. 362-366, 1992.

CORRÊA, L. de S.; CAVICHIOLI, J. C.; OLIVEIRA, J. C. de; BOLIANI, A. C. Uso de câmara úmida em enxertia convencional de maracujazeiro-amarelo sobre três porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 32, n. 2, p. 591-598, 2010.

COVARELLI, L.; BECCARI, G.; STEED, A.; NICHOLSON, P. Colonization of soft wheat following infection of the stem base by *Fusarium culmorum* and translocation of deoxynivalenol to the head. **Plant Pathology**, v.61, p.1121-1129, 2012.

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

EMECHEBE, A. M.; MUKIIBI, J. *Nectria collar* and root rot of passion fruit in Uganda. **Plant Disease Reporter**. v. 60, p. 227-231, 1976.

ESQUIVEL, E. A.; LABRADOR, E. **Cultivo del Maracuya**, Chiriqui, Panama, 44p. 1977.

FERREIRA, R. B.; MONTEIRO, S. A. R. A.; FREITAS, R.; SANTOS, C. N.; CHEN, Z.; BATISTA, L. M.; DIARTE, J.; BORGES, A.; TEIXEIRA, A. R. The role of plant defence proteins in fungal pathogenesis. **Molecular Plant Pathology**, v.8, p.677-700, 2007.

FERREIRA, R. B.; RODRIGUES, A. A. C.; MORAES, F. H. R.; CANDIDO, E. K.; DE OLIVEIRA NASCIMENTO, I. Resíduos Orgânicos no Controle de *Fusarium Oxysporum* f. sp. *Passiflorae* em Maracujazeiro Amarelo. **Acta Biológica Colombiana**, v. 20, n. 3, p. 1-11, 2015.

FISCHER I. H.; LOURENÇO, A. S.; MARTINS, M. C.; KIMATI, H.; AMORIM, L. Seleção de plantas resistentes e de fungicidas para o controle da podridão do colo

do maracujazeiro causada por *Nectria haematococca*. **Fitopatologia Brasileira**. v. 30, n. 3, p. 250-258, 2005.

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

FISCHER, I. H.; REZENDE, J. A. M. Diseases of passion flower (*Passiflora* spp.). **Pest technology**, v. 2, n. 1, p. 1–19, 2008.

FLORES, P. S.; BRUCKNERII, C. H. Raios gama na sobrevivência de plantas de maracujazeiro amarelo inoculadas com *Fusarium oxysporum* f sp. *passiflorae*. **Ciência Rural**, v. 44, n. 4, p. 639-644, 2014.

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

FORERO, R.; ORTIZ, E.; de LEÓN, W.; GÓMEZ, J. C.; HOYOS-CARVAJAL, L. Análisis de la resistencia a *Fusarium oxysporum* en plantas de *Passiflora maliformis* L. **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**, v.9, p.197-208. 2016.

FREITAS, J. C. O.; PIO VIANA, A.; SANTOS, E. A.; PAIVA, C. L.; SILVA, F. H. LIMA; AMARAL JUNIOR, A. T. do; SOUZA, M. M.; DIAS, V. M. Resistance to *Fusarium solani* and characterization of hybrids from the cross between *P. mucronata* and *P. edulis*. **Euphytica**, v. 208, n. 3, p. 493–507, 2016.

FREITAS, J. C. O.; PIO VIANA, A.; SANTOS, E. A.; SILVA, F. H. L.; PAIVA, C. L.; RODRUGUES, R.; SOUZA, M. M.; EIRAS, M. Genetic basis of the resistance of a passion fruit segregant population to *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV). **Tropical Plant Pathology**. v. 40, n. 5, p. 291–297, 2015.

GANGA, R. M. D.; RUGGIERO, C.; LEMOS, E. G. de M.; GRILI, G. V. G.; GONÇALVES, M. M.; CHADAS, E. A.; WICKERT, E. Diversidade genética em

maracujazeiro-amarelo utilizando marcadores moleculares FAFLP. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 26, n. 3, p. 494-498, 2004.

GOSMANN, G.; PROVENSI, G.; COMUNELLO, L. N.; RATES, S. M. K. Composição química e aspectos farmacológicos de espécies de *Passiflora* L. (*Passifloraceae*). **Revista Brasileira de Biociências**. v. 9, n.1, p. 88-99, 2011.

GRECH, N. M.; RIJKENBERG, F. H. J. Laboratory and field evaluation of the performance of *Passiflora caerulea* as a rootstock tolerant to certain fungal pathogens. **Journal of Horticultural Science**, v. 66, p. 725-729, 1991.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento da produção nacional de maracujá no ano de 2016. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/1613>>. Acesso em: 15 de novembro de 2017.

JESUS, O. N. de; MACHADO, C. de F.; SOARES, T. L.; JUNGHANS, T. G.; OLIVEIRA, E. J.; FALEIRO, F. G. F. **Recursos genéticos de *Passiflora* na Embrapa Mandioca e Fruticultura**. In. CARRANZO, C.; OCAMPO, J. Congresso latino-americano de passifloras. Neiva, Huila, Colombia, 2013.

JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; BERNACCI, L. C. **Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças**. Maracujá: Germoplasma e melhoramento genético, 79-108, 2005.

KIELY, T.B.; COX, J. E. Fusarium wilt disease of passion vines. **The Agricultural Gazette of New South Wales** v. 72, p. 275-276, 1961.

KNIGHT, N. L.; SUTHERLAND, M. W. A rapid differential staining technique for *Fusarium pseudograminearum* in cereal tissues during crown rot Infections. **Plant Pathology**, v.60, p.1140-1143, 2011.

KNIGHT, N. L.; SUTHERLAND, M. W. Histopathological assessment of wheat seedling tissues infected by *Fusarium pseudograminearum*. **Plant Pathology**, v.62, p.6679-687, 2013.

LENZA, J. B.; VALENTE, J. P.; RONCATTO, G.; ABREU, J. A. de. Desenvolvimento de mudas de maracujazeiro propagadas por enxertia. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.31, n.4, p.1.135-1.140, 2009.

LI, W. M.; QIAN, C. M.; MO, Y. W.; HU, Y. L.; XIE, J. H. Tolerance of banana for fusarium wilt is associated with early H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation in the roots. **African Journal of Biotechnology**, v.10, p.11378-11387. 2011.

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

LIBERATO, J. R. Controle das doenças causadas por fungos, bactérias e nematóides em maracujazeiro. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R. DO; MONTEIRO, J. A.; COSTA, H. **Controle de doenças de plantas: Fruteiras**. Viçosa: UFV, 2002. p. 699-825.

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

LIN, Y. S.; CHANG, H. J. Collar rot of passion fruit possibly caused by *Nectria haematococca* in Taiwan. In: PARKER, C. A.; ROVIRA, A. D.; MOORE, K.J.; WONG, P. T. W.; KOLLMORGEN, J. F. (Eds) **Ecology and Management of Soilborne Plant Pathogens**, APS Press, St Paul, Minnesota, p. 41-45. 1985.

LO, S. C.; Compostos fenólicos e a importância nas doenças em plantas. In: PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J. R.; CIA, P (org.) **Interação Planta-patógeno: Fisiologia Bioquímica e Biologia Molecular**. Piracicaba: FEALQ, 2008. 627p.

MACHARDY, W.; BECKMAN, C. H. Vascular Wilt Fusaria: Infection and pathogenesis. In: NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A.; COOK, R. J. (Ed.) **Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy**. Pennsylvania: Pennsylvania State University Press, p. 365-369. 1981.

MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G. Epidemiologia de doenças radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais**. Recife: UFRPE, Imprensa Univertária, p.125-148. 2005.

MANICOM, B. Q. RUGGIERO, C.; PLOETZ, RANDY C.; GOES, A. de. Diseases of passion fruit. In: PLOETZ, R.C. (Ed.) **Diseases of tropical fruit crop**. Wallingford: CABI Publishing, 2003. p. 413-441, 2003.

MAPA, Ministério da Agricultura Abastecimento e Pecuária, Registro Nacional de Cultivar. Disponível em <[http://extranet.agricultura.gov.br/php/snpc/cultivarweb/cultivares\\_registradas.php](http://extranet.agricultura.gov.br/php/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php)>. Acesso em 25 de maio de 2016.

MCKNIGHT, T. A. Wilt disease of the passion vine (*Passiflora edulis*) caused by a species of *Fusarium*. **Queensland Journal of Agricultural Society** v. 8, p. 1-4, 1951.

MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 33, n. SPE, p. 83-91, 2011.

MELETTI, L. M. M.; SANTOS, R. R. dos; MINAM, K. Melhoramento do maracujazeiro-amarelo: obtenção do cultivar 'composto IAC-27'. **Scientia Agrícola**, v. 57, n. 3, p. 491- 498, 2000.

MENDGEN, K.; HAHN, M.; DEISING, H. Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. **Annual Review of Phytopathology**, v. 34, p. 364-386, 1996.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. UFRPE, Recife, Imprensa Universitária, 2005. 398 p.

MORGADO, M. A. D.; BRUCKNER, C. H.; ROSADO, L. D. S.; SANTOS, C. E. M. dos. Desenvolvimento de mudas de maracujazeiro-azedo enxertadas em espécies silvestres de *Passiflora*. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 37, n. 2, p. 471- 479, 2015.

NELSON, P. E. **Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum***. In: MACE, M. E.; BELL, A. A. BECKMAN, C. H. (Eds) *Fungal Wilt Plants of Disease*, Academic Press, New York, p. 51- 80, 1981.

NOGUEIRA FILHO, G. C.; RONCATTO, G. R.; RUGGIERO, C.; OLIVEIRA, J. C.; MALHEIROS, E. B. Desenvolvimento e produção das plantas de maracujazeiro-amarelo produzidas por enxertia hipocotiledonar sobre seis porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 535-543, 2010a.

NOGUEIRA FILHO, G. C.; RONCATTO, G. R.; RUGGIERO, C.; OLIVEIRA, J. C. de; MALHEIROS, E. B. Produção de mudas de maracujazeiro-amarelo por enxertia hipocotiledonar sobre sete espécies de passifloras. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 33, n. 1, p. 237-245, 2011.

NOGUEIRA FILHO, G. C.; RONCATTO, G.; RUGGIERO, C.; OLIVEIR, J.C.de; MALHEIROS, E.B. Estudo da enxertia hipocotiledonar do maracujazeiro-amarelo sobre dois porta-enxertos, através de microscopia eletrônica de varredura. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 32, n. 2, p. 647-652, 2010c.

NOGUEIRA FILHO, G. C.; RONCATTO, G.; RUGGIERO, C.; OLIVEIRA, J. C. de. MALHEIROS, E. B. Desenvolvimento de plantas de maracujazeiro-amarelo produzidas por enxertia hipocotiledonar em cinco porta-enxertos de passifloras silvestres. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 527-534, 2010b.

NOGUEIRA FILHO, G.C.; RONCATTO, G.; RUGGIERO, C.; OLIVEIRA, J.C.de; MALHEIROS, E.B.; DAMIÃO FILHO, C.F. Aspectos histológicos da união da enxertia hipocotiledonar do maracujazeiro-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 515-521, 2010d.

NOGUEIRA, E. A.; MELLO, N. T. C. de; RIGHETT, P. R.; SANNAZZARO, A. M. (2003). **Produção integrada de frutas: a inserção do maracujá paulista**. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=892>>. Acesso em: 30 de maio de 2016.

OCAMPO, J.; ARIAS, J. C.; URREA, R. Interspecific hybridization between cultivated and wild species of the genus *Passiflora* L. **Euphytica**. v. 209, p. 395-408, 2016.

OLIARI, L. S.; GILES, J. A. D.; MAYRINCK, L. G.; OLIVEIRA, J. P. B.; LOPES, J. C.; OTONI, W. C., ALEXANDRE, R. S. Mini-grafting of adult '*Passiflora edulis*' Sims f. 'flavicarpa' Deg. scions onto vegetatively propagated adult rootstocks of '*P. mucronata*' Lam. **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, n. 4, p. 490-496, 2016.

OLIVAIN, C.; ALABOUVETTE, C. Process of tomato root colonization by a pathogenic strain of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in comparison with a non-pathogenic strain. **New Phytologist**, v. 141, p. 497-510, 1999.

OLIVEIRA, E. J. de. SOARES, T. L.; BARBOSA, C. de J. SANTOS-FILHO, H. P.; JESUS, O. N. de. Severidade de doenças em maracujazeiro para identificação de fontes de resistência em condições de campo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 485-492, 2013.

ORTIZ, E. C.; HOYOS, L. M. C. Descripción de la sintomatología asociada a fusariosis y comparación con otras enfermedades en gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) en la región del Sumapaz (Colombia). **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**. v. 6, n. 1, p. 110-116, 2012.

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

PÉREZ, J. O.; D'EECKENBRUGGE, G. C.; RESTREPO, M.; JARVIS, A.; SALAZAR, M.; CAETANO, C. Diversity of Colombian *Passifloraceae*: biogeography and an updated list for conservation. **Biota Colombiana**, v. 8, n. 1, p. 1-45, 2007.

PIRES, M. de C.; YAMANISHI, O. K.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SOUSA, M. A. de F. Enxertia de progênies de maracujazeiro-roxo australiano em espécies nativas. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 31, n. 3, p. 823-830, 2009.

POWER R. H.; VERHOEFF, K. Dieback of passion fruit in Surinam. **Hytopathologische Zeitschrift**. v. 110, p. 336-345, 1984.

PREISIGKE, S. da; MARTINI, F. V.; ROSSI, A. A. B.; SERAFIM, M. E.; BARELLI, M. A. A.; LUZ, P. B. da; ARAÚJO, K. L.; NEVES, L. G. Genetic variability of *Passiflora* spp. against collar rot disease. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 1, p. 69-74, 2015.

RONCATTO, G.; ASSIS, G. M. L. de; OLIVEIRA, T. K. de; LESSA, L. S. Aspectos vegetativos de combinações copa/porta-enxerto em maracujazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 33, n. 3, p. 791-797, 2011.

RONCATTO, G.; OLIVEIRA, J.C. de; RUGIERO, C.; NOGUEIRA FILHO, G.C.; CENTURION, M. A. P. da C.; FERREIRA, F. R. Comportamento de maracujazeiros (*Passiflora* spp.) quanto à morte prematura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 3, p. 552-554, 2004.

SANTOS FILHO, H, P.; SANTOS, C. C. F. dos. In: SANTOS FILHO, H, P.; JUNQUEIRA, N. T.V. **Maracujá: Fitossanidade**. Brasília-DF. Embrapa Informação Tecnológica, 2003, p. 12-21.

SANTOS, C. H. B.; CRUZ NETO, A. J.; SOARES, T. L.; OLIVEIRAI, E. J. de; JESUS, O. N. de; GIRARDI, E. A. Porta-enxertos e fixadores de enxerto para enxertia hipocotiledonar de maracujazeiro azedo. **Ciência Rural**, v. 46, n. 1, p. 30-35, 2016.

SANTOS, E. A.; PIO VIANA, A.; FREITAS, J. C. de O.; RODRIGUES, D. L.; TAVARES, R. F.; PAIVA, C. L.; SOUZA, M. M. Genotype selection by REML/BLUP methodology in a segregating population from an interspecific *Passiflora* spp. crossing. **Euphytica**. v. 204, n. 1, p. 1–11, 2015.

SANTOS, E. A.; SOUZA, M. M.; ABREU, P. P.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S. da; ARAÚJO, I. S.; PIO VIANA, A.; ALMENIDA, A. F. de; FREITAS, J. C. de. Confirmation and characterization of interspecific hybrids of *Passiflora* L. (*Passifloraceae*) for ornamental use. **Euphytica**, v. 184, n. 3, p. 389-399, 2012.

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

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

SILVA, A. dos S.; OLIVEIRA, E. J. de; LARANJEIRA, F. F.; JESUS, O. N. de. **Seleção de metodologias para inoculação da fusariose do maracujazeiro causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *Passiflorae***. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2011. 20p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 51).

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

ULMER, T.; MACDOUGAL, J. M. **Passiflora: Passionflowers of the World**. 276p. 2004.

VIANA, F. M. P.; FREIRE, F. das C. O.; CARDOSO, J. E.; VIDAL, J. C. **Principais Doenças do Maracujazeiro na Região Nordeste e seu Controle**. Comunicado Técnico 86, Embrapa, Fortaleza – CE, 2003.

YOCKTENG, R.; D'EECKENBRUGGE, G. C.; SOUZA-CHIES, T. T. Passiflora. In: WILKINS, R. **Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources**. Tropical and Subtropical Fruits. Edited by C. Kole. Heidelberg, Germany: Springer (2012), 256p.

ZERAIK, M. L.; PEREIRA, C. A. M.; ZUIN, V. G.; YARIWAKE, J. H. Maracujá: um alimento funcional? **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 20, n. 3, p. 459-471, 2011.

ZERBINI, F. M.; OTONI, W. C.; VIEIRA, M. L. C. **Passionfruit**. In. Transgenic Tropical and Subtropical Fruits and Nuts Published Online: 15 APR 2009.

**ARTIGO 1**

**Initial vegetative growth and graft region anatomy of yellow  
passionfruit on *Passiflora* spp. rootstocks**

**Initial vegetative growth and graft region anatomy of yellow passion fruit on  
*Passiflora* spp. rootstocks**

Lucas Kennedy Silva Lima <sup>a</sup>, Taliane Leila Soares <sup>b</sup>, Everton Hilo de Souza <sup>b</sup>,  
Onildo Nunes de Jesus <sup>b,\*</sup>, Eduardo Augusto Girardi <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Center of Agricultural, Environmental and Biological Sciences, Federal University of Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, 44380-000, Brazil

<sup>b</sup> Embrapa Cassava and Fruits, Cruz das Almas, BA, 44380-000, Brazil.

E-mail addresses: lucas18kennedy@gmail.com (L.K.S Lima), talialeila@gmail.com (T.L. Soares), hilosouza@gmail.com (E.H. Souza), onildo.nunes@embrapa.br (O.N. Jesus), eduardo.girardi@embrapa.br (E.A. Girardi)

\* Corresponding author. Fax: +55 75 3312-8052; e-mail: onildo.nunes@embrapa.br

**ABSTRACT**

The grafting of the yellow passion fruit onto wild species tolerant to *Fusarium* spp. is an alternative practice for this disease control. High vigor and tissue compatibility between the scion and the rootstock are critical for the production of grafted passiflora nursery trees. The initial plant growth and histological aspects of the graft union were evaluated on two *Passiflora edulis* genotypes grafted onto *P. edulis*, *P. gibertii*, *P. alata*, *P. nitida* and backcross BC1 [(*P. edulis* x *P. cincinnata*) x *P. edulis*]. Plant survival was high (~90%) up to 60 days after grafting, regardless of the scion neither the rootstock, and in relation to the respective non-grafted seedlings. *P. gibertii* resulted in higher plant emergence after *P. edulis*, higher growth of seedling rootstocks and induced higher length of the *P. edulis* graft. The complete union between tissues was observed in *P. edulis* grafted onto *P. edulis*, *P. gibertii* and BC1 60 days after grafting. On the other hand, a discrete structural disorganization with incomplete adhesion and phenolic compounds accumulation were verified in the connection of *P. edulis* onto *P. nitida* and *P. alata*, suggesting partial graft incompatibility, even though grafted plants growth was restored. All evaluated genotypes have potential of use as rootstock of the yellow passion fruit. The graft connection may be enhanced on hybrid rootstocks of *P. edulis* with wild species.

**Keywords:** *Passiflora* spp.; graft compatibility; histology; nursery tree production; rootstock.

## 1. Introduction

The passion fruit vine is well adapted to Brazilian edaphoclimatic conditions and is one of the main sources of income for family farmers in some regions of the country. Brazil is the world's leading producer of yellow passion fruit, with output in 2014 of 823 thousand metric tons from 57 thousand hectares (yield of 14.48 t ha<sup>-1</sup>). Cultivation is concentrated in the Northeast region, especially the state of Bahia, responsible for 46% of national production (IBGE, 2015).

However, the useful lifetime and economic feasibility of passion fruit orchards have been declining in recent years due to phytosanitary problems, in particular root system diseases, such as fusarium wilt and collar rot, caused respectively by the fungi *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* and *F. solani* (Bueno et al., 2014; Carvalho et al., 2015; Preisigke et al., 2015). Because it is a vascular disease, there are no efficient methods to control fusarium wilt, so the main countermeasures are preventive (Karim et al., 2013).

One of the ways to reduce the effects of fusarium wilt is to use resistant rootstocks (Santos et al., 2016). Various wild species have been studied as potential rootstocks for grafting of yellow passion fruit due to these species' resistance to fusarium wilt, among them *P. gibertii* N. E. Br., *P. alata* Curtis, *P. cincinnata* Mast., *P. capsularis* L., *P. nitida* Kunth, *P. laurifolia* L., *P. morifolia* Mast. and *P. foetida* L. (Roncatto et al., 2004; Silva et al., 2013).

The use of grafted nursery plants is not widespread in commercial passion fruit orchards because of the higher cost of producing these plants, the longer time for their formation, low graft success and reduced vigor inherent to the rootstock utilized. Therefore, further studies are necessary to improve this technique (Nogueira Filho et al., 2010a; Morgado et al., 2015).

The decline in vigor of yellow passion fruit scions when grafted on some *Passiflora* species can be associated with differences in the stem diameter between scion and rootstock, and distinct anatomical characteristics in the graft region, hindering the connection between the vascular tissues (Gainza et al., 2015; Morgado et al., 2015). The compatibility between scion and rootstock can be assessed by morphoagronomic studies and histological analysis, although

anatomical studies of the graft region are rare for passion fruit vines (Nogueira Filho et al., 2010a; Nogueira Filho et al., 2010b) in relation to other fruit crops (Aloni et al., 2008; Pina et al., 2012; Cookson et al., 2013; Trinchera et al., 2013).

Because of this dearth of studies, we evaluated the initial vegetative growth and histological aspects of the graft region of yellow passion fruit grafted on five *Passiflora* spp. rootstocks.

## 2. Material and methods

### 2.1. Description of the experiment

The experiment was conducted in a greenhouse with transparent plastic film cover, located in Cruz das Almas, Bahia (12° 39' 25" S, 39° 07' 27" W, 222 m) from July 2014 to January 2015. The temperature in the greenhouse was maintained at 28 °C ± 2 and an automatic sprayer was activated any time the relative air humidity fell below 45%. Seeds stored for three months in a cold chamber (10 °C ± 2, RH ≈ 50%) were sown in plastic trays, and 55 days later the plantlets were transplanted to polyethylene bags (22 x 12 cm). The substrate consisted of a mixture of coconut fiber, decomposed pine bark, vermiculite and vegetable soil (2:1:1:2, v:v; pH in water 5.8; P 232 mg d<sup>-3</sup>; K 2.15; Ca 10.28; Mg 3.68; Al 0.0; Na 0.65; H + Al 3.74; SB 16.77; CTC 20.51 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; V % 82; MO 108.0 g kg<sup>-1</sup>; Cu 0.46; Fe 69.93; Zn 16.24; Mn 82.45 mg dm<sup>-3</sup>; water retention of 29.6, 24.6, 21.1, 16.7 and 15.8% for, respectively, 0.1, 0.3, 1.0, 3.0 and 15.0 atm).

Foliar fertilization was performed weekly, starting 30 days after transplantation, using 1.0 and 0.5 g L<sup>-1</sup> of calcium nitrate and potassium nitrate, respectively. The leaves were also sprayed with a bactericide based on casugamicin (20 g L<sup>-1</sup>) every two weeks. The plants were watered daily by automatic microspraying, activated between 7:00 and 7:20 a.m.

### 2.2 Plant material

Five passion fruit genotypes were used as rootstocks: *P. edulis* f. *flavicarpa* (HFOP-08), *P. alata* (BGP 393), *P. gibertii* (BGP 008), *P. nitida* (BRS Terra Nova)

and a backcross BC1 – resultant from the cross [(*P. cincinnata* (BGP 077) x *P. edulis* (BGP330)) x *P. edulis* (BGP330)]. The scions were two yellow passion fruit (*P. edulis*) genotypes, the commercial cultivar BRS Rubi do Cerrado and the intraspecific hybrid HFOP-08. Non-grafted seedlings were also studied for all genotypes. Seedling plants were used as source of scions and rootstocks as these genotypes presented good and uniform horticultural performance and fusarium wilt resistance in previous works (Roncatto et al., 2004; Morgado et al., 2015; Silva et al., 2013; Santos et al., 2016).

### 2.3 Vegetative growth

The rootstocks were sown 50 days before the scions, aiming to produce plants with compatible stem diameters at the moment of grafting. The grafting on *P. nitida*, *P. alata* and *P. gibertii* was done 125 days after sowing (DAS), while on HFOP-08 and BC1 it was 75 DAS. The cleft grafting method was used, with variation in the height of the grafting point in function of the stem diameter compatibility between rootstock and scion. For HFOP-08, *P. nitida* and BC1, the grafting height varied from 15 to 20 cm, while for *P. alata* and *P. gibertii* it ranged from 20 to 25 cm. The other grafting procedures followed the method described by Santos et al. (2016).

The percentage of plant emergence was determined every five days until 50 DAS. This variable was investigated by a completely randomized experimental design, with six replications of 100 seeds for *P. alata*, *P. nitida* and *P. gibertii*, five replications of 200 seeds for BRS Rubi do Cerrado and HFOP-08 (scions) and three replications of 50 seeds for BC1. Before grafting, the stem diameter (SD) at height of 10 cm was measured with a digital pachymeter, the plant height (PH) was measured with a millimeter measuring tape, and the number of fully expanded leaves per plant was counted (NL). The experimental design for these measurements was also completely randomized, with five replications of 10 plants in each plot.

On the 30th and 60th days after grafting (DAG), the height of the grafted scion from the graft point to the apex (HGS), stem diameter in the graft region (SD), number of scion leaves (NSL) and scion survival percentage were determined. To

evaluate the shoot dry weight (SDW) and root dry weight (RDW), two plants per plot were used, collected at 65 DAG, except for *P. nitida*, which was not evaluated due to the low number of plants obtained. For the same reason, non-grafted seedlings of *P. nitida* and BC1 were also not evaluated in the trial after grafting of the available seedlings.

#### *2.4. Anatomical analysis*

For the anatomical study, the scion variety BRS Rubi do Cerrado and the five rootstock genotypes previously identified were used, along with non-grafted seedlings as controls. The analyses were carried out 60 DAG with three biological replications. Stem segments with approximate length of 2 cm were removed with a scalpel and fixed in a 70% FAA solution (Johansen, 1940) for 48 h. Then the samples were immersed in 10% sodium sulfate for 48 h to soften the tissues. Next, the samples were dehydrated in an increasing ethanol series (35-100%) for 6 h, slowly infiltrated in historesin: ethanol in proportions of 1:3, 2:3, 1:1 and 2:1 for 72 h each, and last in pure resin for one week. The samples were embedded and the polymerization occurred at a room temperature for 48 h. Serial histological sections (5.0  $\mu\text{m}$ ) were obtained with a Leica RM 2155 rotary microtome (Leica, Nussloch, Germany), placed on slides and stained with acid fuchsine (0.1% p/v), followed by toluidine blue (0.05% p/v) (Feder and O'Brien, 1968). The histological sections were analyzed and photographed with an Olympus BX51 microscope coupled to an Olympus DP75 digital camera (Olympus, Tokyo, Japan).

#### *2.5 Statistical data analysis*

The experimental design was completely randomized in a 5 x 2 + 4 factorial setup (rootstock x scion + non-grafted seedling), with 14 treatments, three replications and 10 plants per plot. The results were submitted to analysis of variance and the means were compared by the Tukey test ( $p \leq 0.01$ ). The variables HGS and NSL were transformed by  $\sqrt{Y + 1}$  to satisfy the requirements of normal distribution and homogeneous variances.

### 3. Results

The plantlet emergence rates varied among the species studied, with maximum percentages attained by the backcross BC1 [(*P. edulis* x *P. cincinnata*) x *P. edulis*] and the cultivar BRS Rubi do Cerrado (Table 1). Lower emergence rates were recorded 50 DAS among the wild species, with the lowest average being observed for *P. nitida* and the highest for *P. gibertii*, which also presented the greatest plant height and number of leaves before grafting. BRS Rubi do Cerrado and *P. nitida* presented greater stem diameter in relation to HFOP-08, even though *P. nitida* was the smallest seedling plant.

**Table 1.** Emergence and growth of seedling rootstocks of *Passiflora* spp. at the moment of grafting with *P. edulis*.

Rootstock	EM (%)	PH (cm)	SD (mm)	NL (P <sup>-1</sup> )
HFOP-08 <sup>(1)</sup>	60.10 bc	16.27 c	2.27 b	7.0 bc
<i>P. nitida</i>	30.17 d	14.42 c	2.95 a	4.0 c
<i>P. alata</i>	50.76 c	34.58 b	2.85 ab	9.0 b
<i>P. gibertii</i>	67.00 b	119.26 a	2.54 ab	14.0 a
BC1 <sup>(2)</sup>	93.33 a	22.45 bc	2.52 ab	7.0 bc
BRS Rubi <sup>(1)</sup>	90.90 a	19.20 bc	2.94 a	6.0 bc
CV (%)	9.68	13.22	11.25	8.47
Summary of Analysis of Variance				
Mean Square	2828.05**	8093.85**	0.364**	53.91**
Error	36.03	224.08	0.090	2.15

Plantlet emergence (EM), plant height (PH); stem diameter (SD) and number of leaves (NL) per plant. Means followed by the same letter in the column do not differ by the Tukey test ( $p \leq 0.01$ ). \*\* Significant ( $p \leq 0.01$ ) by analysis of variance (F-test). (1) *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, (2) Backcross of *P. edulis* and *P. cincinnata*.

After grafting, only the variable scion height was influenced by the rootstock used, both 30 and 60 DAG (Table 2). The greatest scion height was promoted by *P. gibertii* 60 DAG, while 30 DAG this species only surpassed *P. nitida*. Thirty days after emergence, the majority of the grafted plants were suitable for transplanting to the field, the exception being the plants grafted on *P. nitida*. These results suggest that all the rootstocks studied have potential for subsequent field evaluation.

Considering the difference between the two scions studied, independent of the rootstock, HFOP-08 resulted in greater scion height than BRS Rubi do Cerrado 60 DAG. On the other hand, BRS Rubi do Cerrado induced the greatest root dry weight. For the interaction between grafted rootstock (G) x scion variety (S), we observed that there was no significant effect ( $p \leq 0.05$ ) in all biometric variables studied (Table 2). In the comparison of the grafted plants with the respective non-grafted controls, the latter plants had greater height, number of leaves and root dry weight, as expected because their growth was not interrupted by grafting (Table 2). The shoot dry weight and average survival rate (94%) were equal among the treatments, demonstrating high graft fixation irrespective of the rootstock species. The stem diameter was greater in the grafted seedlings, visually because of the overlap between the tissues resulting from insertion of the wedge in the rootstock cleft. Among the non-grafted plants, the species did not differ in survival rate or stem diameter 30 DAG. *P. gibertii* produced the largest average number of leaves per plant in that period, and the largest stem diameters and dry weight 60 DAG.

**Table 2.** Biometric variables of *P. edulis* plants grafted on *Passiflora* spp. and their respective non-grafted plants, 30 and 60 days after grafting.

Scion (S)	HGS 30 ----- (cm)	HGS 60 -----	SD 30 ----- (mm)	SD 60 ----	NSL 30 ---- (P <sup>-1</sup> )	NSL 60 -----	SUR ----- (%)	SUR 60 -----	SDW ----- (g/P <sup>-1</sup> )	RDW
BRS Rubi <sup>(1)</sup>	14.0 a	22.0 b	4.2 a	4.8 a	6.0 a	8.0 a	95.0 a	94.3 a	5.4 a	2.4 a
HFOP-08 <sup>(1)</sup>	14.0 a	35.7 a	4.3 a	4.6 a	6.0 a	8.0 a	88.0 a	86.0 a	4.4 a	1.5 b
Grafted rootstocks (G)										
HFOP-08	14.2 ab	26.5 b	4.4 a	4.8 a	6.0 a	7.0 a	95.0 a	93.3 a	5.1 a	1.9 a
<i>P. nitida</i>	7.9 b	21.7 b	4.6 a	4.9 a	6.0 a	7.0 a	94.0 a	90.0 a	----	----
<i>P. alata</i>	16.8 a	26.6 b	4.3 a	4.6 a	7.0 a	8.0 a	96.7 a	90.0 a	3.6 a	2.1 a
<i>P. gibertii</i>	17.7 a	44.9 a	4.2 a	4.5 a	6.0 a	8.0 a	98.3 a	98.3 a	4.9 a	1.5 a
BC1 <sup>(2)</sup>	12.9 ab	24.4 b	3.8 a	4.7 a	6.0 a	8.0 a	75.0 a	75.0 a	5.7 a	2.3 a
Grafted (G) vs. Non-grafted (NG)										
Grafted	14.1 b	29.0 b	4.2 a	4.7 a	6.0 b	8.0 b	91.7 a	90.3 a	4.8 a	1.9 b
Non-grafted	44.4 a	75.0 a	3.2 b	3.7 b	9.0 a	10.0 a	98.3 a	97.5 a	5.9 a	2.4 a
Non-grafted (NG)										
<i>P. alata</i>	48.2 b	57.9 b	3.6 a	3.8 ab	11.0 a	10.0 b	100.0 a	100.0 a	3.9 b	2.9 a
<i>P. gibertii</i>	71.6 a	108.0 a	2.6 a	3.1 b	10.0 a	15.0 a	100.0 a	96.7 a	3.8 b	1.6 b
BRS Rubi	29.6 c	57.0 b	3.5 a	4.3 a	7.0 b	8.0 b	100.0 a	100.0 a	8.0 a	2.7 a
HFOP-08	28.3 c	77.3 ab	3.2 a	3.7 ab	6.0 b	8.0 b	93.00 a	93.0 a	7.9 a	2.4 ab
Summary of analysis of variance										
Scion (S)	0.20 <sup>ns</sup>	1352.5 <sup>**</sup>	0.0 <sup>ns</sup>	0.2 <sup>ns</sup>	0.0 <sup>ns</sup>	0.1 <sup>ns</sup>	290.5 <sup>ns</sup>	420.4 <sup>ns</sup>	5.9 <sup>ns</sup>	4.5 <sup>**</sup>
Grafted (G)	79.3 <sup>*</sup>	499.4 <sup>**</sup>	0.3 <sup>ns</sup>	0.2 <sup>ns</sup>	1.4 <sup>ns</sup>	1.2 <sup>ns</sup>	544.3 <sup>ns</sup>	269.9 <sup>ns</sup>	4.9 <sup>ns</sup>	0.7 <sup>ns</sup>
G x S	18.8 <sup>ns</sup>	204.9 <sup>ns</sup>	0.4 <sup>ns</sup>	0.10 <sup>ns</sup>	1.1 <sup>ns</sup>	0.2 <sup>ns</sup>	19.9 <sup>ns</sup>	115.7 <sup>ns</sup>	4.6 <sup>ns</sup>	0.7 <sup>ns</sup>
Non-grafted (NG)	1228.6 <sup>**</sup>	1712.5 <sup>*</sup>	0.7 <sup>ns</sup>	0.7 <sup>**</sup>	18.9 <sup>**</sup>	34.1 <sup>**</sup>	33.3 <sup>ns</sup>	30.5 <sup>ns</sup>	17.2 <sup>**</sup>	0.9 <sup>**</sup>

G x NG	7808.0**	1796.4**	8.9**	8.0**	43.2**	54.3**	370.7 <sup>ns</sup>	434.5 <sup>ns</sup>	9.0 <sup>ns</sup>	1.6**
Error	24.6	108.6	0.4	0.1	1.4	1.4	330.9	113.6	2.3	0.3
CV (%)	21.58	24.49	16.7	6.64	17.36	13.94	19.42	11.53	29.37	24.9

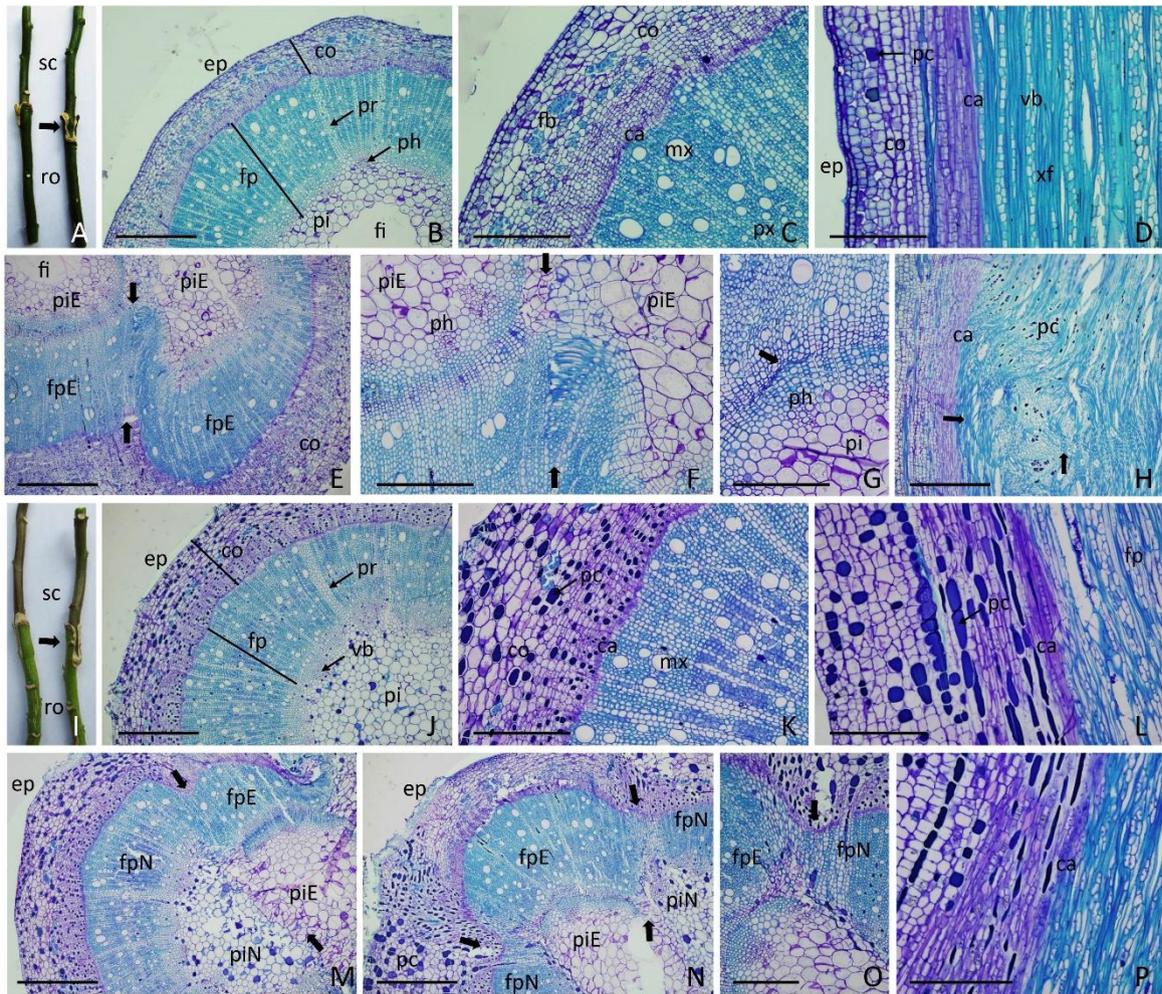
Height of the grafted scion (HGS), stem diameter (SD), number of scion leaves (NCL), survival achieved 30 and 60 days after grafting (SAG), shoot dry weight (SDW) and root dry weight (RDW) 65 days after grafting. Means followed by the same letter in the column do not differ by the Tukey test ( $p \leq 0.01$ ) between the factors of the grafted and non-grafted plants, and by the F-test between scion-rootstock vs. non-grafted plant. ns = not significant, \*significant ( $p \leq 0.05$ ) \*\*highly significant ( $p \leq 0.01$ ) <sup>(1)</sup> *Passiflora edulis*, <sup>(2)</sup> Backcross of *P. edulis* and *P. cincinnata*.

The histological examinations of the transversal and longitudinal sections of the non-grafted plants indicated the occurrence of secondary growth of tissues 135 days after emergence, with normal appearance and maintenance of the structural organization and characteristics of each species, showing turgid and well-delineated cells (Fig. 1B-D, 1 J-L). The epidermis was composed of overlapping isodiametric cells (Fig. 1). The cortical parenchyma presented isodiametric cells and there was variation in the presence of fistulas between *P. edulis* and *P. nitida* (Fig. 1B and 1J).

The transversal sections of the graft region between *P. edulis* (BRS Rubi do Cerrado) and *P. edulis* (HFOP-08) showed perfect joining between the scion and rootstock tissues in the region of the fundamental parenchyma (Fig. 1E-G). This observation is supported by the reestablishment of the vascular connections between the tissues and the observation of overlap of the cells of the two species. It was also possible to distinguish the clear presence of tissues of the medullary parenchyma of both plants (Fig. 1 E-F). The longitudinal section (Fig. 1H) revealed structural disorganization in the constitution of the tissues in comparison with the respective non-grafted *P. edulis* plants (Fig. 1D). This probably happened due to the aspects of the union between scion and rootstock, with multiplication of parenchyma cells, which establish the initial contact between the parts involved.

The stem of *P. nitida* (Fig. 1J-L) presented high concentration of phenolic compounds throughout its structure, with greater concentration in the cortex region. No fistula was observed in the central region of the stem, but well-developed pith was observed, with isodiametric cells of varied dimensions. In the grafted region, it was possible to clearly distinguish *P. edulis* from *P. nitida* (Fig. 1M-N) by the distinct color of the tissue cells of the two species. *P. nitida* presented blue cells,

characteristic of toluidine blue staining, revealing the presence of DNA. In contrast, in *P. edulis* these cells were red, characteristic of acid fuchsin staining, indicating the presence of cellulose, starch and vacuoles in the pith region. Figure 1N reveals a reduction in the length of the fundamental parenchyma in the graft region between the species, as well as areas not filled with tissues (arrow) in the cortex region in the combination between *P. edulis* and *P. nitida*.

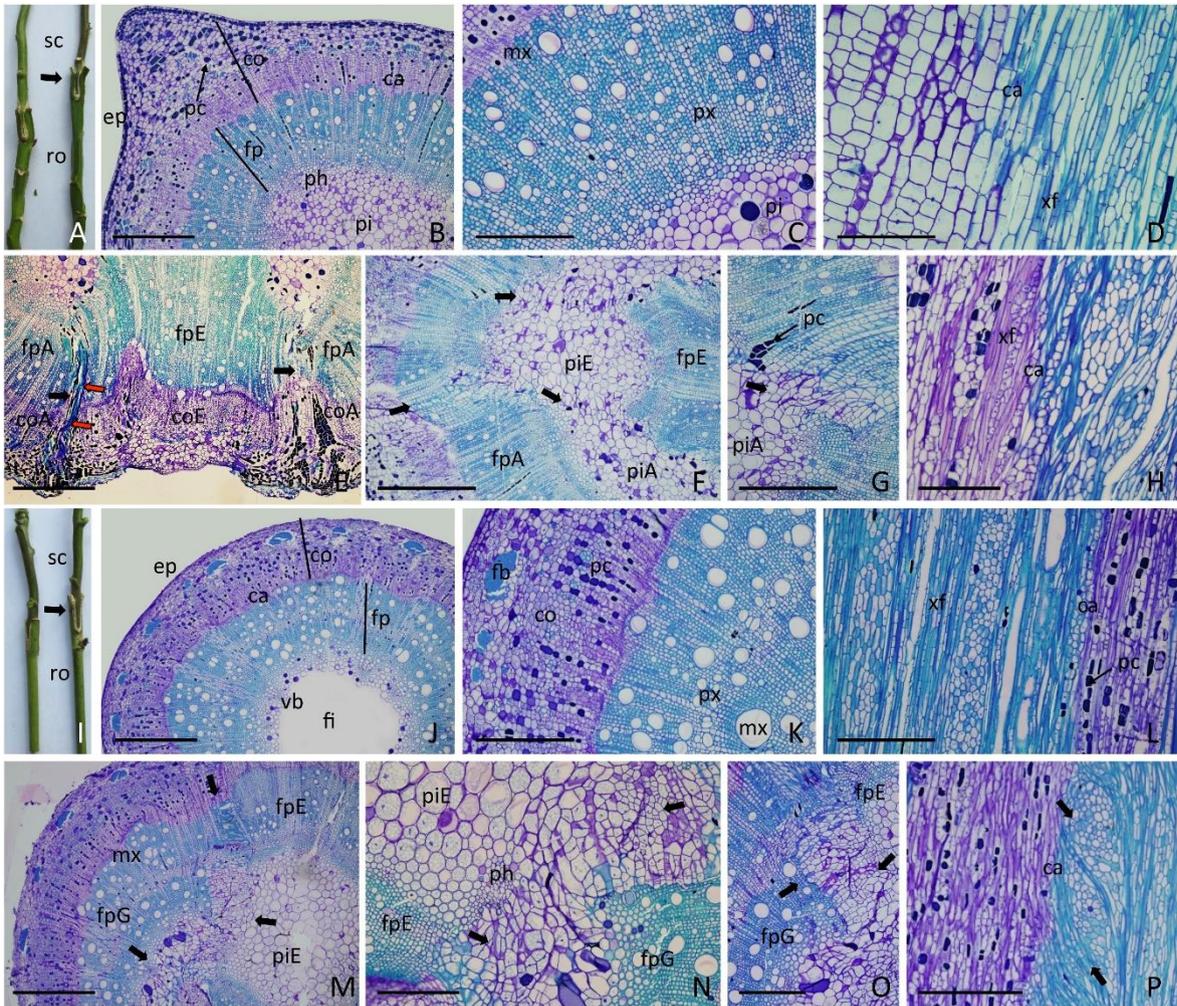


**Fig. 1.** Stem segment of *Passiflora edulis* scion grafted onto *P. edulis* (A-H) and *P. nitida* (I-P) rootstocks. Light microscopic images of transversal (B-C, E-G, J-K, M-O) and longitudinal (D, H, L, P) sections of the stem in the grafting region (E-H, M-P), scions (B-D) and rootstocks (J-L) of *Passiflora* spp. Graft region showing fusion between scions and rootstock tissues, with perfect adhesion (E-H, M, P) and with presence of unfilled regions (N-O) 60 days after grafting. Arrows indicate the tissue fusion region. ca: cambium, co: cortex, ep: epidermis, fb: fibers, fi: fistula, fp: fundamental parenchyma, fpE: fundamental parenchyma of *P. edulis*, fpN: fundamental parenchyma of *P. nitida*, mx: metaxylem, pc: phenolic compounds, ph: phloem, pi: pith, piE: pith of *P. edulis*, piN: pith of *P. nitida*, pr: pith rays, px: protoxylem, ro: rootstock, sc: scion, vb: vascular bundle, xf: xylem fibers, Bars: B, E, J, M = 2 mm; C, D, F-H, K-L, N-P = 500 µm.

The transversal sections of the stem of the non-grafted *P. alata* plants (Fig. 2B-2C) presented a structure characteristic of the species, such as the winged quadrangular stem in the region of the epidermis and cortex, with reduced fundamental parenchyma and filled pith, as observed in *P. nitida*. The epidermis and cortex showed intense presence of phenolic compounds, similar to what was observed in *P. nitida*. The sections of the graft region between *P. edulis* and *P. alata* evidenced the joining between the tissues 60 DAG, which extended from the cortex to the pith. In the graft interface of *P. edulis* f. *flavicarpa*/*P. alata* was observed the presence of the layer necrotic (Fig. 2E – red arrow).

Due to the longer length of the fundamental parenchyma of *P. edulis*, despite the similar diameters between scion and rootstock (Fig. 2A), it was possible to observe the prolongation of this tissue in the central region of the graft, which was filled by pith tissue of both species (Fig. 2F). Also, the presence of still undifferentiated parenchyma cells was observed in the region of adhesion between *P. edulis* and *P. alata* (Fig. 2G), with the presence of phenolic compounds in the rootstock region of *P. alata*.

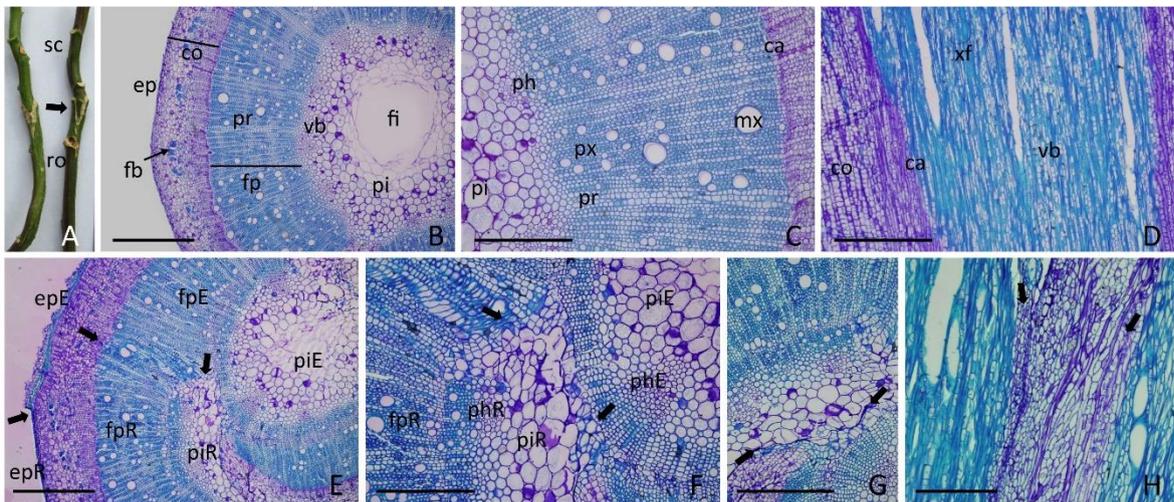
The stem of the non-grafted *P. gibertii* specimens (Fig. 2J-L) presented an epidermis with overlapping isodiametric cells, with the presence of fibers and phenolic compounds in the cortex region. The fundamental meristem contained a large number of metaxylem and protoxylem cells. Analogously to the observation in *P. edulis*, fistulas were present in the central region (Fig. 2M). The graft region of the combination of *P. edulis* and *P. gibertii* presented intense activity of parenchyma cells (arrows), responsible for the union between the tissues, with structural disorganization of these tissues in the entire extent of the junction between the two species' tissues. This structural disorganization can be seen in detail in Fig. 2N-O, demonstrating the adhesion between the fundamental parenchyma of *P. edulis* and *P. gibertii*. In the longitudinal section (Fig. 2P), it was possible to identify fusion between the tissues near the cortex, due to the sinuosity presented by the tissues of both species.



**Fig. 2.** Stem segment of *Passiflora edulis* scion grafted onto *P. alata* (A-H) and *P. gibertii* (I-P) rootstocks. Light microscopic images of transversal (B-C, E-G, J-K, M-O) and longitudinal (D, H, L, P) sections of the stem in the grafting region (E-H, M-P), scions (B-D) and rootstocks (B-D, J-L) of *Passiflora* spp. (E-H, M-P) Graft region showing fusion between scions and rootstock tissues, with perfect adhesion 60 days after grafting. E) Detail of the junction region, showing the necrotic layer (red arrow) and the fusion region (black arrow). ca: cambium, co: cortex, coE: cortex of *P. edulis*, coA: cortex of *P. alata*, ep: epidermis, fb: fibers, fi: fistula, fp: fundamental parenchyma, fpE: fundamental parenchyma of *P. edulis*, fpA: fundamental parenchyma of *P. alata*, fpG: fundamental parenchyma of *P. gibertii*, mx: metaxylem, pc: phenolic compounds, ph: phloem, pi: pith, piE: pith of *P. edulis*, piA: pith of *P. nitida*, px: protoxylem, ro: rootstock, sc: scion, vb: vascular bundle, xf: xylem fibers, Bars: B, E, J, M = 2 mm; C, D, F-H, K-L, N-P = 500  $\mu$ m.

The structural organization of the stem of the non-grafted BC1 [(*P. edulis* x *P. cincinnata*) x *P. edulis*] specimens showed strong anatomical similarity with the stem of the non-grafted *P. edulis* plants, with the presence of fibers in the cortex, pith rays in the fundamental parenchyma and a fistula in the stem's central region. Vascular bundles can be seen between the fundamental parenchyma and pith (Fig. 3B-D).

The graft region of the combination of *P. edulis* on BC1 (Fig. 3E-G) was anatomically similar that that of *P. edulis* grafted on *P. edulis*. It was possible to observe the presence of metaxylem cells in the tissue healing region, demonstrating differentiation of parenchymatic tissue into conductive tissue (Fig. 3E). The cells promoting the joining between the tissues involving *P. edulis* on BC1 were more aggregated compared to the grafts performed on the wild rootstocks. Phloem was present in the cellular tissues of this combination (Fig. 3F), indicating the complete reestablishment of the vascular connections. In the healing region between the species, still undifferentiated parenchyma cells were present (Fig. 3G). The structural disorganization in the longitudinal direction indicates fusion between the tissues (Fig. 3H).



**Fig. 3.** Stem segment of *Passiflora edulis* scion grafted onto the backcross of *P. edulis* x *P. cincinnata* (A-H) rootstock. Light microscopic images of transversal (B-C, E-G) and longitudinal (D, H) sections of the stem in the grafting region (E-H), scions (Fig.1 B-D) and rootstocks (B-D) of *Passiflora* spp. E-H) Graft region showing fusion between scions and rootstock tissues, with perfect adhesion 60 days after grafting. Arrows indicate the tissue fusion region. ca: cambium, co: cortex, ep: epidermis, epE: epidermis of *P. edulis*, epR: epidermis of RC1, fb: fibers, fi: fistula, fp: fundamental parenchyma, fpE: fundamental parenchyma of *P. edulis*, fpR: fundamental parenchyma of RC1, mx: metaxylem, ph: phloem, phE: phloem of *P. edulis*, phR: phloem of RC1, pi: pith, piE: pith of *P. edulis*, piR: pith of RC1, pr: pith rays, px: protoxylem, ro: rootstock, sc: scion, vb: vascular bundle, xf: xylem fibers, Bar: B, E = 2 mm; C-D, F-H = 500  $\mu$ m.

#### 4. Discussion

*P. gibertii* was the wild species with greatest potential to form rootstocks, in function of its higher emergence rate, after *P. edulis* and its backcross, and greater

vegetative growth before grafting. Low emergence rates for different wild species of *Passiflora* have been reported by various authors, explained as being the result of the seed dormancy mechanism, posing a limitation to their cultivation (Delanoy et al., 2006; Silva et al., 2009). Santos et al. (2016) also observed greater height of *P. gibertii* seedling rootstocks, besides similar stem diameters for *P. alata* and *P. edulis*.

Despite the similar growth between the two *P. edulis* genotypes evaluated as scions, evidence exists that they induce different carbohydrate partitioning, because there was an inverse relationship between root dry weight and scion height. There are no reports of the influence of different *Passiflora* scions on the root growth of rootstocks, although this phenomenon has been found in other species, due to differences in gene expression and synthesis and transport of hormones between scion and rootstock (Wang et al., 2014).

In general, the results obtained in this study for vegetative growth and scion survival corroborate those of previous studies, in which similarities were observed between different scion and rootstock combinations of *Passiflora* (Morgado et al., 2015; Santos et al., 2016). The survival rate was high, above 90%, although this declined somewhat from 30 to 60 DAG, indicating that it is suitable to wait for the complete establishment of the graft. *P. nitida* promoted the smallest increase in height of *P. edulis* 30 DAG, although this measure was the same as for the others 60 DAG. This behavior can be associated with the longer period necessary to establish vascular connections between the tissues after the grafting of these species (Fig. 1).

The greater height of yellow passion fruit grafted on *P. gibertii* 60 DAG might have resulted from the longer length of the internodes (data now shown), because no variation was observed in the number of leaves among the treatments. This result diverges from those found by Morgado et al. (2015), where *P. gibertii* was the rootstock that promoted the least scion growth. According to the authors, determined combinations can stimulate higher endogenous accumulation of gibberellins in the aerial part, thus stimulating greater internode length. The absence of differences for the other biometric variables and the survival rate among

treatments suggests that all the rootstocks studied have potential for use to produce grafted plants of yellow passion fruit in nursery conditions.

In the comparison of the grafted vs. non-grafted plants, the grafted plants had smaller height, number of leaves and root dry weight. This reduction can be explained by the interruption of growth because of the rupture of the vascular connections between tissues at the moment of grafting, requiring time to reestablish these connections and the corresponding plant growth. In the present study, we observed that at 30 DAG it was possible to visualize the variation in growth depending on the rootstock utilized. On the other hand, Morgado et al. (2015) observed higher root dry weight in *P. edulis* grafted on *P. edulis* in comparison with non-grafted *P. edulis* plants, suggesting that the resumption of growth is accelerated when there is full compatibility between scion and rootstock. In general, however, grafting did not represent a limitation to plant growth in relation to the non-grafted plants.

The success of grafting depends directly on the compatibility between the parenchyma cells of the scion and rootstock. Studies investigating this process of joining in the scion-rootstock interaction in *Passiflora* are scarce and incipient (Nogueira Filho, 2010a; Nogueira Filho 2010b). These authors observed the adhesion of *P. edulis* scions on *P. alata* rootstocks at 6 DAG, while for the other combination (*P. edulis* f. *flavicarpa*/*P. edulis* f. *flavicarpa*) this only happened 9 DAG. They also observed that 30 days from grafting was sufficient for the development of anatomical similarity in the formation of the union between *P. edulis* scions on *P. coccinea*, *P. gibertii*, *P. edulis* f. *flavicarpa* and *P. alata*.

In the present study, we observed that scion-rootstock adhesion occurred in all the combinations analyzed 60 DAG, with stronger affinity between the tissues when *P. edulis* was grafted on *P. edulis*, *P. gibertii* or the backcross *P. edulis* x *P. cincinnata*. In all cases, it was possible to identify perfect connection between the plant organs with total filling of the graft regions with parenchymatic tissue. In the grafts performed on *P. gibertii*, there was intense multiplication of parenchyma cells in the entire graft region between the tissues. This species may have promoted

greater growth of *P. edulis* due to the high number of conductive tissue cells (xylem, metaxylem and protoxylem) observed along the fundamental parenchyma.

In turn, when *P. edulis* was grafted on *P. alata* and *P. nitida*, complete adhesion in the union between the parts was not observed, because there were spaces still not totally filled, along with shorter length of the fundamental parenchyma in the junction region between the species. This condition is probably associated with the lesser growth 30 DAG of the *P. edulis/P.nitida* combination, since limitations in the connection between vascular tissues of the scion and rootstock reduce the flow of water and nutrients, and, consequently, plant growth (Martínez-Ballesta et al., 2010). Interestingly, phenolic compounds accumulation was only observed in the graft union of *P. edulis* on *P. alata* and *P. nitida*. This phenomenon is reported as a gene-regulated graft-incompatibility indicator in other fruit-bearing species (Albacete et al., 2015; Hudina et al., 2014), and corroborates to the incomplete graft adhesion on these two wild species.

In the present study, histological observations on the graft union at 60 days revealed formation of a thin necrotic layer of dark color at the graft interface of *P. edulis/P. alata* (Fig. 2E - red arrow), which reinforces the incompatibility between this species. It is interesting to note that differences among stem diameters of graft union, rootstock and scion in the combination *P. edulis/P. alata* could be attributed to the accumulation of necrotic tissues at the graft interface. Similar behavior was observed in other plant species, such as *Capsicum chinense* Jacq (Ives et al., 2012).

Ribeiro et al. (2015) evaluated the auto micrografting region of *P. edulis* and did not observed precocious formation of necrotic layer but noticed the presence of residual cell wall material from damaged tissues. In other fruit species, such as in cashew (*Anacardium occidentale* L.), Mahunu et al. (2012) revealed a gradual disappearance of the necrotic layer, preceding callus formation and the fusion of the scion and stock at 60 day after grafting, while Espen et al (2005) observed that the necrotic layer disappeared within 20 days after internode micrograft of pear (*Pyrus communis* L.) on quince (*Cydonia oblonga* Mill.).

The persistence of the necrotic layer at graft interface accounts for localized incompatibility in several plant species (Kawaguchi et al. 2008; Ives et al., 2012).

Flaishman et al. (2008) observed a stronger level of graft incompatibility when *Arabidopsis thaliana* was grafted onto tomato rootstock and argued that the necrotic layer that developed in the tomato plants seemed to inhibit the differentiation of vascular tissue in the *Arabidopsis* scion, either directly or indirectly, and thus blocked full vascular graft union formation between the two graft partners.

In general, the results obtained in this study can support planning to produce yellow passion fruit grafted plants on wild species. All the genotypes evaluated presented potential for use as rootstock, corroborating the findings of previous studies that have demonstrated the viability of their use for grafting with *P. edulis*. Plant growth and histological observations indicate good compatibility between the tissues of all the combinations tested, even though anatomical and biochemical differences were observed between the parts involved in the graft. *P. gibertii* outperformed the other wild species due to its higher seedling emergence and growth, and complete graft union reestablishment leading to higher scion length 60 DAG. The similar connection of tissues between *P. edulis* grafted on *P. edulis* and on its backcross with *P. cincinnata* suggests that interspecific hybridization with the yellow passion fruit is an alternative to obtain rootstocks that are potentially compatible with this species. It is necessary to increase the number of genotypes assessed as rootstocks with potential resistance to *Fusarium* spp., as well as to extend investigations to field conditions, involving the fruiting phase, to identify the productive potential of the scion-rootstock combinations and possible late-acting incompatibility.

## 5. Conclusions

Based on our results, the grafting of *Passiflora edulis* on *P. edulis*, *P. gibertii*, *P. alata*, *P. nitida* and BC1 [*(P. edulis* x *P. cincinnata*) x *P. edulis*] resulted in similar vegetative growth and survival rates from 30 to 60 days after grafting. *P. gibertii* stood out among the wild species for potential use as rootstock because of the higher plant emergence, greater growth of seedling rootstocks and inducement of greater height of the *P. edulis* graft up to 60 days after grafting. Vascular tissues connections were fully reestablished in *P. edulis* grafted on *P. edulis*, *P. gibertii* and

the backcross [(*P. edulis* x *P. cincinnata*) x *P. edulis*] 60 days after grafting. The graft region of *P. edulis* on *P. nitida* and *P. alata* presented spaces not fully filled with parenchyma cells and phenolic compounds accumulation 60 days after grafting, suggesting partial incompatibility, but without restricting the initial growth of the grafted plants.

## 6. Acknowledgments

To the National Council for Scientific and Technological Research (CNPq) for financial support (Process 473643/2013-8), the Office to Improve University Personnel (CAPES) for the doctoral scholarship given to the first author, the São Paulo State Research Foundation (FAPESB) for the postdoctoral scholarship granted to the second author, and Embrapa Cassava & Fruits and Embrapa Cerrados for technical support and supply of plant materials.

## 7. References

- Albacete, A., Martínez-Andújar, C., Martínez-Pérez, A., Thompson, A.J., Dodd, I.C., Pérez-Alfocea, F., 2015. Unravelling rootstockxscion interactions to improve food security. *J. Exp. Bot.* 66, 2211-2226.
- Aloni, B., L. Karni, Deventurero, G., Levin, Z., Cohen, R., Katzir, N., Lotan-Pompan, M., Edelstein, M., Aktas, H., Turhan, E., Joel, D.M., Horev, C., Kapulnik, Y., 2008. Physiological and biochemical changes at the rootstock-scion interface in graft combinations between Cucurbita rootstocks and a melon scion. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 83, 777-783.
- Bueno, C.J., Fischer, I.H., Rosac, D.D., Firminod, A.C.; Harakavae, R.; Oliveira, C.M.G.; Furtado, E.L., 2014. *Fusarium solani* f. sp. *passiflorae*: a new forma specialis causing collar rot in yellow passion fruit. *Plant Pathol.* 63, 382-389.
- Carvalho, A.B., Coelho, V.J., Araújo, K.L., Siqueira, K.A., Neves, S.M., A.S., Soares, M.A., Neves, L.G., 2015. Genetic variability of *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* isolates from Pantanal, Amazon and Cerrado biomes of Mato Grosso, Brazil. *Afr. J. Agric. Res.* 10, 4990-4997.

- Cookson, S.J., Moreno, M.J., Hevin, C., Mendome, L.Z. N., Delrot, S., Trossat-Magnin, C., Ollat, N., 2013. Graft union formation in grapevine induces transcriptional changes related to cell wall modification, wounding, hormone signalling, and secondary metabolism. *J. Exp. Bot.* 64, 2997-3008.
- Delanoy, M., Van Damme, P., Scheldeman, X., Beltran, J., 2006. Germination of *Passiflora mollissima* (Kunth) L.H.Bailey, *Passiflora tricuspis* Mast. and *Passiflora* nov sp. seeds. *Sci. Hortic.* 110, 198-203.
- Espen, L.; Cocucci, M., Sacchi, G. A., 2005. Differentiation and functional connection of vascular elements in compatible and incompatible pear/quince internode micrografts. *Tree Physiol.* 25, 1419-1425.
- Feder, N., O'Brien, T.P., 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. *Am. J. Bot.* 55, 123-142.
- Flaishman, M. A.; Loginovsky, K.; Golobowich, S.; Lev-Yadun, S., 2008. *Arabidopsis thaliana* as a model system for graft union development in homografts and heterografts *J. Plant. Growth. Regul.* 27, 231–239.
- Gainza, F., Opazo, I., Guajardo, V., Meza, P., Ortiz, M., Pinochet, J., Muñoz, C., 2015. Rootstock breeding in *Prunus* species: Ongoing efforts and new challenges. *Chil. J. Agric. Res.* 75, 6-16.
- Hudina, M, Orazem, P., Jakopic, J., Stampar, F., 2014. The phenolic content and its involvement in the graft incompatibility process of various pear rootstocks (*Pyrus communis* L.). *J. Plant Physiol.* 171, 76-84.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?t=4&z=t&o=11&u1=1&u2=27&u3=1&u4=27&u5=1&u6=1>> Access in: 03/02/2016.
- Ives, L., Brathwaite, R., Barclay, G., Isaac, W.A., Connor, C.B.O., Bekele, I., 2012. *J. Agric. Sci. Technol.* 2, 81-92.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw Hill, New York.
- Karim, H., Kuswinanti, T., Rosmana, A., Rasyid, B., 2013. Effectiveness of fungal and bacterial isolates from rhizosphere of passion fruits against *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* in vitro. *Int. J. Agric. Syst.* 1, 120-126.

- Kawaguchi, M., Taji, A., Backhouse, D., Oda, M., 2008. Anatomy and physiology of graft incompatibility in solanaceous plants. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 83, 581-588.
- Mahunu, G.K., Adjei, P.Y., Asante, A.K., 2012. Anatomical studies on graft formation in cashew (*Anacardium occidentale* L.) *Agric. Biol. J. N. Am.* 3, 150-153.
- Martínez-Ballesta, M.C., Alcaraz-López, C., Muries, B., Mota-Cadenas, C., Carvajal, M., 2010. Physiological aspects of rootstock–scion interactions. *Sci. Hort.* 127, 112-118.
- Morgado, M.A.D., Bruckner, C.H., Rosado, L.D.S., Santos, C.E.M., 2015. Development of passion fruit grafted on passiflora wild species. *Rev. Bras. Frutic.* 37, 471-479.
- Nogueira Filho, G.C., Roncatto, G., Ruggiero, C., Oliveira, J.C., Malheiros, E.B., Damião Filho, C.F., 2010a. Histological aspects of the hypocotyledonar graft union of the yellow passion fruit. *Rev. Bras. Frutic.* 32, 515-521.
- Nogueira Filho, G.C., Roncatto, G., Ruggiero, C., Oliveira, J.C., MALHEIROS, E.B., 2010b. Study of hypocotyledonary grafting of passion fruit plant on two rootstocks, through scanning electronic microscopy. *Rev. Bras. Frutic.* 32, 647-652.
- Pina, A., P. Errea, H.J. Martens., 2012. Graft union formation and cell-to-cell communication via plasmodesmata in compatible and incompatible stem unions of *Prunus* spp. *Sci. Hortic.* 143, 144-150.
- Preisigke, S.C., Martini, F.V., Rossi, A.A.B., Serafim, M.E., Barelli, M.A. A., Luz, P.B., Araújo, K.L., Neves, L.G., 2015. Genetic variability of *Passiflora* spp. against collar rot disease. *Aust. J. Crop Sci.* 9, 69-74.
- Ribeiro, L.M., Nery, L.A., Vieira, L.M., Mercadante-Simões, M.O., 2015. Histological study of micrografting in passionfruit. *Plant. Cell. Tiss. Organ. Cult.* 123, 173-181.
- Roncatto, G., Oliveira, J.C., Rugiero, C., Nogueira Filho, G.C., Centurion, M.A.P., Ferreira, F.R., 2004. Comportamento de maracujazeiros (*Passiflora* spp.) quanto à morte prematura. *Rev. Bras. Frutic.* 26, 552-554.
- Santos, C.H.B., Cruz Neto, A.J., Soares, T.L., Oliveira, E.J., Jesus, O.N., Girardi, E.A., 2016. Rootstocks and tying materials for hypocotyledonar grafting of yellow passion fruit. *Ciênc. Rural.* 46, 30-35.

- Silva, A.S., Oliveira, E.J., Haddad, F., Laranjeira, F.F., Jesus, O.N., Oliveira, S.A.S., Costa, M.A.P.C., Freitas, J.P.X., 2013. Identification of passion fruit genotypes resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*. Trop. Plant Pathol. 38, 236-242.
- Silva, M.L., Pinto, D.L.P., Guerra, M.P.G., Floh, E.I.S., Bruckner, C.H., Otoni, W.C.A., 2009. A novel regeneration system for a wild passion fruit species (*Passiflora cincinnata* Mast.) based on somatic embryogenesis from mature zygotic embryos. Plant Cell Tissue Organ Cult. 99, 47–54.
- Trinchera, A.L., Pandozy, G., Rinaldi, S., Crino, P., Temperini, O., Rea, E., 2013. Graft union formation in artichoke grafting onto wild and cultivated cardoon: An anatomical study. J. Plant Physiol. 170, 1569-1578.
- Wang, J., Jin, Z., Yin, H., Yan, B., Ren, Z.Z., Xu, J., Mu, C.J., Zhang, Y., Wag, M.Q., Liu, H., 2014. Auxin Redistribution and Shifts in PIN Gene Expression during Arabidopsis Grafting. Russ. J. Plant Physiol. 61, 688-696.

**ARTIGO 2**

**Comportamento de *Passiflora edulis* propagado via enxertia em áreas com presença e ausência de *Fusarium* spp.**

### **Comportamento de *Passiflora edulis* propagado via enxertia em áreas com presença e ausência de *Fusarium* spp.**

**Resumo:** O maracujá amarelo destaca-se entre as frutíferas mais produzidas no Brasil, no entanto, a sua exploração vem sendo ameaçada devido a problemas fitossanitários a exemplo da fusariose. Este trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho agrônômico e a reação à fusariose de maracujazeiro amarelo enxertado em quatro porta-enxertos em três regiões produtoras do Estado da Bahia. Os experimentos foram conduzidos em condições de campo em Cruz das Almas, Brumado e Guanambi. Foram utilizadas duas copas de *Passiflora edulis* (BRS Rubi do Cerrado e HFOP-08) e quatro porta-enxertos (HFOP-08, *P. nitida*, *P. alata* e *P. gibertii*). Esses genótipos também foram utilizados como pé-franco (controle). Foi avaliado o crescimento, produtividade, qualidade de fruto e concentração de nutrientes no tecido foliar. Os resultados apontaram redução na velocidade de crescimento de plantas enxertadas nas espécies silvestres, mas elevada mortalidade em função da fusariose em plantas de *P. edulis* enxertada em si (78%) e seu pé-franco (80%). A produtividade de plantas enxertadas é 43% menor em áreas com ausência do patógeno, porém superior ao material pé-franco (430%) em áreas infestadas por fusariose. As espécies silvestres se mostraram resistentes ao patógeno quando utilizadas como porta-enxerto. No entanto, *P. nitida* não apresentou crescimento adequado nos três locais estudados. A qualidade de fruto não foi alterada em função da enxertia, embora o porta-enxerto tenha alterado a concentração foliar de nutrientes na copa. A enxertia em *P. gibertii* pode ser utilizada como medida paliativa de controle da fusariose até obtenção de variedade resistente.

**Palavras-chave:** *Passiflora* spp., *Fusarium* spp., Porta-enxerto, Sobrevivência, Produção.

**Behavior of *Passiflora edulis* propagated via grafting in areas with presence and absence of *Fusarium* spp.**

**Abstract:** Yellow passion fruit is among the most widely grown fruits in Brazil, but the culture is threatened by phytosanitary problems, in particular *Fusarium* wilt. In this study we assessed the agronomic performance and *Fusarium* wilt incidence of two yellow passion fruit (*Passiflora edulis*) varieties (BRS Rubi do Cerrado and HFOP-08) grafted on four rootstocks (HFOP-08, *P. nitida*, *P. alata* and *P. gibertii*) in three producing regions of the state of Bahia, Brazil. These four genotypes were also grown without grafting as controls. The growth, productivity, fruit quality and concentration of nutrients in leaf tissue were evaluated. The results indicated a reduction in growth speed of the plants grafted on wild species, but higher mortality caused by *Fusarium* wilt in self-grafted (78%) and non-grafted (80%) *P. edulis* plants. The productivity of the grafted plants was 43% lower in areas free of the pathogen, but 430% higher than the non-grafted plants in areas subject to *Fusarium* wilt. The wild species were resistant to the pathogen when used as rootstock, but *P. nitida* did not present adequate growth in the three regions studied. The fruit quality was not altered due to grafting, although the choice of rootstock affected the leaf concentration of nutrients in the scions. Grafting on *P. gibertii* can be used as a palliative measure to control *Fusarium* wilt until obtaining a resistant variety.

**Keywords:** *Passiflora* spp., *Fusarium* spp., Rootstock, Survival, Production.

## INTRODUÇÃO

O maracujá azedo (*Passiflora edulis* Sims) é a espécie mais importante economicamente, e as condições edafoclimáticas tropicais favoráveis à cultura permitem que seja produzida em praticamente todos os estados do Brasil. Este cenário favorável faz do país o maior produtor e consumidor mundial, com uma produção de 703 mil toneladas em 50 mil hectares no ano de 2016. Entretanto, a produtividade (14,1 t ha<sup>-1</sup>) é considerada baixa. O estado da Bahia é o principal produtor nacional com 49% da produção (IBGE, 2018).

Diversos problemas fitossanitários causam sérios prejuízos aos produtores, entre eles a murcha da fusariose causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (*Fop*). Este patógeno ataca o sistema radicular e vascular da planta, causando sua morte precocemente (Ortiz e Royos, 2012; McGovern, 2015). A doença vem limitando a exploração, produtividade, longevidade do pomar e permanência desta cultura em diversos pólos de produção, pois não existem cultivares resistentes nem controle curativo (Freitas et al., 2016). Em áreas com histórico de ocorrência de *Fop* são observadas perdas de produção superiores a 80% (Fischer e Rezende, 2008).

A propagação do maracujazeiro amarelo por enxertia em espécies resistentes de maracujás silvestres vem sendo estudada como alternativa de produção em área com a fusariose. Várias espécies têm sido avaliadas como porta-enxertos resistentes (Cavichioli et al., 2011b). Porém, a maioria dos estudos avalia o desempenho agrônomo das combinações copa/porta-enxerto na fase de produção de mudas em condições controladas (Morgado et al., 2015; Lima et al., 2017).

As pesquisas utilizando diferentes porta-enxertos em condições de campo infestados por fusariose são limitadas e os resultados são contrastantes em função da localidade e genótipo, com grande variação na produtividade, sobrevivência e mesmo compatibilidade copa/porta-enxerto (Nogueira Filho et al., 2010; Cavichioli et al., 2011a; Cavichioli et al., 2011b; Nasser et al., 2011; Cavichioli et al., 2014; Santos et al., 2016). Além disso, é importante obter informações em diferentes pólos de produção, pois a virulência do patógeno e mecanismos de interação patógeno-hospedeiro pode variar conforme o ambiente. Sendo assim, no presente estudo avaliaram-se o desempenho agrônomo e a reação à fusariose de

maracujazeiro azedo enxertado em quatro espécies de porta-enxertos em três regiões produtoras do Estado da Bahia.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Material vegetal*

Foram utilizadas duas copas de *Passiflora edulis*, o híbrido comercial BRS Rubi do Cerrado e o híbrido HFOP-08, ambos obtidos pela Embrapa. Os quatro porta-enxertos foram o controle *P. edulis* (HFOP-08) e três espécies silvestres, *P. nitida* (Acesso Terra Nova, Embrapa Cerrados), *P. alata* (BGP393, Rio de Janeiro) e *P. gibertii* (BGP008, São Paulo). Esses acessos também foram propagados como pé-franco para comparação com as plantas enxertadas quanto ao vigor, produtividade e sobrevivência ao *Fop*.

A obtenção das mudas enxertadas foi realizada no município de Cruz das Almas-BA em condições de casa de vegetação e posterior aclimação por 30 dias em telado antiafídeo conforme procedimentos descritos por Lima et al. (2017).

### *Localidade dos experimentos*

Os experimentos foram conduzidos em condições de campo em área com histórico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* em Cruz das Almas (Recôncavo Baiano) e Guanambi (Sudoeste da Bahia) e ausência do patógeno em Brumado (Sertão produtivo), no Estado da Bahia (Tabela 1).

**Tabela 1.** Descrição das características de cada local de avaliação do experimento.

Características	Regiões Produtoras <sup>(1)</sup>		
	Recôncavo	Sertão produtivo	Sudoeste da Baía
Local	Cruz das Almas/Embrapa Mandioca e Fruticultura.	Brumado/Distrito Itaquirai.	de Guanambi/Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano.
Período de avaliação	Janeiro de 2015 a maio de 2016.	Fevereiro de 2015 a maio de 2016.	Fevereiro de 2015 até maio de 2016.
Coordenadas	12° 39' 25" S, 39° 07' 27" W, 222 m.	14° 04' 13,6" S, 41° 43' 42,6" W, 486 m.	14° 13' S, 42° 46' W, 525 m.
Tipo de solo	Latossolo Amarelo distrocoeso álico.	Cambissolo eutrófico textura argilosa.	Latossolo Vermelho Amarelo, distrófico, típico, A fraco, textura média.
Clima	Transição do tipo Am a Aw (tropical subúmido a seco), temperatura média anual do ar de 23,8 °C.	BSh (quente e seco) fazendo transição com o semiárido.	Quente de caatinga, com chuvas de verão e período seco bem definido de inverno, do tipo BSwh.

Características químicas do solo	pH (água) 6,5; fósforo (P) 60,85 mg dm <sup>-3</sup> ; potássio (K) 0,20; cálcio (Ca) 2,26; magnésio (Mg) 0,99; alumínio (Al) 0,0; sódio (Na) 0,09; hidrogênio + alumínio (H + Al) 1,25; saturação por base (SB) 3,24; capacidade de troca de cátions (CTC) 4,79 cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ; porcentagem de saturação por base (V%) 73,65%; matéria orgânica (MO) 13,2 g kg <sup>-1</sup> .	pH (água) 7,3; fósforo (P) 223,03 mg dm <sup>-3</sup> ; potássio (K) 0,26; cálcio (Ca) 9,26; magnésio (Mg) 2,22; alumínio (Al) 0,0; sódio (Na) 0,62; hidrogênio + alumínio (H + Al) 0,01; saturação por base (SB) 12,35; capacidade de troca de cátions (CTC) 12,37 cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ; porcentagem de saturação por base (V%) 97,93%; matéria orgânica (MO) 5,84 g kg <sup>-1</sup> ; cobre (Cu) 8,83; ferro (Fe) 43,83; manganês (Mn) 227,32 e zinco (Zn) 111,62 mg dm <sup>-3</sup> .	pH (água) 7,0; fósforo (P) 15,03 mg dm <sup>-3</sup> ; potássio (K) 0,51; cálcio (Ca) 2,4; magnésio (Mg) 1,6; cálcio + magnésio (Ca + Mg) 4,0; alumínio (Al) 0,0; sódio (Na) 0,0; hidrogênio + alumínio (H + Al) 1,2; saturação por base (SB) 4,5; capacidade de troca de cátions (CTC) 4,5 cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> e porcentagem de saturação por base (V%) 79,0%.
	Temperatura máxima (°C)	38,90	40,60
Temperatura média (°C)	25,75	25,70	26,30
Temperatura mínima (°C)	16,80	16,60	16,0
Umidade do ar (%)	77,20	60,40	50,90
Radiação (kJm <sup>2</sup> )	7299022,56	9925841,1	4269017,1
Precipitação (mm)	1046,80	741,0	925,0
Espaçamento	Espaldeira de 2,0 m de altura e espaçamento 1,8 m x 2,0 m.	Espaldeira de 2,0 m de altura e espaçamento 3,0 m x 3,0 m.	Espaldeira de 2,0 m de altura e espaçamento 2,0 m x 2,0 m.
Irrigação	Realizada de forma suplementar, em sistema localizado por gotejamento três vezes por semana e duração de 30 minutos, resultando em um volume aplicado médio de 10 L por planta.	Realizada por gotejamento, sendo acionados em dias alternados com duração de 30 minutos cada equivalendo em média 15 L planta.	A irrigação foi feita por gotejamento em dias alternados durante 120 minutos, resultando num volume médio aplicado de 16 L por planta.
Adubação	Realizada a cada 20 dias, com 30 g de sulfato de amônia (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> por planta, nos primeiros seis meses, e 80 g de sulfato de amônia, 30 g de cloreto de potássio (KCl) e 20 g de Superfosfato Simples (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) por planta nos meses seguintes.	As adubações foram realizadas quinzenalmente por fertirrigação e o controle de pragas e doenças conforme Lima et al. (2011).	Realizada a cada 30 dias, com 20g de uréia (NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO 10 g de cloreto de potássio (KCl) e 12 g de Superfosfato Simples (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) por planta e adubação foliar com micronutrientes + NPK a cada 20 dias.

<sup>(1)</sup>As principais divergência entre as localidades esteve no espaçamento adotado em cada região e manejo da fertilidade e irrigação das plantas o que pode influenciar no rendimento final das plantas, no entanto, as principais variações neste aspecto esteve associada a presença do patógeno que limitou a produção de plantas pé-franco.

### **Avaliação do índice de velocidade de crescimento e produção**

As variáveis avaliadas incluíram: o índice de velocidade de crescimento (IVC), conforme Jesus et al. (2016), por  $IVC = C1/N1 + C2/N2 + \dots + Cn/Nn$ , em que C1, C2 e Cn são as alturas da planta na primeira, na segunda e na última avaliação, e N1, N2 e Nn são o número de dias decorridos a partir da primeira, da segunda e da última avaliação de altura que foi realizado até os 210 dias após o plantio.

Para padronização dos dados nos três locais, foi dividido o IVC pelo número de avaliações de altura realizado ao longo do estudo em cada local. Em Cruz das Almas e Brumado, além desta variável, também foi avaliada a produção e número médio de frutos por planta. A produção foi mensurada através da contagem do número de frutos por planta, seguido da estimativa através da massa média dos frutos para os tratamentos enxertados em comparação aos tratamentos não enxertados de *P. edulis* (HFOP-08 e BRS Rubi do Cerrado pés francos), em área com ausência e presença do *Fop*, respectivamente. A produção foi expressa em kg planta<sup>-1</sup> e estimada em t ha<sup>-1</sup>. Esta variável não foi mensurada em Guanambi devido à elevada mortalidade de plantas pés francos antes da fase produtiva ocasionada pelo *Fop*.

### **Incidência de fusariose**

A incidência de plantas com sintomas visuais de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (Fisher e Resende, 2008; Ortiz e Royos, 2012) foi avaliada até 16 meses após o transplante nos ensaios de Cruz das Almas e Guanambi. Sempre que os sintomas da fusariose foram identificados (murcha da planta, escurecimento do sistema vascular), amostra do sistema radicular e parte sintomática do caule de cada planta foram recolhidos para o isolamento do agente causal. Também foi quantificada a mortalidade de plantas associada a outras causas, como plantas não adaptadas às condições do cultivo, bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*) e antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). Com base nessas informações foi realizada a análise da sobrevivência utilizando a curva não paramétrica de Kaplan-Meier (KM) (Kaplan & Maier, 1958).

Neste estudo, o evento de interesse foi a morte da planta causada por *Fop* e por outras causas sendo verificada a cada dois dias. As diferenças entre as curvas de sobrevivência nas diferentes combinações de enxertias e entre as localidades foram testadas usando o teste não paramétrico de F de Cox ( $P \leq 0,05$ ). Em

complementação, foi estimada a expectativa mediana de vida por meio da tabela de vida. A análise estatística foi realizada utilizando-se Statistica 7 software (Statsoft 2005).

### **Qualidade de Fruto**

Foram coletados aleatoriamente cinco frutos maduros por parcela para compor a amostra em Cruz das Almas e Brumado. As variáveis analisadas foram: massa de fruto (MF), comprimento do fruto (CF), diâmetro do fruto (DF), relação entre o comprimento de fruto e diâmetro de fruto (CF/DF), rendimento de suco (Rend.), massa de suco (MS g), teor de sólidos solúveis totais (ST) em °Brix, acidez titulável (AT) e relação entre o teor de sólidos solúveis totais e acidez titulável (Ratio) seguindo recomendação de Jesus et al. (2017).

### **Concentração foliar de macro e micronutrientes**

Avaliou-se a concentração foliar de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofres (S), boro (B), ferro (Fe), cobre (Cu), manganês (Mn) e zinco (Zn) de plantas no experimento em Brumado.

Próximo ao florescimento de cada planta foram coletadas a quinta e sexta folhas, contadas a partir do ápice de ramos terciários. Posteriormente, as folhas foram lavadas com água destilada para retirada de impurezas, acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa com circulação de ar a 65 °C por 72 h (Carmo et al., 2011).

### **Delineamento experimental e análise estatística**

Os três experimentos foram conduzidos em delineamento em blocos ao acaso, em esquema fatorial 2 x 4 + 5, com duas copas (BRS Rubi do Cerrado e HFOP-08), quatro porta-enxertos (HFOP-08, *P. nitida*, *P. alata* e *P. gibertii*), mais cinco tratamentos pés francos (*P. alata*, *P. gibertii*, BRS Rubi do Cerrado, HFOP-08 e *P. nitida*) distribuídos em quatro repetições de seis plantas na parcela.

Os dados foram analisados por meio de interação tripla (copa vs. porta-enxerto vs. local) com cinco tratamentos adicionais. O IVC e sobrevivência foram comparados entre todos os pés francos, enquanto a qualidade de fruto e produção foram comparadas apenas entre as espécies de *P. edulis* (BRS Rubi do Cerrado e HFOP-08). Para as variáveis de produção e qualidade de frutos, o experimento de

Guanambi não foi incluído, devido ao baixo número de frutos nos tratamentos não enxertados, pois foram acometidos por *Fop* antes da fase produtiva. A concentração foliar de nutrientes foi avaliada apenas em Brumado, utilizando-se assim fatorial duplo com os demais fatores descritos anteriormente.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS

### ***Avaliação do índice de velocidade de crescimento***

O índice de velocidade do crescimento diferiu para a maioria dos fatores estudados, embora a interação tripla não tenha sido significativa para esta variável (Tabela 2).

Entre as copas, o IVC do HFOP-08 foi 12% superior ao BRS Rubi do Cerrado (Tabela 2). O IVC entre porta-enxertos foi superior em *P. edulis*/HFOP-08 (2,17), sendo que *P. gibertii* deteve resposta intermediária, sendo 20% e 28% superior a *P. alata* e *P. nitida*, respectivamente. Os pés francos de *P. edulis* HFOP-08 (2,66) e BRS Rubi do Cerrado (2,36) foram semelhantes a *P. gibertii* (2,53) e este último não diferiu de *P. alata* (2,27). O pior resultado foi observado em *P. nitida* com 0,40 (Tabela 2).

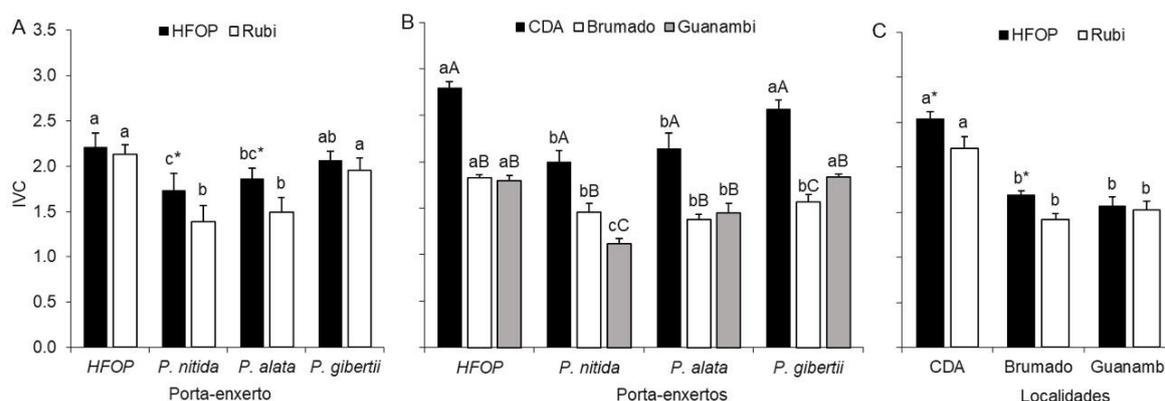
**Tabela 2.** Resumo da análise de variância e comparação entre médias de copas, porta-enxertos e pés francos para variáveis biométricas e produtividade de plantas de maracujazeiro amarelo enxertadas em quatro porta-enxertos avaliadas em três regiões do estado da Bahia.

<b>Fontes de variação</b>	<b>IVC</b>	<b>Prodt.</b>
Bloco	1,17 <sup>ns</sup>	1,69 <sup>ns</sup>
Copa	29,2 <sup>**</sup>	18,2 <sup>**</sup>
Porta-enxerto (PE)	45,4 <sup>**</sup>	13,9 <sup>**</sup>
Local	177,3 <sup>**</sup>	12,7 <sup>**</sup>
PE vs. Copa	3,02 <sup>*</sup>	5,3 <sup>**</sup>
PE vs. Local	3,94 <sup>**</sup>	36,9 <sup>**</sup>
Copa vs. Local	3,62 <sup>*</sup>	13,1 <sup>**</sup>
PE vs. Copa vs. Local	2,30 <sup>ns</sup>	1,57 <sup>ns</sup>
<b>Pé-franco (PF)</b>	<b>111,9<sup>**</sup></b>	<b>1,57<sup>ns</sup></b>
Local	44,7 <sup>**</sup>	50,6 <sup>**</sup>
PF vs. Local	1,40 <sup>ns</sup>	0,20 <sup>ns</sup>
Enxert. vs. PF	0,02 <sup>ns</sup>	1,99 <sup>ns</sup>
Erro	0,04	632,1
C.V. (%)	10,6	27,1
<b>Copas</b>	<b>IVC</b>	<b>Prodt. (T ha<sup>-1</sup>)</b>
BRS Rubi	1,74 b	9,3 b
HFOP-08	1,97 a	13,2 a
<b>Porta-enxertos</b>		
HFOP-08	2,17 a	17,6 a
<i>P. nitida</i>	1,56 c	5,55 c
<i>P. alata</i>	1,67 c	9,71 bc
<i>P. gibertii</i>	2,0 b	12,0 b
<b>Porta-enxertos (porta-enxertos + copas) nos locais</b>		
Tabuleiro Costeiro	2,38 a	8,1 b
Chapada Diamantina	1,56 b	14,3 a
Oeste da Bahia	1,55 b	---
<b>Pés francos</b>		
<i>P. alata</i>	2,27 b	---
<i>P. gibertii</i>	2,53 ab	---
BRS Rubi	2,36 ab	17,9 a
HFOP-08	2,66 a	13,6 a
<i>P. nitida</i>	0,40 c	---
<b>Pés francos (não enxertadas, controle) nos locais</b>		
Tabuleiro Costeiro	2,35 a	3,22 b
Chapada Diamantina	2,19 a	28,3 a
Oeste da Bahia	1,45 b	---
<b>Enxertados vs. Pés francos</b>		
Enxertados	1,85 a	11,2 a
Pés francos	2,04 a	15,7 a

ns, \*\* e \*: não significativo e significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste de F da análise de variância. IVC: índice de velocidade de crescimento; Prodt. produtividade expressa em t ha<sup>-1</sup>.

A interação entre os fatores copa e porta-enxerto para IVC demonstrou que a combinação *P. edulis*/*P. gibertii* apresentou comportamento semelhante ao *P. edulis*/*P. edulis*, enquanto a copa de *P. edulis* em *P. alata* e *P. nitida* apresentaram resultados inferiores (Figura 1A). Entre as copas, HFOP-08 foi superior a BRS Rubi do Cerrado quando enxertado em *P. alata* e *P. nitida* resultando em 20% e 19% de

incremento no IVC, respectivamente (Figura 1A). Entre os locais, Cruz das Almas (Tabuleiros Costeiros) apresentou maior IVC em todos os porta-enxertos (Figura 1B). Já na interação copa e local, o híbrido HFOP-08 foi superior em Cruz das Almas e Brumado (Chapada Diamantina) com acréscimo de 13% e 16% no IVC, respectivamente (Figura 1C).



**Figura 1.** Índice de velocidade do crescimento (IVC) de plantas de *Passiflora edulis* enxertadas em quatro porta-enxertos, avaliadas em três localidades distintas. A) comparação entre as copas e porta-enxertos; B) comparação entre as três localidades e porta-enxerto e C) comparação entre as copas e localidade. CDA = Cruz das Almas (Tabuleiros Costeiros). Letras minúsculas comparam as médias entre os porta-enxertos (A e B) e localidades (C). Letras maiúsculas comparam as médias dentro dos porta-enxertos (B) e \*indica variação dentro de cada porta-enxerto e local.

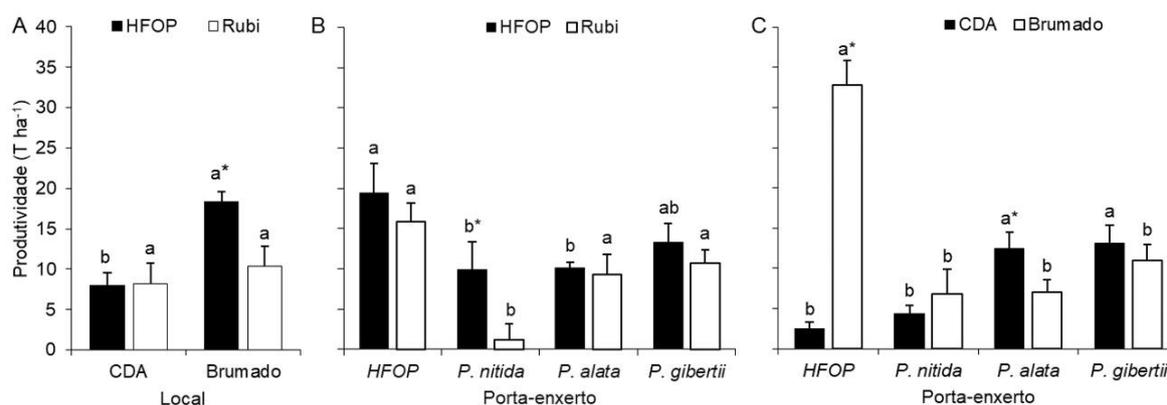
### Produtividade

Entre as copas, o híbrido HFOP-08 apresentou produtividade de 13,2 t ha<sup>-1</sup> sendo 29% superior ao híbrido BRS Rubi do Cerrado que obteve 9,3 t ha<sup>-1</sup>. No entanto, as cultivares de copa não diferiram em Cruz das Almas, enquanto que em Brumado HFOP-08 obteve melhor produtividade (18,3 t ha<sup>-1</sup>) do que BRS Rubi do Cerrado (10,4 t ha<sup>-1</sup>) (Figura 2A).

Em relação às plantas enxertadas, a produtividade foi maior para as plantas autoenxertadas de *P. edulis* (17,6 t ha<sup>-1</sup>), enquanto *P. gibertii* obteve produtividade de 12,0 t ha<sup>-1</sup> e a produtividade dos demais porta-enxertos foi inferior a 10,0 t ha<sup>-1</sup> (Tabela 2). A produtividade das plantas enxertadas diferiu em relação às regiões, com médias de 14,3 t ha<sup>-1</sup> em Brumado e 8,1 t ha<sup>-1</sup> em Cruz das Almas (Tabela 2).

A produtividade entre as copas diferiu apenas para as plantas enxertadas em *P. nitida*, pois HFOP-08 obteve quase sete vezes mais produção em relação à BRS Rubi do Cerrado (Figura 2B). HFOP-08 enxertado em si alcançou produtividade de

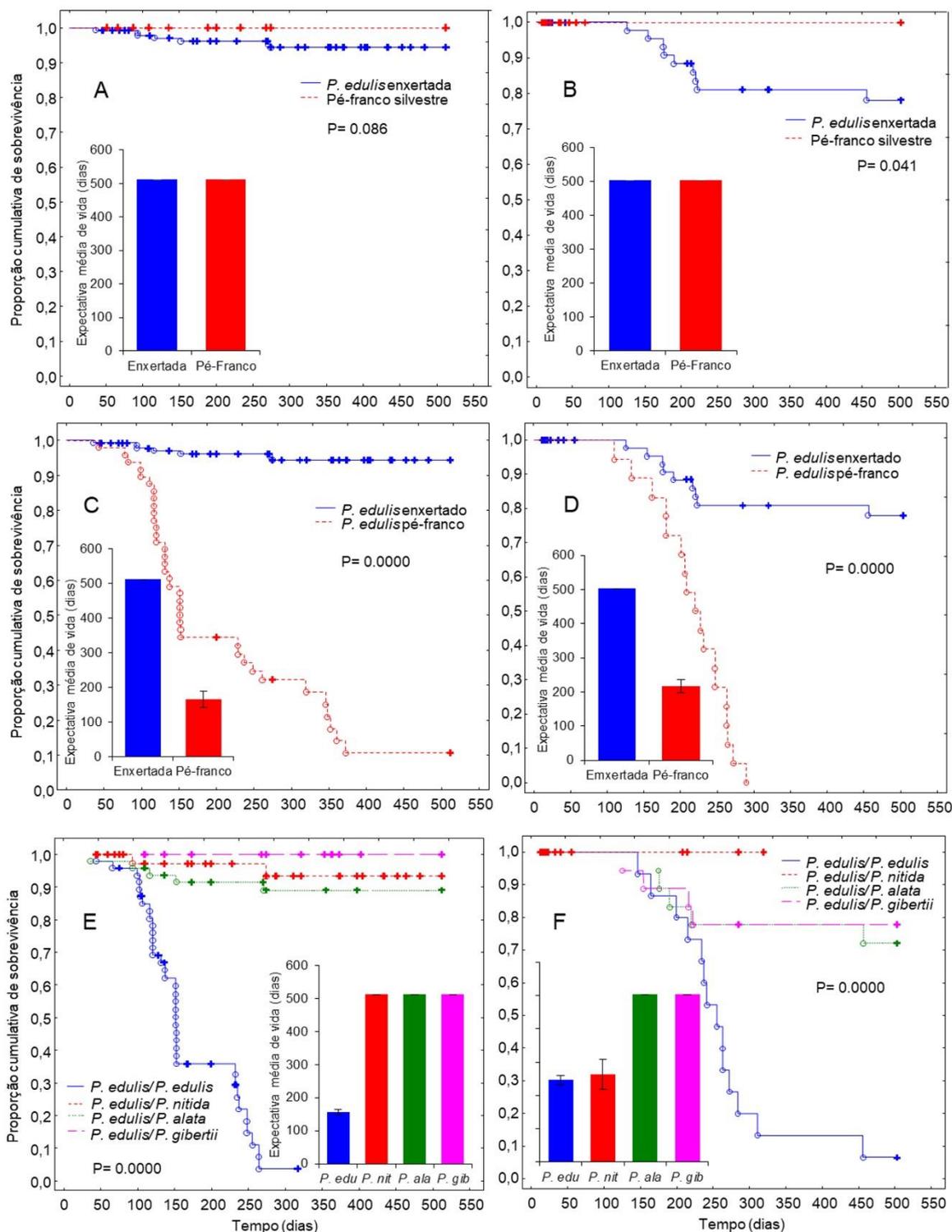
19,42 t ha<sup>-1</sup> sendo 32% superior ao melhor porta-enxerto silvestre (*P. gibertii*), o qual alcançou 13,29 t ha<sup>-1</sup>, embora não diferindo estatisticamente (Figura 2B). A produtividade de plantas sobre *P. gibertii* em Cruz das Almas (13,2 t ha<sup>-1</sup>) ficou próxima da média nacional que é de 13,6 t ha<sup>-1</sup> (Figura 2C). Em Brumado, *P. edulis* enxertado em si produziu 32,8 t ha<sup>-1</sup> e em Cruz das Almas, com alta incidência de fusariose, produziu apenas 2,4 t ha<sup>-1</sup>. Por outro lado, quando enxertado nas espécies silvestres, há semelhança entre os locais, indicando que a fusariose pode ser contida com a utilização de porta-enxertos tolerantes.



**Figura 2.** Produtividade de plantas de *Passiflora edulis* enxertadas em quatro porta-enxertos avaliadas em duas regiões distintas do estado da Bahia. A) interação entre copa e local de produção, B) interação entre copa e porta-enxerto C) interação entre porta-enxerto e local de produção. CDA: Cruz das Almas. Letras minúsculas compara as médias entre os porta-enxertos (B e C) e local (A). \*indica variação significativa dentro de cada porta-enxerto e local.

### Análise de sobrevivência

Não houve divergência entre as curvas de sobrevivência de plantas enxertadas e/ou pés francos das espécies silvestres em Cruz das Almas-BA ( $P=0,086$ ) e Guanambi-BA ( $P=0,041$ ). A expectativa média de vida das plantas foi de 512 e 503 dias no experimento de Cruz das Almas e Guanambi, respectivamente (Figura 3A, B). Quando comparadas as plantas enxertadas com plantas pé-franco de *P. edulis* (HFOP-08 e BRS Rubi do Cerrado) há variação altamente significativa ( $P=0,000$ ) pelo teste F de Cox, com expectativa média de vida das plantas de 166 dias em Cruz das Almas e 216 dias em Guanambi (Figura 3C, D).



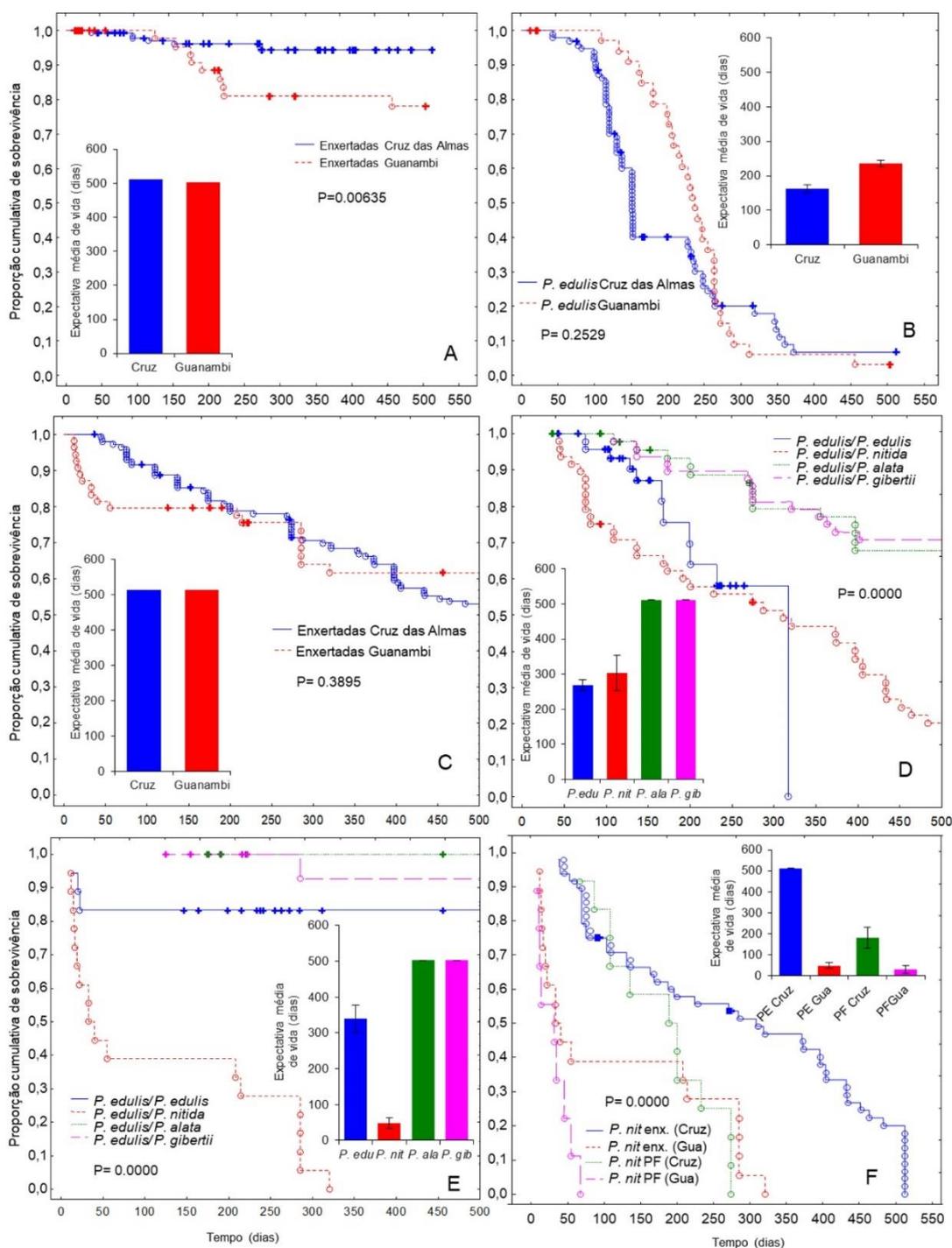
**Figura 3.** Proporção cumulativa de sobrevivência (gráficos de linha) e expectativa mediana de vida (gráficos de barra), Plantas de *P. edulis* enxertada nas espécies silvestres (*P. alata*, *P. gibertii* e *P. nitida*) comparadas com os pés francos silvestres em Cruz das Almas-BA (A) e em Guanambi-BA (B); comparação de plantas de *P. edulis* enxertadas e pés francos (HFOP-08 e BRS Rubi do Cerrado) em Cruz das Almas (C); Guanambi (D); comparação de *P. edulis* enxertada em quatro porta-enxertos (*P. edulis*, *P. alata*, *P. gibertii* e *P. nitida*) em Cruz das Almas (E) e Guanambi (F). *P. edu*: *Passiflora edulis*; *P. nit*: *P. nitida*; *P. ala*: *P. alata*; *P. gib*: *P. gibertii*.

As diferentes combinações de enxertia demonstraram que a utilização de espécies silvestres aumentou a sobrevivência (80% de sobrevivência), quando comparado com 10% de *P. edulis* autoenxertado. A expectativa média de vida para plantas autoenxertadas foi 156 e 246 dias em Cruz das Almas e Guanambi, respectivamente (Figura 3E, F).

As plantas enxertadas nas espécies silvestres em Cruz das Almas e Guanambi apresentaram variação significativa ( $P=0,0063$ ) mas, a expectativa média de vida foi semelhante com 512 dias em Cruz das Almas e 503 dias em Guanambi (Figura 4A).

As plantas de *P. edulis* autoenxertada e pés francos apresentaram redução acentuada na sobrevivência em decorrência do *Fop*, chegando ao final do período de avaliação com menos de 10% de plantas vivas e expectativa média de vida de 162 e 235 dias em Cruz das Almas e Guanambi, respectivamente (Figura 4B). A mortalidade por outras causas, associada a outras doenças e adaptação ao ambiente de cultivo, não diferiu ( $P=0,3895$ ) entre as plantas enxertadas em Cruz das Almas e Guanambi (Figura 4C), no entanto houve elevada mortalidade em *P. edulis/P. nitida*, chegando a 80% de plantas mortas com expectativa média de vida de 302 dias, os porta-enxertos de *P. alata* e *P. gibertii* proporcionaram em ambos uma expectativa média de vida de 512 dias (Figura 4D).

Em Guanambi as plantas de *P. edulis/P. nitida* apresentaram redução expressiva na proporção cumulativa de sobrevivência, causada por fatores bióticos e abióticos, chegando a incidência de 100% das plantas antes dos 350 dias de avaliação e expectativa média de vida de 48 dias, sendo expressivamente inferior aos porta-enxertos de *P. alata* e *P. gibertii* com expectativa de 503 dias em ambos (Figura 4E). O pé-franco de *P. nitida* não ultrapassou os 100 primeiros dias de avaliação em Guanambi (com expectativa de vida de 29 dias) e 300 dias (com expectativa de vida de 180 dias) em Cruz das Almas (Figura 4F). Quando utilizado como porta-enxerto, a expectativa de vida foi expressivamente inferior em Guanambi (49 dias) quando comparada com Cruz das Almas com 512 dias (Figura 4F).



**Figura 4.** Proporção cumulativa de sobrevivência (gráficos de linha) e expectativa mediana de vida (gráficos de barra); comparação de plantas de *P. edulis* enxertadas nas espécies silvestres em Cruz das Almas-BA e Guanambi-BA (A); comparação entre plantas de *P. edulis* autoenxertada e pés francos em Cruz das Almas e Guanambi (B); mortalidade por outras causas entre as plantas enxertadas nas espécies silvestres (*P. alata*, *P. gibertii* e *P. nitida*) em Cruz das Almas e Guanambi (C); mortalidade por outras causas em *P. edulis* enxertada em quatro porta enxertos (*P. edulis*, *P. alata*, *P. gibertii* e *P. nitida*) em Cruz das Almas (D) e Guanambi (E) e curva de sobrevivência para *P. edulis/P. nitida* em Cruz das Almas, Guanambi e *P. nitida* pé-franco em Cruz das Almas, Guanambi (F). Cruz: Cruz das Almas; *P. edu*: *Passiflora edulis*; *P. nit*: *P. nitida*; *P. ala*: *P. alata*; *P. gib*: *P. gibertii*; *P. nit. enx.* (Cruz): *P. nitida* enxertada em Cruz das Almas; *P. nit. enx.* (Gua): *P. nitida* enxertada em Guanambi; *P. nit.* (PF): *P. nitida* pé-franco em Cruz das Almas; *P. nit.* (PF): *P. nitida* pé-franco em Guanambi.

### Qualidade de frutos

As variáveis comprimento e diâmetro do fruto, espessura da casca, acidez titulável e relação entre o teor de sólidos solúveis e acidez titulável não foram afetadas por nenhum dos tratamentos e por isso não estão apresentadas na Tabela 3. As demais variáveis houve variação em pelo menos um dos fatores (Tabela 3). De modo geral, a maior distinção entre as variáveis ocorreu entre as plantas enxertadas em função do local de cultivo.

**Tabela 3.** Resumo da análise de variância e comparação de médias entre copas, porta-enxertos e pés francos para variáveis de qualidade de frutos de *Passiflora edulis* enxertado em quatro porta-enxertos em três regiões do estado da Bahia.

Fontes de variação	MF	CF/DF	MS	Rend.	SS
Copa (CO)	0,59 <sup>ns</sup>	10,17 <sup>**</sup>	2,25 <sup>ns</sup>	6,90*	0,41 <sup>ns</sup>
Porta-enxerto (PE)	0,83 <sup>ns</sup>	3,98 <sup>ns</sup>	6,47 <sup>**</sup>	15,9 <sup>**</sup>	2,90 <sup>ns</sup>
Local	15,5 <sup>**</sup>	61,4 <sup>**</sup>	40,4 <sup>**</sup>	18,1 <sup>**</sup>	1,30 <sup>ns</sup>
PE vs. CO	5,47 <sup>**</sup>	4,11*	1,14 <sup>ns</sup>	0,41 <sup>ns</sup>	3,80*
PE vs. Local	3,63*	6,10 <sup>**</sup>	1,30 <sup>ns</sup>	4,10*	0,42 <sup>ns</sup>
CO vs. Local	6,43*	24,5 <sup>**</sup>	1,31 <sup>ns</sup>	0,39 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>
PE vs. CO vs. Local	0,25 <sup>ns</sup>	0,68 <sup>ns</sup>	1,40 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	1,41 <sup>ns</sup>
Pé-franco (PF)	0,01 <sup>ns</sup>	6,30*	0,01 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>	0,47 <sup>ns</sup>
Local	0,27 <sup>ns</sup>	13,5 <sup>**</sup>	3,31 <sup>ns</sup>	6,45*	1,19 <sup>ns</sup>
PF vs. Local	10,13*	1,60 <sup>ns</sup>	6,06 <sup>ns</sup>	1,32 <sup>ns</sup>	1,33 <sup>ns</sup>
Enxert. vs. PF	4,01*	2,79 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>	4,50*	6,31 <sup>ns</sup>
Erro	989,7	0,003	149,9	18,9	1,30
C.V. (%)	15,51	4,54	19,7	14,07	9,41
<b>Copas</b>					
BRS Rubi	206,2 a	1,27 a	59,6 a	29,3 b	12,2 a
HFOP-08	199,7 a	1,23 b	64,4 a	32,3 a	12,0 a
<b>Porta-enxertos</b>					
HFOP-08	207,3 a	1,23 a	50,9 b	24,7 c	11,8 a
<i>P. nitida</i>	190,0 a	1,22 a	63,7 a	33,7 ab	12,2 a
<i>P. alata</i>	207,7 a	1,27 a	62,5 ab	30,1 b	11,5 a
<i>P. gibertii</i>	202,5 a	1,28 a	70,5 a	35,0 a	12,6 a
<b>Enxertados nos locais</b>					
Cruz das Almas	185,4 b	1,19 b	51,3 b	28,3 b	12,2 a
Brumado	218,4 a	1,31 a	71,9 a	33,2 a	11,9 a
<b>Pés francos</b>					
BRS Rubi	226,8 a	1,25 a	61,07 a	26,56 a	11,4 a
HFOP-08	227,8 a	1,15 b	61,73 a	26,55 a	10,8 a
<b>Pés francos nos locais</b>					
Cruz das Almas	232,2 a	1,11 a	51,72 a	21,11 b	10,7 a
Brumado	224,3 a	1,25 a	67,41 a	29,96 a	11,6 a
<b>Enxertados vrs. Pés francos</b>					
Enxertados	202,8 b	1,25 a	62,2 a	30,8 a	12,1 a
Pés francos	227,4 a	1,19 a	61,4 a	26,5 b	11,1 a

ns, \*\* e \*: não significativo e significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste de F da análise de variância. MF: massa do fruto; CF: comprimento do fruto, DF: diâmetro do fruto; CF/DF: relação entre o comprimento e diâmetro do fruto; MS: massa de suco; Red.: rendimento de suco; ST: sólidos solúveis totais.

O híbrido BRS Rubi do Cerrado possui frutos mais ovais que o HFOP-08, e este último obteve rendimento de suco superior em 9%. Não houve diferenças entre as massas de suco e de fruto entre as copas (Tabela 3).

O *P. edulis* enxertado em *P. gibertii* apresentou 28% e 30% mais massa de suco e rendimento, respectivamente, do que *P. edulis* autoenxertado que obteve 25% de rendimento de suco. Os demais parâmetros não diferiram em função do porta-enxerto utilizado (Tabela 3). As plantas enxertadas obtiveram melhores atributos (MF, CD/DF, MP e Rend) de fruto em Brumado, com exceção para SS que foi semelhante em ambos os locais (Tabela 3).

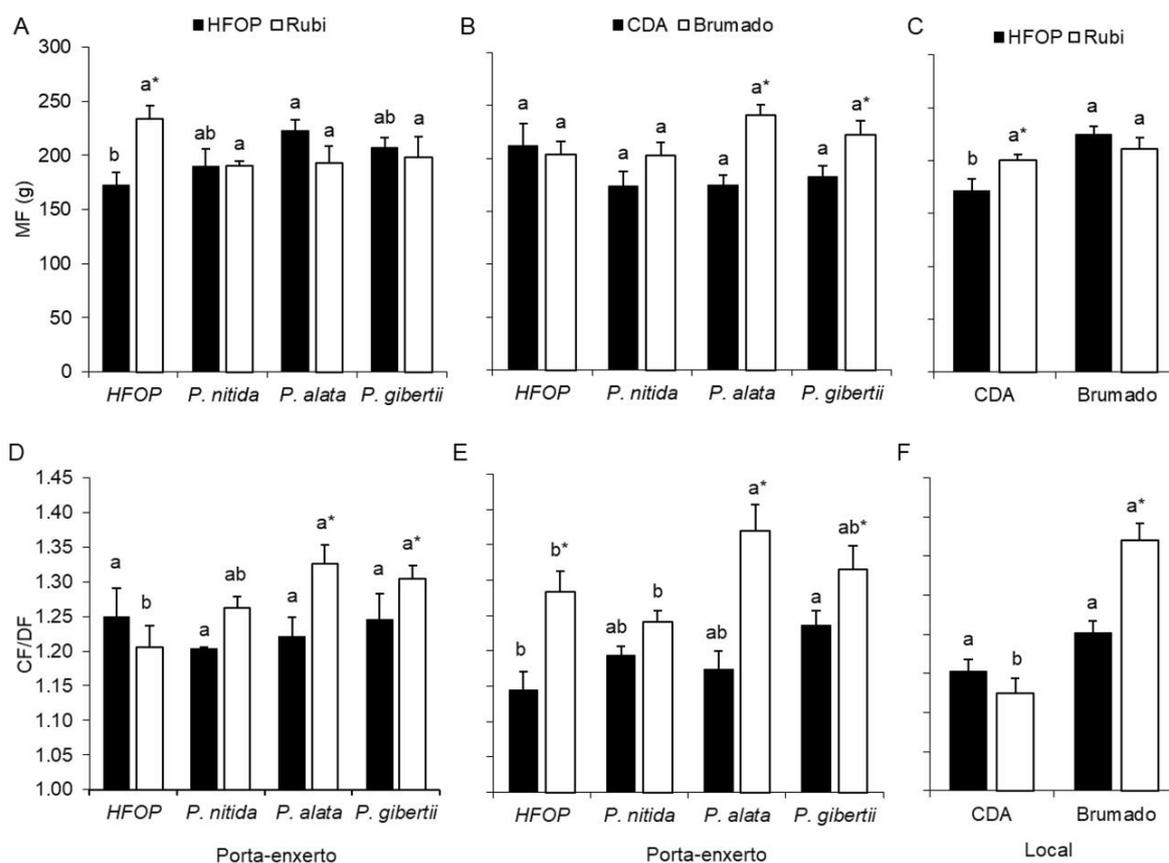
A análise entre os pés francos dos híbridos de *P. edulis* (Tabela 3) apresentou resultados semelhantes ao enxertados (efeito de copa) para o formato (relação CF/DF) de 1,25 com resultado superior quando utilizado BRS Rubi do Cerrado. Os demais parâmetros não diferiram, indicando semelhança entre os híbridos quando enxertados e não enxertados (Tabela 3). Para os pés francos nos locais, houve diferença apenas para o rendimento de suco que foi 30% superior em Brumado (Tabela 3).

A comparação entre tratamentos enxertados e pés francos demonstrou que frutos provenientes de plantas pés francos tiveram 11% mais massa. No entanto, o rendimento de suco foi 14% superior em frutos de plantas enxertadas. Os caracteres MP, CF/DF e SS também não diferiram em função da utilização de plantas enxertadas ou não (Tabela 3).

A interação copa e porta-enxerto para a massa de fruto (MF) variou entre as copas somente no porta-enxerto HFOP-08, que foi melhor com BRS Rubi do Cerrado (233,6 g) comparado a HFOP-08 (172,4 g). Entre os porta-enxertos, HFOP-08 enxertado em si foi inferior a *P. alata*, a qual obteve massa de fruto de 222,8 g (Figura 5A). Essa redução na MF em HFOP-08/HFOP-08 (171,46 g) também ocorreu na interação entre copa e local de produção (Figura 5C). Os porta-enxertos testados apresentaram comportamento similar em relação aos dois locais de avaliação (Figura 5B), no entanto, entre os porta-enxertos, notou-se uma maior massa de fruto em Brumando-BA quando os porta-enxertos utilizados foram o *P. alata* e *P. gibertii*, com 240,8 e 222,2 g, respectivamente (Figura 5B).

A relação CF/DF foi semelhante aos fatores isolados, sendo mais acentuada nos porta-enxertos *P. alata* e *P. gibertii* (Figura 5D, E). Entre os locais de produção,

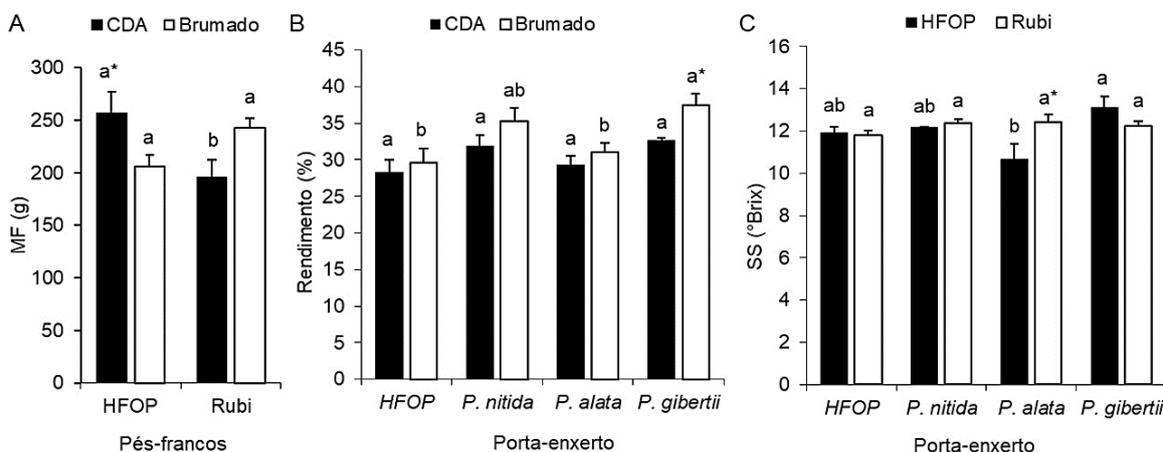
essa relação foi mais marcante em Brumado-BA, que não diferiu apenas no porta-enxerto *P. nitida* (Figura 5E, F).



**Figura 5.** Massa de fruto (PF) para a interação copa porta-enxerto (A); local e porta-enxerto (B); local e copa (C) e relação entre o comprimento do fruto e diâmetro do fruto (CF/DF) na interação copa e porta-enxerto (D); local e porta-enxerto (E) e local e copa (F) de frutos *Passiflora edulis* enxertadas em quatro porta-enxertos, avaliadas em duas localidades distintas. Letras minúsculas comparam as médias entre os porta-enxertos (A-B, D-E) e localidade (C, F). Letras maiúsculas comparam as médias dentro dos porta-enxertos (A-B, D-E) e localidade (C, F).

A interação entre os pés francos e local de cultivo demonstrou que o híbrido HFOP-08 apresentou maior massa do fruto em Cruz das Almas-BA. o BRS Rubi do Cerrado não diferiu em função da localidade, sendo inferior ao HFOP-08 nas condições de Cruz das Almas e semelhante em Brumado (Figura 6A). O rendimento de suco foi maior (37%) em Brumado utilizando *P. gibertii* como porta-enxerto, que não diferiu de *P. nitida* (35%) (Figura 6B). O teor de sólidos solúveis totais (SST) foi inferior em HFOP-08 enxertado em *P. alata* (10,6 °Brix) em comparação ao enxertado em *P. gibertii* (13,1 °Brix), enquanto os demais porta-enxertos foram semelhantes. O porta-enxerto *P. alata* foi o único que promoveu

variação entre as copas, com 14% a mais no teor de SST quando utilizado BRS Rubi do Cerrado como copa (Figura 6C).



**Figura 6.** Interação entre pés francos e localidade para a massa de fruto (A) local e porta-enxerto para o rendimento de suco (B) e teor de sólidos solúveis na interação copa porta-enxerto (C) de frutos *Passiflora edulis* enxertadas em quatro porta-enxertos, avaliadas em Brumado e Cruz das Almas (CDA), Bahia. Letras minúsculas comparam as médias entre os porta-enxertos (b-c) e pés francos (a). \*indica variação significativa dentro dos porta-enxertos (b-c) e pés francos (a).

### **Concentração foliar de macro e micronutrientes**

A concentração foliar variou para todos os nutrientes (Tabela 4). Entre os porta-enxertos, houve variação em seis dos onze nutrientes avaliados, já entre as copas, apenas as concentrações de potássio (K) e boro (B) divergiram. Houve interação entre porta-enxertos e copas para concentrações de fósforo (P), potássio (K) e boro (B). As concentrações de macro e micronutrientes diferiram entre os pés francos para a maioria dos nutrientes a exceção de fósforo (P), magnésio (Mg) e manganês (Mn). Já entre plantas enxertadas e pés francos, as concentrações de B, Cu e Zn diferiram em função da forma de propagação utilizada, obtendo valores superiores em plantas enxertadas (Tabela 4).

O BRS Rubi do Cerrado aumentou em 12% a concentração de K em relação a HFOP-08 (Tabela 4). Entre os pés francos (não enxertado) de ambos os materiais, não se verificou diferença para este elemento, demonstrando que os porta-enxertos influenciaram na sua absorção. Resultado inverso ocorreu para as concentrações de boro, com maior acúmulo na copa HFOP-08, com 14% a mais que BRS Rubi do Cerrado.

A absorção entre os porta-enxertos demonstrou que *P. gibertii*, com 23,31 g kg<sup>-1</sup>, proporcionou 35% mais K do que HFOP-08 enxertado em si, estando associado a maior produção em HFOP-08. O Ca foi maior (25%) em *P. edulis* autoenxertado em relação ao porta-enxerto *P. nitida*. As concentrações de Mg ficaram acima do recomendado (Menzel et al., 1993) quando *P. edulis* foi enxertado em *P. nitida* (5,33 g kg<sup>-1</sup>), não divergindo de *P. edulis* enxertado em si e em *P. alata*. No entanto, essas combinações, assim como *P. edulis/P. gibertii* (3,06 g kg<sup>-1</sup>), possibilitam o pleno desenvolvimento do maracujá amarelo. A concentração de B em *Passiflora edulis* enxertado em *P. nitida* (134,32 mg kg<sup>-1</sup>) foi três vezes superior à faixa considerada ideal por Menzel et al. (1993) para o desenvolvimento da cultura e 77% acima das concentrações encontrados em *P. edulis* enxertado em *P. alata* (Tabela 4). O Mn aumentou em *P. edulis* enxertado em si (70,04 mg kg<sup>-1</sup>), diferindo apenas de *P. nitida* (30,8 mg kg<sup>-1</sup>). O teor de Zn aumentou no porta-enxerto de *P. nitida* sendo 24% superior ao porta-enxerto HFOP-08 que apresentou redução desse elemento (Tabela 4).

A comparação de média entre os pés francos variou para a concentração da maioria dos nutrientes, sobretudo entre o conjunto das espécies silvestres e o maracujá amarelo. Os híbridos de *P. edulis* não divergiram entre si, em nenhum dos elementos testados, indicando que as alterações no teor de nutrientes entre as plantas enxertadas foram causadas pelo uso dos porta-enxertos (Tabela 4).

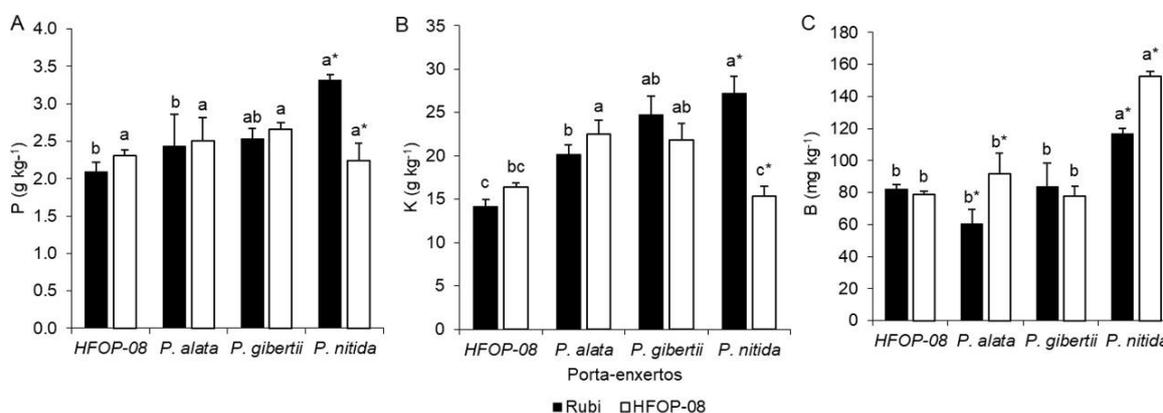
**Tabela 4.** Resumo da análise de variância para concentrações de macro e micronutrientes no tecido foliar de plantas de *Passiflora edulis* enxertadas em quatro porta-enxertos e seus respectivos pés francos nas condições do semiárido em Brumado, BA, 2016.

FV	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn	
Porta-enx. <sup>1</sup>	25,8 <sup>ns</sup>	0,48 <sup>ns</sup>	97,7 <sup>**</sup>	103,9 <sup>*</sup>	7,85 <sup>*</sup>	0,83 <sup>ns</sup>	6251,8 <sup>**</sup>	3,84 <sup>ns</sup>	793,1 <sup>ns</sup>	2760,4 <sup>**</sup>	118,7 <sup>**</sup>	
Copa (Co)	1,72 <sup>ns</sup>	0,21 <sup>ns</sup>	51,3 <sup>*</sup>	2,04 <sup>ns</sup>	3,42 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>	1672,0 <sup>*</sup>	0,66 <sup>ns</sup>	5913,3 <sup>*</sup>	496,13 <sup>ns</sup>	5,45 <sup>ns</sup>	
PE <sup>2</sup> vs. Co.	31,5 <sup>ns</sup>	0,74 <sup>*</sup>	89,6 <sup>**</sup>	15,2 <sup>ns</sup>	1,14 <sup>ns</sup>	0,53 <sup>ns</sup>	981,2 <sup>*</sup>	0,27 <sup>ns</sup>	716,0 <sup>ns</sup>	941,0 <sup>ns</sup>	32,7 <sup>ns</sup>	
Pé-franco	178,9 <sup>**</sup>	0,16 <sup>ns</sup>	99,8 <sup>**</sup>	702,6 <sup>**</sup>	0,004 <sup>ns</sup>	7,12 <sup>**</sup>	2475,3 <sup>**</sup>	19,4 <sup>**</sup>	8963,4 <sup>**</sup>	1522,9 <sup>ns</sup>	408,8 <sup>**</sup>	
En <sup>3</sup> vs.PF	2,01 <sup>ns</sup>	0,33 <sup>ns</sup>	4,00 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	3,81 <sup>ns</sup>	0,05 <sup>ns</sup>	5,13 <sup>*</sup>	4,16 <sup>*</sup>	0,36 <sup>ns</sup>	2,73 <sup>ns</sup>	7,08 <sup>*</sup>	
Erro	13,69	0,157	8,90	33,2	1,84	0,36	287,0	1,59	1239,9	555,2	20,8	
C. V. (%)	7,83	15,9	14,8	22,2	38,6	13,3	18,8	26,4	21,7	36,4	15,1	
<b>Copas</b>												
	..... g kg <sup>-1</sup> .....						..... mg kg <sup>-1</sup> .....					
	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn	
BRS-Rubi	48,4 a	2,6 a	21,6 a	25,4 a	3,60 a	4,54 a	85,8 b	4,44 a	158,6 b	53,6 a	29,5 a	
HFOP-08	47,9 a	2,4 a	19,0 b	25,9 a	4,25 a	4,55 a	100,2 a	4,73 a	185,8 a	61,4 a	30,4 a	
<b>Porta-enxertos</b>												
HFOP-08	48,2 a	2,20 a	15,2 b	30,9 a	3,86 ab	4,07 a	80,4 b	3,80 a	184,9 a	72,0 a	25,9 c	
<i>P. nitida</i>	64,6 a	2,78 a	21,2 a	23,1 b	5,33 a	4,62 a	134,8 a	4,69 a	165,4 a	30,8 b	33,9 a	
<i>P. alata</i>	57,2 a	2,47 a	21,3 a	24,2 ab	3,46 ab	4,69 a	76,1 b	4,37 a	175,4 a	67,8 a	27,5 bc	
<i>P. gibertii</i>	50,7 a	2,60 a	23,3 a	24,1 ab	3,06 b	4,07 a	80,7 b	5,46 a	163,2 a	59,3 ab	32,5 ab	
<b>Pés francos</b>												
<i>P. alata</i>	36,9 c	2,24 a	15,4 b	18,6 b	2,71 a	6,05 a	80,8 ab	5,58 b	109,2 bc	65,8 a	28,2 b	
<i>P. gibertii</i>	43,3 b	2,72 a	15,7 b	37,1 a	2,66 a	2,60 c	119,0 a	8,13 a	97,5 c	99,1 a	45,8 a	
BRS-Rubi	52,3 a	2,38 a	23,5 a	25,7 ab	2,68 a	4,66 b	71,8 b	3,90 bc	198,2 a	92,2 a	25,1 b	
HFOP-08	48,6 ab	2,42 a	24,8 a	25,8 ab	2,73 a	4,34 b	72,8 b	3,15 c	164,5 ab	59,3 a	24,2 b	
<b>Enxertados vs. Pés francos</b>												
Enxertados	48,2 a	2,51 a	20,30 a	25,6 a	3,93 a	4,54 a	93,0 a	4,58 a	172,2 a	57,5 a	30,0 a	
Pé-franco	50,5 a	2,40 a	24,18 a	25,7 a	2,70 a	4,48 a	67,3 b	3,52 b	181,4 a	75,8 a	24,7 b	
Concentrações de referência <sup>4</sup>												
Mínimo	42,0	1,5	20,0	17,0	3,0	3,1	40,0	5,0	100,0	100,0	50,0	
Máximo	52,0	2,5	30,0	27,0	4,0	4,6	60,0	20,0	200,0	500,0	80,0	

ns, \*\* e \*: não significativo e significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste de F da análise de variância. <sup>1</sup>Porta-enxerto; <sup>2</sup>Pé-franco; <sup>3</sup>Enxertadas, <sup>4</sup>Concentrações de referência no período de máximo crescimento vegetativo, folha adulta (MENZEL et al., 1993). N: nitrogênio; P: fósforo; K: potássio; Ca: cálcio; Mg: magnésio; S: enxofre; B: Boro; Cu: cobre; Fe: ferro; Mn: manganês e Zn: zinco.

A análise da interação entre os fatores copa e porta-enxerto demonstrou que *P. nitida* foi o porta-enxerto que efetivou maior teor de P, K e B nos tecidos foliares das copas (BRS Rubi do Cerrado e HFOP-08). Esse porta-enxerto em combinação com BRS Rubi do Cerrado aumentou em 32% o P e 44% o K. Resultado oposto foi observado na concentração de B, 24% superior na combinação HFOP-08/*P. nitida*

em relação à BRS Rubi do Cerrado (Figura 7B). Diferenças entre as copas foram observadas apenas quando utilizada *P. nitida* como porta-enxerto, com ressalva para a concentração de B que também variou no porta-enxerto *P. alata*, com aumento quando utilizado HFOP-08 como copa (Figura 7B).



**Figura 7.** Análise da interação entre porta-enxertos e copas para as concentrações de fósforo (P), potássio (K) e boro (B) de plantas de *Passiflora edulis* enxertada em quatro espécies de *Passiflora* nas condições do semiárido de Brumado, BA, 2016. Letras minúsculas comparam as médias entre os porta-enxertos dentro de cada copa. Letras maiúsculas comparam as médias dentro dos porta-enxertos.

## DISCUSSÃO

As copas se comportaram de forma distinta conforme as condições locais, sendo HFOP-08 o híbrido mais estável, com maior IVC e produtividade 30% superior (Tabela 2). Não foram identificados na literatura estudos comparando diferentes combinações de copa e porta-enxerto no gênero *Passiflora* em condições de campo. No entanto, comportamento diferenciado é frequente em outras espécies como citros (Stuchi, 2012). O efeito significativo do porta-enxerto sobre o desenvolvimento da copa em maracujá amarelo é corroborado em função da ausência de diferenças entre os pés francos de *P. edulis*, enquanto plantas enxertadas variaram em muitos atributos (Tabela 2).

A sobrevivência ao *Fop* e sobrevivência total de *P. edulis* autoenxertado e pé-franco foi inferior em relação as espécies silvestres, confirmando que a enxertia utilizando espécies silvestres inibe a incidência de *Fop*. Por outro lado, a enxertia só foi vantajosa em áreas com histórico do patógeno, pois a redução na produtividade pode ser superior a 50% (Figura 3). A mortalidade de *P. edulis*

autoenxertada também foi relatada por Cavichioli et al. (2011b) que obtiveram 91% de mortalidade em função de *Fop*.

A resistência aos patógenos de solo é o principal atributo para seleção de um porta-enxerto para maracujá amarelo. Porém, se faz necessário que a espécie possua outras qualidades fitotécnicas desejáveis (Morgado et al., 2015). A identificação de porta-enxertos de *Passiflora* com resistência ao *Fop* e que mantenham elevada produtividade é complexa, pois a variabilidade morfológica, anatômica e genética entre as espécies reduz significativamente o vigor de plantas enxertadas (Cavichioli et al., 2011b; Morgado et al., 2015; Lima et al., 2017). A combinação *P. edulis* enxertado em *P. nitida* apresentou reduzida sobrevivência e produtividade em todos os locais, inviabilizando a sua utilização nas áreas testadas, mesmo que o pé-franco de *P. nitida* não tenha manifestado sintomas de fusariose. Além disso, a heterogeneidade na emergência e crescimento lento das plântulas em comparação a *P. edulis* dificultam a obtenção de mudas uniformes para realização da enxertia (Lima et al., 2017). A não adaptação do acesso de *P. nitida* às regiões avaliadas também pode estar relacionada ao acesso, já que a espécie apresenta elevada variabilidade genética intraespecífica e ampla distribuição geográfica, incluindo o estado da Bahia (Junqueira et al., 2007), razão pela qual a avaliação de novos acessos desta espécie faz necessária.

A velocidade de crescimento de *P. edulis* enxertado em *P. gibertii* foi semelhante a *P. edulis* autoenxertado (Figura 1A) nas condições de Cruz das Almas (Figura 1B). Esses resultados indicam que *P. gibertii* é a espécie mais promissora entre as avaliadas para utilização como porta-enxerto no estado da Bahia, pois conjugou vigor semelhante a *P. edulis*, maior sobrevivência ao *Fop* (Figura 3E, F) e produtividade semelhante a média nacional (Figura 2A). Esta espécie também apresentou resultados satisfatórios como porta-enxerto nas condições de campo em estudos conduzidos por Cavichioli et al. (2011a, 2014). Além disso, a massa e o rendimento de suco de frutos de *P. edulis* foram bastante interessantes nesta combinação de enxertia (Tabela 3).

Quando cultivando em área com presença de *Fop*, *P. edulis* enxertado em *P. gibertii* e *P. alata* foram mais produtivos em comparação a *P. edulis* autoenxertado, enquanto *P. nitida* foi semelhante, indicando que não somente o carácter de resistência deve ser levado em consideração na seleção do porta-enxerto. Cavichioli et al. (2011a) obtiveram produtividade de 37,41 e 26,19 t ha<sup>-1</sup> utilizando

a enxertia convencional de *P. edulis* em *P. alata* e *P. gibertii*, respectivamente, porém os autores obtiveram produtividade de 41,18 t ha<sup>-1</sup> em *P. edulis* autoenxertado, apontando ausência da doença na área estudada. A elevada produtividade em plantas enxertadas quando comparadas as obtidas neste estudo pode estar associado a ausência do *Fop* na área e a incidência de outras doenças, como bacteriose e antracnose que reduziram o rendimento de plantas enxertadas neste estudo.

A manutenção da qualidade dos frutos de maracujá amarelo em plantas enxertadas também é fundamental para aceitação dos porta-enxertos pelos produtores. Não ocorreram alterações expressivas nos atributos físicos e químicos em função do uso dos porta-enxertos avaliados em comparação com os pés francos de *P. edulis* (Tabela 3). As alterações entre as copas na relação CF/DF são atribuídas ao formato mais alongado observado no híbrido BRS Rubi do Cerrado, que também foi confirmado entre as plantas pés francos (Tabela 3) e corroborados por outros estudos (Cruz Neto et al., 2016, Jesus et al., 2016). A relação SS/AT também foi superior no BRS Rubi do Cerrado devido à menor acidez e ligeiro acúmulo superior de sólidos solúveis (Tabela 3). Cruz Neto et al. (2016) obtiveram resultados semelhantes em termos de qualidade de fruto de plantas pés francos de BRS Rubi do Cerrado e HFOP-08.

O acesso de *P. gibertii* proporcionou efeito positivo na massa de fruto (Figura 5A) e rendimento de suco (Figura 6B) de frutos das copas, diferindo de *P. edulis* autoenxertado em Brumado, que apresentou maior massa de casca (dados não apresentados), contribuindo com a redução do rendimento de suco. Além disso, é provável que, devido ao maior número de frutos em *P. edulis* enxertado em si mesmo, ocorra redução no rendimento de suco e na massa de suco individual, devido à maior partição dos fotoassimilados em comparação a plantas enxertadas em *P. gibertii* que produziram menos frutos. Esses resultados estão de acordo aos apresentados por Cavichioli et al. (2011c) que obtiveram menor massa de fruto (84,6 g) em *P. edulis* enxertado em *P. gibertii* e rendimento de suco de 35% e 29% em *P. edulis* enxertado em *P. gibertii* e *P. alata*, respectivamente. No entanto, os autores não identificaram diferença para *P. edulis* enxertado em si nesta última variável.

As condições edafoclimáticas e de manejo em Brumado foram mais favoráveis à qualidade de fruto, uma vez que esta foi superior para todos os

atributos pós-colheita com exceção de SS (Tabela 3). Porém, os valores médios observados em Cruz das Almas estão de acordo aos padrões exigidos pelo mercado consumidor, que geralmente prefere frutos maiores, com massa superior a 170 g (Cavichioli et al., 2008), e com aparência atraente quando destinados ao mercado in natura.

A redução no vigor vegetativo de plantas enxertadas de maracujá amarelo é relatada por vários autores (Cavichioli et al., 2011a; Cavichioli et al., 2011b; Cavichioli et al., 2014). A dissimilaridade genética existente entre as espécies de *Passiflora* (Pérez e D'Eeckenbrugge, 2017) deve estar associada a essa redução, embora a incompatibilidade de enxertia nesse gênero seja pouco estudada (Lima et al., 2017). Outros fatores como distribuição das raízes, eficiência na absorção de água, concentração de nutrientes e diferenças de condutância hidráulica podem estar associados à limitação na interação entre copa e porta-enxerto.

O balanço nutricional é essencial para a expressão da máxima produtividade tanto em plantas propagadas por sementes como enxertadas. Além disso, a nutrição pode exercer influência expressiva na ocorrência de doenças, principalmente daquelas causadas por patógenos de solo (Walters e Bingham, 2007). Mesmo assim, na cultura do maracujá essa vertente tem sido pouco investigada, sobretudo se tratando de plantas enxertadas. A literatura não relata alterações nas concentrações de macro e micronutrientes no tecido foliar a partir de plantas de maracujá enxertadas, o que por outro lado é comum em outras frutíferas (Wang et al., 2016).

Neste trabalho, reportamos teor distinto de nutrientes em *P. edulis* enxertado para potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), boro (B), manganês (Mn) e zinco (Zn). Essa variação indica padrões distintos de absorção exclusivamente em função dos porta-enxertos avaliados, o que é assegurado pela ausência de variação entre os pés francos de *P. edulis* (Tabela 4). O teor de K ficou abaixo do nível recomendado por Menzel et al. (1993) em *P. edulis* autoenxertado, sendo este nutriente o segundo mais requerido pelo maracujá amarelo (Borges e Rosa, 2012). Plantas deficientes em K tendem a ser mais susceptíveis a patógenos saprófitos, dessa forma, este elemento também pode estar associado à redução de doenças (Walters e Bingham, 2007).

Todos os porta-enxerto forneceram níveis suficientes de Ca às copas (Menzel et al., 1993), mesmo no menor teor identificado em *P. nitida* (Tabela 4). Este

elemento atua na interação planta-patógeno, mediando a síntese de parede celular (Chebli e Geitmann, 2017) e, portanto, pode influenciar na resistência ao *Fop*. Por outro lado, o teor de B foi duas vezes acima do limite máximo para o maracujá amarelo recomendado por Menzel et al. (1993) quando *P. edulis* foi enxertado em *P. nitida*. Esse comportamento ocorreu provavelmente devido a menor taxa vegetativa desta combinação, resultando em maior teor (concentração) deste elemento nas folhas.

O excesso de B na maioria das combinações copa/porta-enxerto pode ter ocorrido em função da quantidade de adubo utilizada em Brumado que é recomendada em kg ha<sup>-1</sup> e aplicado por fertirrigação, acarretando em concentrações acentuadas de nutrientes no bulbo molhado. Essa adubação é recomendada para *P. edulis* pé-franco, sendo que as plantas enxertadas apresentaram menor massa foliar, principalmente quando enxertado em *P. nitida* acarretando em maior nível deste nutriente nesta combinação. Além disso, devido às condições climáticas da região a demanda transpiratória das plantas é elevada contribuindo com o teor deste nutriente. Com frequência, concentrações tóxicas de B têm sido associadas a problemas de salinidade e alcalinidade, como os de regiões áridas e semiáridas, onde a toxidez por B é mais comum (Bell e Dell, 2008). Esses relatos corroboram a elevada concentração deste elemento observado em todos os tratamentos bem como presente no solo na área experimental de Brumado. Concentrações foliares de Mg também foram excessivas (Menzel et al., 1993) em plantas enxertadas em *P. nitida* (Tabela 4).

O reduzido vigor vegetativo e a produtividade inferior de plantas enxertadas em espécies silvestres, em relação a pés francos e autoenxertos de maracujá amarelo na ausência de infestação de *Fop*, sugerem que o uso de híbridos entre *P. edulis* e espécies resistentes seja uma estratégia mais eficiente para a obtenção de porta-enxertos superiores. Assim, os programas de melhoramento genético da cultura devem direcionar esforços para obtenção de híbridos interespecíficos resistentes ao *Fop*, mas que agreguem desempenho agrônômico adequado. Enquanto isso, plantas enxertadas em *P. gibertii* constitui opção para manutenção do cultivo em áreas com histórico de fusariose em condições edafoclimáticas semelhantes às regiões estudadas no estado da Bahia.

## CONCLUSÕES

1. A enxertia utilizando *P. gibertii* como porta-enxerto pode ser utilizada como medida paliativa no manejo da fusariose até que se obtenham cultivares com resistência e atributos agronômicos almejados pelos produtores e consumidores.
2. As espécies silvestres utilizadas como porta-enxerto são classificadas como resistentes ao fusário nas duas localidades da Bahia com histórico desta doença, sendo que *P. nitida* não apresentou atributos fitotécnicos desejáveis para utilização como porta-enxerto, com baixo vigor e elevada mortalidade associada a outros fatores.
3. A qualidade de fruto de maracujá amarelo é pouco influenciada pelos porta-enxertos avaliados, porém *P. gibertii* proporcionou maior massa de suco e rendimento de suco na comparação com *P. edulis* pé-franco.
4. Quando enxertadas, de modo geral as plantas apresentaram maiores teores de macro e micronutrientes no tecido foliar da copa de *P. edulis*.

## AGRADECIMENTOS

Ao produtor Paulo Aparecido pelo apoio e parceria na condução do experimento em Brumado e ao Instituto Federal de Ciência e Tecnologia da Baiano/Campus Guanambi pela condução do experimento em Guanambi. A Capes pela concessão da bolsa do primeiro autor e ao CNPq pelo financiamento do projeto (Processo 473643/2013-8) e à Fundação de Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo apoio financeiro. À Embrapa Mandioca e Fruticultura pelo suporte técnico, financeiro e material vegetal.

## REFERÊNCIAS

- Bell, RW; Dell, B. 2008. Micronutrients for Sustainable Food, Feed, Fiber and Bioenergy Production. International Fertilizer Industry Association, Paris, Franca.
- Borges AL; Rosa RCC. 2012. Manejo da fertilidade do solo e nutrição mineral. Informe Agropecuário, 33: 63-70.
- Carmo CDS; Araujo WS; Bernardi ADC; Saldanha MFC. 2000. Métodos de análise de tecidos vegetais utilizados na Embrapa Solos. *Embrapa Solos-Circular Técnica (INFOTECA-E)*.

Cavichioli JC; Corrêa LDS; Boliani AC; Santos PCD. 2011c. Características físicas e químicas de frutos de maracujazeiro-amarelo enxertado em três porta-enxertos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33: 906-914.

Cavichioli JC; Corrêa LS; Boliani AC; Santos PC. 2011a. Desenvolvimento e produtividade do maracujazeiro-amarelo enxertado em três porta-enxertos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33: 558-566.

Cavichioli JC; Corrêa LS; Garcia MJM; Fischer IH. 2011b. Desenvolvimento, produtividade e sobrevivência de maracujazeiro-amarelo enxertado e cultivado em área com histórico de morte prematura de plantas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33: 567-574.

Cavichioli JC; Kasai F; Nasser M. 2014. Produtividade e características físicas de frutos de *Passiflora edulis* enxertado sobre *Passiflora gibertii* em diferentes espaçamentos de plantio. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36: 243-247.

Cavichioli JC; Ruggiero C; Volpe CA. 2008. Caracterização físico-química de frutos de maracujazeiro amarelo submetidos à iluminação artificial, irrigação e sombreamento. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30: 649-656.

Chebli Y; Geitmann A. 2017. Cellular growth in plants requires regulation of cell wall biochemistry. *Current Opinion in Cell Biology*, 44: 28-35.

Cruz Neto AJ; Rosa RCC; Oliveira EJ; Sampaio SR; Santos IS; Souza PU; Passos AR; Jesus ON. 2016. Genetic parameters, adaptability and stability to selection of yellow passion fruit hybrids. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 16: 321-329.

Fischer IH; Almeida A; Fileti M; Bertani RMA; Arruda MC; Bueno CJ. 2010. Avaliação de *Passifloraceas*, fungicidas, e *Trichoderma* para o Manejo da Podridão do Colo do Maracujazeiro, causada por *Nectria haematococca*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32: 709-717.

Fischer IH; Rezende JAM. 2008. Diseases of passion flower (*Passiflora* spp.). *Pest technology*, 2: 1–19.

Freitas JCO; Pio Viana A; Santos EA; Paiva CL; Fernando HLS; Amaral Jr AT; Souza MM; Dias VM. 2016. Resistance to *Fusarium solani* and characterization of hybrids from the cross between *P. mucronata* and *P. edulis*. *Euphytica*, 208: 493–507.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento da produção nacional de maracujá no ano de 2016. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/1613>>. Acesso em: 15 de novembro de 2017.

Jesus ON; Oliveira EJ; Faleiro FG; Soares TL; Girardi EA. org. 2017. Illustrated morpho-agronomic descriptors for *Passiflora* spp. Embrapa Mandioca e Fruticultura-Livro científico, Cruz das Almas, BA, Brasil.

Jesus ON; Soares TL; Girardi EA; Rosa RCC; Oliveira EJ; Cruz Neto AJ; Oliveira J RP. 2016. Evaluation of intraspecific hybrids of yellow passion fruit in organic farming. *African Journal of Agricultural Research*, 11: 2129-2138.

Junqueira KP; Faleiro FG; Ramos JD; Bellon G; Junqueira NTV; Braga MF. 2007. Variabilidade genética de acessos de maracujá-suspiro com base em marcadores moleculares. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 29: 571-575.

Lima AA; Borges AL; Fanceli M; Cardoso CEL. 2011. Maracujá: sistema de produção convencional. In: Pires MM.; São José AR.; Conceição AO. org. Maracujá: avanços tecnológicos e sustentabilidade. Ilhéus: Edit. 238p.

Lima LKS; Soares TL; Souza EH; Jesus ON; Girardi EA. 2017. Initial vegetative growth and graft region anatomy of yellow passion fruit on *Passiflora* spp. rootstocks. *Scientia Horticulturae*, 215: 134-141.

McGovern RJ. 2015. Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. *Crop Protection*, 73: 78-92.

Menzel CM; Haydon GF; Doogan VJ; Simpson DR. 1993. New standard leaf nutrient concentrations for passionfruit based on seasonal phenology and leaf composition. *Journal of Horticultural Sciences*, 68: 215-230.

Morgado MAD; Bruckner CH; Rosado LDS; Santos CEM. 2015. Desenvolvimento de mudas de maracujazeiro-azedo enxertadas em espécies silvestres de *Passiflora*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 37: 471-479.

Nasser MD; Cavichioli JC; Kasai FS; Vitorino R. (2011). Desenvolvimento de maracujazeiro-amarelo enxertado sobre maracujazeiro-doce em diferentes espaçamentos de plantio. *Revista Brasileira Fruticultura*, E: 638-642.

Nogueira Filho GC; Roncatto G; Ruggiero C; Oliveira JCD; Malheiros EB. 2010. Desenvolvimento e produção das plantas de maracujazeiro-amarelo produzidas por enxertia hipocotiledonar sobre seis porta-enxertos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32: 535-543.

Ortiz E; Hoyos LMC. 2012. Descripción de la sintomatología asociada a fusariosis y comparación con otras enfermedades en gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) en la región del Sumapaz (Colombia). Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas, 6: 110-116.

Pérez JO; D'Eeckenbrugge GC. 2017. Morphological characterization in the genus *Passiflora* L.: an approach to understanding its complex variability. Plant Systematics and Evolution, 303: 531-558.

Santos CHB; Oliveira EJ; Laranjeira FF; Jesus ON; Girardi EA. 2016. Growth, fruit set, and fusariosis reaction of yellow passion fruit grafted onto *Passiflora* spp. Revista Brasileira de Fruticultura, 38: 2016.

Stuchi ES. 2012. Controle do tamanho de plantas cítricas. Citrus Research and Technology, 33: 91-112.

Walters DR; Bingham IJ. 2007. Influence of nutrition on disease development caused by fungal pathogens: implications for plant disease control. Annals of Applied Biology, 151: 307-324.

Wang N; Wei Q; Yan T; Pan Z; Liu Y. 2016. Improving the boron uptake of boron-deficient navel orange plants under low boron conditions by inarching boron-efficient rootstock. Scientia Horticulturae, 199: 49-55.

### Artigo 3

**Método de propagação e estresse hídrico condicionam a susceptibilidade de maracujazeiro azedo a *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* em condições controladas\***

---

\* Artigo submetido ao comitê científico do periódico Scientia Horticulturae na versão em língua inglesa.

## **Método de propagação e estresse hídrico condicionam a susceptibilidade de maracujazeiro azedo a *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* em condições controladas**

### **Resumo**

A fusariose é considerada a principal doença de origem fúngica que ataca o maracujazeiro no Brasil. Até o momento não existem variedades comerciais de *P. edulis* resistentes ao *Fop* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*), e também um método eficiente de controle dessa doença. Há uma constante associação do aumento da intensidade de fusariose após escassez hídrica em condições de campo, o que precisa de comprovação científica e podem ser utilizadas com o propósito de aumentar a eficiência de inoculação de *Fop* em condições controladas. Neste trabalho objetivou-se, avaliar o efeito do tipo de mudas (estacas ou sementes), o efeito do déficit hídrico controlado, bem como avaliar as alterações anatômicas da raiz associados à ação da fusariose no maracujazeiro. O estudo foi realizado em casa de vegetação em delineamento inteiramente casualizado constituído por duas formas de propagação (semente e estaca) duas condições hídricas (deficit hídrico controlado e sem deficit). A inoculação com *Fop* foi realizada utilizando suspensão de esporos  $10^6$  conídios  $\text{ml}^{-1}$  e contaminação do substrato com areia fubá de milho infestado com *Fop*. Para estudo anatômico utilizou-se segmentos de raízes provenientes das plantas inoculadas e do tratamento controle. As plantas de maracujazeiro propagadas por sementes e submetidas ao déficit hídrico apresentaram maior incidência à fusariose com 70,4%, enquanto no tratamento controle a suscetibilidade foi menor com 49,2% de plantas murchas. Nas plantas estressadas foi observada maior presença de hifas e clamidósporos e redução na concentração do amido na região do córtex da raiz. A propagação por sementes associado ao déficit hídrico controlado pode ser utilizada para realização de *screening* de acessos de *Passiflora edulis* para resistência a fusariose.

**Palavras-chave:** *Passiflora edulis*, déficit hídrico, fusariose, inoculação, interação planta-patógeno, anatomia.

## **Method of propagation and water stress influence the susceptibility of yellow passion fruit to *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* in controlled conditions**

### **Abstract**

Fusarium wilt is considered the main fungal disease of passion fruit plants in Brazil. To date, there are no commercial varieties of *Passiflora edulis* resistant to *Fop* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*), nor is there an efficient method to control this disease. There is ample anecdotal evidence of greater intensity of Fusarium wilt after water shortage in field conditions, but this association needs scientific confirmation. There is also a need for research to increase the efficiency of inoculation with *Fop* under controlled conditions for research purposes. Therefore, the objective of this study was to evaluate the type of propagation (from cuttings or seeds) and the effect of controlled water deficit on the incidence of Fusarium wilt in passion fruit plants, as well as to evaluate the anatomical changes in the roots caused by the disease. The study was carried out in a greenhouse according to a completely randomized design consisting of two propagation methods (seeds and cuttings) and two water conditions (water deficit and no water deficit - control). The artificial inoculation with *Fop* involved application of a spore suspension of  $10^6$  conidia mL<sup>-1</sup> and infestation of the substrate with *Fop* growth in sand and cornmeal substrate. For anatomical analysis, root segments were used from inoculated and non-inoculated plants (control). The plants propagated by seeds and submitted to water deficit presented the highest incidence of Fusarium wilt, 70.4%, while in the control group the incidence was below 49.2%. The plants subjected to water stress had greater presence of hyphae and chlamydospores and reduced starch concentration in the root cortex region. Propagation by seeds associated with controlled water stress can be used to screen accessions of *P. edulis* for resistance to Fusarium wilt.

**Keywords:** *Passiflora edulis*; water deficit; Fusarium wilt; inoculation; plant-pathogen interaction; anatomy.

## INTRODUÇÃO

O maracujá azedo (*Passiflora edulis* Sims) é susceptível a diversas doenças de parte aérea e raiz, entretanto a murcha de fusarium provocada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (*Fop*) destaca-se como uma das principais doenças (Ortiz e Hoyos-Carvajal, 2016) e pode levar as perdas de produção superiores a 80% (Fischer e Rezende, 2008; Freitas *et al.*, 2016). Na ausência do *Fop* e outras doenças o cultivo poderia ser produtivo por pelo menos três anos, no entanto a presença deste fungo tem reduzido os cultivos para no máximo um ano.

O sistema vascular de plantas infectadas apresenta coloração ferruginosa na raiz, haste e ramos, em função da oxidação de compostos fenólicos pelo etileno, formando polifenoloxidase (Stangarlin e Leite, 2008). A murcha ocorre mediante colapso dos vasos do xilema, devido à presença física de estruturas do patógeno, como hifas e esporos, além de toxinas fúngicas e da própria estruturas de defesa produzidas pela planta (Stangarlin e Leite, 2008; Fischer *et al.*, 2010; Ortiz *et al.*, 2014).

O controle desta doença é bastante complexo, pois o método químico não resulta em efeitos expressivos na supressão da doença, e o patógeno permanece por vários anos no solo na forma de clamidósporos, impedindo o plantio em áreas com histórico da doença (Fischer e Rezende, 2008). A utilização de variedades resistentes é considerada a melhor estratégia, para minimizar os danos causados pela doença, embora ainda não se disponha de cultivares resistentes (Freitas *et al.*, 2016).

A identificação e seleção de genótipos resistentes são realizadas em condições de campo em áreas infestadas pelo patógeno. No entanto, o tempo de avaliação e os custos com tratamentos culturais oneram o processo de seleção, além de haver influência de outras doenças e fatores ambientais que dificultam o diagnóstico. Diversos estudos foram conduzidos visando estabelecer protocolos eficientes de inoculação para identificar indivíduos resistentes em condições controladas (Fischer *et al.*, 2010; Flores *et al.*, 2012; Ortiz e Hoyos-Carvajal, 2016). Os resultados são divergentes, o que indica a necessidade de ajustes no método para *screening* mais acurado de fontes de resistência nos recursos genéticos de *Passiflora*.

A incidência da doença é maior na fase reprodutiva da planta e após período chuvoso associado a altas temperaturas (Cavichioli *et al.*, 2011). Assim, não se

pode negligenciar os efeitos de estresses biótico e abiótico já que contribuem para a manifestação dos sintomas do patógeno exercendo influência direta na infecção e consequente susceptibilidade ou resistência das plantas (Ramegowda e Enthil-Kumar, 2015). Estudos tem demonstrado que o maracujá amarelo cultivado em condições de campo é mais susceptível ao *Fop* quando submetido ao déficit hídrico e com maior frequência no início da fase reprodutiva (Cavichioli *et al.*, 2011).

O estresse hídrico tem mostrado efeito na suscetibilidade de várias plantas ao patógeno (Ragazzi *et al.*, 1995; Ramegowda e Enthil-Kumar, 2015; Nejat e Mantri, 2017) que pode está associado a danos na raiz (Berta *et al.*, 2005), alteração na microfauna do solo (Rolli *et al.*, 2015), danos fisiológicos (Ghaemi *et al.*, 2010), quantidade de proteínas disponíveis (Ramegowda e Enthil-Kumar, 2015; Pandey *et al.*, 2017) e alteração no mecanismo de defesa (Pandey *et al.*, 2017). Além disso, a fase fenológica da planta também está relacionada à suscetibilidade ou não ao patógeno (Del Ponte *et al.*, 2007).

É necessário o estabelecimento de uma técnica eficiente de inoculação do *Fop* no maracujazeiro e que seja confiável para identificar fontes de resistência a esse patógeno em curto espaço de tempo. Além disso, possibilitará à avaliação de diversos genótipos de maracujazeiro simultaneamente, permitindo a identificação de fontes de resistência para o desenvolvimento de cultivares com resistência ao *Fop*.

Com a efetivação da técnica de inoculação do *Fop* no maracujazeiro será possível compreender melhor os mecanismos genéticos que estão relacionados na interação planta-patógeno, permitindo avançar na identificação de genes candidatos à seleção via *Next-generation sequencing* (NGS). Permitirá ainda avançar nas análises histoquímicas e histopatológicas que permitirão avaliar in loco padrões distintos de infecção entre espécies resistentes e susceptíveis e identificar marcadores químicos associados à resistência (Flores *et al.*, 2012; Marques *et al.*, 2013; Ortiz *et al.*, 2014), servindo de subsídio na tomada de decisão nos programas de melhoramento genético do maracujá amarelo. Com base nessas informações, o objetivo do presente estudo foi avaliar o tipo de mudas (estacas ou sementes), o efeito do déficit hídrico controlado, bem como avaliar as alterações anatômicas das raízes infectadas pelo *Fop* que possam auxiliar no conhecimento da interação planta-patógeno e contribuir na identificação de materiais resistentes à murcha de Fusarium.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Local e material vegetal*

O trabalho foi realizado em condições de casa de vegetação da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia (12°39'25" S, 39°07'27" W, 222 m). A temperatura do ar dentro da casa de vegetação foi regulada para  $28 \pm 2$  °C e a umidade relativa para 60%. O genótipo avaliado foi o híbrido intraespecífico BRS Gigante Amarelo (*P. edulis* Sims.), que é considerado susceptível às doenças causadas por patógenos de solo.

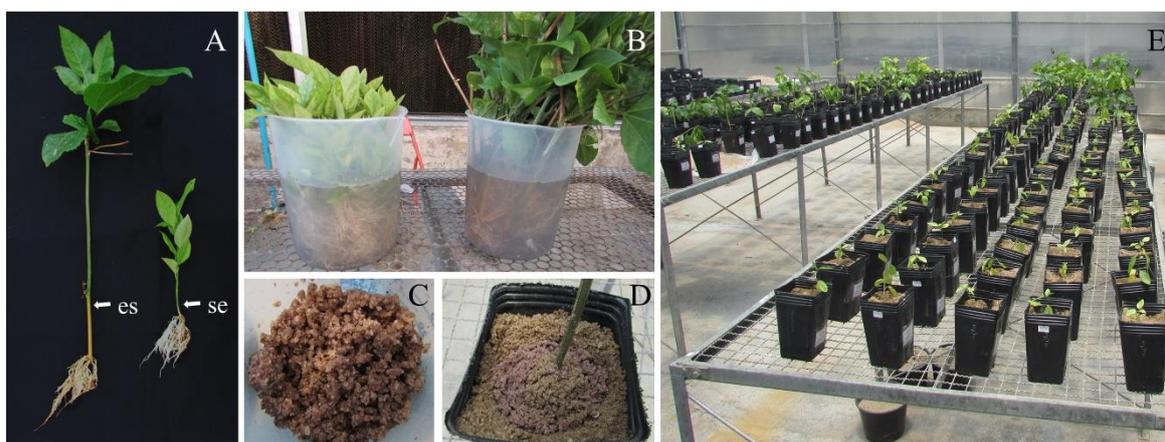
Foram avaliadas duas formas de propagação do maracujazeiro (sementes e estaquia) quanto à manifestação dos sintomas da murcha de fusarium. As sementes do BRS Gigante Amarelo foram obtidas de viveiro comercial e as estacas da mesma variedade foram coletadas de duas plantas matrizes com dez meses de idade que eram mantidas em estufa protegida. Elas encontravam-se vigorosas, bem nutridas, isentas de sintomas de pragas e doenças e próximo ao início do florescimento. As estacas apresentando duas gemas sem folhas com  $17 \pm 2$  cm de altura foram retiradas de ramos maduros e lignificados com aproximadamente 1,5 m, sendo desprezados 20 cm da região apical e colocadas para enraizar em vermiculita expandida.

### *Formação das mudas e inoculação com Fop*

As mudas do maracujazeiro amarelo - BRS Gigante Amarelo foram obtidas a partir da semeadura ou enraizamento das estacas em tubetes de 75 mL, contendo vermiculita de granulometria média. Após 30 dias da emergência das plântulas (quando essas apresentavam quatro a seis folhas) e enraizamento das estacas (um broto, com quatro a seis folhas), foram realizados ferimentos nas raízes com auxílio de uma lâmina de bisturi para facilitar a penetração do patógeno no momento da inoculação.

O isolado monospórico utilizado na inoculação foi o *Fop* 05 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* - *Fop*) da micoteca do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura. A inoculação foi feita via imersão das raízes durante 10 minutos em solução ajustada para  $10^6$  conídios mL<sup>-1</sup> (Flores *et al.*, 2012). Além da inoculação por imersão foi adicionado inóculo no substrato das plantas. O preparo do inóculo, areia + fubá de milho foi realizado na proporção

9:1:2 (partes em massa de areia fina e seca: farinha de milho: água), respectivamente. Duzentos gramas desta mistura foram distribuídos em sacos plásticos com capacidade de 1 kg e autoclavados duas vezes por 1,5 h. Em seguida, foram adicionados 20 discos de 5 mm de diâmetro do meio BDA contendo o isolado *Fop* 05 e cultivados conforme proposto por Flores *et al.* (2012). Os sacos plásticos foram agitados a cada três dias para obter a colonização homogênea do substrato pelo fungo e, após 30 dias foi realizado o ajuste do substrato para a concentração de  $10^6$  unidades formadoras de colônia (UFC) grama<sup>-1</sup>. Posteriormente, as mudas foram transplantadas para vasos de polietileno, contendo 1,2 L de areia lavada esterilizada previamente contaminada com 50 g da mistura areia + fubá de milho contendo o mesmo isolado na concentração de  $10^6$  UFC grama<sup>-1</sup> (Figura 1).

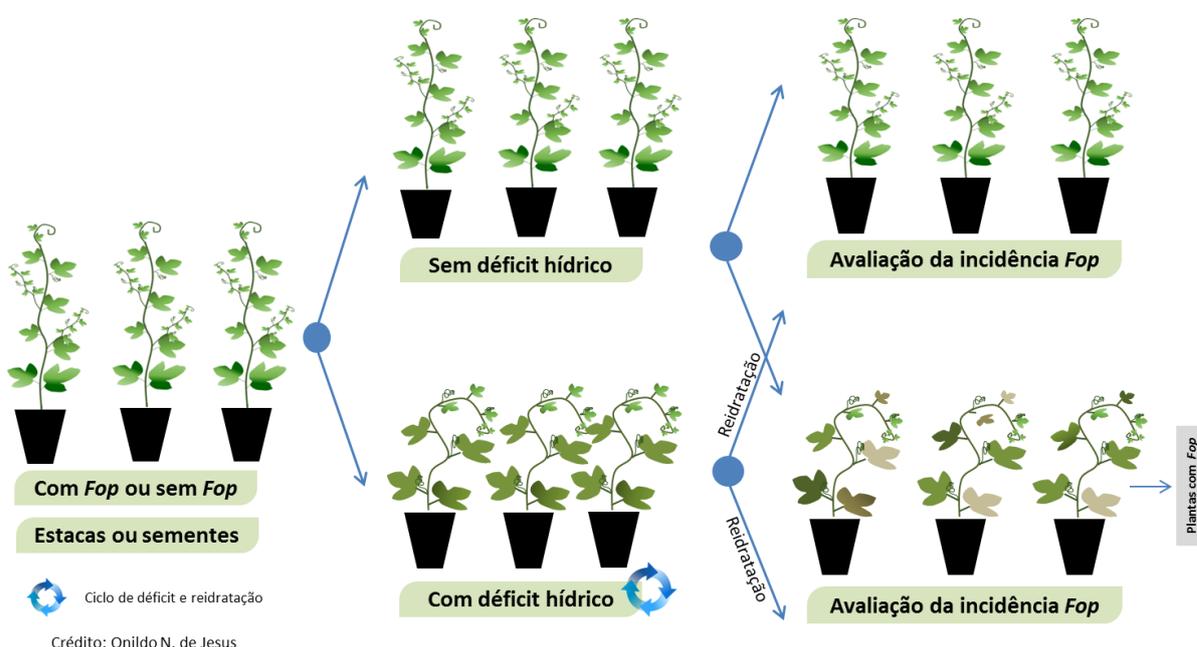


**Figura 1.** Etapa do preparo das mudas de maracujazeiro inoculadas ou não com *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (*Fop*) e submetidas a dois regimes hídricos (sem e com déficit hídrico controlado). A) Aspecto das mudas provenientes de estacas e sementes; B) Inoculação por meio de imersão em solução de conídios; C) Mistura de areia + fubá + *Fop*; D) Mistura de areia + fubá + *Fop* com substrato; E) Aspecto geral do experimento instalado. es: estaca, se: semente.

### **Déficit hídrico após inoculação do *Fop***

Após a inoculação do *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, todos os tratamentos foram mantidos na capacidade de campo por 15 dias. Essa condição foi mantida nos tratamentos controle e iniciados o déficit hídrico nos demais tratamentos. A umidade do substrato foi monitorada em dias alternados por meio da técnica de reflectometria de domínio no tempo, utilizando-se sondas do tipo TDR de 10 cm de comprimento.

A irrigação foi suspensa até a manifestação de sintomas de murcha parcial das folhas que ocorreu com umidade relativa em torno de  $0,12 \pm 2 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ , e retomada até a recuperação da turgidez das folhas com umidade de  $0,25 \pm 2 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$  seguida de novo déficit hídrico controlado até atingir os níveis críticos mencionados anteriormente. Esse processo foi repetido no decorrer do experimento até que as plantas apresentassem sintomas visuais da doença, que foi considerado por meio da manutenção da murcha mesmo após a reidratação, enquanto no tratamento controle (ausência do *Fop*) e submetido ao déficit hídrico retomou a turgidez das folhas naturalmente (Figura 2).



**Figura 2.** Esquema de execução do déficit hídrico em plantas propagadas por sementes e estacas, plantas inoculadas foram mantidas na capacidade de campo e submetidas ao déficit hídrico controlado para avaliação do efeito isolado e combinados de estresse biótico e abiótico na incidência do *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*.

#### *Delineamento experimental e variáveis fitopatológicas estudadas*

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial triplo  $2 \times 2 \times 2$  (tipo de propagação x regime hídrico x inoculação do patógeno), totalizando oito tratamentos, com quatro repetições cada e dez plantas na parcela. Já para as análises fitopatológicas foram coletadas no mínimo quatro plantas por tratamento.

### *Avaliação da incidência e severidade da murcha de Fusarium*

Para a avaliação da murcha de *Fusarium* no caule e na raiz utilizou-se o critério de sintomatologia visual externa (regiões necrosadas e rachaduras do caule) e interna (coloração vascular escurecida e formação de calos). A avaliação dos sintomas dessa doença foi baseada em uma escala de notas variando de 0 a 3, onde 0 = planta saudável; 1 = planta sem sintomas externos e com sintomas internos (escurecimento interno do caule e raiz); 2 = planta com sintomas externos e internos (calos, necrose, escurecimento dos tecidos, rachaduras e escurecimento vascular); 3 = murcha e morte ocasionada pelo *Fop*. O índice de doença foi calculado conforme McKinney, (1923). Os dados (incidência e ID) foram submetidos a análise de variância e as medias dos tratamentos foram comparadas pelo teste F, utilizando o pacote agricolae do programa R (R Development Core Team, 2016). A quantificação do número de clamidósporos foi realizada em cinco fotomicrografias da raiz. Em cada imagem, cinco quadrados de 200 x 200 µm foram distribuídos aleatoriamente na imagem e o número de clamidósporos foi contado com o software ImageJ. Para a confirmação dos postulados de Koch, foram utilizadas partes para o caule e raízes das plantas sintomáticas e assintomáticas para re-isolar o patógeno.

### *Curva de Kaplan-Meier para estimar o tempo de morte da planta*

A análise de sobrevivência foi realizada utilizando a curva de Kaplan-Meier (KM) (Kaplan and Maier, 1958). Neste estudo, o evento de interesse foi a morte da planta causada pela *Fop* sendo verificada a cada dois dias. As diferenças das curvas de sobrevivência dos métodos de propagação com e sem restrição de água e a interação entre esses fatores foram testadas utilizando o teste não paramétrico F de Cox ( $P \leq 0,05$ ).

### *Análise histopatológica das raízes*

Após a detecção visual de plantas inoculadas com sintomas típicos de *Fop* (murcha e escurecimento interno dos vasos), fragmentos radiculares foram coletados com 2-4 cm de comprimento para avaliar a colonização dos tecidos do hospedeiro pelo *Fop* utilizando a técnica de clarificação e coloração das raízes (Phillips e Haymann, 1970). O mesmo procedimento (limpeza e coloração das raízes) também foi realizado para as plantas não inoculadas como controle. Os

dados obtidos foram submetidos a testes de normalidade e análise de variância (ANOVA), utilizando o pacote *agricolae* do programa R (R Development Core Team, 2016).

#### *Análise anatômica do sistema radicular utilizando a técnica de dupla coloração*

Para diferenciar parede celular da planta, estruturas do patógeno e presença de substâncias produzidas pela planta infectada utilizou-se a técnica de dupla coloração. Segmentos de raízes secundárias com 2-4 cm de comprimento do material não inoculado e inoculado de plantas propagadas por sementes e mantidos sob déficit hídrico controlado, foram fixadas em solução de formaldeído, ácido acético e etanol a 70% (FAA 70) por 48 h e em seguida, foram conservadas em etanol a 70%, (Johansen, 1940). Após esse período, os segmentos radiculares foram desidratados em série etílica crescente (85-100%) por 9 h, infiltrados lentamente em historesina: etanol na proporção 1: 2 e 1: 1 por 72 h cada, e por último em historesina pura permanecendo por uma semana. As amostras foram emblocadas e a polimerização ocorreu em temperatura ambiente por 48 h. Cortes histológicos seriados (5 µm) foram obtidos em micrótomo rotativo Leica RM 2155 (Leica, Nussloch, Alemanha) e montados em lâminas histológicas e coradas (Marques *et al.*, 2013). Os cortes histológicos foram analisados e fotografados em fotomicroscópio Olympus BX51 acoplado com câmera digital Olympus DP175 (Olympus, Tokyo, Japan).

Após o preparo das lâminas, cortes com 5 µm de espessura foram corados utilizando lugol por cinco minutos, que é indicado para identificação de amido apresentando coloração azul-negro ou marrom muito escuro (Berlyn e Miksche, 1976). Com o objetivo de avaliar a densidade e distribuição de amido entre os diferentes tecidos radiculares, realizou-se uma análise digital das fotomicrografias. Para a avaliação, três a cinco imagens dos tratamentos submetidos ao déficit hídrico (com e sem inoculação *Fop*) foram dimensionadas para uma área de interesse de 1000 x 1000 µm. A área de interesse foi dividida em 64 quadrados de 125 x 125 µm cada, seguido da quantificação da porcentagem de área ocupada pelo amido, utilizando o Software de análise de Imagem para quantificação da doença de planta "Assess v1.0". Para a análise estatística, cada quadrado foi avaliado para o tipo de tecido contido (epiderme, córtex, floema ou xilema), seguido

de uma comparação entre inoculados e não inoculados por meio do teste F da ANOVA.

Uma análise adicional foi realizada com base na comparação dos mapas de superfície de contorno gerados para ambos os tratamentos, transformando a posição do quadrado em um vetor de grade "x / y", sendo o eixo y a distância vertical da epiderme de raiz para o centro da raiz (medula) e o eixo x a distância do centro (medula) à epiderme em uma direção perpendicular. Uma tabela de contingência foi construída usando os eixos x e y e a porcentagem da área ocupada por amido para cada posição; seguido pela geração dos mapas de superfície de contorno usando o software SigmaPlot versão 11.0.

A identificação de calose no tecido vascular, lignificação dos tecidos de plantas infectadas foi realizada por meio da microscopia de fluorescência. Os cortes das raízes de plantas de *P. edulis* submetidas ao déficit hídrico e a inoculação do *Fop* foram coradas com lugol por três minutos, em seguida lavadas com água de torneira e coradas com azul de anilina 1% por oito minutos e por último em lugol novamente por 30 s e montadas com água de torneira (Kraus e Arduin, 1997). O corante azul de anilina produz uma coloração azul para calose e o lugol atua nas paredes celulares dando coloração cinza e amarelada para as lignificadas.

Para verificar a presença de calose no sistema radicular de maracujazeiro infectado pelo *Fop* utilizou-se o microscópio de fluorescência com filtro ultravioleta. As lâminas foram analisadas em microscópio de luz (Axioskop2, Carl Zeiss, Jena, Germany).

## RESULTADOS

### ***Incidência e severidade da fusariose***

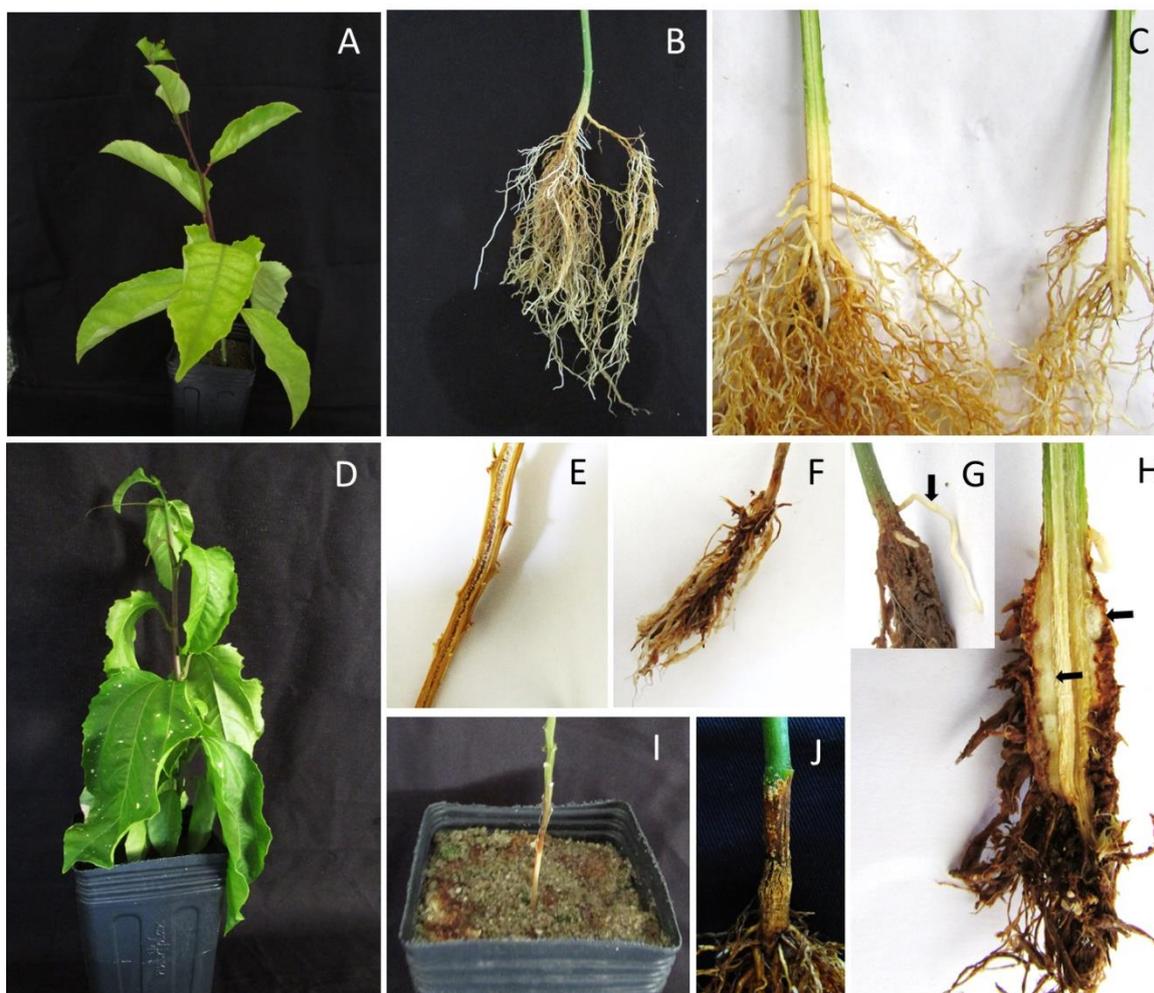
Verificou-se ao longo de 210 dias que as plantas não inoculadas propagadas por sementes e estacas com e sem déficit hídrico se desenvolveram normalmente. Após a finalização do experimento, apresentaram raízes saudáveis, isentas de regiões necrosadas com coloração interna do caule típica da espécie (Figura 3A-C). As plantas propagadas por sementes, inoculadas e submetidas ao déficit hídrico iniciaram manifestação de sintomas visuais de *Fop* somente aos 66 dias após a inoculação (DAI). A presença do *Fop* foi confirmada pelo reisolamento do

patógeno, enquanto as plantas submetidas à mesma condição com irrigação constante iniciaram manifestação dos sintomas aos 82 DAI.

Nas plantas inoculadas sintomáticas observou-se deterioração avançada das raízes (Figura 3F-H), algumas com a emissão de novas raízes (Figura 3G) e formação de calos para emissão de novas raízes (Figura 3H).

Aos 150 dias após inoculação, 30,8% das plantas propagadas por semente e sem déficit hídrico apresentavam sintomas da murcha de *Fusarium*. Em contrapartida, nas plantas submetidas ao déficit hídrico este valor foi duas vezes maior com 66,6% ( $P=0,001$ ) de plantas sintomáticas.

Outro aspecto verificado nas plantas sem déficit hídrico foi o maior volume aparente de raiz em comparação às plantas submetidas ao déficit hídrico controlado (Figura 4). Pontos de infecção do patógeno representados por regiões necrosadas foram observados na região de inserção da raiz -região axilar (Figura 4B-D), além de escurecimento externo (Figura 4E-F) e interno do caule (Figura 4G). Também foi verificado multiplicação de células parenquimáticas na região do colo, provocado por multiplicação de células do parênquima cortical (Figura 4D) foram observadas tanto em plantas estressadas como não estressadas.



**Figura 3.** Plantas de *Passiflora edulis* propagada via sementes e submetidas ao déficit hídrico e inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (*Fop*). A-C) Planta controle, com folhas túrgidas, raiz e caule saudáveis; D-H). Planta inoculada submetida ao déficit hídrico com sintomas de murcha de *Fop* apresentando escurecimento do caule e necrose das raízes, além de escurecimento interno do caule. Algumas plantas foram coletadas com formação de calos (H) e com presença de raízes novas (G), indicando respostas da espécie à infecção por *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* aos 75 dias após a inoculação em condições controladas. A seta indica formação de calos e novas raízes.

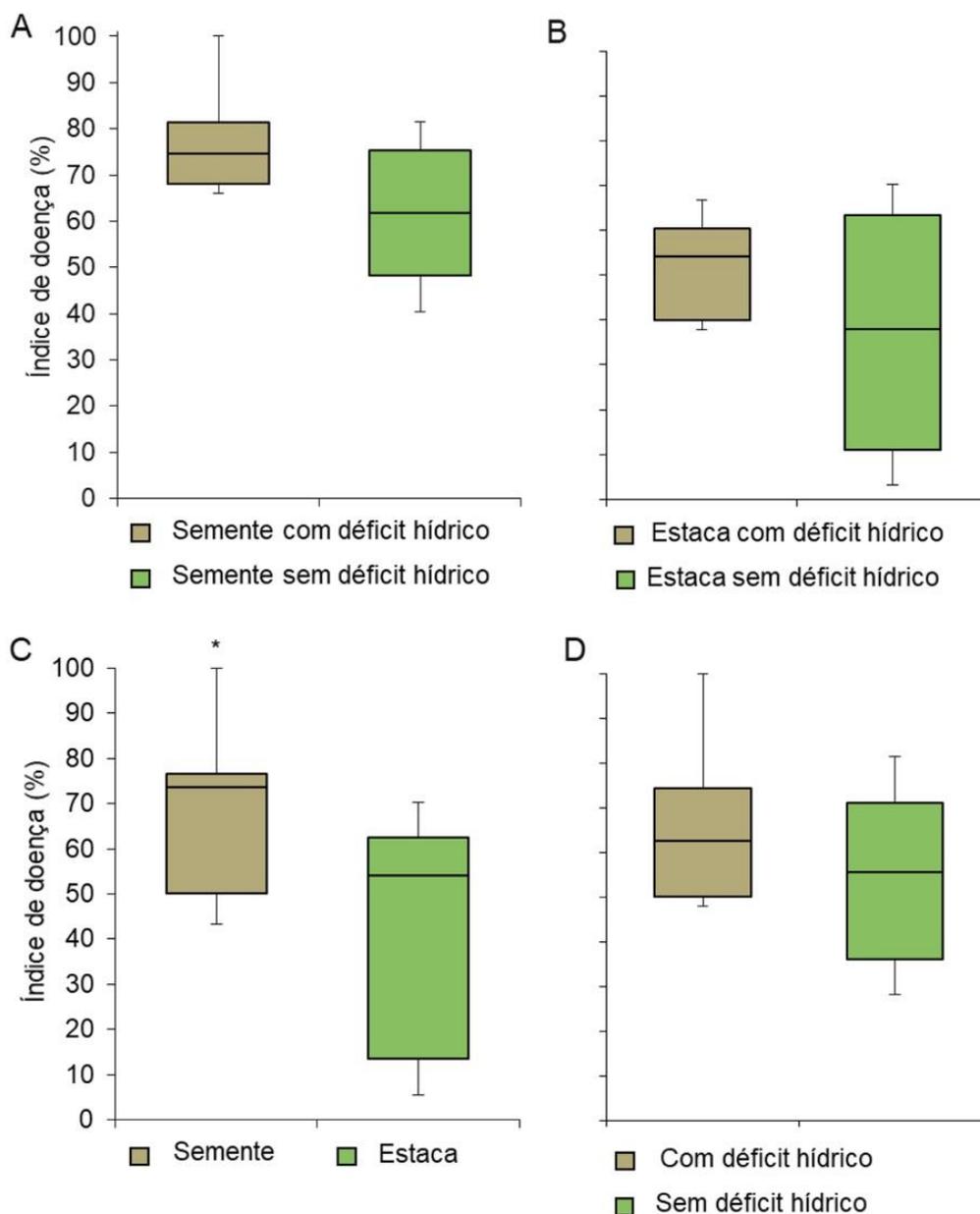
Nas plantas propagadas via estaca observou-se até os 10 DAI elevada mortalidade, independente de inoculação e de regime hídrico avaliados (42,2% em média).



**Figura 4.** Sintomatologia típica de murcha de *Fusarium* em plantas de *Passiflora edulis* inoculadas e propagadas por sementes sem déficit hídrico controlado (A-G) e por estacas com déficit hídrico controlado (H-K). pi: pontos de infecção; ca: calo.

O índice de doença de McKinney (ID) foi utilizado para estimar severidade da doença em todos os tratamentos inoculados com *Fop* e houve diferença significativa para a forma de propagação (Figura 5), onde as sementes alcançaram maior ID (ID = 68,4%), quando comparados com as estacas (ID = 41,35%, P =

0,05). Não houve diferenças significativas dentro das formas de propagação com e sem déficit hídrico e entre presença ou ausência do déficit hídrico na severidade da doença.



**Figura 5.** Índice de doença (ID) (A-D) para propagação de plantas de *P. edulis* propagadas por sementes e estacas, com e sem déficit de hídrico e inoculado com *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (*Fop*). \*Indica diferença significativa pelo teste F a 5% de probabilidade.

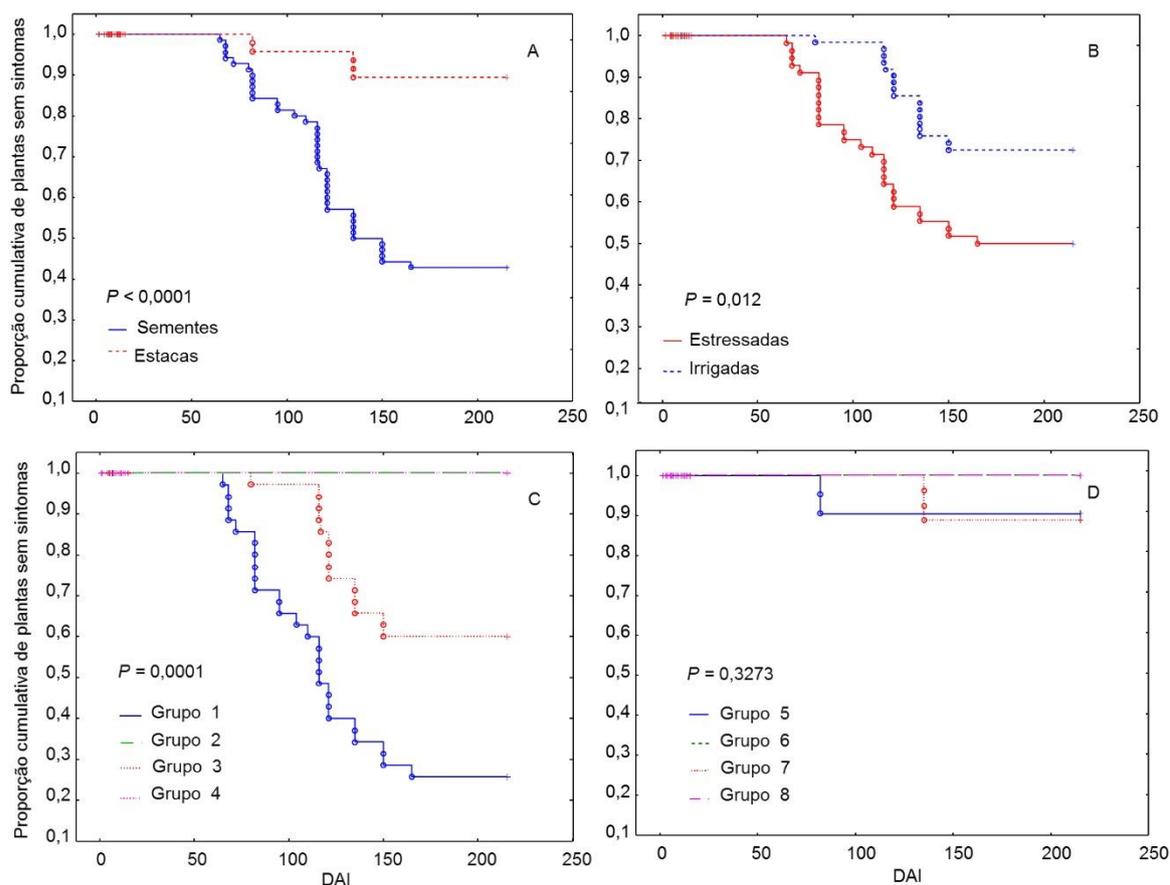
### **Análise de sobrevivência**

A análise de sobrevivência foi significativa pelo teste F de Cox entre plantas obtidas de sementes e estacas ( $p < 0,00001$ ), plantas irrigadas e estressadas ( $p =$

0,012) e entre os tratamentos dentro de plantas obtidas de sementes ( $p= 0,0001$ ). A mortalidade associada ao *Fop* quando propagado por estaca, não diferiu entre plantas propaadas por estacas inoculadas e não inoculadas ( $p= 0,32$ ) (Figura 6A-D).

Aproximadamente 60,0% das plantas propagadas por sementes manifestaram sintomas da doença, enquanto que apenas de 10,0% das plantas provenientes de estacas apresentaram murcha típica da doença (Figura 6A). O déficit hídrico contribuiu com maior susceptibilidade ao *Fop* com 50,0% de incidência, enquanto no controle inoculado sem déficit apenas 30,0% das plantas manifestaram sintomas ( $p= 0,012$ ) (Figura 6B).

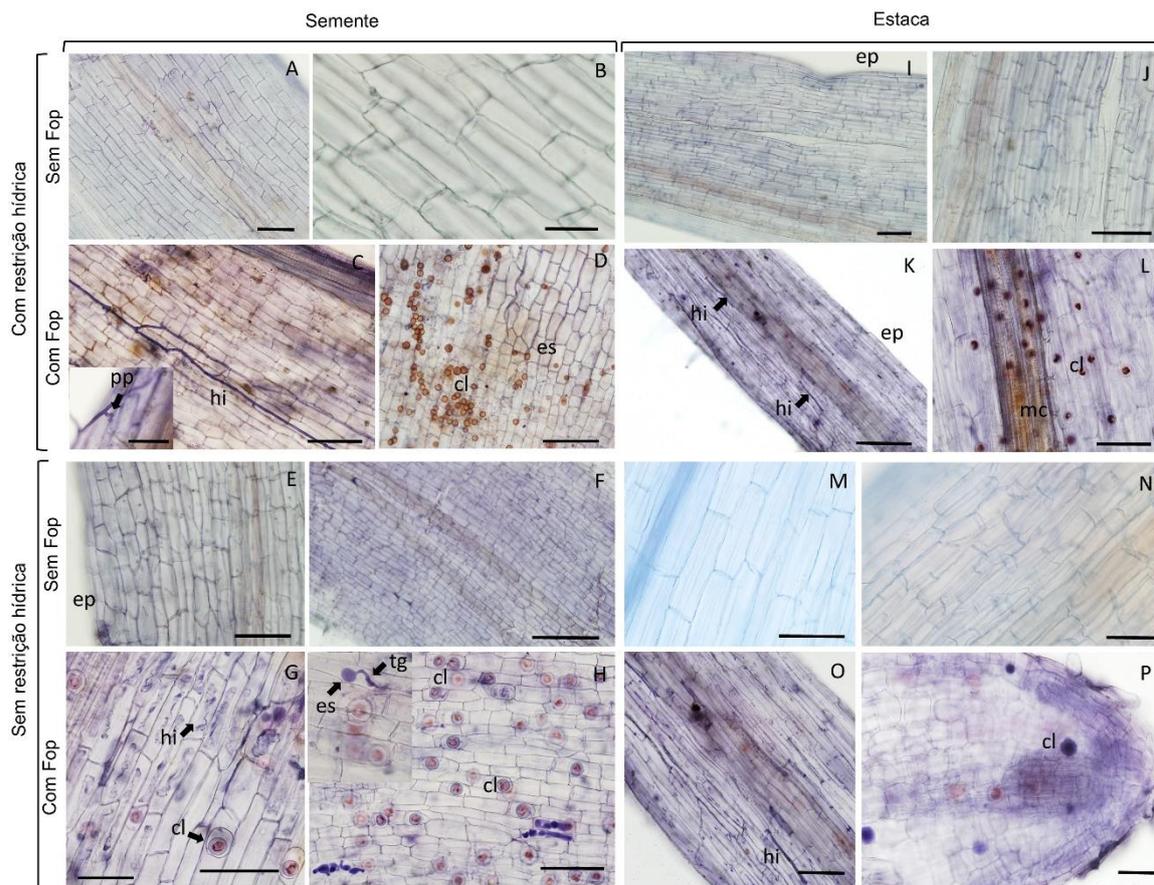
A propagação por sementes com déficit hídrico controlado (Grupo 1) proporcionou 75,0% de plantas sintomáticas. Quando irrigadas constantemente esse valor foi de 40,0% (Grupo 3). Como era esperado, os tratamentos controle com déficit hídrico e sem *Fop* (Grupo 2) e sem déficit hídrico sem *Fop* (Grupo 4) se mantiveram assintomáticos ( $p= 0.0001$ ) (Figura 6C). As curvas de sobrevivência entre plantas oriundas de estacas foram similares pelo F de Cox (Figura 6D), com aproximadamente 10,0% de plantas sintomáticas com restrição (Grupo 5) e irrigadas (Grupo 7).



**Figura 6.** Análise de sobrevivência de plantas de *P. edulis* inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (*Fop*) obtidas de sementes e estacas (A), mantidas sob déficit hídrico (B). Comparação entre os tratamentos dentro do grupo de plantas obtidas por sementes (C) e estacas (D). Grupo 1: propagado por sementes com déficit hídrico controlado com *Fop*; Grupo 2: propagado por sementes com déficit hídrico controlado sem *Fop*; Grupo 3: propagado por sementes sem déficit hídrico controlado com *Fop*; Grupo 4 propagado por sementes sem déficit hídrico controlado sem *Fop* (Figura 6C); Grupo 5: propagadas por estacas com déficit hídrico controlado com *Fop*; Grupo 6: propagadas por estacas com déficit hídrico controlado sem *Fop*; Grupo 7: propagada por estacas sem déficit hídrico controlado com *Fop* Grupo 8: propagada por estacas sem déficit hídrico controlado sem *Fop* (Figura 6D).

### Análise histopatológica

As raízes de plantas de *P. edulis* não inoculadas encontravam-se sadias, com total ausência de estruturas do patógeno e com crescimento característico da região de alongação radicular (Figura 6A-B, E-F, I-J, M-N). Entre as plantas inoculadas, foi observada a presença generalizada de clamidósporos (intracelular) em plantas propagadas por sementes (Figura 7C) e estacas (Figura 7K), e submetidas ao déficit hídrico. Plantas propagadas por sementes com déficit hídrico controlado (Figura 7D) visivelmente apresentaram maior quantidade clamidósporos do que as mantidas com irrigação constante (Figura 7H).

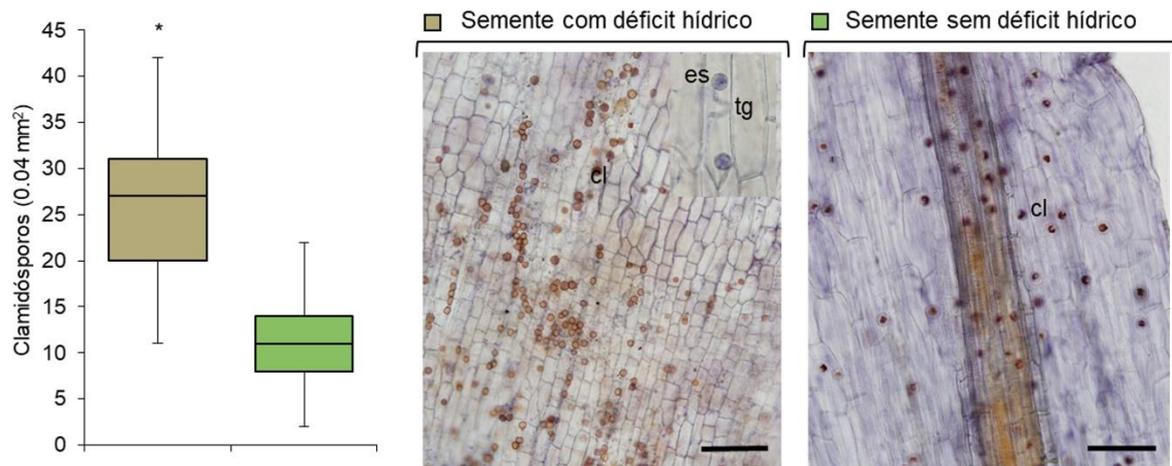


**Figura 7.** Raízes secundárias de *Passiflora edulis* propagadas por sementes, estacas com e sem déficit hídrico controlado inoculadas ou não com *Fusarium oxysporum*. Raízes de plantas propagadas por sementes com déficit hídrico controlado sem *Fop* (A-B) e com *Fop* (C-D), sem déficit hídrico controlado, não inoculadas (E-F) e inoculadas (G-H). Raízes de plantas propagadas por estacas com déficit hídrico não inoculadas (I-J) e inoculadas (K-L), sem déficit hídrico controlado, sem *Fop* (M-N) e com *Fop* (O-P). cl: clamidósporos; hi: hifas; es: esporo; tg: tubo germinativo; pp: ponto de penetração. Barras: 250  $\mu\text{m}$  (F), 100  $\mu\text{m}$  (A, C, D, E, G, H, I, J, K, L, M, O) e 50  $\mu\text{m}$  (B, N, P).

O déficit hídrico não promoveu alterações substanciais na conformação e estrutura das células da raiz (Figura 7), isso porque as plantas foram reidratadas e a coleta foi feita após reidratação. Além disso, não foram observadas divergências histopatológicas entre as raízes de plantas oriundas de sementes ou estacas que possa estar associado ao mecanismo de colonização do *F. f. sp. passiflorae* (*Fop*). Nas seções longitudinais foi possível identificar hifas colonizando os espaços intercelulares (Figura 7D) e intracelulares (Figura 7G) e presença de clamidósporo na coifa das raízes (Figura 7C). Além disso, foi identificado esporo com tubo germinativo no espaço intracelular (Figura 7H) e ponto de penetração (Figura 7C) na epiderme da raiz. Entretanto, não foram identificadas barreiras físicas como

maior espaçamento de parede celular, que pudesse sinalizar alguma resposta à infecção.

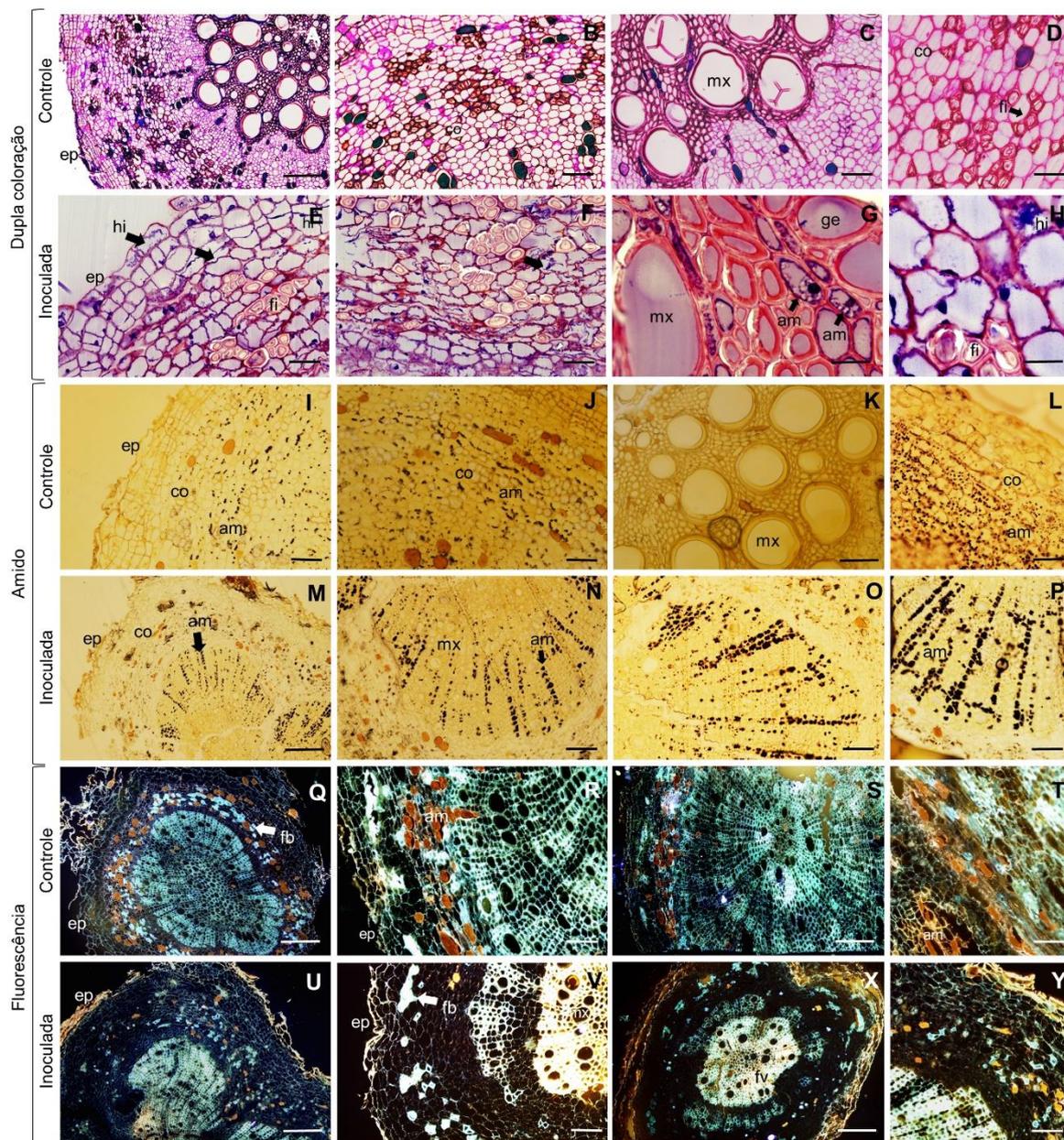
Como a maior incidência de *Fop* foi observada em plantas propagadas por sementes, a quantificação do número de clamidósporos nas raízes apenas foi realizada nesta forma de propagação. Obsevou-se maior presença nas raízes de plantas submetidas ao déficit hídrico controlado ( $p= 0,05$ ) (Figura 8).



**Figura 8.** Número de clamidósporos nas raízes de *P. edulis* inoculados com *Fop* com déficit hídrico e sem déficit hídrico. Análise dos valores através do diagrama Box Plot para a propagação por sementes com e sem déficit de água. \* Indica diferença significativa pelo teste F a 1% da probabilidade; cl: clamidósporos, es: esporo, tg: tubo germinativo. Barras = 100µm.

As raízes secundárias das plantas controle apresentaram distribuição habitual dos tecidos do córtex e do feixe vascular da espécie, com ausência de estruturas do fungo (Figura 9B) e presença de fibras no parênquima cortical (Figura 9D). As raízes das plantas propagadas por sementes e inoculadas apresentavam elevada quantidade de hifas intracelulares (Figura 9E-F, H) e presença de gel no feixe vascular com presença de amido (Figura 9G).

Nas raízes infestadas, é possível observar desorganização das células do córtex em comparação ao controle, porém sem se estender aos metaxilemas (Figura 9E-G). Como as plantas foram coletadas somente após a murcha, que é considerado o estágio final na interação *Fop* x *Passiflora*, parte das raízes estava bastante deteriorada (Figura 2H).



**Figura 9.** Raízes secundárias de *Passiflora edulis* propagadas por sementes e submetidas à déficit hídrico controlado. A-D) raízes secundárias coradas com azul de algodão e safranina apresentando disposição normal dos tecidos. E-H) raízes inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* com presença de hifas no parênquima cortical e gel nos metaxilemas (G). I-K) raízes não inoculadas coradas com lugol para detecção de amido, com concentração abundante no parênquima cortical e ausência no metaxilema (K). M-P) raízes inoculadas com maior concentração de amido nos feixes vasculares. Q-T) raízes sadias visualizadas através da microscopia de fluorescência com disposição normal dos tecidos e com presença abundante de amido, identificado através da coloração marrom. U-Y) raízes inoculadas com ausência ou baixa concentração de amido ao longo do parênquima cortical. ep: epiderme, mx: metaxilema, ge: gel: co: córtex; am: amido; fb: fibra; hi: hifas, setas indicam as hifas do *Fop*. Barras: 250  $\mu$ m (A, I, M, R, Q, R, U, S, V, X); 100  $\mu$ m (B, C, J, K, N, O, Y); 50  $\mu$ m (D, E, F, L, P, T) e 25  $\mu$ m (G, H).

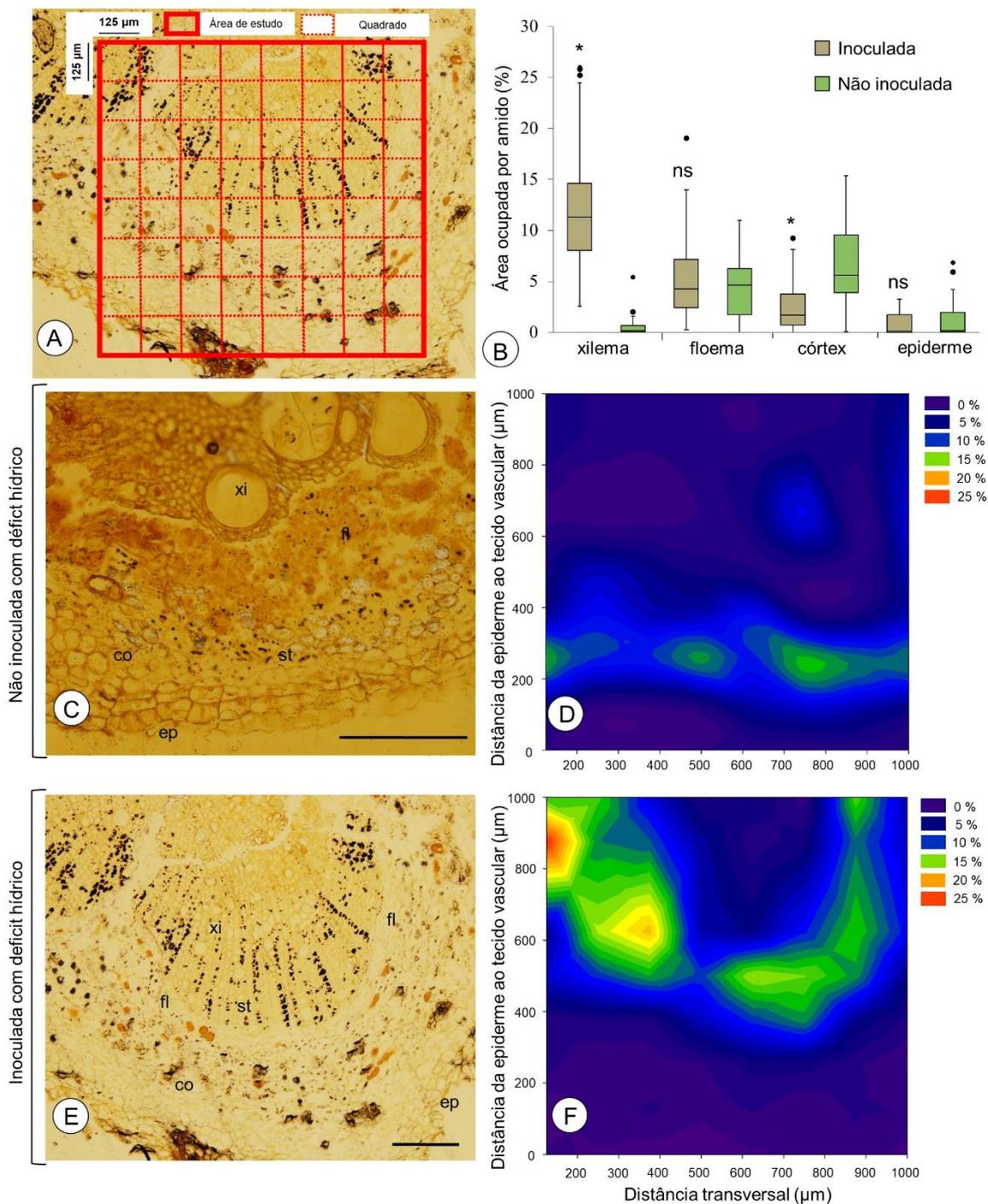
Nas plantas provenientes de sementes e não inoculadas, verificou-se a presença de amido em maior quantidade e distribuído ao longo do parênquima cortical quando comparado aos feixes vasculares (Figura 9I-L). Em contrapartida, as plantas oriundas de sementes e inoculadas apresentaram maior deposição de amido na região vascular, com baixíssimas concentrações no parênquima cortical (Figura 9M-P).

Logo após as primeiras camadas de células (epiderme), houve distribuição aleatória do amido ao longo do córtex da raiz das plantas propagadas por sementes e não inoculadas (Figura 9L) e ausência de carboidratos nos metaxilemas (Figura 9K). Já nas plantas inoculadas, a distribuição ocorreu ao longo do feixe vascular em faixas paralelas (Figura 9N), com baixa concentração no córtex (Figuras 9M, O).

Na análise de microscopia de fluorescência as raízes secundárias de plantas provenientes de sementes e não inoculadas apresentaram maior concentração e distribuição de amido ao longo do córtex (Figura 9Q) e próximo ao feixe vascular (Figura 9R), enquanto nas infestadas foi observada menor disponibilidade ao longo do parênquima cortical e vascular (Figura 9U-Y). Não se observou deposição de placas de calose em plantas inoculadas na presença do azul de anilina, que é observada por meio do azul fluorescente. Entretanto, foi observada lignificação da região vascular nas plantas inoculadas (Figura 9V-X).

Uma vez que o acúmulo de amido no vaso foi um comportamento incomum para a interação entre *Fop* x *Passiflora*, uma pesquisa mais profunda foi realizada, com base na análise das imagens digitais (conforme descrito na metodologia, Figura 10A). A comparação da área ocupada pelo amido em cada tecido estava de acordo com a primeira observação das imagens microscópicas (Figura 10B), uma vez que as plantas não inoculadas normalmente apresentam a maior quantidade de amido na região do córtex (6,2% da área ocupada por amido), sendo significativamente diferente dos inoculados (2,58% da área ocupada pelo amido).

Diferença significativa também foi observada no acúmulo de amido nos vasos do xilema, sendo as plantas inoculadas com 11,6% da área ocupada pelo amido e não inoculadas com apenas 0,51% da área ocupada pelo amido ( $P = 0,01$ ). Não houve diferenças significativas entre os outros tecidos das raízes (floema e epiderme) (Figura 10B).



As análises da superfície do contorno revelaram a distribuição espacial e a densidade dos grânulos de amido nos diferentes tecidos, sendo a característica normal dos padrões de acumulação de amido a presença de amido no parênquima cortical (Figura 10C-D) e em baixas densidades, em comparação com as raízes de plantas doentes que demonstrou maior acúmulo de amido nos vasos do xilema, e decréscimo na densidade de amido no córtex (Figura 10E-F).

## DISCUSSÃO

O déficit hídrico controlado exerceu influência direta na manifestação de sintomas de murcha em plantas de maracujá inoculadas com *Fop*. Alguns autores mencionam que a maior incidência de *Fop* no maracujá amarelo ocorre sob elevadas temperaturas do ar e quando a demanda transpiratória é intensa (Cavichioli *et al.*, 2011) e a disponibilidade hídrica do solo é limitada (Ramegowda e Enthil-Kumar, 2015; Pandey *et al.*, 2017).

Os organismos vegetais são constantemente submetidos a estresse biótico e abiótico e, as respostas a esses fatores são variadas, podendo estar associadas à resistência ou susceptibilidade da planta (Ramegowda e Enthil-Kumar, 2015; Pandey *et al.*, 2017). O déficit hídrico ocasionado pela elevação da temperatura pode alterar a fisiologia da planta de forma expressiva ao ponto de suprimir a resistência a diversos patógenos (Wang *et al.*, 2009). No maracujazeiro amarelo é observada alta susceptibilidade ao *Fop* em condições de campo (Cavichioli *et al.*, 2011) após escassez hídrica e esse resultado também foi confirmada no presente estudo em condições de casa de vegetação quando as plantas foram submetidas ao déficit hídrico controlado.

A maioria dos estudos de inoculação com maracujá amarelo desconsiderava o efeito conjunto de fatores bióticos e abióticos na manifestação de sintomas do *Fusarium* (Fischer *et al.*, 2010; Bueno *et al.*, 2010; Flores *et al.*, 2012; Ortiz e Hoyos-Carvajal, 2016) revelando assim respostas distintas na intensidade da doença. Entretanto, os resultados obtidos neste estudo abrem à possibilidade para utilização do déficit hídrico associado ao *Fop* na seleção de genótipos de *Passiflora* para resistência a esse patógeno, pois 75% de plantas de *Passiflora edulis* (suscetível) e propagadas por sementes sob déficit hídrico e inoculadas manifestaram sintomas de murcha. Flores *et al.* (2012) utilizando ácido fusárico e

suspensão de esporos obteve incidência 59,4% e 56% do *Fop*, respectivamente em *P. edulis*.

A fidelidade na reprodução das condições de exposição natural da planta ao patógeno é fundamental nas inoculações artificiais visando obter respostas semelhantes às observadas em campo. Segundo Flores *et al.* (2012), a correlação da resposta entre genótipos selecionados *in vitro* utilizando filtrado de *Fop* (ácido fusárico) e plantas inteiras inoculadas com o agente patogênico é essencial para confirmar a validade da seleção de genótipos *in vitro*, tendo em vista que a reação de plantas à inoculação com patógeno é mais confiável. Além disso, a validação em condições de campo com histórico da doença se faz necessária, para efetivação da metodologia.

A avaliação de resistência ao *Fop* nas condições controladas avaliadas nesse estudo pode ser concluída em 150 dias após inoculação, utilizando plantas propagadas por sementes e com déficit hídrico controlado seguido de reidratação. Isto possibilita uma redução substancial no tempo de seleção de genótipos resistentes em comparação aos estudos de campo com *Passiflora* que duraram em média 400 dias.

A maior incidência do *Fop* em plantas propagadas por sementes indica que o estágio fenológico não possui relação direta com a manifestação de murcha como observado em condições de campo. A maior incidência de *Fop* em condições de campo durante a fase produtiva pode estar associada ao tempo de exposição ao patógeno e o efeito conjunto de estresses bióticos e abióticos (Ramegowda e Enthil-Kumar, 2015), ou ao tempo necessário para a liberação de exsudatos pelas raízes e percepção pelo patógeno para infecção e colonização da planta (McGovern, 2015). Além disso, a maior demanda transpiratória durante essa fase produtiva, devido a maior área foliar e síntese de fotoassimilados para suprir a produção, pode contribuir com maior estresse da planta e assim com a murcha.

A elevada manifestação de sintomas de murcha nas plantas propagadas por sementes em condições de déficit hídrico controlado pode estar associada ao menor volume de raiz que favoreceu a maior presença de estruturas do patógeno como clamidósporos e hifas. Daami-Remadi *et al.* (2009) verificaram que a maior incidência de murcha de *Fusarium* em tomate sob estresse salino era causada por maior esporulação dos fungos sob condições de estresse.

Outra explicação para a presença dessas estruturas do patógeno também pode estar relacionado ao constante processo de interrupção e retomada da irrigação que pode ter causado microfissuras nas raízes que serviram como porta de entrada do patógeno (McGovern, 2015) ou alterado o metabolismo da planta intensificando a susceptibilidade, culminando na obstrução dos vasos e murcha da planta. Além disso, a seca associada à retomada da umidade pode ter estimulado a multiplicação de hifas e clamidósporos no solo (Couteaudier e Alabouvette, 1990) e no interior das raízes (Lin e Heitman, 2005). No entanto, vale ressaltar que parte considerável das estacas inoculadas apresentaram sintomas externos e internos da doença, que foi verificado pelo índice de doença.

O controle de doenças ocasionadas por patógenos de solo é extremamente complexo, não sendo exceção *F. oxysporum*, que se destaca entre os 10 principais patógenos de importância econômica (Kang *et al.*, 2014). Os micélios dos agentes patogênicos podem sobreviver em associação com restos vegetais de forma saprofítica e em hospedeiros alternativos e pelos clamidósporos de paredes espessas que permitem a sobrevivência no longo prazo (McGovern, 2015). Dessa forma, a maior concentração de clamidósporos em plantas submetidas ao déficit hídrico pode ser justificada em função da vulnerabilidade dessas plantas. A indução da formação de clamidósporos em *F. oxysporum* está relacionada a fatores de estresse como ausência do hospedeiro e condições ambientais desfavoráveis como o estresse hídrico (Daami-Remadi *et al.*, 2009).

A formação de géis de pectina nos vasos do xilema em plantas inoculadas submetidas a déficit hídrico controlado está associada a respostas induzidas pelo patógeno (Ortiz *et al.*, 2014). No entanto, essa barreira pós-infecção não foi suficiente para limitar o avanço do patógeno e impedir a colonização dos tecidos. Respostas semelhantes aos obtidos no presente estudo foram observados por Ortiz *et al.* (2014), com formação de géis nos vasos do xilema de *P. edulis* Sims. inoculada com *Fop*. Provavelmente, a sinalização para indução de síntese desse composto ocorreu tardiamente, quando as estruturas do *Fop* já haviam colonizado a planta, e a própria deposição de géis associados a polissacarídeos de origem fúngica pode ter contribuído com a obstrução dos vasos e manifestação de murcha na planta (Schwan-Estrada *et al.*, 2008).

As informações disponíveis na literatura sobre a ação do amido na interação planta-patógeno são escassas, e os poucos trabalhos existentes afirmam que

plantas submetidas a inoculação apresentam redução na deposição deste polissacarídeo nas raízes (Keunen *et al.*, 2013; Manila e Nelson, 2014).

Uma das explicações possíveis é que a planta poderia aumentar a acumulação de amido como forma de fornecer substrato para a síntese de respostas associadas às moléculas ao estresse (Higuchi *et al.*, 2015). De acordo com Nyitrai *et al.* (2004), alguns compostos que induzem o estresse (como os metais pesados) podem levar a sinais não específicos, que envolvem mudanças no equilíbrio hormonal (provavelmente citocininas), seguido de um aumento na fixação de CO<sub>2</sub> e acumulação de amido em folhas de feijão. No entanto, o papel da acumulação de amido nos vasos do xilema, devido à infecção por *Fop*, permanece incerto e precisa de mais investigação.

A distribuição de fibras e lignificação das paredes corticais nas raízes secundárias foi baixa, tanto em plantas controle como inoculadas. Isso pode estar associado à susceptibilidade do maracujá amarelo (*P. edulis*) ao *Fop*, pois a parede celular é considerada a primeira barreira à penetração ou colonização do patógeno. Além disso pode ocorrer alterações nesta membrana que impossibilitam a colonização do patógeno (Underwood, 2012; Miedes *et al.*, 2014).

Outra estratégia de defesa das plantas atacadas por patógenos é a deposição rápida de calose no tecido vascular para reforçar as paredes do xilema e impedir o avanço do patógeno, constituindo-se assim em uma barreira física a colonização (Nishimura *et al.*, 2003). No entanto, no presente estudo não foram visualizadas placas de calose nas raízes das plantas inoculadas de *P. edulis*, sugerindo que a espécie não dispõe dessa barreira física para impedir a colonização de *Fop* no tecido vascular ou são formadas no caule da planta. Vale destacar que foi observada emissão de novas raízes em plantas inoculadas, indicando haver mecanismos fisiológicos e estruturais em resposta à infecção do patógeno que, no entanto, são desencadeados tardiamente pelo hospedeiro. Esse comportamento também foi observado em tomate infectado por *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (McGovern, 2015).

Os resultados obtidos no estudo abrem a possibilidade para utilização de ciclos de déficit hídrico na seleção de genótipos de *P. edulis* para resistência ao *Fop* em condições controladas. Pois plantas estressadas são mais susceptíveis ao *Fop*. Essas informações contribuirão para elucidar os mecanismos da interação planta-patógeno, e compreender melhor o efeito da restrição hídrica na

susceptibilidade do maracujá amarelo ao patógeno. É relevante destacar a necessidade de ampliação deste estudo, para outras espécies de *Passiflora* para identificar indivíduos resistentes ao *Fop*, para serem utilizados em programas de hibridações interespecíficas ou como porta-enxerto. Estudos moleculares adicionais poderão confirmar observações anatómicas relacionadas à deposição de amido e concentração de hifas e clamidósporos, bem como elucidar e definir as rotas relacionadas a resistência ou suscetibilidade de genótipos de *Passiflora* à murcha de *Fusarium*.

## CONCLUSÕES

A propagação por sementes associada ao déficit hídrico controlado influencia a incidência de murcha de *Fusarium* em genótipos de *Passiflora edulis*. Ciclos controlados de déficit hídrico favorecem a expressão antecipada de sintomas, com maior desenvolvimento de hifas e presença de clamidósporos. As raízes das plantas de maracujá amarelo inoculadas com *Fop* apresentaram alterações anatômicas em resposta à infecção pelo patógeno, mas não foram suficientes para prevenir a colonização.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro (Processo 473643/2013-8), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado do primeiro autor, a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) e CNPq pela bolsa de desenvolvimento científico e tecnológico (DCR0013/2015), à Embrapa Mandioca e Fruticultura e Embrapa Cerrados pelo apoio financeiro e suporte técnico (MP 02.12.02.006.00.00) e pelo fornecimento do material vegetal.

## REFERÊNCIAS

Berta, G., Sampo, S., Gamalero, E., Massa, N., Lemanceau, P. (2005) Suppression of *Rhizoctonia* root-rot of tomato by *Glomus mossae* BEG12 and *Pseudomonas fluorescens* A6RI is associated with their effect on the pathogen growth and on the root morphogenesis. *European Journal of Plant Pathology*, **111**, 279-288.

- Campbell C.L., Madden L.V. (1990). Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley & Sons, New York. 532p.
- Cavichioli J.C., Corrêa L., Garcia M.J., Fischer I.H. (2011). Desenvolvimento, produtividade e sobrevivência de maracujazeiro-amarelo enxertado e cultivado em área com histórico de morte prematura de plantas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **33**, 567-574.
- Couteaudier Y., Alabouvette C. (1990). Survival and inoculum potential of conidia and chlamydospores of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* in soil. *Canadian Journal of Microbiology*, **36**, 551-556.
- Daami-Remadi, M., Souissi, A., Oun, H.B., Mansour, M., Nasraoui, B. (2009) Salinity effects on *Fusarium* wilt severity and tomato growth. *Dynamic Soil Dynamic Plant* **3**, p. 61–69.
- Del Ponte E.M., Fernandes J.M.C., Bergstrom G.C. (2007). Influence of growth stage on *Fusarium* head blight and deoxynivalenol production in wheat. *Journal of Phytopathology*, **155**, 577-581.
- Fischer I.H., Rezende J.A.M. (2008). Diseases of passionflower (*Passiflora* spp.). *Pest Technology*, **2**, 1-19.
- Fischer, I.H., Almeida A., Fileti, M., Bertani, R.M.A., Arruda, M.C., Bueno, C. J. 2010. Avaliação de *Passifloraceas*, fungicidas, e *Trichoderma* para o Manejo da Podridão do Colo do Maracujazeiro, causada por *Nectria haematococca*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **32**, 709-717.
- Flores P.S., Otoni W.C., Dhingra O.D., Diniz S.P.S., Santos T.M., Bruckner C.H. (2012). In vitro selection of yellow passion fruit genotypes for resistance to *Fusarium* vascular wilt. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, **108**, 37-45.
- Freitas, J.C.O., Pio Viana, A., Santos, E.A., Paiva, C.L., Silva, F.H., Amaral Junior, A.T. Souza, M.M., Dias, V.M. (2016). Resistance to *Fusarium solani* and characterization of hybrids from the cross between *P. mucronata* and *P. edulis*. *Euphytica*, **208**, 493–507.
- Ghaemi A., Rahimi A., Banihashemi Z. (2010). Effects of water stress and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersecci* on growth (leaf area, plant height, shoot dry matter) and shoot Nitrogen content of tomatoes under greenhouse conditions. *Iran Agricultural Research*, **29**, 51-62.

- Higuchi, K., Kanai, M., Tsuchiya, M., Ishii, H., Shibuya, N., Fujita, N., Miwa, E. (2015). Common reed accumulates starch in its stem by metabolic adaptation under Cd stress conditions. *Frontiers in plant science*, **6**, 01-06.
- Johansen, D.A. Plant microtechnique. (1940). New York: McGraw-Hill. 523 p.
- Kang S., Demers J., Jimenez-Gasco M.M., Rep M. (2014). *Fusarium oxysporum*. In Genomics of Plant-Associated Fungi and Oomycetes, pp. 99-119. Eds R.A Dean, A. Lichens-Park, C. Kole. Berlin, Heidelberg: Springer.
- Kaplan EL, Meier P, (1958). Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American Statistical Association* **53**, 457–81.
- Keunen E.L.S., Peshev D., Vangronsveld J., Van den W.I.M., Cuypers A.N.N. (2013). Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. *Plant, Cell & Environment*, **36**, 1242-1255.
- Kraus, J.R.; Arduin, M. Manual Básico de métodos em morfologia vegetal. Eduar, Serropédica RJ, 1997, 198p.
- Lin X., Heitman J. (2005). Chlamyospore formation during hyphal growth in *Cryptococcus neoformans*. *Eukaryotic Cell*, **4**, 1746-1754.
- Manila S., Nelson R. (2014). Biochemical changes induced in tomato as a result of arbuscular mycorrhizal fungal colonization and tomato wilt pathogen infection. *Asian Journal of Plant Science and Research*, **4**, 62-68.
- Marques J.P.R., Soares M.K.M., Appezzato-da-Gloria B. (2013). New staining technique for fungal-infected plant tissues. *Turkish Journal of Botany*, **37**, 784-787.
- McGovern R.J. (2015). Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. *Crop Protection*, **73**, 78-92.
- Mckinney H.H. (1923). Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. *Journal of Agricultural Research*, **26**, 195-218.
- Miedes E., Vanholme R., Boerjan W., Molina A. (2014). The role of the secondary cell wall in plant resistance to pathogens. *Frontiers in Plant Science*, **5**, 1-13.
- Nejat N., Mantri N. (2017). Plant immune system: crosstalk between responses to biotic and abiotic stresses the missing link in understanding plant defence. *Current Issues in Molecular Biology*, **23**, 1-16.

- Nishimura M.T., Stein M., Hou B.H., Vogel J.P., Edwards H., Somerville S.C. (2003). Loss of a callose synthase results in salicylic acid-dependent disease resistance. *Science*, **301**, 969-972.
- Nyitrai P., Bóka K., Gáspár L., Sárvári E., Keresztes A. (2004). Rejuvenation of ageing bean leaves under the effect of low-dose stressors. *Plant Biol.* 6, 708–714. 10.1055/s-2004-830385
- Ortiz E., Cruz M., Melgarejo L.M., Marquínez X., Hoyos-Carvajal L. (2014). Histopathological features of infections caused by *Fusarium oxysporum* and *F. solani* in purple passionfruit plants (*Passiflora edulis* Sims). *Summa Phytopathologica*, **40**, 134-140.
- Ortiz E., Hoyos-Carvajal L. (2016). Standard methods for inoculations of *F. oxysporum* and *F. solani* in *Passiflora*. *African Journal of Agricultural Research*, **11**, 1569-1575.
- Pandey P., Irulappan V., Bagavathiannan M.V., Senthil-Kumar M. (2017). Impact of combined abiotic and biotic stresses on plant growth and avenues for crop improvement by exploiting physio-morphological traits. *Frontiers in Plant Science*, **8**, 1-15.
- Phillips J.M., Haymann A.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **55**, 158-161.
- Ragazzi A., Moricca S., Dellavalle I., Mancini F. (1995). Infection of cotton by *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* as affected by water stress. *Phytoparasitica*, **23**, 315-321.
- Ramegowda V., Senthil-Kumar M. (2015). The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: mechanistic understanding from drought and pathogen combination. *Journal of Plant Physiology*, **176**, 47-54.
- Rasband, W.S., 2012. ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. <<http://imagej.nih.gov/ij/>>, Access in: dez, 10, 16.
- R Development Core Team. 2016. R: A language and environment for statistical computing, Vienna: R Foundation for statistical computing, 2016. Available in: <<https://cran.r-project.org/>>. Access in: June, 20, 2016.
- Rolli, E., Marasco, R., Vigani, G., Ettoumi, B., Mapelli, F., Deangelis, M.L., Pierotti Cei, F., Gandolfi, C., Casati, E., Previtali, F., Roberto Gerbino, R., Cei, F. P., Borin, S., Sorlini, C., Zocchi, G., Daffonchio, D. (2015). Improved plant

resistance to drought is promoted by the root-associated microbiome as a water stress-dependent trait. *Environmental microbiology*, **17**, 316-331.

- Stangarlin, J.R., Leite, B. (2008). Alterações fisiológicas na suscetibilidade. In. Edt. Pascholati, S.F., Leite, B., Stangarlin, J.R., Cia, P. Interação Planta Patógeno, Fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular. Piracicaba, FEALQ, 627p. il.
- Schwan-Estrada, K.R.F., Stangarlin, J.R., Pascholati, S.F. (2008). Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. Interação Planta-Patógeno fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular. Piracicaba: FEALQ, p. 227-248.
- Wang, Y., Bao, Z., Zhu, Y., Hua J. (2009). Analysis of temperature modulation of plant defense against bio trophic microbes. *Molecular Plant-Microbe Interactions Journal*, **22**, 498–506.

**Artigo 4\***

**A altura de enxertia não é relevante no controle da fusariose e no desempenho agrônomo de *Passiflora gibertii* como porta-enxerto**

---

\* Artigo aceito para publicação no periódico Anais da Academia Brasileira de Ciências, em versão na língua inglesa.

## **A altura de enxertia não é relevante no controle da fusariose e no desempenho agrônomo de *Passiflora gibertii* como porta-enxerto**

### **Resumo**

A fusariose (*Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*) é uma doença de difícil controle que limita o cultivo do maracujazeiro em muitas regiões do Brasil. A utilização da enxertia é uma alternativa para o manejo dessa doença, embora diferentes níveis de controle sejam relatados em campo. O objetivo do trabalho foi avaliar a influência da altura da enxertia de *Passiflora edulis* em *P. gibertii* sobre a incidência da fusariose e desempenho agrônomo. Plantas de *P. gibertii* enxertadas em *P. edulis* e pés francos de ambas as espécies também foram avaliados. O trabalho foi realizado em casa de vegetação e em campo, avaliando-se quatro alturas de enxertia (5, 10, 20 e 30 cm acima do colo do porta-enxerto). Em complemento as informações da interação *P. edulis* x *Fop* estudos anatômicos de raízes também foram realizados com plantas de pé-franco de *P. edulis* coletadas em três estádios de murcha do *Fusarium*. Durante a fase de produção de mudas o pegamento da enxertia foi reduzido com o aumento da altura de enxertia com 62% nas alturas de 20 e 30 cm. Nas condições de campo o IVC de *P. gibertii* enxertado em *P. edulis* foi de 8,8, sendo superior à sua enxertia recíproca com 6,7, embora essa combinação foi susceptível ao *Fop*. Plantas de *P. edulis* enxertado em *P. gibertii* com diferentes alturas de enxertia não apresentaram sintomas de *Fop* e a qualidade dos frutos não foi alterada, porém apresentaram menor vigor vegetativo em relação ao pé-franco. Foram observadas alterações anatômicas na concentração de amido em função do nível de murcha da fusariose. Com base nos dados de crescimento e de sobrevivência de plantas, conclui-se que a altura de enxertia não influenciou na maioria das variáveis estudadas quando *P. edulis* foi enxertado em *P. gibertii*, considerada bastante promissora para ser utilizada como porta-enxerto. A resistência de *P. gibertii* à fusariose é quebrada quando enxertado em genótipo suscetível de *P. edulis*.

**Palavras-chave:** *Passiflora* spp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, resistência, anatomia.

## Grafting height is not relevant for *Fusarium* wilt control either agronomical performance of *Passiflora gibertii* rootstock

### Abstract

*Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*) is a difficult control disease that limits the cultivation of passion fruit in many regions of Brazil. The use of grafting is an alternative for the management of this disease, although different levels of control are reported in the field. The objective of this work was to evaluate the influence of the height of the *Passiflora edulis* grafting on *P. gibertii* on the incidence of fusariosis and agronomic performance. Plants of *P. gibertii* grafted on *P. edulis* and non grafted of both species were also evaluated. The work was carried out in a greenhouse and in the field, evaluating four grazing heights (5, 10, 20 and 30 cm above the root of the rootstock). In addition information on the interaction *P. edulis* x *Fop* anatomical roots studies were also performed with *P. edulis* non grafted collected at three stages of *Fusarium* wilt. During the seedlings production phase the grafting glue was reduced with the increase of the grafting height with 62% at heights of 20 and 30 cm. In the field conditions the GSI of *P. gibertii* grafted on *P. edulis* was 8.8, being superior to its reciprocal grafting with 6.7, although this combination was susceptible to *Fop*. Plants of *P. edulis* grafted in *P. gibertii* with different grazing heights did not present symptoms of *Fop* and the quality of the fruits was not altered, but they presented lower vegetative vigor in relation to the non grafted. Anatomical changes were observed in the starch concentration as a function of the level of fusariosis wilt. Based on plant growth and survival data, it was concluded that the height of grafting did not influence most of the variables studied when *P. edulis* was grafted on *P. gibertii*, considered to be very promising to be used as a rootstock. The resistance of *P. gibertii* to fusariosis is broken when grafted in a *P. edulis* susceptible genotype.

**Key words:** *Passiflora* spp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, resistance, anatomy.

## Introdução

As doenças causadas por patógenos do solo são as principais causas de perdas econômicas do maracujazeiro amarelo (Ortiz e Hoyos-Carvajal, 2016; Morgado *et al.*, 2017). Dentre essas, a murcha da fusariose causada pelo *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* (Fop) é considerada a mais importante, pois ataca o sistema radicular, causando murcha e morte precoce da planta (McGovern, 2015).

Essa doença vem limitando a exploração, produtividade e permanência da cultura do maracujá em diversos polos produtores (Fischer e Rezende, 2008; Freitas *et al.*, 2016). Dessa forma, o seu cultivo passou a ser anual e migratório, embora todo o investimento em estruturas de sustentação e irrigação continue equivalente ampliando, portanto, os custos de produção. O controle da fusariose, até o momento, é feito de forma preventiva, uma vez que não há uma medida curativa eficaz ou cultivar comercial resistente (Fischer e Rezende, 2008; Freitas *et al.*, 2016).

A propagação do maracujá amarelo por enxertia em espécies silvestres resistentes vem sendo estudada como alternativa para a produção em área com histórico da doença (Cavichioli *et al.*, 2011a; Lima *et al.*, 2017). Várias espécies silvestres têm sido avaliadas como porta-enxertos resistentes à doença (Cavichioli *et al.*, 2011a; Cavichioli *et al.*, 2011b; Nasser *et al.*, 2011; Nogueira Filho *et al.*, 2010; Cavichioli *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2016). A espécie *Passiflora gibertii* N.E. Br. possui características interessantes como rápido crescimento vegetativo, elevada germinação de sementes e compatibilidade anatômica para enxertia com *P. edulis* (Cavichioli *et al.*, 2011a; Cavichioli *et al.*, 2011b; Lima *et al.*, 2017).

A enxertia convencional por garfagem do tipo fenda cheia de *P. edulis* enxertadas em *P. gibertii* em condições de campo infestados pelo *Fusarium* apresentaram elevada sobrevivência (Cavichioli *et al.*, 2011b). Em contrapartida, no estado da Bahia observou-se mortalidade de *P. edulis* enxertado em *P. gibertii* em área com histórico de murcha do *Fusarium*, que foi atribuída à altura reduzida de enxertia (Santos *et al.*, 2016), um provável fator que pode estar associado ao controle dessa doença por meio da enxertia. No entanto, o vigor e a produção das plantas enxertadas de maracujazeiro amarelo também são, em geral, inferiores às de pés francos, que não está diretamente associada à altura de enxertia (Cavichioli *et al.*, 2011b). Portanto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a influência da altura da enxertia de *P. edulis* em *P. gibertii* no desempenho agrônômico em viveiro e

campo e na incidência de fusariose. Adicionalmente, avaliaram-se a enxertia de *P. gibertii* em *P. edulis* e aspectos anatômicos do seu sistema radicular que auxiliem para uma melhor compreensão sobre a relação agente causal-hospedeiro nesse patossistema.

## **Material e Métodos**

### ***Local do experimento e material vegetal***

O trabalho foi conduzido na Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, BA (12° 39' 25" S, 39° 07' 27" W, 222 m) de janeiro de 2016 a agosto de 2017. A produção de mudas foi realizada em casa de vegetação de janeiro a abril de 2016, com temperatura média de 28 °C e umidade relativa de 60%. As mudas foram transplantadas em campo com histórico de elevada incidência de fusariose do maracujazeiro (Santos *et al.*, 2016) para avaliação do desenvolvimento e sobrevivência à fusariose de abril de 2016 a agosto de 2017. Durante a condução do experimento a temperatura média foi de 25,4 °C, com precipitação de 1046,8 mm e umidade relativa de 77%.

O híbrido comercial de *P. edulis* lançado pela Embrapa (BRS Rubi do Cerrado) foi utilizado como copa. Como porta-enxerto foi utilizado a espécie silvestre *P. gibertii* (BGP008). A enxertia recíproca entre essas espécies também foi realizada para avaliação do vigor e sobrevivência das plantas de *P. gibertii* enxertada em *P. edulis* e verificar se a copa de *P. gibertii* induziria alguma resistência no porta-enxerto (*P. edulis*).

### ***Avaliação em casa de vegetação***

As mudas enxertadas aos 20 e 30 cm de altura foram semeadas 30 dias antes do segundo lote, que foi enxertado aos 5 e 10 cm de altura. Esse procedimento foi utilizado para que as enxertias fossem realizadas ao mesmo tempo em todas as alturas de enxertia estudadas. Aos 15 dias após a emergência das plântulas, as plântulas foram transplantadas para sacos de polietileno (22 x 12 cm) contendo substrato à base de terra vegetal, vermiculita, fibra de coco e substrato comercial Vivato® (2:1:1:1, v:v). Aos 45 dias após o transplante, as enxertias foram realizadas conforme a metodologia estabelecida por Lima *et al.* (2017).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (2 x 4 +2), sendo duas combinações (copa/porta-enxerto) de enxertia (*P. edulis*/*P. gibertii* e *P. gibertii*/*P. edulis*) e quatro alturas de enxertia (5, 10, 20 e 30 cm acima do colo do porta-enxerto), mais dois tratamentos adicionais que foram as espécies utilizadas como pés francos, distribuídos em quatro repetições de 10 plantas na parcela.

As variáveis estudadas foram altura do enxerto (AL em cm) mensurado a partir da região de enxertia até o ápice da planta, diâmetros do caule da copa (DC em mm) medidos com auxílio de paquímetro a 2 cm acima da região de enxertia e pegamento de mudas aos 60 dias após enxertia (DAE).

Para análise estatística, os dados de pegamento da enxertia foram transformados por  $\sqrt{Y + 1}$  para atender as premissas da ANOVA. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando o teste F, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas usando o pacote 'agricolae' implementado no programa R (R Development Core Team, 2015).

### ***Avaliação em condições de campo***

Aos 60 DAE, as mudas foram transplantadas a campo para avaliação do crescimento, sobrevivência e qualidade de frutos de plantas enxertadas. O experimento foi conduzido em blocos ao acaso em esquema fatorial (2 x 4 +2), similar ao utilizado em fase de mudas, com quatro repetições de seis plantas na parcela.

O solo da área experimental é classificado como latossolo amarelo distrocoeso álico, com as seguintes características químicas: pH (água) 6,5; fósforo (P) 60,85 mg dm<sup>-3</sup>; potássio (K) 0,20; cálcio (Ca) 2,26; magnésio (Mg) 0,99; alumínio (Al) 0,0; sódio (Na) 0,09; hidrogênio + alumínio (H + Al) 1,25; saturação por base (SB) 3,24; e capacidade de troca de cátions (CTC) 4,79 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; porcentagem de saturação por base (V%) 73,65%; e matéria orgânica (MO) 13,2 g kg<sup>-1</sup>.

O cultivo foi realizado em espaldeira de fio de arame simples com 2,0 m de altura e espaçamento entre plantas de 1,8 x 2,0 m. A irrigação foi realizada de forma complementar por gotejamento, três vezes por semana com duração de 30 minutos cada com uma irrigação média de 10 L por planta. A adubação foi realizada

a cada 20 dias, sendo utilizado nos primeiros seis meses: 30 g de sulfato de amônia por planta e posteriormente aumentado para 80 g acrescidos de 30 g de cloreto de potássio e 20 g de superfosfato simples. As demais práticas culturais foram realizadas seguindo recomendação para o cultivo do maracujá (LIMA *et al.*, 2011).

O índice de velocidade de crescimento (IVC) foi estimado até os 220 dias após o plantio conforme estabelecido por Jesus *et al.* (2016). A produção (kg planta<sup>-1</sup>) foi mensurada por meio da contagem do número de frutos por planta, seguido da estimativa de produtividade (t ha<sup>-1</sup>) a partir da massa média dos frutos para os tratamentos enxertados em comparação aos tratamentos não enxertados de *P. edulis* (BRS Rubi do Cerrado).

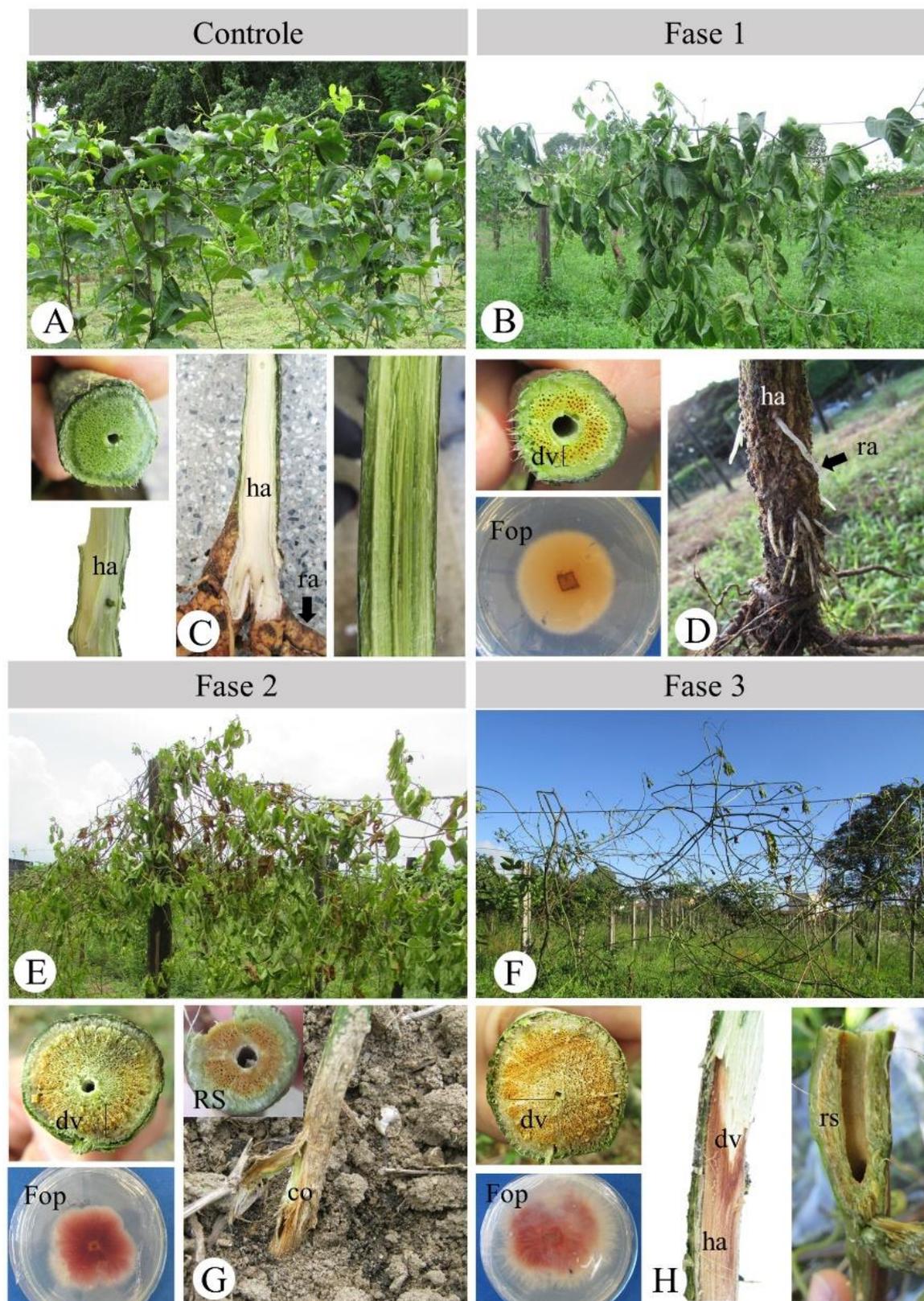
Para avaliação da qualidade dos frutos, utilizaram cinco frutos maduros coletados ao acaso por parcela no pico de produção das plantas durante os meses de novembro e dezembro de 2016. Essa avaliação foi realizada somente nas plantas provenientes da combinação de enxertia *P. edulis/P. gibertii* e o pé-franco de *P. edulis*. Os caracteres físicos e químicos estimados foram: massa do fruto, comprimento e diâmetro do fruto, espessura da casca, massa da casca, massa da polpa, teor de sólidos solúveis totais (SS) em (°brix), acidez titulável (AT) e relação ente SS/AT (Jesus *et al.*, 2017).

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A comparação entre tratamentos enxertados e pés francos foi realizada pelo teste F.

A análise da sobrevivência foi realizada utilizando a curva não paramétrica de Kaplan-Meier (KM) (Kaplan & Maier, 1958). Neste estudo, o evento de interesse foi a morte da planta causada pela *Fop* verificada a cada dois dias. As diferenças entre as curvas de sobrevivência nas diferentes combinações de enxertias e as alturas de enxertias foram testadas usando os testes não paramétricos de Log-Rank, Peto e Peto's Wilcoxon e F de Cox ( $P \leq 0,05$ ). Em complementação a análise de sobrevivência foi estimada a expectativa média de vida aos 122 dias que coincide com a fase produtiva das plantas por meio da tabela de vida e o número de plantas acometidas pela fusariose utilizando o diagrama Box plot. A análise estatística foi realizada utilizando-se o software Statistica 7 (Statsoft 2005).

### *Análise histopatológica da raiz infestada pelo Fop*

Visando compreender mais a interação *P. edulis* x *Furarium oxysporum* f. sp. *passiflora* foi realizada análise histopatológica em plantas pé-franco de *P. edulis* - BRS Rubi do Cerrado (n =3), cultivadas em campo com diferentes níveis de murcha: (i) plantas visualmente sadia ou controles (Figura 1A, C) e sintomáticas de *Fop*, sendo (ii) com murcha leve das folhas no início de manifestação dos sintomas (Figura 1B, D – fase 1); (iii) presença generalizada de folhas murchas e aderidas à planta (Figura 1E, G, fase 2) e (iv) necrose das raízes com a maioria das folhas já desprendidas da planta (Figura 1F, H, fase 3). Fragmentos de raízes provenientes dos três níveis de murcha foram submetidos ao isolamento do patógeno para confirmação do agente causal da doença (Figura 1D, G, H). Fragmentos de raízes secundárias de pelo menos três plantas nas diferentes fases de murcha com diâmetro médio de 1,0 mm foram coletadas ao longo do período de condução do experimento após manifestação de sintomas típicos de *Fop*. Além disso, plantas controle assintomáticas também foram coletadas para análises histopatológicas.



**Figura 1.** Aspectos morfológicos de plantas de *P. edulis* pé-franco com diferentes estádios de murcha do *Fusarium*. A, C: planta sadia; B, D: primeira fase de murcha; E, G: segunda fase de murcha. F, H: terceira fase de murcha. ha: haste; dv: descoloração vascular; rs: ramo secundário; ra: raiz; Fop: *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*.

### **Preparo das amostras para análise histopatológica e de fluorescência**

Segmentos de raízes secundárias (n=6) com 2-4 cm de comprimento provenientes de plantas de *P. edulis* (BRS Rubi do Cerrado) sem sintomas (controle) e em três estádios de murcha ocasionadas pelo *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* (Figura 1), foram fixadas, emblocadas, cortadas e visualizadas conforme metodologia estabelecida por Lima *et al.* (2017).

Para detecção da presença de amido os cortes contendo segmentos radiculares com 5,0 µm de espessura foram corados com lugol por cinco minutos. Após esse período, o amido presente na estrutura celular apresenta coloração azul-negro ou marrom muito escuro (Berlyn e Miksche, 1976). Foram preparadas para cada tratamento 3 lâminas contendo 10 cortes, totalizando 30 unidades.

Na microscopia de fluorescência os segmentos das raízes foram corados com lugol por três minutos, em seguida lavadas com água de torneira e coradas com azul de anilina a 1% por oito minutos e por último em lugol novamente por 30 segundos e montadas com água de torneira (Kraus e Arduin, 1997). O corante azul de anilina produz uma coloração azul para calose e o lugol atua nas paredes celulares dando coloração cinza e amarelada para as lignificadas.

Para verificar a presença de calose no sistema radicular de maracujazeiro infectado pelo *Fop* utilizou-se o microscópio de fluorescência com filtro ultravioleta. As lâminas foram analisadas em microscópio de luz (Axioskop2, Carl Zeiss, Jena, Germany).

A visualização de hifas do patógeno foi realizada utilizando fragmentos radiculares frescos com 2-4 cm de comprimento para avaliar a colonização dos tecidos do hospedeiro pelo *Fop* utilizando a técnica de clarificação e coloração das raízes (Phillips e Haymann, 1970). Sendo possível identificar a presença de hifas do patógeno intracelular além da presença de clamidósporos. Foram preparadas para cada tratamento três lâminas contendo 10 cortes, totalizando 30 amostras.

## **Resultados**

### *Experimento em fase de muda*

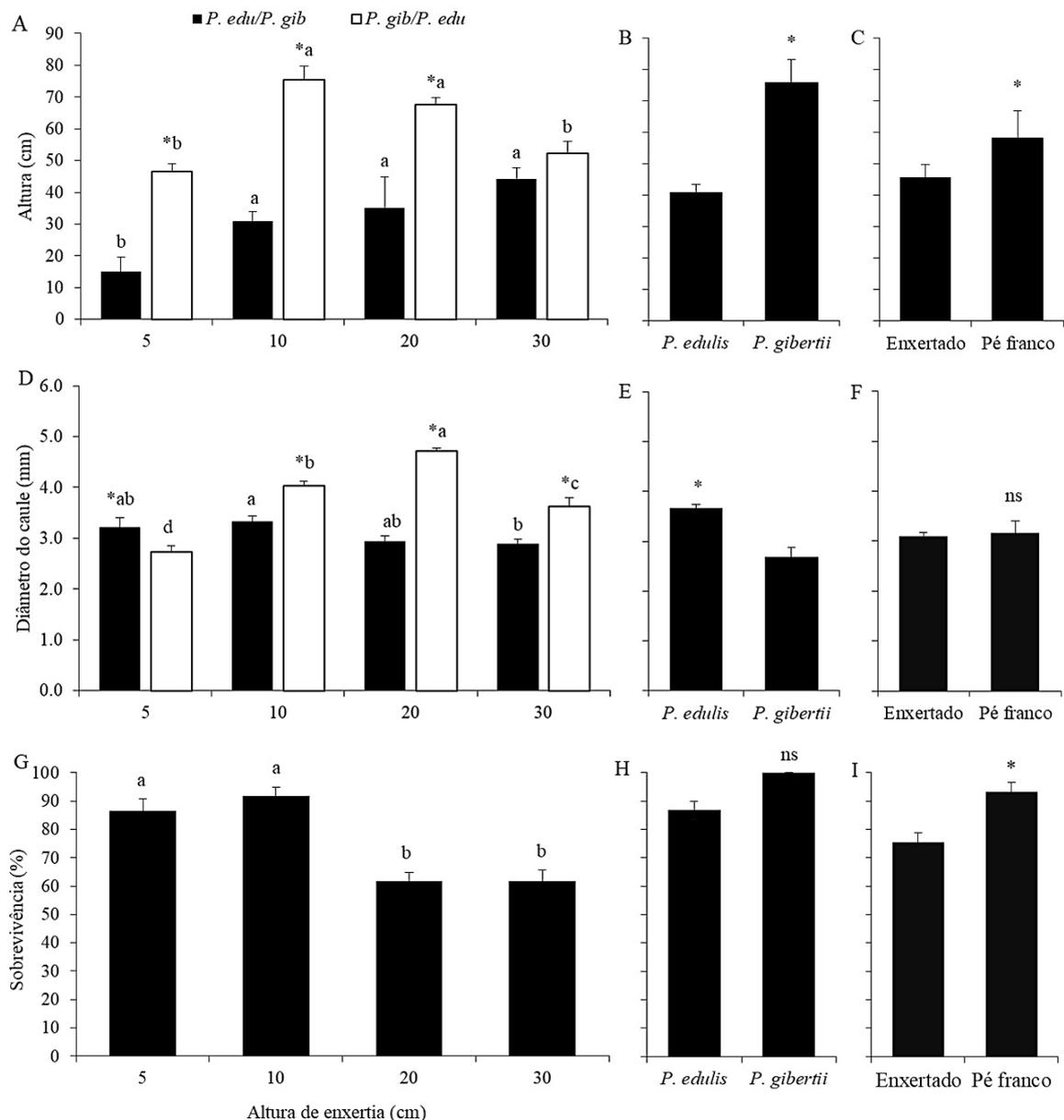
As variáveis biométricas e porcentagem de sobrevivência da enxertia apresentaram diferenças significativas ( $p \leq 0.05$ ) em relação às combinações de enxertia e às alturas de enxertia (Figura 2). Houve interação entre os fatores

combinação de enxertia x altura de enxertia para as variáveis altura da copa e diâmetro do caule (Figura 2A; Figura 2D).

Para a variável altura da copa, houve comportamento diferenciado entre as combinações e alturas de enxertia (Figura 2A). *P. gibertii/P. edulis* apresentou maior crescimento em relação à combinação *P. edulis/P. gibertii* em quase todas as alturas de enxertia realizadas, à exceção da altura de 30 cm, em que a combinação *P. gibertii/P. edulis* foi 15,6% superior. Em relação às alturas de enxertia, verificou-se que a altura de 5 cm proporcionou menor crescimento das plantas, sobretudo quando *P. edulis* é enxertado em *P. gibertii* (Figura 2A). Em relação às plantas de pé-franco, *P. gibertii* apresentou maior altura com 76 cm, superior a *P. edulis* com 41 cm (Figura 2B). Entre as plantas enxertadas e as não enxertadas (pés francos) observou-se maior crescimento nas plantas pé-franco com 58,4 cm, em relação as plantas enxertadas com 45,8 cm de altura (Figura 2C).

Para o diâmetro do caule, houve diferentes respostas entre as combinações e alturas de enxertia (Figura 2D). A combinação (*P. gibertii/P. edulis*) apresentou os maiores diâmetros de caule em quase todas as alturas de enxertia (20 e 30 cm), à exceção aos 5 cm, pois a combinação recíproca (*P. edulis/P. gibertii*) se destacou com 3,21 mm de diâmetro, enquanto *P. gibertii/P. edulis* obteve 2,71 mm (Figura 2D). Entre os pés francos, *P. edulis* apresentou diâmetro do caule 3,66 mm, 26,7% mais espesso, que a *P. gibertii* com 2,68 mm (Figura 2E). As plantas enxertadas e pé-franco não diferiram significativamente para o diâmetro do caule (Figura 2F).

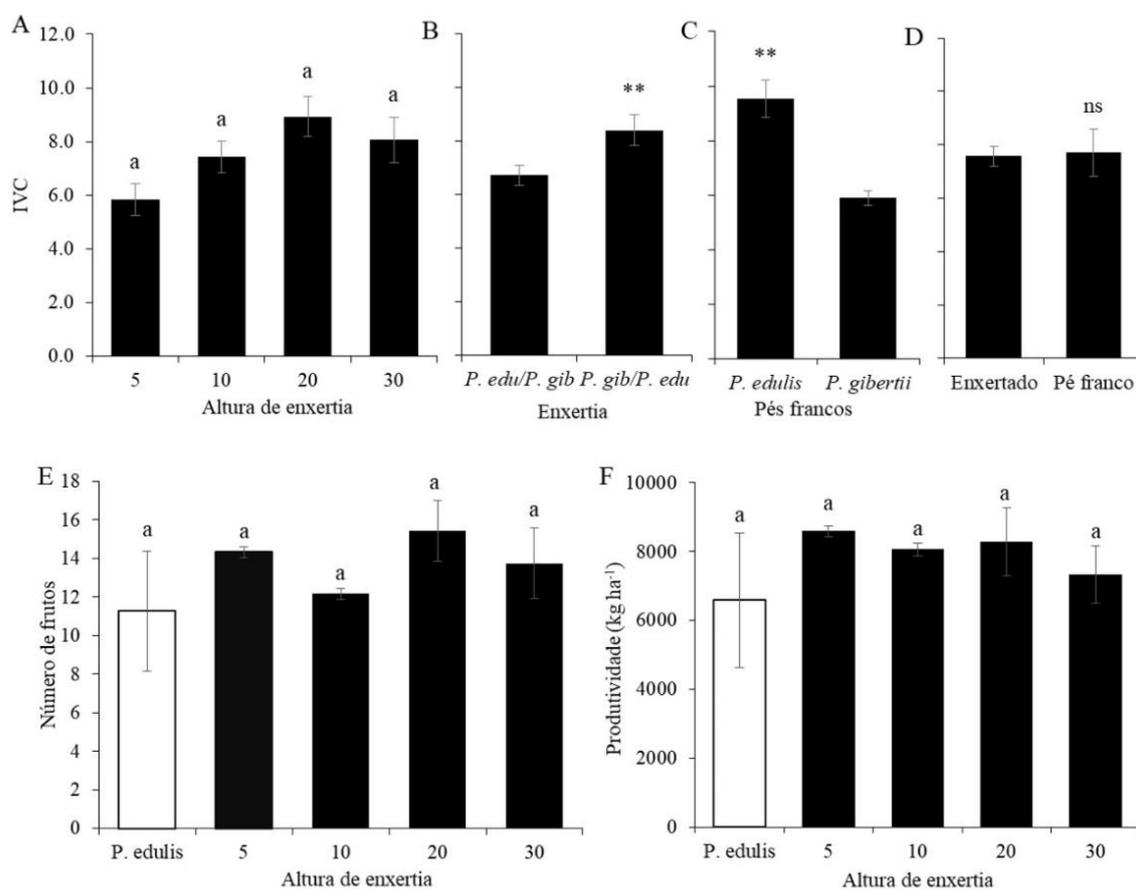
Para as mudas de *P. edulis/P.gibertii* observou-se que a altura de enxertia realizada a 10 cm proporcionou maior porcentagem de pegamento (92%), embora não diferiu da altura de enxertia de 5 cm, com 87% de pegamento (Figura 2G). Em contrapartida, as menores porcentagem de pegamento foram registradas na altura de enxertia de 20 cm e 30 cm, ambas com 61,6% (Figura 2G). Entre os pés francos *P. edulis* e *P. gibertii* não diferiram quanto a porcentagem de sobrevivência. As plantas de pé-franco apresentaram ( $p = 0,05$ ) maior pegamento (93%) em relação às plantas enxertadas com 75% (Figura 2I).



**Figura 2.** Comportamento biométrico e sobrevivência de plantas de *P. edulis* enxertado em *P. gibertii*, sua enxertia recíproca *P. gibertii/P. edulis*, os pés francos de *P. edulis* e *P. gibertii* e das plantas enxertadas e pés francos. A-C) Altura da copa. A) Combinação de enxertia x altura de enxertia. B) Comparação entre os pés francos e C) Comparação entre plantas enxertadas e pé-franco. D-F) Diâmetro do caule. D) Combinação de enxertia x altura de enxertia. E) Comparação entre os pés francos e F) Comparação entre plantas enxertadas e pé-franco. G) Sobrevivência em função da altura de enxertia (%) de *P. edulis/P. gibertii* em função da altura de enxertia. H) Sobrevivência (%) dos pés francos e I) Sobrevivência (%) entre plantas enxertadas e pés francos. Barra de erros = erro padrão da média, letras diferentes indicam diferença significativa (teste Tukey  $p \leq 0.05$ ). \* Indica diferença significativa pelo teste-F a 5% de probabilidade.

### Experimento em condições de campo

Em condições de campo não houve efeito da altura de enxertia no índice de velocidade de crescimento das plantas (IVC), embora a enxertia realizada aos 20 cm demonstrou um acréscimo de 34,7% no crescimento das plantas, em relação a enxertia realizada a 5 cm de altura (Figura 3A). Quando a copa de *P. gibertii* foi utilizada no porta-enxerto de *P. edulis* ocorreu maior velocidade de crescimento ( $p=0,01$ ), sendo 20,0% superior à sua combinação inversa (Figura 3B). Em relação aos pés francos foi observado comportamento oposto com IVC maior em *P. edulis* (9,53) do que em *P. gibertii* com IVC de 5,89 (Figura 3C). Não houve diferenças entre as plantas enxertadas e pé-franco para o IVC (Figura 3D).



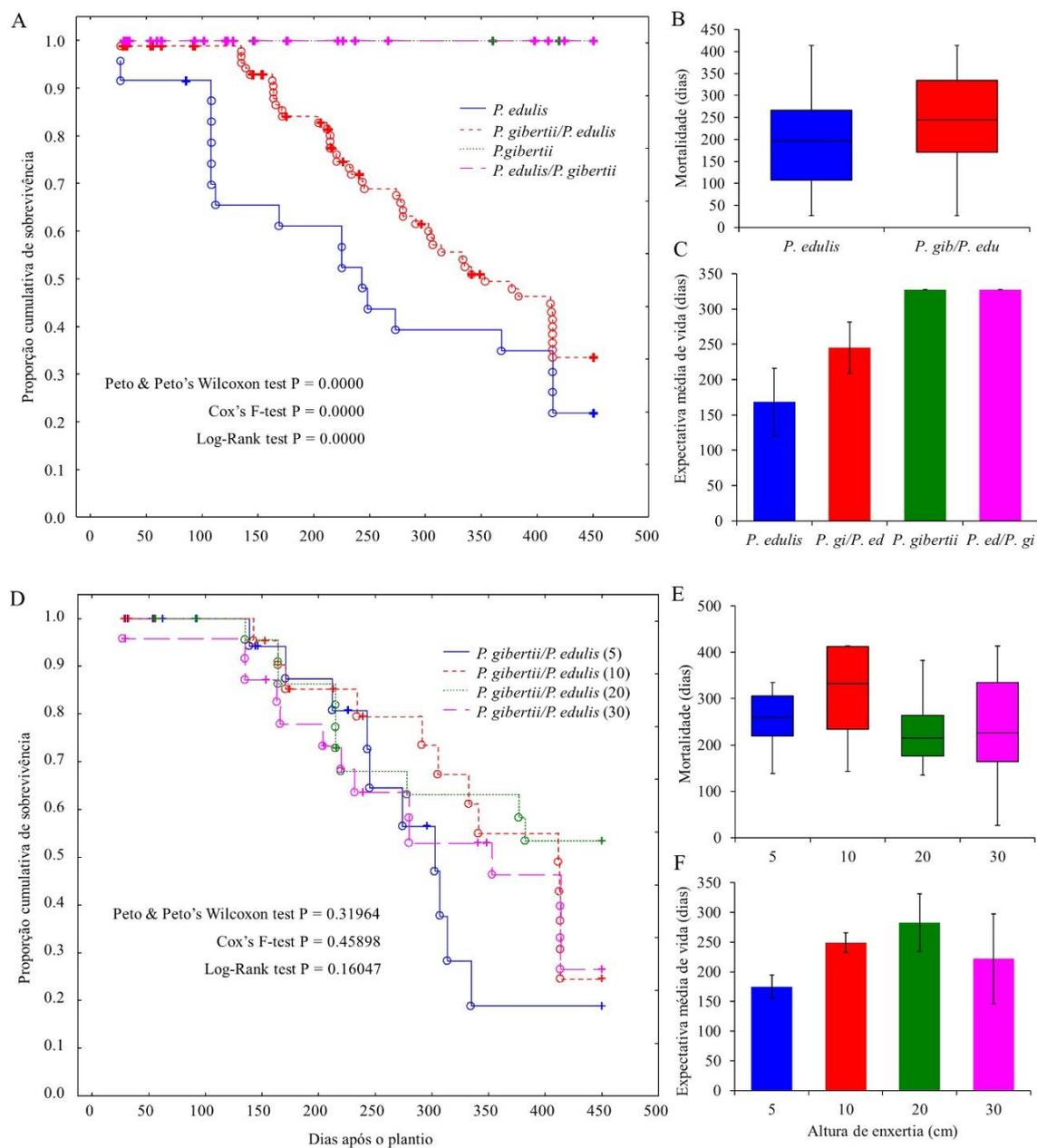
**Figura 3.** Índice de velocidade de crescimento (IVC), número de frutos e produtividade de maracujazeiro. A) IVC em diferentes alturas de enxertia. B) Comparação de plantas de *P. edulis* enxertada em *P. gibertii* e sua enxertia recíproca. C) Comparação entre *P. edulis* e *P. gibertii* utilizadas como pé-franco e D) Comparação entre plantas enxertadas e pé-franco, em condições de campo. E) Número de frutos e F) Produtividade de *P. edulis* nas diferentes alturas de enxertia e pé-franco. Barra de erros = erro padrão da média, letras diferentes indicam diferença dos dados (teste Tukey,  $p \leq 0,05$ ). \*\*Indica diferença significativa pelo teste-F a 1% de probabilidade.

O número de frutos não foi influenciado pelas alturas de enxertia testadas, esse comportamento também foi mantido quando comparado com *P. edulis* pé-franco (Figura 3E). A produtividade das plantas também não sofreu efeito significativo em função da altura de enxertia. A altura de enxertia realizada a 5 cm e 30 cm, apresentou uma produtividade de 8500 kg ha<sup>-1</sup> e 7300 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 3F). Essa variável também não diferiu quando comparado a *P. edulis* não enxertado que obteve produtividade de 6600 t ha<sup>-1</sup> (Figura 3F).

Os testes de Wilcoxon, Log-Rank e F de Cox indicaram que as curvas de sobrevivência geradas pelo método não paramétrico de Kaplan-Meier diferiram significativamente ( $p < 0,0001$ ) entre os pés francos de *P. edulis* e *P. gibertii* e as combinações de enxertias *P. gibertii/P. edulis* e *P. edulis/P. gibertii* (Figura 4A).

A utilização da enxertia de *P. gibertii/P. edulis* condicionou a susceptibilidade a fusariose para *P. gibertii*, que é considerada resistente a essa doença. A manifestação de sintomas de *P.gibertii/P. edulis* iniciou-se aos 150 DAP e ao final do estudo apresentou apenas 32% de plantas sobreviventes (Figura 4A).

A espécie comercial *P. edulis* pé-franco foi mais suscetível a fusariose com início de manifestação dos sintomas aos 50 dias após o plantio (DAP) e acentuada mortalidade aos 100 DAP, chegando ao final do estudo com a proporção de 20% de plantas sobreviventes ao *Fop* (Figura 4A). Com base na análise de box plot, observou-se que a manifestação dos sintomas da fusariose foi mais precoce em *P. edulis* pé-franco tendo o primeiro quartil entre 110 e 200 DAP e mais tardia na combinação de *P. gibertii/P. edulis* tendo o primeiro quartil entre 175 e 248 DAP (Figura 3B). A expectativa média de vida também seguiu a mesma tendência, sendo de 128 e 245 dias para *P. edulis* e *P. gibertii/P. edulis*, respectivamente (Figura 4C). As plantas de *P. edulis* enxertadas em *P. gibertii* não apresentaram sintomas típicos de fusariose (Figura 4A) com expectativa média de vida de 327 dias (Figura 4C).



**Figura 4.** A) Proporção cumulativa de sobrevivência de *P. edulis*, *P. gibertii*, *P. gibertii/P. edulis* e *P. edulis/P. gibertii* a murchar da fusariose (*Fop*). B) Box plot da sobrevivência ao *Fop* (dias) de *P. edulis* e *P. gibertii/P. edulis*. C) Tempo médio de sobrevivência ao *Fop* dos pés francos de *P. edulis* e *P. gibertii* e a combinação de enxertia dessas duas espécies. D) Proporção cumulativa de sobrevivência ao *Fop* de *P. gibertii/P. edulis* submetidas as alturas de enxertias de 5 cm, 10 cm, 20 cm e 30 cm de enxertia. E) Box plot da sobrevivência ao *Fop* (dias) de *P. gibertii/P. edulis* nas diferentes alturas de enxertia e F) Tempo médio de sobrevivência ao *Fop* (dias) de *P. gibertii/P. edulis* nas alturas de 5 cm, 10 cm, 20 cm e 30 cm de enxertia.

A sobrevivência ao *Fop* da enxertia de *P. gibertii*/*P. edulis* foi reduzida expressivamente independente da altura de enxertia utilizada e não foi observada variação entre as curvas de sobrevivência pelos três métodos testados (teste de Peto & Peto's Wil Wilcoxon  $p = 0,31964$ ; F de Cox's  $p = 0,45898$  e pelo teste de log-rank  $p = 0,16047$ ) (Figura 4D). 52%. Menor dispersão atribuída ao *Fop* foi obtida na altura de enxertia de 5 e 20 cm com o primeiro quartil entre 220 a 260 e 180 a 210 dias para essas alturas de enxertia, respectivamente, quando comparado as enxertias aos 10 e 30 cm (Figura 4E). O tempo médio de sobrevivência foi inferior (175 dias) na enxertia realizada aos 5 cm de altura (Figura 4F) e a intensificação da mortalidade ocorreu a partir dos 250 dias após o plantio (Figura 4D).

### **Pós-colheita**

Com base nas características físico-químicas dos frutos de *P. edulis* enxertado em *P. gibertii*, não houve diferenças ( $p \leq 0,05$ ) entre as alturas de enxertia para todos os caracteres avaliados (Tabela 1). Considerando o número médio de frutos por planta, observou-se que a altura de enxertia não influenciou essa variável, quando comparado a de *P. edulis* pé-franco (Tabela 1).

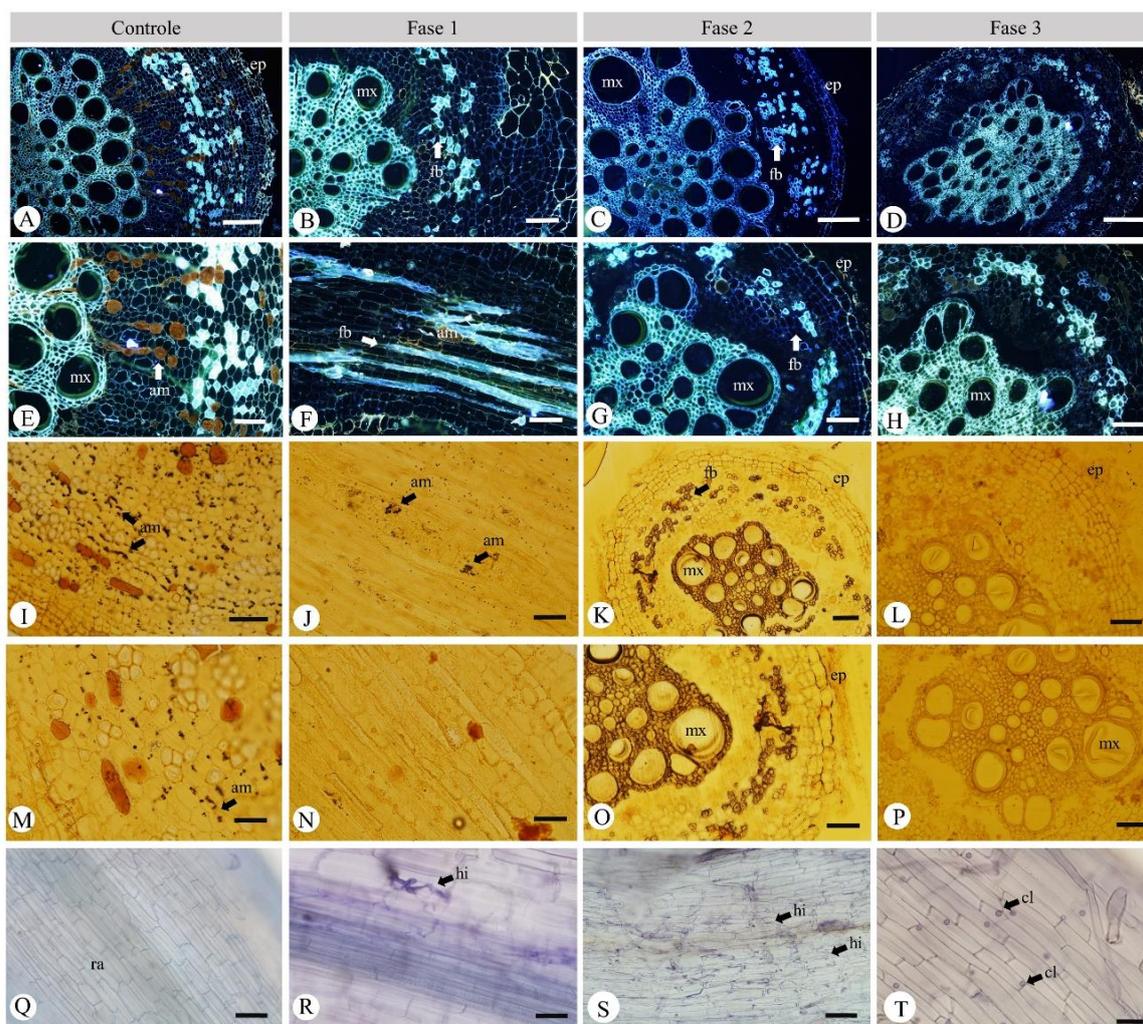
**Tabela 1.** Características físico-químicas dos frutos de *P. edulis* enxertado em *P. gibertii* submetidas a quatro alturas de enxertia e comparadas com pé-franco de *P. edulis*.

<b>FV</b>	<b>CF</b>	<b>DF</b>	<b>EC</b>	<b>PC</b>	<b>PP</b>	<b>SS</b>	<b>AT</b>	<b>Ratio</b>
Bloco	0.36 <sup>ns</sup>	2.96 <sup>ns</sup>	0.29 <sup>ns</sup>	2.40 <sup>ns</sup>	1.88 <sup>ns</sup>	4.21*	0.71 <sup>ns</sup>	0.88 <sup>ns</sup>
Altura de enxertia	1.66 <sup>ns</sup>	2.23 <sup>ns</sup>	2.01 <sup>ns</sup>	2.78 <sup>ns</sup>	0.38 <sup>ns</sup>	0.69 <sup>ns</sup>	1.09 <sup>ns</sup>	0.12 <sup>ns</sup>
Erro	51.86	48.41	1.44	514.2	629.51	2.50	0.54	1.07
CV (%)	8.07	9.67	17.68	22.84	33.22	11.64	23.28	23.06
<b>Tratamentos</b>								
<i>P. edulis</i> pé-franco	88.45a	70.06a	6.31a	90.48a	77.65a	13.55a	3.10a	4.49a
<i>P. edu/P. gib</i> (5)	87.26a	72.43a	6.54a	95.56a	75.90a	13.88a	3.39a	4.43a
<i>P. edu/P. gib</i> (10)	92.27a	74.88a	7.24a	113.37a	76.00a	13.33a	2.95a	4.61a
<i>P. edu/P. gib</i> (20)	97.50a	74.70a	8.30a	112.63a	59.00a	15.50a	3.90a	3.97a
<i>P. edu/P. gib</i> (30)	86.13a	63.90a	7.16a	91.59a	61.00a	13.16a	3.12a	4.26a

ns: não significativo; \* significativo a 5%, pelo teste de F da análise de variância. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferiram entre si pelo teste Tukey ( $p \leq 0.05$ ). MF: massa do fruto; CF: comprimento do fruto, DF: diâmetro do fruto; EC: espessura da casca; PC: massa da casca; PP: massa da polpa; SS: sólidos solúveis totais (°Brix); AT: acidez titulável; Ratio: relação entre SS/AT; *P. edu/P. gib* (5) (10) (20) (30): *P. edulis* enxertado em *P. gibertii* nas alturas de 5 cm, 10 cm, 20 cm e 30 cm, respectivamente.

### **Análise anatômica das raízes de *P. edulis* em três fases de murcha**

Com base na microscopia de fluorescência na planta controle de *P. edulis* observou a presença de fibras no parênquima cortical da raiz com coloração clara e deposição de amido na mesma região se estendendo até os vasos do xilema (Figura 5A, 5E).



**Figura 5.** Aspectos anatômicos de plantas de *P. edulis* pé-franco, em três estádios de murcha do *Fusarium*. A, E: microscopia de fluorescência da raiz de plantas controle não inoculadas com presença de fibras e amido. B, F: primeira fase de murcha com redução acentuada na presença de amido e ausência de calose; C, G: ausência de amido e calose e menor fluorescência das fibras; D, H: Ausência de amido com início de desintegração dos tecidos; I, M: raiz controle com presença de amido no parênquima cortical; J, N: baixa concentração de amido na primeira fase de murcha; K-L, O-P: ausência de amido no parênquima do córtex e vascular; Q: raiz de planta controle com ausência do patógeno; R, S, T: presença de hifas e clamidósporos intracelular. ha: haste, dv: descoloração vascular, co: colo da planta, rs: ramo secundário, hi: hifas, ra: raiz, ep: epiderme, am: amido, mx: metaxilema; fb: fibras. Barras: A, C-D = 250  $\mu$ m; K = 125  $\mu$ m; B, E-I, L, O, P, S = 100  $\mu$ m; J, M, N, Q, R, T = 50  $\mu$ m.

Na primeira fase de murcha foi possível observar uma acentuada redução na presença de amido em comparação ao controle, além de menor volume de fibras (Figura 5B, 5F). Na segunda fase murcha observou completa ausência de amido tanto no córtex como no xilema (Figura 5C, 5G) e na terceira fase de murcha, esse comportamento se mantém, com deterioração dos tecidos vasculares (Figura 5D, 5H). Vale destacar que não foi observada deposição de calose nos vasos do xilema em nenhuma das fases de murcha, indicando que a espécie *P. edulis* não possui esse composto metabólico que constitui uma barreira física que impede a colonização do patógeno (Figura 5F-H).

Nas seções transversais da raiz de plantas sadias coradas com lugol foram identificadas a presença de amido no parênquima cortical (Figura 5I, 5M), enquanto nas plantas infectadas pelo fungo, verificou-se baixa concentração de amido na primeira fase de murcha (Figura 5J, 5N) em comparação ao controle e completa ausência desse polissacarídeo nas demais fases de murcha (Figura 5K, 5L, 5O, 5P).

Com a técnica de clarificação das raízes foi possível identificar a presença de hifas nas raízes secundárias desde a primeira fase de murcha (Figura 5R) e presença de clamidósporos na última fase de murcha (Figura 5T). Não foram observadas estruturas do patógeno nas plantas controle que apresentaram raízes saudáveis com células bem delimitadas (Figura 5Q).

## **Discussão**

A definição de uma altura ideal de enxertia em maracujazeiro é uma estratégia extremamente importante para obtenção de máximo vigor das plantas associado à resistência aos principais patógenos de solo que tem inviabilizado a passicultura em diversas regiões do Brasil. No presente estudo, a altura de enxertia de 10 cm proporcionou maior pegamento na fase de produção de mudas nas condições de casa de vegetação. Os resultados obtidos demonstraram que à medida que se aumenta a altura de enxertia há redução na sobrevivência das mudas de maracujazeiro.

Nas condições de campo, não foram observadas diferenças entre as alturas de enxertia, indicando que a limitação provavelmente está concentrada principalmente na fase de produção de mudas, devido ao tempo de cicatrização

entre a copa e o porta-enxerto e o reestabelecimento das conexões vasculares (Lima *et al.*, 2017). Por outro lado, a velocidade de crescimento de *P. gibertii* quando enxertada em *P. edulis* foi superior à combinação inversa. Esses resultados são bastante interessantes, pois indicam que a redução no vigor vegetativo de *P. edulis* quando enxertado em *P. gibertii* estão associados à limitação no desenvolvimento do sistema radicular do porta-enxerto e não ao processo de conexão vascular. Esta informação pode ser sustentada pelo maior IVC de *P. gibertii*/*P. edulis* em relação a *P. gibertii* pé-franco. Já *P. edulis* enxertado em *P. gibertii* apresentou menor velocidade de crescimento quando comparado ao pé-franco *P. edulis*.

Estudos recentes realizados por Morgado *et al.* (2015) na fase de produção de mudas identificaram menor massa seca de raiz em *P. edulis*/*P. gibertii* em relação ao auto enxerto de *P. edulis*. Esses resultados corroboram a limitação no sistema radicular de *P. gibertii* como o fator limitante para o desenvolvimento de *P. edulis* enxertado nessa espécie. Desse modo, o sistema radicular do porta-enxerto é de fundamental importância, uma vez que o fluxo de água controla muitos processos de plantas, como crescimento, nutrição mineral, fotossíntese, transpiração e conseqüentemente a produção (Martínez-Ballesta *et al.*, 2010; Gambetta *et al.*, 2012).

Quando enxertadas em *P. gibertii* as plantas de *P. edulis* se mantiveram sobreviventes ao longo do experimento em área com histórico de *Fusarium*, independente da altura de enxertia utilizada, indicando que a resistência de *P. gibertii* ocorre em nível de raiz e que a baixa sobrevivência de *P. edulis*/*P. gibertii* relatada por Santos *et al.* (2016) pode estar associada a outros fatores, como tratamentos culturais, condições climáticas entre outros fatores.

A utilização de *P. gibertii* como copa enxertada em *P. edulis* resultou em elevada mortalidade associada ao *Fop* ao longo do período de avaliação. Esses resultados confirmam a existência de compostos inibitórios de infecção e/ou colonização do patógeno nas raízes de *P. gibertii* e que não ocorre fluxo dessas substâncias da copa para as raízes da espécie susceptível *P. edulis*, pois estudos recentes indicam o movimento de miRNA via floema da parte aérea para a raiz em videiras, que, no entanto, é fortemente dependente do ambiente (Yang *et al.*, 2015).

A manutenção da qualidade dos frutos de maracujá amarelo em plantas enxertadas também é fundamental para aceitação dos porta-enxertos pelos produtores. Dessa forma, os resultados obtidos demonstraram que não houve alterações nos atributos físicos e químicos em função das alturas de enxertia testadas em relação aos pés francos de *P. edulis*. A produtividade e o número de frutos, também não foram influenciadas em função da altura de enxertia utilizada ou na comparação com *P. edulis* pé-franco. A produtividade das plantas enxertadas observada neste estudo ficou abaixo da média nacional, indicando que a enxertia pode ser utilizada em última caso, pois apesar de não haver comprometimento das características físicas e químicas dos frutos o vigor e produtividade de plantas enxertadas é reduzido.

Cavichioli et al. (2011c) ao avaliarem a qualidade de frutos de maracujá enxertado em três porta-enxertos verificaram que plantas enxertadas produziram frutos dentro dos padrões de comercialização, apesar de apresentarem comprimentos menores que as plantas de pé-franco.

As avaliações histopatológicas de plantas de *P. edulis* pé-franco nas diferentes fases de murcha demonstrou que com o tempo de incidência da doença ocorre uma expressiva redução de amido nas raízes e presença de hifas e clamidósporos principalmente na última fase de murcha. A distribuição de fibras e lignificação das paredes corticais nas raízes secundárias foi baixa, tanto em plantas controle como nas diferentes fases de murcha, com redução na fluorescência das fibras nas plantas acometidas pela doença. As estruturas físicas representam uma importante barreira a infecção dos patógenos e a fragilidade dessas estruturas pode estar associado à susceptibilidade do maracujá amarelo (*P. edulis*) ao *Fop*, pois a parede celular é considerada a primeira barreira a penetração ou colonização do patógeno e além disso, pode ocorrer alterações nesta membrana que impossibilitam a colonização do patógeno (Underwood, 2012; Miedes et al., 2014).

As informações disponíveis na literatura sobre a deposição do amido na interação planta-patógeno são escassas, e os poucos trabalhos existentes abordam que plantas acometidas por patógenos apresentam redução na deposição deste polissacarídeo nas raízes (Keunen et al., 2013; Manila e Nelson, 2014), já que é utilizado como substrato para a colonização da planta. Nas plantas sadias foi observado maior acúmulo de amido no córtex da raiz, e a medida que o

nível de murcha foi intensificado a concentração de amido foi reduzida ou não identificada. As alterações anatômicas e histopatológicas mais importantes decorrentes da infecção do *Fop* foram à concentração de amido, hifas e clamidósporos em função da fase de murcha.

### **Conclusão**

1. A enxertia realizada aos 5 e 10 cm de altura é a mais indicada para a propagação de *P. edulis* por enxertia, na fase de produção de mudas pois apresenta vigor satisfatório e redução no tempo de obtenção das mudas em comparação as enxertias realizadas aos 20 e 30 cm.

2. As plantas enxertadas *P. gibertii/P. edulis* apresentaram melhor desenvolvimento que a sua enxertia recíproca e *P. gibertii* pé-franco. No entanto são susceptíveis aos *Fop* indicando que a resistência ocorre a nível de raiz.

3. A altura de enxertia não influencia na sobrevivência ao *Fop* em plantas de *P. edulis* enxertado em *P. gibertii*, sendo, portanto, consideradas resistentes ao *Fop*.

4. Com base nas análises de fluorescência e histopatológicas da raiz, foi possível identificar alterações na concentração de amido, presença de hifas e clamidósporos em função da fase de murcha do *Fusarium* em plantas de *P. edulis* pé-franco.

5. A enxertia de *P. edulis* em *P. gibertii* nas diferentes alturas de enxertia não exerce influência nas propriedades físicas e químicas dos frutos de maracujá amarelo.

### **Agradecimentos**

Ao conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro (Processo 473643/2013-8), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado do primeiro autor, a fundação de amparo à pesquisa do estado da Bahia (FAPESB) e CNPq pela bolsa de desenvolvimento científico e tecnológico (DCR0013/2015), a Embrapa Mandioca e Fruticultura e Embrapa Cerrados pelo apoio financeiro e suporte técnico (MP 02.12.02.006.00.00) e pelo fornecimento do material vegetal.

## Referências

- Cavichioli JC; Corrêa LDS; Boliani AC; Santos PCD. 2011c. Características físicas e químicas de frutos de maracujazeiro-amarelo enxertado em três porta-enxertos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33: 906-914.
- Cavichioli JC; Corrêa LS; Boliani AC; Santos PC. 2011a. Desenvolvimento e produtividade do maracujazeiro-amarelo enxertado em três porta-enxertos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33: 558-566.
- Cavichioli JC; Corrêa LS; Garcia MJM; Fischer IH. 2011b. Desenvolvimento, produtividade e sobrevivência de maracujazeiro-amarelo enxertado e cultivado em área com histórico de morte prematura de plantas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33: 567-574.
- Cavichioli JD; Kasai FS; Nasser MD. 2014. Produtividade e características físicas de frutos de *Passiflora edulis* enxertado sobre *Passiflora gibertii* em diferentes espaçamentos de plantio. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36: 243-247.
- Fischer IH; Rezende JAM. 2008. Diseases of passion flower (*Passiflora* spp.). *Pest technology*, 2: 1–19.
- Freitas JCO; Pio Viana A; Santos EA; Paiva CL; Silva FHL; Amaral Junior AT; Souza MM; Dias VM. 2016. Resistance to *Fusarium solani* and characterization of hybrids from the cross between *P. mucronata* and *P. edulis*. *Euphytica*, 208: 493–507.
- Gambetta GA; Manuck CM; Drucker ST; Shaghasi T; Fort K; Matthews MA; Mcelrone AJ. 2012. The relationship between root hydraulics and scion vigour across *Vitis* rootstocks: what role do root aquaporins play?. *Journal of experimental botany*, 63: 6445-6455.
- Jesus ON; Oliveira EJ; Faleiro FG; Soares TL; Girardi EA. 2017. Illustrated morpho-agronomic descriptors for *Passiflora* spp. Embrapa Mandioca e Fruticultura-Livro científico.
- Jesus ON; Soares TL; Girardi EA; Rosa RCC; Oliveira EJ; Cruz Neto AJ; Oliveira JRP. 2016. Evaluation of intraspecific hybrids of yellow passion fruit in organic farming. *African Journal of Agricultural Research*, 11: 2129-2138.
- Kaplan EL; Meier P. 1958. Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American Statistical Association* **53**, 457–81.

- Keunen ELS; Peshev D; Vangronsveld J; Van Den E; WIM; Cuypers ANN. 2013. Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. *Plant Cell Environ.* 36: 1242-1255.
- Kraus, J.R.; Arduin, M. Manual Básico de métodos em morfologia vegetal. Eduar, Serropédica RJ, 1997, 198p.
- Lima LKS; Soares TL; Souza EH; Jesus ON; Girardi EA. 2017. Initial vegetative growth and graft region anatomy of yellow passion fruit on *Passiflora* spp. rootstocks. *Scientia Horticulturae*, 215: 134-141.
- Manila S; Nelson R. 2014. Biochemical changes induced in tomato as a result of arbuscular mycorrhizal fungal colonization and tomato wilt pathogen infection. *Asian Journal Plant Sci*, 4: 62-68.
- Martínez-Ballesta MC; Alcaraz-López C; Muries B; Mota-Cadenas C; Carvajal M. 2010. Physiological aspects of rootstock–scion interactions. *Scientia Horticulturae*, 127: 112-118.
- McGovern, R.J. 2015. Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. *Crop Protection*, 73: 78-92.
- Miedes E; Vanholme R; Boerjan W; Molina A. 2014. The role of the secondary cell wall in plant resistance to pathogens. *Frontier in Plant Science*. 5: 1-13.
- Morgado MADO; Bruckner CH; Rosado LDS; Santos CEM. 2015. Desenvolvimento de mudas de maracujazeiro-azedo enxertadas em espécies silvestres de *Passiflora*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 37: 471-479.
- Morgado MADO; Bruckner CH; Rosado LDS; Santos CEM. 2017. Growth dynamics and allometric relationships of *Passiflora* species rootstocks. *Comunicata Scientiae*, 8: 1-8.
- Nasser MD; Cavichioli JC; Kasai FS; Vitorino R. 2011. Desenvolvimento de maracujazeiro-amarelo enxertado sobre maracujazeiro-doce em diferentes espaçamentos de plantio. *Revista Brasileira Fruticultura*, E:638-642.
- Nogueira Filho GC; Roncatto G; Ruggiero C; Oliveira JCD; Malheiros EB. 2010. Desenvolvimento e produção das plantas de maracujazeiro-amarelo produzidas por enxertia hipocotiledonar sobre seis porta-enxertos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32: 535-543.
- Ortiz E; Hoyos-Carvajal L. 2016. Standard methods for inoculations of *F. oxysporum* and *F. solani* in *Passiflora*. *African Journal of Agricultural Research*, 11: 1569-1575.

Phillips JM; Haymann AS. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-161.

Santos CHB; Oliveira EJD; Laranjeira FF; Jesus ON; Girardi EA. 2016. Growth, fruit set, and fusariosis reaction of yellow passion fruit grafted onto *Passiflora* spp. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 38: 1-5.

Sarkies P; Miska EA. 2014. Small RNAs break out: the molecular cell biology of mobile small RNAs. *Nature Reviews, Molecular Cell Biology* 15: 525-535.

Underwood W. 2012. The plant cell wall: a dynamic barrier against pathogen invasion. *Frontier Plant Science*. 3: 1-6.

Yang Y; Mao L; Jittayasothorn Y; Kang Y; Jiao C; Fei Z; Zhong GY. 2015. Messenger RNA exchange between scions and rootstocks in grafted grapevines. *BMC plant biology*, 15: 251-258.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A passicultura representa uma importante fonte de renda para os pequenos agricultores sobretudo da região Nordeste que é a principal produtora nacional, contudo a rentabilidade dessa atividade vem oscilando nos últimos anos, seja por problemas no escoamento da produção, baixo rendimento dos pomares, oferta e demanda do produto ou principalmente devido a problemas fitossanitários, que estão se tornando cada vez mais frequentes e agressivos. Dentre as várias doenças que acomete o maracujá amarelo a fusariose sem dúvida está entre as principais, pois não existe método de controle curativo, químico ou biológico com eficiência comprovada e devido a esse problema o tempo de exploração vem sendo reduzida consideravelmente, onerando ainda mais os custos de produção e por muitas vezes culminando no abandono da atividade por vários agricultores.

A expectativa dos produtores para a resolução de estratégias de produção em áreas com histórico de ocorrência deste patógeno é grande, contudo a obtenção de variedade de *Passiflora edulis* resistente a curto prazo é improvável. Dessa forma, a implementação de tecnologias alternativas como a utilização de porta-enxerto de espécies silvestres resistentes a fusariose pode ser considerada a melhor e principal mediada pontual de convívio com a doença até a obtenção de variedades resistentes.

Nosso estudo nas diferentes regiões produtoras do estado da Bahia demonstro que a enxertia utilizando *P. gibertii*, *P. alata* e *P. nitida* limita a ação do patógeno na espécie comercial susceptível, contudo, essa é apenas uma das exigências para utilização de porta-enxertos. A adaptação do material e manutenção da produtividade é fundamental para a aceitação do porta-enxerto pelos produtores e nesse estudo observamos que a produtividade de plantas enxertadas é inferior ao material pé franco em área com ausência do patógeno, no entanto, quando há histórico da doença as plantas enxertadas se sobressaem, indicando que deve ser utilizada somente em áreas com histórico comprovado de ocorrência do patógeno, sem prejuízos a qualidade pós-colheita. A utilização de *P. nitida* como porta-enxerto não deve ser recomendada, pois a espécie apresentou baixo desempenho agrônômico e o seu pé franco não sobreviveu em nenhuma das regiões avaliadas.

A consolidação da inoculação artificial é necessária visando selecionar de forma precisa e rápida um maior número de genótipos para compor o programa de

melhoramento genético de *Passiflora*, conseguimos algumas contribuições relevantes, no sentido de que o estresse combinado (patógeno + seca) potencializa a manifestação de sintomas de murcha em condições controlada e que estacas de plantas na fase produtiva não são mais susceptíveis a infecção do patógeno em comparação a mudas proveniente de sementes, então é necessário investigar se a maior ocorrência da fusariose em plantas adultas em condições de campo está associado a combinações de fatores bióticos e abióticos ou ao tempo de exposição da planta ao patógeno, além disso, é necessário investigar qual o melhor substrato que possibilite ainda mais antecipação na manifestação de sintomas em condições controladas.

Ainda são muitas as metas a serem alcançadas nessa linha de estudo, e com base nas informações aqui alcançadas é possível direcionar ações em curto prazo para obtenção de porta-enxertos interespecíficos com resistência a fusariose e melhor desempenho agrônomo para utilização em áreas com histórico de ocorrência do patógeno, pois é pouco provável identificar genótipos de *P. edulis* com resistência a esse patógeno entre os acessos existentes no Banco de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Em paralelo, o cruzamento desses híbridos com o doador recorrente para recuperação das características de interesse agrônomo possibilitará a médio e longo prazo a obtenção de híbridos resistentes a essa importante doença.

Os desafios são imensos sobretudo do ponto de vista holístico, pois são vários os fatores bióticos e abióticos que incidem sobre o maracujá amarelo em condições naturais de produção e a obtenção de resistência múltipla é complexa sobretudo através do melhoramento clássico, contudo, com o somatório de esforços múltiplos é possível almejar reais soluções para os principais problemas que inviabilizam a passicultura nacional.