

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA**

Nathalia da Silva Fernandes

**Metilação global do DNA de espécies de maracujazeiros
para produção de porta-enxertos resistentes à fusariose**

Dracena
2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA

Nathalia da Silva Fernandes

**Metilação global do DNA de espécies de maracujazeiros
para produção de porta-enxertos resistentes à fusariose**

Trabalho de conclusão de curso apresentada à
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas
– Unesp, Câmpus de Dracena como parte das
exigências para obtenção do título de
bacharelado em Engenharia Agrônoma.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Gabriela
Fontanetti Rodrigues

Dracena

2025



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Dracena



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
UNESP – CÂMPUS DE DRACENA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: **Metilação global do DNA de espécies de maracujazeiros para produção de porta-enxertos resistentes à fusariose.**

Modalidade: Trabalho de Atividades de pesquisa

Autor: Nathalia Da Silva Fernandes

Orientador (a): Maria Gabriela Fontanetti Rodrigues

Co-orientador(es):

Número de Créditos: 12

Data da aprovação e correção de acordo com as sugestões da Banca: 07/11/2025

Documento assinado digitalmente
MARIA GABRIELA FONTANETTI RODRIGUES
Data: 12/11/2025 16:52:06-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Documento assinado digitalmente
FRANCISCO ORLANDO NETO HAUK DINIZ
Data: 13/11/2025 07:41:07-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Documento assinado digitalmente
PAMELA GOMES NAKADA FREITAS
Data: 13/11/2025 09:01:48-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Maria Gabriela
Fontanetti Rodrigues

Francisco Orlando Neto
Hauk Diniz

Pâmela Gomes Nakada
Freitas

DEDICATÓRIA

Dedico ao meu querido afilhado, José Pedro, que chegou como um raio de luz,
renovando minha esperança e meu coração.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, agradeço a vida, pelos valores que me ensinaram e pelas oportunidades que sempre me proporcionaram com tanto amor e esforço.

À minha irmã, Maria Eduarda, sou imensamente grata por todo o apoio, paciência e carinho ao longo dos anos. Sua presença constante foi um alicerce importante para mim.

À minha orientadora, Dra. Maria Gabriela, deixo minha mais profunda gratidão por sua dedicação, carinho e por todo o conhecimento generosamente compartilhado. Sua orientação foi indispensável em cada etapa desta jornada.

Também expresso minha gratidão às repúblicas que me acolheram durante minha estadia na faculdade, e às moradoras que fizeram parte dessa caminhada. A convivência com vocês tornou essa fase inesquecível.

Agradeço aos demais familiares e amigos que, com carinho e apoio, fizeram parte da minha trajetória. Estendo também minha gratidão àqueles que, em algum momento, cruzaram meu caminho e contribuíram de alguma forma para o meu crescimento. Guardo com carinho as lembranças e os aprendizados que cada um deixou.

“O que importa não é o que acontece, mas
como reagimos ao que acontece”

Epicteto

RESUMO

Metilação global do DNA de espécies de maracujazeiros para produção de porta-enxertos resistentes à fusariose

A cultura do maracujazeiro (*Passiflora edulis*) possui grande importância econômica e social no Brasil, país que se destaca como o maior produtor e consumidor mundial da fruta. No entanto, a produtividade tem sido limitada por doenças de solo, especialmente a fusariose, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, responsável por severas perdas e pela inviabilidade de replantios em áreas infectadas. Considerando a necessidade de compreender os mecanismos de resistência vegetal, a epigenética surge como ferramenta promissora, em especial por meio da metilação do DNA, um processo de regulação gênica associado à resposta a estresses bióticos e abióticos. Assim, este estudo teve como objetivo investigar os níveis de metilação global do DNA em diferentes espécies de maracujazeiros, avaliando possíveis correlações entre os padrões epigenéticos e a resistência ao *Fusarium oxysporum*. O experimento foi conduzido com quatro espécies do gênero *Passiflora*: *P. mucronata*, *P. foetida*, *P. gibertii* e *P. edulis*. As mudas, provenientes de sementes fornecidas pela Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) da cidade de Presidente Prudente, São Paulo, foram utilizadas para a extração do DNA genômico pelo método CTAB modificado, seguido de quantificação por espectrofotometria (Nanodrop). A metilação global foi avaliada por meio do ensaio de ELISA com anticorpos anti-5-metilcitosina, utilizando o kit comercial *Imprint Methylated DNA Quantification Kit* (Sigma-Aldrich®). As leituras de absorbância foram obtidas a 450 nm e submetidas à análise do teste de Tukey. Os resultados demonstraram que todas as amostras apresentaram DNA com qualidade satisfatória (razão 260/280 entre 1,37 e 1,80) e concentração adequada para as análises. A avaliação da metilação global resultou em diferenças significativas entre as espécies, indicando variação epigenética dentro do gênero *Passiflora*. A espécie *P. mucronata* apresentou o maior nível médio de metilação global (1,0564), sugerindo uma maior regulação epigenética e potencial associação à resistência ao *Fusarium*. As espécies *P. foetida* (0,7354) e *P. gibertii* (0,6256) exibiram níveis intermediários, enquanto *P. edulis* apresentou os menores valores, compatíveis com seu histórico de maior suscetibilidade à fusariose. Essa diferença interespecie reforça a hipótese de que espécies silvestres de *Passiflora* mantêm mecanismos epigenéticos mais robustos, contribuindo para respostas adaptativas mais eficientes frente a patógenos de solo. Conclui-se que o presente trabalho atingiu seu objetivo na investigação para a produção de porta-enxerto, identificando variações nos níveis de metilação global entre espécies de maracujazeiro e apontando a influência da regulação epigenética na resistência ao *Fusarium oxysporum*.

Palavras-chave: Epigenética. *Passiflora*. *Fusarium oxysporum*. Propagação assexuada.

ABSTRACT

Global DNA methylation of passion fruit species for the production of *Fusarium*-resistant rootstocks

The cultivation of passion fruit (*Passiflora edulis*) holds great economic and social importance in Brazil, a country that stands out as the world's largest producer and consumer of this fruit. However, productivity has been limited by soil-borne diseases, especially fusariosis, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, which leads to severe losses and makes replanting unfeasible in infected areas. Considering the need to understand plant resistance mechanisms, epigenetics emerges as a promising tool, particularly through DNA methylation, a gene-regulatory process associated with responses to both biotic and abiotic stresses. Thus, this study aimed to investigate global DNA methylation levels in different *Passiflora* species, assessing possible correlations between epigenetic patterns and resistance to *Fusarium oxysporum*. The experiment was conducted with four species of the genus *Passiflora*: *P. mucronata*, *P. foetida*, *P. gibertii*, and *P. edulis*. Seedlings obtained from seeds supplied by the Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) in Presidente Prudente, São Paulo, were used for genomic DNA extraction via a modified CTAB method, followed by quantification using spectrophotometry (Nanodrop). Global methylation was evaluated using an ELISA assay with anti-5-methylcytosine antibodies, employing the commercial Imprint Methylated DNA Quantification Kit (Sigma-Aldrich®). Absorbance readings were obtained at 450 nm and analyzed using Tukey's test. The results showed that all samples presented satisfactory DNA quality (260/280 ratio between 1.37 and 1.80) and adequate concentrations for the analyses. Global methylation assessment revealed significant differences among species, indicating epigenetic variation within the genus *Passiflora*. *P. mucronata* exhibited the highest mean methylation level (1.0564), suggesting enhanced epigenetic regulation and a potential association with resistance to *Fusarium*. *P. foetida* (0.7354) and *P. gibertii* (0.6256) showed intermediate levels, whereas *P. edulis* presented the lowest values, consistent with its known susceptibility to fusariosis. These interspecific differences support the hypothesis that wild *Passiflora* species maintain more robust epigenetic mechanisms, contributing to more effective adaptive responses to soil pathogens. In conclusion, this study achieved its objective of investigating the potential for rootstock selection, identifying variations in global DNA methylation among *Passiflora* species and highlighting the influence of epigenetic regulation on resistance to *Fusarium oxysporum*.

Keywords: Epigenetic. *Passiflora*. *Fusarium oxysporum*. Asexual propagation.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo Geral	12
2.1 Objetivos Específicos	12
3 REVISÃO DE LITERATURA	13
3.1 Importância econômica do maracujá	13
3.2 As principais espécies/cultivos	14
3.3 Dificuldades acarretadas pela doença do Fusário (Fusariose)	16
3.4 Fundamentos da metilação do DNA e a relação com a resistência	16
4 MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1 Materiais vegetais	19
4.2 Extração do DNA das espécies do gênero Passiflora	19
4.3 Quantificação do DNA	21
4.4 Análise de metilação global	21
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1 Qualidade do DNA genômico extraído	26
5.2 Análise de metilação global	26
5.3 Estatística	28
6 CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

A cultura do maracujazeiro (*Passiflora edulis*) representa uma atividade agrícola de relevância econômica e social nos países tropicais, especialmente no Brasil, que se destaca como um dos maiores produtores mundiais da fruta (Paiva *et al.*, 2024). Apesar de sua importância, a produção é ameaçada por diversas doenças, entre as quais se destaca a fusariose, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, agente responsável por sintomas de murcha vascular, necrose radicular e morte da planta (Ferreira *et al.*, 2010). A elevada suscetibilidade das principais cultivares comerciais torna necessária a busca por alternativas de manejo e melhoramento genético que visem à resistência a este patógeno.

Nesse contexto, a biotecnologia moderna, especialmente a genômica e a epigenética, tem oferecido ferramentas promissoras para a compreensão dos mecanismos de resistência vegetal. A análise de padrões de metilação do DNA, um dos principais processos epigenéticos, permite investigar modificações herdáveis que regulam a expressão gênica sem alterar a sequência dos nucleotídeos (Zhang *et al.*, 2018). Em espécies-modelo como *Arabidopsis thaliana*, já foi demonstrado que a desmetilação ativa está associada à indução de genes de defesa e à resistência a infecções por *Fusarium* (Lopes *et al.*, 2023).

No maracujazeiro, embora os estudos sobre metilação do DNA ainda sejam incipientes, a seleção *in vitro* de genótipos resistentes utilizando extratos de culturas de *Fusarium* demonstrou resultados promissores (Ruggiero; Fischer, 1998). A integração de ferramentas moleculares com estratégias de melhoramento genético convencional pode acelerar o desenvolvimento de cultivares mais tolerantes, adaptadas às diferentes condições ambientais e menos dependentes de defensivos agrícolas.

Dessa forma, torna-se pertinente investigar a relação entre a resistência de espécies diferentes de maracujazeiro ao *Fusarium oxysporum* e os padrões de metilação do DNA, com vistas a identificar cultivares mais tolerante e compreender os mecanismos epigenéticos envolvidos. Tal

abordagem pode contribuir significativamente para a sustentabilidade da cultura e o fortalecimento da segurança alimentar nas regiões produtoras.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar para a produção de porta-enxerto, avaliando a relação com padrões de metilação do DNA, a fim de identificar cultivares mais tolerante e compreender os mecanismos epigenéticos envolvidos na resistência.

2.1 Objetivos Específicos

- Avaliar os níveis de metilação global do DNA em diferentes espécies de maracujazeiros;
- Identificar correlações na literatura entre os perfis de metilação do DNA de espécies de maracujazeiros sob a resistência ao Fusário.

3 REVISÃO DE LITERATURA

O maracujazeiro (*Passiflora* spp.) tem alta relevância econômica e social no Brasil: o país é o maior produtor e consumidor mundial, com cerca de 690-700 mil toneladas por ano e uma produtividade média próxima de 15 t/ha, respondendo por aproximadamente 70% da produção global (Faleiro, 2022; EMBRAPA, 2024). Essa fruta é considerada fresca e de alto processamento para produção de polpas de suco, assim como, têm uma forte participação na agricultura familiar (Turazi *et al.*, 2024).

Um dos principais fatores limitantes que podem ocorrer na produção do maracujá é conhecida por fusariose (murcha vascular causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*) (Rooney-Latham; Blomquist; Scheck, 2011). Esse é um patógeno de solo, persistente e de difícil controle químico, capaz de causar alta mortalidade e inviabilizar replantios (Melo *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2023)

3.1 Importância econômica do maracujá

O Brasil é líder mundial na produção de maracujá, com algo próximo de 700 mil toneladas ao ano e com uma produtividade média em torno de 15 t/ha (EMBRAPA, 2024). Em 2022, a Embrapa reportou 697.859 t em 45-46 mil ha; em 2023, nos estados brasileiros como a Bahia, Ceará e Santa Catarina responderam, respectivamente, por cerca de 35,7%, 21,7% e 6,6% da produção nacional, com concentração de aproximadamente de 59% nesses três estados segundo análise recente (Ramos; Redin; Lobo Júnior, 2023; EMBRAPA, 2022; IBGE, 2024).

Do ponto de vista de mercado e qualidade do plantio, o maracujá abastece dois canais principais: fruta fresca (*in natura*), valorizada por atributos visuais e aromáticos, e processamento industrial, como por exemplo, a polpa para sucos concentrados, além de doces como as geleias de maracujá, que demanda uma padronização de sólidos solúveis e acidez; há também o aproveitamento de casca e sementes do maracujá em produtos alimentares e cosméticos (Junghans; Jesus, 2017). O Brasil exporta em menor escala,

sobretudo polpas de sucos, enquanto, o consumo do maracujá permanece forte no país (EMBRAPA, 2024; Frutas do Brasil, 2023).

A importância econômica do maracujá é expressiva em mão de obra, nos cultivos, em colheitas, e na indústria de polpas, o qual, isso gera empregos e rentabilidade especialmente na agricultura familiar (EMBRAPA, 2017). Estudos apontam que gera cerca de dois empregos diretos e quatro empregos indiretos por hectare durante o cultivo, além de ressaltarem o papel do cultivo como alternativa socioeconômica (Moreira; Teixeira; Sousa, 2012; Ramos; Redin; Lobo Júnior, 2023).

3.2 As principais espécies/cultivos

A família Passifloraceae reúne amplo número de espécies do gênero *Passiflora* (aproximadamente 500-700), mas poucas são efetivamente cultivadas como frutíferas comerciais; A produção concentra-se sobretudo em *Passiflora edulis* (maracujá-azedo) com 90% das plantações comerciais no Brasil, há também a participação de outras espécies em menor escala de produção, como por exemplo, a *Passiflora alata* (maracujá-doce) (Meletti, 2011; Cerqueira-Silva *et al.*, 2014; Faleiro *et al.*, 2019).

Esse cenário é consolidado na literatura pela diversidade e melhoramento desse gênero no âmbito agrônomo nacional, sendo o principal método de propagação realizado por sementes, amplamente utilizado em cultivos comerciais devido à facilidade e viabilidade econômica. Além disso, há estudos de espécies de *Passiflora* que apresentam maior resistência a doenças de solo, nas quais a enxertia tem se mostrado uma alternativa promissora para o controle da murcha de *Fusarium* e aproveitamento de porta-enxertos tolerantes (Meletti, 2011; Silva *et al.*, 2013; Junghans, 2017).

Entre as espécies que são abordadas nesse trabalho, *P. edulis* é o cultivo mais significativo comercialmente; *P. gibertii* destaca-se como porta-enxerto e como recurso para melhoramento por resistência a doenças (cladosporiose, bacteriose, antracnose e morte prematura) (Meletti, 2011; Junghans, 2025). Além disso, *P. foetida* apresenta uma ampla distribuição no Brasil e elevada variabilidade morfológica (folhas, flores, frutos), sendo nativa e

registrada em múltiplos biomas; é utilizado na alimentação e etnobotânico, mas tem como principal papel sendo uma espécie silvestre e de fonte genética (Junghans, 2025). *P. mucronata*, é uma espécie trepadeira nativa de restingas do litoral leste do Brasil, vem sendo estudada quanto a resistência ao *Fusarium* spp. e no uso como porta-enxerto, além de ter valor ornamental (Meletti *et al.*, 2011; Junghans, 2024).

As espécies de *Passiflora* apresentam características morfológicas e fisiológicas semelhantes, mas com particularidades que influenciam o cultivo. São plantas trepadeiras de caule volúvel, dotadas de gavinhas axilares utilizadas para sustentação em espaldeiras e cercas (Meletti, 2011). As folhas podem ser inteiras ou trilobadas, com nectários extraflorais visíveis no pecíolo e coloração verde-brilhante, sendo estruturas essenciais para fotossíntese e transpiração. As flores são grandes e vistosas, variando em cor e forma entre as espécies como nos casos da *P. mucronata* são brancas, *P. gibertii* são rosas, *P. edulis* e *P. foetida* são flores que variam nas cores amarelas à arroxeadas (Meletti, 2011; Meletti *et al.*, 2011).

Essas espécies são de sistema radicular sendo fibroso e superficial, o qual exigem, solos férteis, bem drenados e ricos em matéria orgânica para o bom desenvolvimento dessas plantas (Junghans, 2025). O ciclo reprodutivo dessas espécies varia de 18 a 24 meses, com florescimento contínuo e colheitas escalonadas durante o ano (Meletti *et al.*, 2011; Cerqueira-Silva *et al.*, 2014).

Em resposta à exposição ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, diversos estudos relatam que *P. edulis* é altamente suscetível à murcha vascular. O uso de *P. gibertii* como porta-enxerto para *P. edulis* tem se mostrado tolerante e eficaz no controle dessa doença: por exemplo, trabalhos demonstraram que plantas de *P. edulis* enxertadas em *P. gibertii* apresentaram nenhum sintoma de fusariose em condições de campo, enquanto plantas não enxertadas apresentaram os sintomas (Lima *et al.*, 2018).

Contudo, embora a resistência de *P. gibertii* seja promissora, foi observado que o vigor da copa do enxerto (a parte aérea da *P. edulis*) pode ficar reduzido quando comparado ao sistema não-enxertado. O estudo sugere que o porta-enxerto resistente não necessariamente confere toda a robustez

vegetativa esperada em solos contaminados ou sob pressão severa da doença (Lima *et al.*, 2018).

Estudos comparativos ainda indicam que outras espécies-porta-enxerto, como *P. mucronata* e *P. foetida*, demonstraram maior resistência em relação a determinados isolados de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*, e por isso são recomendadas como alternativas no melhoramento voltado à tolerância da cultura (Silva *et al.*, 2013; Lima *et al.*, 2018; Carvalho *et al.*, 2021).

3.3 Dificuldades acarretadas pela doença do Fusário (Fusariose)

O agente causal da murcha-de-Fusarium do maracujazeiro é *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, patógeno vascular de solo que coloniza o xilema, levando à murcha progressiva, escurecimento vascular (descoloração marrom-escura em raízes e base do caule) e mortalidade das plantas; relatos diagnósticos e ensaios de patogenicidade descrevem como plantas atrofiadas, desfolhadas, com murcha severa e isolamento consistente do patógeno a partir de tecidos vasculares (Rooney-Latham; Blomquist; Scheck, 2011; Silva *et al.*, 2013).

Trata-se de uma doença de solo, sobrevive por longos períodos na forma de clamidósporos, favorecido por condições de solo quentes e mal drenados (Husaini; Sakina; Cambay, 2018). A disseminação ocorre sobretudo via mudas contaminadas, solo aderido a implementos e água de irrigação, o que dificulta a erradicação em áreas já infestadas (Joy; Sherin, 2012).

Quando ocorre a infecção, reduz drasticamente a vida útil dos maracujazeiros podendo levar altas perdas de produtividade e consequências como inviabilização de replantios sucessivos (Silva *et al.*, 2013; Melo *et al.*, 2019). Dessa forma, o uso de plantio com resistência genética tem sido promissor, embora necessitem de mais estudos conclusivos (Miguel-Wruck *et al.*, 2021; López *et al.*, 2022).

3.4 Fundamentos da metilação do DNA e a relação com a resistência

A metilação do DNA em plantas configura-se como uma modificação epigenética estável, que ocorre nos contextos CG/CHG/CHH. Em plantas, a

manutenção e estabelecimento desses padrões envolvem as metiltransferases MET1 (para CG), CMT3/CMT2 (para CHG/CHH em certos tecidos) e a via de silenciamento via ARN-dependente (RdDM), mediada por DRM2. Ao passo que a desmetilação ativa envolve dioxigenases da família ROS1/DML; esses mecanismos modulam a acessibilidade cromatínica e a transcrição gênica (Lucibelli; Valoroso; Aceto, 2022; He *et al.*, 2022; Xie; Duan, 2023).

A metilação contribui no silenciamento de transposons, estabilidade genômica e regulação da expressão gênica durante o desenvolvimento e as respostas a estresses (Chen *et al.*, 2020; Parker; Wilkinson; Ton, 2022). Na imunidade vegetal, sinais como ácido salicílico podem reprogramar estados epigenéticos, e mudanças de des/hiper metilação associam-se à ativação de genes de defesa e a fenótipos de *priming*/memória de estresse (Lamke; Baurle, 2017; Kambona *et al.*, 2023).

Estudos experimentais demonstraram que a desmetilação altera a resistência em *Arabidopsis-Fusarium*, entretanto, mutantes de desmetilases exibem reprogramação de metilação e resposta de defesa (Schumann *et al.*, 2017). Estudos recentes reforçam que editar e/ou ajustar a metilação pode ser uma estratégia para melhorar a resistência em culturas agrícolas (Bennett *et al.*, 2023).

Um exemplo recente e relevante foi apresentado no estudo de Rodrigues *et al.*, (2022) que analisaram a espécie de *Ficus carica* (figueira) foram correlacionadas em campo com a incidência natural de ferrugem causada por *Cerotelium fici*, associado ao conteúdo global de metilação do DNA. Neste trabalho, os autores verificaram que a metilação genômica e a ocorrência de ferrugem apresentaram correlação quando avaliadas na mesma fase fenológica das folhas, evidenciando que o estado epigenético pode acompanhar variações na resposta ao patógeno. Embora o estudo não indique a causalidade da metilação e suscetibilidade, os resultados demonstram que fatores epigenéticos estão associados à variabilidade de resposta entre genótipos, reforçando o papel da epigenética como um componente adicional nas interações (Rodrigues *et al.*, 2022).

Dessa forma, compreender as diferenças morfológicas, fisiológicas e genéticas entre as espécies de *Passiflora*, bem como os mecanismos epigenéticos associados à resistência ao *Fusarium oxysporum*, é essencial

para identificar genótipos mais tolerantes e desenvolver estratégias de manejo e melhoramento que contribuam para a sustentabilidade da cultura.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Materiais vegetais

As análises foram realizadas na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT), no município de Dracena (SP), no Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal, onde foram conduzidas todas as etapas de extração, quantificação do DNA e análise de metilação.

O experimento foi realizado com quatro espécies distintas do gênero *Passiflora*: *Passiflora mucronata*, *Passiflora foetida*, *Passiflora edulis* e *Passiflora gibertii*. As mudas utilizadas foram provenientes de sementes fornecidas pela Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), sediada no município de Presidente Prudente, Estado de São Paulo. A seleção dessas espécies teve como objetivo abarcar uma diversidade genética ampla no gênero, visando à avaliação da resistência diferencial ao patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*.

4.2 Extração do DNA das espécies do gênero *Passiflora*

A extração do DNA foi realizada conforme protocolo de Lodhi et al 1994, com modificações, utilizou-se tampão CTAB modificado, com adição de β -mercaptoetanol e posteriormente purificado com clorofórmio/álcool isoamílico. O procedimento seguiu os seguintes passos:

- Foram coletadas folhas jovens de maracujazeiro, totalizando 0,1 g por amostra. O material foliar foi rapidamente triturado em nitrogênio líquido, utilizando almofariz e pistilo previamente esterilizados, até a obtenção de um pó fino, garantindo a preservação do material genético e evitando a degradação do DNA.
- Após a trituração, adicionou-se 1,0 mL de tampão CTAB contendo 0,2% de β -mercaptoetanol à amostra. O tampão foi preparado com a seguinte composição: 2 g de CTAB, 28 mL de NaCl (5 M), 4 mL de EDTA (0,5 M,

pH ajustado para 8,0 com NaOH), 10 mL de Tris-HCl (1 M, pH ajustado com HCl) e água ultrapura q.s.p. 100 mL. Antes do uso, foram adicionados 200 µL de β-mercaptoetanol gelado ao tampão.

- A mistura foi transferida para microtubos *Eppendorf* de 2,0 mL e incubada em banho-maria a 60°C por 25 minutos, com agitação a cada 5 minutos. Após a incubação, os tubos permaneceram em repouso à temperatura ambiente por aproximadamente 10 minutos para resfriamento.
- Em seguida, foi adicionada 1,0 mL da solução de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1), preparada previamente com 96 mL de clorofórmio e 4 mL de álcool isoamílico, às amostras. Estas foram agitadas suavemente por inversão e centrifugadas a 1.000 rpm por 15 minutos.
- A fase aquosa superior foi cuidadosamente transferida para novos tubos. Havendo turbidez ou escurecimento na fase orgânica, a extração com clorofórmio/álcool isoamílico foi repetida para melhorar a pureza.
- A precipitação do DNA ocorreu com a adição de 500 µL de NaCl (5 M) e dois volumes de etanol absoluto gelado. As amostras foram incubadas a -20°C em freezer convencional por 10 minutos.
- Realizaram-se duas etapas de centrifugação: a primeira a 6.000 rpm por 5 minutos, a 4°C, e a segunda a 1.000 rpm por 5 minutos, objetivando concentrar e compactar o pellet de DNA.
- O *pellet* foi lavado com 1,0 mL de etanol a 70% e submetido à centrifugação a 1.000 rpm por 3 minutos. Posteriormente, os tubos foram mantidos abertos à temperatura ambiente até a completa evaporação do etanol.
- O DNA precipitado foi ressuspenso em 50 µL da solução TE (Tris-EDTA), composta por 1 mL de Tris-HCl, 200 µL de EDTA e água ultrapura q.s.p. 100 mL.
- Para a remoção de RNA, adicionou-se à amostra 20 µL de RNase previamente diluída em solução TE (20 mg/mL), (na proporção de 1 µL de enzima para 1.999 µL de TE). Posteriormente, as amostras foram incubadas a 37°C por 20 minutos.

4.3 Quantificação do DNA

A concentração e a pureza do DNA extraído foram avaliadas por espectrofotometria utilizando um espectrofotômetro *Nanodrop*, a razão de absorbância foi entre 260 e 280 nm. Os valores obtidos foram registrados e apresentados na Tabela 1. Esses dados permitiram a detecção de possíveis contaminações e a determinação precisa da concentração de DNA disponível para as análises subsequentes.

Tabela 1 – Valores registrados na quantificação por espectrofotômetro *Nanodrop*

Amostras	260/280 nm	Concentração (ng/μL)
<i>P. foetida</i>	1,56	1668,3
<i>P. mucronata</i>	1,37	843,4
<i>P. gibertii</i>	1,42	1017,4
<i>P. edulis</i>	1,80	106,1

Fonte: elaborado pela autora.

4.4 Análise de metilação global

Para a análise da metilação global do DNA, foi utilizada uma metodologia baseada na quantificação da fração metilada por meio da ligação a sondas específicas. Cada reação experimental exigiu a utilização de uma quantidade fixa de 200 ng de DNA, previamente diluída em 30 μL da solução de ligação (DNA Binding Solution), conforme as instruções do kit comercial utilizado.

As amostras de DNA das diferentes espécies apresentavam concentrações originais distintas. Para permitir a comparação entre elas e garantir condições uniformes nas análises subsequentes, todas foram diluídas para atingir uma concentração final de 100 ng/μL. A padronização foi realizada utilizando-se a fórmula clássica de diluição:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

onde C_1 é a concentração da amostra original, V_1 o volume da amostra original a ser usado, C_2 a concentração final desejada (100ng/μL) e V_2 o volume final da diluição (100μL).

Com base nessa abordagem, foram preparadas as diluições específicas para cada espécie:

Passiflora foetida (P.F): Diluição composta por 6 μL de DNA + 94 μL de água ultrapura.

Passiflora mucronata (P.M): Diluição composta por 12 μL de DNA + 89 μL de água ultrapura.

Passiflora gibertii (P.G): Diluição composta por 10 μL de DNA + 90 μL de água ultrapura.

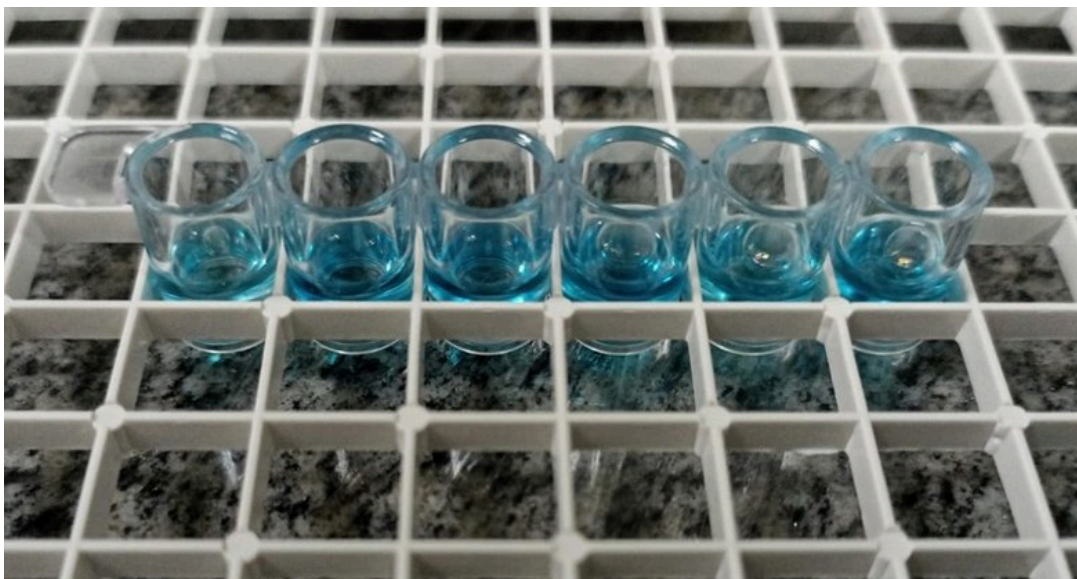
Passiflora edulis (P.E): Não foi necessária diluição prévia, utilizando-se diretamente 2 μL do DNA com 28 μL da solução de ligação para totalizar os 200 ng exigidos pela reação.

A seguir seguiu-se o protocolo do kit comercial “*Imprint Methylated DNA Quantification Kit (Catalog Number MDQ1)*” que foi realizado após a diluição dessas amostras:

- **Preparação do *buffer* de lavagem 1x:** Preparou-se o *buffer* de lavagem 1x diluindo o *buffer* 10x com água para reagentes; para o kit de 48 reações, diluiu-se 11 mL de *buffer* 10x em 99 mL de água; armazenou-se essa solução à temperatura ambiente.
- **Diluição do DNA:** Diluiu-se a amostra e o controle de DNA na solução de ligação de DNA (*DNA Binding Solution*) na seguinte ordem para análise de metilação: água ultra pura (controle negativo), DNA previamente metilado do kit comercial (controle positivo), PF, PM, PG. e P.E; cada poço com a capacidade de até 200 ng de DNA total.

- **Ligação do DNA:** Adicionou-se 30 µL do DNA diluído em cada poço da tira de ensaio das amostras de espécies dos maracujazeiros; assegurou-se que a solução cobrisse o fundo do poço inclinando suavemente a tira; incubou-se coberto a 37° C por 60 minutos.
- **Bloqueio:** Adicionou-se 150 µL da solução de bloqueio diretamente a cada poço; incubou-se a 37° C por 30 minutos.
- **Lavagem:** Removeu-se as soluções de DNA e o bloqueio dos poços; Lavou-se três vezes com 150 µL do *buffer* de lavagem 1x.
- **Captura do DNA Metilado:** Diluiu-se o anticorpo de captura (*Capture Antibody*) 1:1000 em *buffer* de lavagem 1x; adicionou-se 50 µL da diluição do anticorpo a cada poço; incubou-se à temperatura ambiente por 60 minutos; removeu-se o anticorpo e lavou-se quatro vezes com 150 µL do *buffer* de lavagem 1x.
- **Deteção:** Diluiu-se o anticorpo de detecção (*Detection Antibody*) 1:1000 em *buffer* de lavagem 1x; adicionou-se 50 µL da diluição do anticorpo a cada poço; incubou-se à temperatura ambiente por 30 minutos; removeu-se o anticorpo e lavou-se cinco vezes com 150 µL do *buffer* de lavagem 1x.
- **Desenvolvimento da cor:** Adicionou-se 100 µL da solução de desenvolvimento (*Developing Solution*) a cada poço; incubou-se à temperatura ambiente, protegido da luz, por 1 a 10 minutos, monitorando o aparecimento da cor azul (Imagem 1); Adicionou-se 50 µL da solução de parada (*Stop Solution*), fazendo a reação mudar para amarela (Imagem 2).

Figura 1 – Preparação das amostras para o ensaio de metilação global, na seguinte sequência dos poços: água ultrapura (controle negativo), DNA metilado comercial (controle positivo), *P. foetida*, *P. mucronata*, *P. gibertii* e *P. edulis*



Fonte: elaborada pela autora.

Figura 2 – Etapa da reação enzimática com adição da solução de parada nos poços contendo: água ultrapura (controle negativo), DNA metilado comercial (controle positivo), *P. foetida*, *P. mucronata*, *P. gibertii* e *P. edulis*



Fonte: elaborada pela autora.

- **Leitura:** Mediu-se a absorbância a 450 nm em um leitor de placa.

Os controles foram preparados com o objetivo de garantir a confiabilidade dos resultados:

- Controle negativo foi composto por 28 μL da solução de ligação e 2 μL de água ultrapura, sem adição de DNA, para identificar possíveis sinais de fundo ou interferências.
- Controle positivo foi constituído por DNA previamente metilado, ajustado para conter aproximadamente 200 ng, acrescido da solução de ligação até o volume final de 30 μL .

A quantificação final do nível de metilação do DNA foi realizada por espectrofotometria, que mede a absorbância da amostra, permitindo a determinação quantitativa da metilação. Os dados obtidos foram posteriormente analisados de forma comparativa entre as diferentes espécies do gênero *Passiflora*, possibilitando a identificação dos perfis epigenéticos relacionados à resistência ou suscetibilidade ao patógeno estudado.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Qualidade do DNA genômico extraído

A qualidade do DNA genômico extraído das quatro amostras avaliadas foram inicialmente verificadas por meio da razão de absorbância em 260/280 nm, conforme apresentado na Tabela 1. Essa razão é amplamente utilizada como indicador de pureza do DNA, sendo que valores próximos a 1,80 são geralmente considerados ideais para DNA puro e livre de contaminantes proteicos (Wilfinger; Kirkland; Roufa, 1997). Assim como, amostras com concentrações superiores a 50 ng/μL são geralmente consideradas adequadas para a maioria das análises moleculares, incluindo a quantificação de metilação global (Rafael *et al.*, 2015).

Todas as amostras analisadas apresentaram valores dentro da faixa considerada aceitável, variando entre 1,37 e 1,80, o que indica boa qualidade do material genético extraído. A espécie *P. edulis* apresentou a maior pureza do DNA (1,80), embora com menor concentração (106,1 ng/μL), mas viável para a realização da metilação global. Já as espécies *P. foetida* (1,56) e *P. gibertii* (1,42) apresentaram os maiores rendimentos, com altas concentrações de DNA (1668,3 ng/μL e 1017,4 ng/μL, respectivamente), apesar de leve contaminação proteica sugerida pelos valores de absorbância abaixo do ideal. A espécie *P. mucronata* apresentou contaminação acentuada por proteínas no material genético, evidenciada pela razão 260/280 de 1,37, além de uma boa concentração de DNA (843,4 ng/μL), sendo também viável a realização do experimento da metilação global.

Dessa forma, todas as extrações realizadas forneceram quantidades suficientes de DNA, permitindo a continuidade dos experimentos sem a necessidade de repetição do procedimento de extração do material genético.

5.2 Análise de metilação global

A análise de metilação global, embora ainda em estágio inicial de processamento neste estudo, é essencial para a compreensão dos mecanismos epigenéticos associados à resistência de plantas a patógenos, como *Fusarium oxysporum*. Estudos realizados em espécies-modelo, como

Arabidopsis thaliana, demonstraram que alterações nos padrões de metilação do DNA podem modular a expressão de genes de defesa, influenciando a suscetibilidade das plantas a determinados agentes patogênicos (Lopes *et al.*, 2023). Nesse contexto, a abordagem adotada nesta pesquisa visa estabelecer uma correlação entre a variação epigenética e a resistência natural observada entre diferentes espécies de maracujazeiro.

Os valores de absorvância apresentados na Tabela 2 indicam variações nos níveis globais de metilação do DNA entre as espécies analisadas. Observa-se que o controle negativo (água ultrapura) apresentou valores próximos de 1,03, confirmando a ausência de DNA metilado detectável, enquanto o controle positivo (DNA previamente metilado) mostrou absorvâncias em torno de 1,81 a 1,82, demonstrando a eficiência do ensaio.

Entre as amostras de *Passiflora*, a espécie *P. mucronata* apresentou as maiores leituras de absorvância (aproximadamente com 2,08), sugerindo um nível mais elevado de metilação global em relação às demais. Já *P. foetida* e *P. edulis* exibiram valores intermediários (aproximadamente com valores de 1,76 a 1,78), enquanto *P. gibertii* apresentou as menores médias (aproximadamente com 1,65), o que pode indicar menor proporção de citosinas metiladas.

Tabela 2 – Valores registrados na análise da metilação global em cinco vezes

Amostras	1x	2x	3x	4x	5x
Água ultrapura	1,035	1,032	1,028	1,027	1,025
DNA previamente metilado	1,811	1,808	1,812	1,819	1,824
<i>P. foetida</i>	1,767	1,765	1,764	1,764	1,764
<i>P. mucronata</i>	2,090	2,087	2,087	2,083	2,082
<i>P. gibertii</i>	1,650	1,657	1,658	1,656	1,654
<i>P. edulis</i>	1,784	1,778	1,777	1,774	1,773

Fonte: elaborado pela autora.

Cada espécie analisada apresenta características fenotípicas distintas que podem estar associadas a variações genéticas e epigenéticas

significativas. *P. edulis*, por exemplo, é amplamente cultivada comercialmente, porém apresenta alta suscetibilidade à fusariose. Em contrapartida, *P. gibertii* têm sido indicadas na literatura como potenciais fontes de resistência, levantando a hipótese de que seus padrões de metilação possam contribuir para uma resposta mais eficaz ao patógeno (Freitas *et al.*, 2018).

5.3 Estatística

Os resultados apresentados na Tabela 3 confirmam diferenças significativas entre as espécies de *Passiflora* quanto aos níveis globais de metilação do DNA ($p < 0,005$ pelo teste de Tukey).

A espécie *P. mucronata* exibiu o maior valor médio de absorbância (1,0564 a), indicando um nível mais elevado de metilação global, o que sugere uma regulação epigenética mais intensa do genoma. Níveis mais altos de 5-metilcitosina estão frequentemente associados à repressão transcricional de genes, à estabilidade genômica e a uma possível resposta adaptativa a estresses ambientais ou patogênicos (Zhang *et al.*, 2018; Lucibelli *et al.*, 2022).

Em contrapartida, *P. gibertii* apresentou a menor média de absorbância (0,6256 c), indicando menor conteúdo global de DNA metilado, enquanto *P. foetida* (0,7354 b) e *P. edulis* (0,7478 b) mostraram valores intermediários, sugerindo padrões epigenéticos distintos entre espécies com diferentes níveis de suscetibilidade à fusariose.

Essa variação interespecífica pode refletir diferenças fisiológicas e genéticas que modulam os mecanismos de defesa. Estudos com *Arabidopsis thaliana* e culturas tropicais demonstram que alterações na metilação global podem influenciar a ativação de genes de defesa e a resistência a fungos como *Fusarium oxysporum* (Hewezi *et al.*, 2017; Le *et al.*, 2023).

Nesse contexto, o elevado nível de metilação observado em *P. mucronata* pode estar relacionado à maior resistência epigenética ao estresse biótico, uma vez que espécies silvestres tendem a manter mecanismos epigenéticos mais robustos para adaptação (Boyko; Kovalchuk, 2008; Schumann *et al.*, 2017). Já as espécies cultivadas, como *P. edulis*, podem

apresentar perfis de metilação mais homogêneos e menores níveis globais de 5-mC, resultando em maior suscetibilidade ao patógeno.

Tabela 3 – Valores de absorbância do DNA de espécies de maracujazeiro, obtidos pelo teste de ELISA com anticorpos anti 5-mC e sua respectiva análise de variância.

Fonte de Variação	Absorbância 450nm
Tratamentos	Quadrado Médio
	0.171253*
<i>P. foetida</i>	0.7354 b
<i>P. mucronata</i>	1.0564 a
<i>P. gibertii</i>	0.6256 c
<i>P. edulis</i>	0.7478 b
Média	0.45
CV %	0.7913

Legenda: *Significativo pelo teste de Tukey a 0,5% de probabilidade sisvar. Letras diferentes na coluna diferem estatisticamente entre si.

Fonte: elaborado pela autora.

De modo geral, os resultados indicam que *P. mucronata* apresenta um perfil epigenético mais metilado, possivelmente associado à estabilidade genômica e resistência ao *Fusarium*, enquanto *P. foetida* e *P. edulis* exibem metilação intermediária e *P. gibertii*, o perfil mais susceptível. Esses valores estão de acordo com evidências relatadas por Le *et al.* (2014) e Zhang *et al.* (2018), que destacam a metilação do DNA como um dos principais mecanismos epigenéticos de regulação da resposta imune em plantas.

6 CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho demonstram que as análises revelaram DNA de qualidade adequada e diferenças significativas nos níveis de metilação global, sendo que *Passiflora mucronata* apresentou os maiores valores. Essa variabilidade epigenética sugere relação com distintos níveis de tolerância ao *Fusarium oxysporum*, destacando *P. mucronata* como a espécie mais promissora para uso como porta-enxerto. Entretanto, recomenda-se a realização de estudos subsequentes envolvendo regiões específicas de metilação, a fim de confirmar e aprofundar o papel desses mecanismos epigenéticos na seleção de porta-enxertos resistentes para a cultura do maracujazeiro.

REFERÊNCIAS

FERNANDO, M.; HAWK, T. E.; LOPES-CAITAR, V. S.; ADAMS, N.; RICE, J. H.; HEWEZI, T. Establishment and maintenance of DNA methylation in nematode feeding sites. **Frontiers in Plant Science**, 2023.

BOYKO, A.; KOVALCHUCK, I. Epigenetic control of plant stress response. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 49, p. 61–72, 2008.

CARVALHO, J. A.; JESUS, J. G.; ARAUJO, K. L.; SERAFIM, M. E.; GILIO, T. A. S.; NEVES, L. G. Passion fruit (*Passiflora* spp.) species as sources of resistance to soil phytopathogens *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* complex. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 43, n. 1, 2021.

CERQUEIRA-SILVA, C. B. M.; JESUS, O. N.; SANTOS, E. S. L.; CORRÊA, R. X.; SOUZA, A. P. Genetic breeding and diversity of the genus *Passiflora*: progress and perspectives in molecular and genetic studies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, 2014.

CHEN, J.; CLINTON, M.; QI, G.; WANG, D. et al. Reprogramming and remodeling: transcriptional and epigenetic regulation of salicylic acid-mediated plant defense. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 17, p. 5256–5268, 2020.

EMBRAPA. Cultivos. Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura/cultivos>. Acesso em: 12 out. 2025.

EMBRAPA. Maracujá. Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2025. Disponível em: <https://www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura/cultivos/maracuja>. Acesso em: 12 out. 2025.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, T. V.; JUNGHANS, T. G.; JESUS, O. N.; MIRANDA, D.; OTONI, W. C. Advances in passion fruit (*Passiflora* spp.) propagation. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, n. 2, p. 1–17, 2019.

FALEIRO, F. G. Maracujá: fruta nativa do Brasil para o mundo. **Campo & Negócios**, p. 79–81, 2022.

FERREIRA, C. F. et al. Reação de genótipos de maracujazeiro-azedo à fusariose vascular. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n. 3, p. 171–175, 2010.

FRUTAS DO BRASIL. Brazil stands out as world leader in passion fruit production, 2023. Disponível em: <https://frutasdobrasil.org/en/blog/brasil-lider-mundial-na-producao-de-maracuja/>. Acesso em: 12 out. 2025.

HE, L.; HUANG, H.; BRADAI, M.; ZHAO, C.; YOU, Y. et al. DNA methylation-free *Arabidopsis* reveals crucial roles of DNA methylation in regulating gene expression and development. **Nature Communications**, v. 13, n. 1335, 2022.

HUSAINI, A. M.; SAKINA, A.; CAMBAY, D. R. Host–pathogen interaction in *Fusarium oxysporum* infections: where do we stand? **The American Phytopathological Society**, v. 31, n. 9, 2018.

IBGE. Produção Agrícola Municipal, 2024. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br>. Acesso em: 12 out. 2025.

JOY, P. P.; SHERIN, C. G. Diseases of passion fruit (*Passiflora edulis*): pathogen, symptoms, infections, spread & management. Pineapple Research Station, 2012.

JUNGHANS, T. G. *Espécies de maracujazeiro: uma riqueza do Brasil*. **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, Cruz das Almas, 2. ed., p. 129–136, 2024.

JUNGHANS, T. G.; JESUS, O. N. **Maracujá: do cultivo à comercialização**. Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2017.

KAMBONA, C. M.; KOUA, P. A.; LÉON, J.; BALLVORA, A. Stress memory and its regulation in plants experiencing recurrent drought conditions. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 136, n. 26, 2023.

LAMKE, J.; BAURLE, I. Epigenetic and chromatin-based mechanisms in environmental stress adaptation and stress memory in plants. **Genome Biology**, v. 18, n. 124, 2017.

LE, T.; SCHUMANN, U.; SMIT, N. A. et al. DNA demethylases target promoter transposable elements to positively regulate stress responsive genes in *Arabidopsis*. **Genome Biology**, v. 15, n. 9, 2014.

LIMA, L. K. S. et al. Grafting height does not affect *Fusarium* wilt control or horticultural performance of *Passiflora gibertii* N.E.Br. rootstock. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 4, 2018.

LOPES, M. J. et al. DNA demethylation mediates resistance to *Fusarium oxysporum* in *Arabidopsis thaliana*. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10916060>. Acesso em: 22 abr. 2025.

LÓPEZ, C.; SALAZAR, A. H.; OCAMPO, J.; SILVA, D. F. P.; CEBALLOS, A. Economic and quality study of purple passion fruit grafted on a fusarium-wilt-tolerant rootstock. **Crop Production and Management**, v. 81, 2022.

LUCIBELLI, F.; VALOROSO, M. C.; ACETO, S. Plant DNA methylation: an epigenetic mark in development, environmental interactions, and evolution. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, 2022.

MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. spe1, p. 83–91, 2011.

MELLETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; ALVARES, V.; AZEVEDO FILHO, J. A. Caracterização de *Passiflora mucronata* Lam.: nova

alternativa de maracujá ornamental. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 17, n. 1, p. 87–95, 2011.

MELO, N. J. A.; NEGREIROS, A. M. P.; MEDEIROS, H. L. S.; JÚNIOR, R. S. Evaluation of Fusarium wilt disease in passion fruit species. **Journal of Phytopathology**, p. 1–7, 2019.

MIGUEL-WRUCK, D. S. et al. Identification of sources of resistance of *Passiflora* rootstock to fusariosis in areas with disease outbreaks in Mato Grosso state, Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 43, n. 4, 2021.

MOREIRA, J. M. M. A. P.; TEIXEIRA, L. P.; SOUSA, T. C. R. Desempenho agrônômico e análise econômica do sistema de produção do maracujá-azedo BRS Gigante Amarelo: estudo de caso para o Distrito Federal. In: **IX Congresso da Sociedade Brasileira de Sistemas de Produção**, p. 1–26, 2012.

PAIVA, F. J. S. et al. Production and postharvest quality of *Passiflora edulis* Sims under brackish water and potassium doses. **Agriculture and Food**, v. 9, n. 2, p. 551–576, 2024.

PARKER, A. H.; WILKINSON, S. W.; TON, J. Epigenetics: a catalyst of plant immunity against pathogens. **Tansley Reviews**, v. 233, p. 66–83, 2022.

RAMOS, M. M.; REDIN, E.; LOBO JÚNIOR, A. R. Panorama da produção de maracujá no Brasil, Minas Gerais e Unaí. **Revista de la Facultad de Agronomía**, v. 122, n. 127, 2023.

RODRIGUES, M. G. F. **Análise da metilação do DNA de seleções de figueira (*Ficus carica* L.) por MSAP e sequenciamento**. Tese (Doutorado) — Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

RODRIGUES, M. G. F. et al. Correlation of genome methylation of fig tree accessions with natural nematode and rust incidence. **Brazilian Journal of Biology**, 2022.

ROONEY-LATHAM, S.; BLOMQUIST, C. L.; SCHECK, H. J. First report of Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* on passion fruit in North America. **Plant Disease**, v. 95, n. 11, 2011.

RUGGIERO, C.; FISCHER, I. H. In vitro selection of yellow passion fruit genotypes for resistance to Fusarium vascular wilt. **Scientia Agricola**, v. 55, n. esp., p. 91–98, 1998.

SCHUMANN, U.; LEE, J.; KAZAN, K.; AYLIFFE, M.; WANG, M. DNA-demethylase regulated genes show methylation-independent spatiotemporal expression patterns. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2017.

SILVA, A. S. et al. Identification of passion fruit genotypes resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 3, p. 236–242, 2013.

TURAZI, C. M. V.; FERNANDES, P. C. C.; FALEIRO, F. G.; COSTA, A. M. Analysis of collaboration networks for scientific and technological research on passion fruit. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 51, n. 1, p. 1–10, 2024.

WANG, Y. et al. Passion fruit plants alter the soil microbial community with continuous cropping and improve disease resistance by recruiting beneficial microorganisms. **PLOS ONE**, v. 18, n. 2, 2023.

XIE, S.; DUAN, C. Epigenetic regulation of plant immunity: from chromatin codes to plant disease resistance. **aBIOTECH**, v. 4, p. 124–139, 2023.

ZHANG, H. et al. Epigenetic modifications: basic mechanisms and role in plant development. **Science China Life Sciences**, v. 61, p. 1–15, 2018.

ZHANG, H.; LANG, Z.; ZHU, J. Dynamic and function of DNA methylation in plants. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 19, 2018.