



**PROGÊNIES HÍBRIDAS DE  
MARACUJAZEIROS DO CRUZAMENTO**  
*Passiflora cincinnata* Mast. x *Passiflora*  
*quadrangularis* Linn.

**FLÁVIO FLÔRES BRITTO**

2013

FLÁVIO FLÔRES BRITTO

**PROGÊNIES HÍBRIDAS DE MARACUJAZEIROS DO  
CRUZAMENTO *Passiflora cincinnata* Mast. x *Passiflora  
quadrangularis* Linn.**

Dissertação apresentada à  
Universidade Estadual do Sudoeste da  
Bahia como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Agronomia, área de concentração em  
Fitotecnia, para obtenção do título de  
Mestre.

Orientador:  
Prof. *D.Sc.* Cláudio Lúcio Fernandes  
Amaral

Co-orientadora  
Prof.<sup>a</sup> *D.Sc.* Eliane Mariza Dortas  
Maffei

VITÓRIA DA CONQUISTA  
BAHIA-BRASIL  
2013

B913p Britto, Flávio Flôres.  
Progênes híbridas de maracujazeiro do cruzamento *Passiflora cincinnata* Mast. x *Passiflora quadrangularis* Linn / Flávio Flôres Britto, 2013.  
149f: il. (algumas col.)

Orientador (a) Cláudio Lúcio Fernandes Amaral.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Sudoeste Bahia, Programa de Pós-Graduação de Mestrado em Agronomia, Vitória da Conquista, 2013.

Referências: f. 134-149.

1. Maracujazeiro – Caracterização morfológica.  
2. Hibridação. 3. Autoincompatível – Espécie. 4. Fitotecnia -  
*Tese*. I. Amaral, Cláudio Lúcio Fernandes. II. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós- Graduação

Catálogo na fonte: Cristiane Cardoso Sousa / Cientista da  
Informação  
UESB – Campus Vitória da Conquista-BA

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
*Área de Concentração em Fitotecnia*

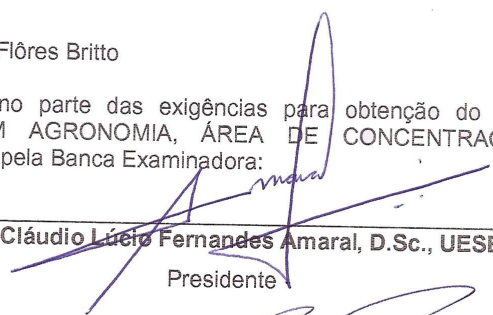
*Campus de Vitória da Conquista - BA*

**DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO**

**Título: “PROGÊNIES HÍBRIDAS DE MARACUJAZEIROS DO  
CRUZAMENTO *Passiflora cincinnata* Mast. x *Passiflora  
quadrangularis* Linn.”**

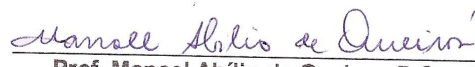
**Autor:** Flávio Flôres Britto

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de  
MESTRE EM AGRONOMIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM  
FITOTECNIA, pela Banca Examinadora:

  
\_\_\_\_\_  
**Prof. Cláudio Lúcio Fernandes Amaral, D.Sc., UESB**

Presidente

  
\_\_\_\_\_  
**Profa. Tiyoiko Nair Hojo Rebouças, D.Sc., UESB**

  
\_\_\_\_\_  
**Prof. Manoel Abílio de Queiroz, D.Sc., UNEB**

Data de realização: 31 de Janeiro de 2013.

Estrada do Bem Querer, Km 4 – Caixa Postal 95 – Telefone: (77) 3425-9383 – Fax: (77)  
3424-1059 – Vitória da Conquista – BA – CEP: 45031-900  
e-mail: ppgagronomia@uesb.edu.br

À Riusa Neri Flôres Britto, minha mãe, que, com todos os seus atributos de uma mãe espetacular e seu amor infinito, sempre me incentivou chegar até o final. Ao meu irmão, José Britto Filho, minha irmã, Josneri Flôres Britto, ao meu pai, José Britto, a minha noiva Adriana Brito Marques, e aos meus valiosos amigos que, na certeza de vossas companhias, nos momentos de alegria e tristeza, levantam-me sempre o ânimo.

## **DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

Ao SUPREMO ARQUITETO DO UNIVERSO, sempre presente em minha vida e que nestes dois anos me proporcionou momentos dos quais tirei várias lições de aprendizado, tanto técnico-científico quanto pessoal;

À minha mãe Riusa e meu pai José Britto, pelo apoio e colaboração em toda minha vida;

Aos meus irmãos Britto Filho e Josy Flôres, por acompanharem essa trajetória, dando-me incentivo;

À minha noiva Adriana Brito Marques, pela ajuda, carinho e amor em todos os momentos;

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), pela realização de minha formação profissional;

À coordenação, professores e funcionários, do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade concedida e pela dedicação e manutenção da qualidade do curso;

Ao prof. Dr. Cláudio Lúcio Fernandes Amaral, orientador deste trabalho, pela disponibilidade concedida para realização desta dissertação e ensinamentos importantes na minha vida profissional;

À prof<sup>ª</sup>. Dra. Eliane Mariza Dortas Maffei, pela co-orientação, essencial à obtenção dos diagnósticos, e também pelo incentivo constante do meu retorno à Academia;

Ao prof. Dr. Otoniel Magalhães Moraes por ter cedido espaço no laboratório de tecnologia de sementes para que as germinações de maracujá ocorressem;

Aos colegas do Laboratório de Citogenética: Bruno e Kátia, por terem amistosamente colaborado para realização das análises;

Aos colegas e também amigos do curso, em especial, a Maycon Murilo, John Porto, Maurício Moreira e o generoso Eduardo Ganem;

Aos funcionários da DICAP, Due, Carlinhos, Manoel, Beto, entre outros, pela ajuda na manutenção das plantas no campo experimental;

À Alessandra, Mariana Rebouças, Joelma Oliveira, Jordânia Santos, Anderson Coqueiro, João Paulo, Valcimar Libarino, Camila Alves, Francis Silva, integrantes do GREMEP, Grupo de Estudos em Melhoramento Genético de Plantas, pela ajuda na execução das tarefas;

A todos aqueles que ajudaram, de forma direta ou indireta, na realização deste trabalho.

**MUITO OBRIGADO!**

**“As únicas certezas que temos, além da vida e da morte, são aquelas feitas pelas Ciências. O resto são dívidas e dúvidas.”**

**Álvaro Granha Loregian**



## RESUMO

BRITTO, F. F. **PROGÊNIES HÍBRIDAS DE MARACUJAZEIROS DO CRUZAMENTO *Passiflora cincinnata* Mast. x *Passiflora quadrangularis* Linn.** Vitória da Conquista-BA: UESB, 2013. 147p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia: Área de Concentração em Fitotecnia)\*.

Genótipos de *P. cincinnata* Mast. e *P. quadrangularis* Linn. foram analisados quanto aos aspectos botânicos-agronômicos, citogenéticos e reprodutivos para que a produção de progênie híbrida ocorresse por meio do cruzamento entre os indivíduos das duas espécies. Características morfológicas foram analisadas, sendo 25 quantitativas e 6 qualitativas. Para caracterização agronômica, 10 descritores, 7 quantitativos e 3 qualitativos foram utilizados e, para a citogenética, 10 células em metáfase mitótica foram avaliadas com relação ao número cromossômico e de regiões organizadoras de nucléolo (NOR). Utilizou-se média e desvio padrão para a análise morfológica, teste Tukey a 5% em DIC para a agronômica e, média de cromossomos e NOR, para citogenética. A antese floral ocorreu no turno matutino para ambas. As espécies diferiram morfoagronomicamente e tem genoma  $2x=18$  e 2 bandas NOR. Na determinação do sistema reprodutivo, ocorreram estudos da fenologia, compatibilidade intraespecífica, comportamento meiótico, viabilidade polínica e receptividade estigmática. Para as análises estatísticas, foi utilizado o teste Tukey a 5%, em DIC. Os genótipos de ambas as espécies diferiram entre si quanto ao número de flor. A TF, PF e IRF foram diferentes entre as espécies, as quais são autoincompatíveis. Os botões florais não foram parâmetro para a fase meiótica. A viabilidade polínica das espécies encontrou-se elevada no turno matutino. Os estigmas apresentaram-se receptivos durante todo o dia. Cruzamentos foram realizados entre os genótipos das espécies por hibridação simples. Foram avaliadas, por média e desvio-padrão, as características morfológicas das progênies, e por média, o número cromossômico e de bandas NOR dos mesmos. Houve distinção e semelhança morfológica entre os híbridos e os parentais, e as bandas NOR do híbrido 11 e 20 apresentaram tamanhos diferentes, distinguindo estes, que são híbridos não putativos, dos outros, que são putativos.

**PALAVRAS-CHAVE:** características, autoincompatível, hibridação.

---

\*Orientador: Cláudio Lúcio Fernandes Amaral, D.Sc., UESB e Co-orientadora: Eliane Mariza Dortas Maffei, D.Sc., UESB.

## ABSTRACT

BRITTO, F.F. **HYBRID PROGENIES CROSSING *Passiflora cincinnata* Mast. x *Passiflora quadrangularis* Linn.** Vitória da Conquista-BA: UESB, 2013. 147p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia: Área de Concentração em Fitotecnia)\*.

*P. cincinnata* Mast. genotypes and *P. quadrangularis* Linn. were analyzed for botanical-agronomic aspects, cytogenetics and breeding for the production of hybrid seed by crossing occurred between individuals of the two species. Morphological characteristics, with 25 quantitative and 6 qualitative were analyzed. For Agronomical characteristics 10 descriptors, 7 quantitative and 3 qualitative were used, for the cytogenetics 10 cells in metaphase were evaluated with respect to chromosome number and nucleolar organizing regions (NOR). Made use of digital calipers, ruler, balance fixes, refractometer and microscope for morphological, cytogenetic and agronomic. We used mean and standard deviation for morphological analysis, Tukey test at 5% in DIC for agronomic and average chromosomes for cytogenetic and NOR. The anthesis occurred in the morning shift for both. The species differed morphological e agronomical has genome  $2x=18$  e 2 NOR. In determining the reproductive system occurred studies of phenology, compatibility intraspecific, meiotic behavior, viability polinic and receptivity stigma. For the analyzes statistics test was used Tukey to 5% in DIC. The genotypes of both species differ among themselves regarding the number of flower. The TF, PF and IRF were different between species. The species are autoincompatible. The flower buds were not parameter for meiotic phase. Pollen viability of the species is high in the morning shift. Stigmas presents receptive throughout the day. Crosses were made between the genotypes and species by hybridization simple. Was evaluated by mean and standard deviation of morphological characteristics progeny and mean chromosome number and NOR bands of the same. There morphological similarity and distinction between hybrids and parental and hybrid band NOR 11 and 20 showed different sizes.

**KEYWORDS:** characteristics, autoincompatible, hybridization

---

\***Adviser:** Cláudio Lúcio Fernandes Amaral, *D.Sc.*, UESB e **Coadviser:** Eliane Mariza Dortas Maffei, *D.Sc.*, UESB.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Genótipos de *P. quadrangularis* e *P. cincinnata*, procedência e seus respectivos números de classificação no herbário. UESB/Vitória da Conquista, 2012.....46
- Tabela 2** - Valores mínimo, máximo e médio e desvio padrão dos descritores morfológicos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*.....54
- Tabela 3** - Médias de características dos frutos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*. Vitória da Conquista, UESB (BA), 2012.....63
- Tabela 4** - Lista de espécies e genótipos de *Passiflora* analisados, incluindo local de coleta e herbário, além de características citogenéticas avaliadas em células mitóticas. NC= número cromossômico, Ag-NOR=bandeamento de Regiões Organizadoras do Nucléolo a partir de nitrato de prata.....65
- Tabela 5** - Lista de *Passiflora cincinnata* e *P. quadrangularis* e seus respectivos números de classificação no herbário. UESB, 2012.....80
- Tabela 6** - Resumo da análise de variância do número de flores dos genótipos *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*.....86
- Tabela 7** - Número médio semanal de flores dos genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* Vitória da Conquista, UESB (BA), 2012.....87
- Tabela 8** - Taxa de florescimento (TF), pico de florescimento (PF) e intensidade relativa de florescimento (%IRF) dos genótipos *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* Vitória da Conquista, UESB (BA), 2012.....87
- Tabela 9** - Percentual de pagamento de frutos por polinizações controladas e abertas em genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*, Vitória da Conquista, UESB (BA), 2012.....88
- Tabela 10** - Resumo da análise de variância da taxa de pagamento de fruto resultante de dois tipos de polinização (aberta e cruzada controlada), realizada em diferentes genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*, Vitória da Conquista, UESB (BA), 2012.....89
- Tabela 11** - Resumo da análise de variância para o caráter comprimento de botão em função dos estádios de meiose de genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*.....91
- Tabela 12** - Estádios de meiose de genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*, associados aos valores mínimos, máximos e médios dos comprimentos de botão, em mm.....93

**Tabela 13** - Valores médios percentuais de grãos de pólen (GP) viáveis de genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*, em diferentes horários.....94

**Tabela 14** - Descritores morfológicos qualitativos e quantitativos dos híbridos putativos de maracujazeiros..... 120

**Tabela 15** - Valores médios de índices morfológicos dos híbridos putativos de maracujazeiros, Vitória da Conquista-BA, 2012..... 123

**Tabela 16** - Número cromossômico e número de regiões organizadoras do nucléolo dos híbridos putativos..... 124

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Espécies de maracujazeiros do campo experimental da UESB (BA). (A). *Passiflora cincinnata* Mast.; (B). *Passiflora quadrangularis* L..45
- Figura 2** - Locais de cultivo. (A) Sistema de condução espaldeira com genótipos de *P. quadrangularis*; (B) Sistema de condução espaldeira com genótipos de *P. cincinnata*. .....47
- Figura 3** - (A) Retirada de sementes do fruto de *P. quadrangularis*; (B) Sementes com arilo, fruto de *P. quadrangularis*; (C) Pesagem de polpa de frutos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*; (D) Titulação em frutos de *P. quadrangularis*. .....50
- Figura 4** - (A) Radícula de *P. cincinnata*; (B) Lâminas com raízes de *P. cincinnata* esmagadas e coradas; (C) Lâminas com lamínulas coradas com Carmim acético;(D) Lâminas imersas em Corante Giemsa.....51
- Figura 5** - (A) Lâminas com radículas marcadas com AgNO<sub>3</sub>; (B) Lâminas em estufa a 37°C. ....51
- Figura 6** - (A) Folha de *P. quadrangularis*; (B) Folha de *P. cincinnata*.....69
- Figura 7** - (A) Flor de *P. cincinnata*; (B) Sépala de *P. cincinnata*; (C) Pétala de *P. cincinnata*; (D) Filamento de coroa de *P. cincinnata*; (E) Flor de *P. quadrangularis*; (F) Sépala de *P. quadrangularis*; (G) Pétala de *P. quadrangularis*; (H) Filamento de coroa de *P. quadrangularis*. ....61
- Figura 8** - Medição de espessura de mesocarpo (mm). (A) Fruto de *P. quadrangularis*; (B) Fruto de *P. cincinnata*.....62
- Figura 9** - (A) Fruto de *P. cincinnata* Mast.; (B) Fruto de *P. quadrangularis* L.; (C) Comparação da dimensão dos frutos de *P. cincinnata* (a esquerda) e *P. quadrangularis* (a direita). ....64
- Figura 10** - (A) Metáfase em *P. cincinnata* 02; (B) Metáfase em *P. quadrangularis* 06.....66
- Figura 11** - (A) Duas Regiões Organizadoras de Nucléolo em *P. cincinnata*; (B) Duas Regiões Organizadoras de Nucléolo em *P. quadrangularis*.....66
- Figura 12** - Medida de botões florais. (A) Botão de *P. cincinnata*;(B) Botão de *P. quadrangularis*.....83
- Figura 13** - Valores médios dos comprimentos de botão de genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* em função dos estádios de meiose. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo Teste de Tukey (5% de probabilidade).....90

<b>Figura 14</b> - (A) Prófase I (diplóteno) em <i>P. quadrangularis</i> a partir de botão de 4,30 mm; (B) Metáfase I em <i>P. quadrangularis</i> , analisado a partir de botão de 5,02 mm; (C) Anáfase I em <i>P. quadrangularis</i> a partir de botão de 5,52 mm; (D) Telófase I em <i>P. quadrangularis</i> a partir de botão de 6,18mm; (E) Meiose II em <i>P. quadrangularis</i> a partir de botão de 6,65 mm.....	91
<b>Figura 15</b> - (A) Prófase I em <i>P.cincinnata</i> a partir de botão de 5,83 mm; (B) Metáfase I em <i>P. cincinnata</i> , analisado a partir de botão 7,56 mm; (C) Anáfase I em <i>P. cincinnata</i> a partir de botão de 8,32 mm; (D) Telófase I em <i>P. cincinnata</i> a partir de botão de 10,58 mm; (E) Meiose II em <i>P. cincinnata</i> a partir de botão de 11,78mm.....	92
<b>Figura 16</b> - (A) Duas pontes anafásicas; (B) Cromossomo extranumerário ou cromossomo b ao lado de placa metafásica.....	93
<b>Figura 17</b> - Viabilidade do grão de pólen de genótipos de <i>P. cincinnata</i> (A-C) e <i>P. quadrangularis</i> (D-F) em cinco horários de coleta. (A) 01 (B) 02 (C) 03 (D) 04 (E) 05 (F) 06.....	96
<b>Figura 18</b> - (A) Grãos de polens viáveis de <i>P.cincinnata</i> ; (B) Grãos de polens viáveis realizando citomixia de <i>P.cincinnata</i> ; (C) Grão de pólen inviável de <i>P.cincinnata</i> .....	97
<b>Figura 19</b> - (A) Grãos de pólen viáveis de <i>P. quadrangularis</i> (B) Grãos de pólen viáveis realizando citomixia de <i>P.quadrangularis</i> ; (C) Grão de pólen inviável de <i>P.quadrangularis</i> .....	97
<b>Figura 20</b> - Estimas imersos em peróxido de hidrogênio. (A) Estigma de <i>P.quadrangularis</i> ; (B) Estigma de <i>P. cincinnata</i> .....	98
<b>Figura 21</b> - (A) Proteção do botão floral de <i>P. quadrangularis</i> ; (B) Botão floral protegido por saco de papel; (C) Retirada de saco de papel do botão de <i>P. quadrangularis</i> em antese; (D) Retirada de antera de <i>P. quadrangularis</i> .....	114
<b>Figura 22</b> - (A) Preparo para germinação de híbridos; (B) Vermiculita com linhas contendo sementes dos híbridos; (C) Germinação das sementes dos híbridos; (D) Plântulas com folhas primordiais dos híbridos putativos.....	115
<b>Figura 23</b> - (A) Mudas dos híbridos putativos; (B) Híbridos HP19 no campo; (C)Híbrido HP20 no campo.....	116
<b>Figura 24</b> - Folhas dos maracujazeiros. (A) <i>P. cincinnata</i> , (B) <i>P.quadrangularis</i> , (C) Híbrido HP20.....	121
<b>Figura 25</b> - Comparação de folhas de <i>P.quadrangularis</i> (à esquerda), Híbrido HP20 (central), <i>P. cincinnata</i> (à direita).....	122

**Figura 26** - (A) Metáfase HP01; (B) Metáfase HP11; (C) Metáfase HP19;  
(D) Metáfase HP20..... 125

**Figura 27** - (A) Cinco bandas NOR no HP01; (B) Duas bandas NOR no  
HP19..... 125

**Figura 28** - (A) Duas bandas NOR, uma maior e outra menor de HP11; (B)  
Duas bandas NOR, uma maior e outra menor do HP20..... 126

## SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	18
1 INTRODUÇÃO.....	18
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1 Família <i>Passifloraceae</i> .....	20
2.2 Gênero <i>Passiflora</i> .....	22
2.3 Botânica e taxonomia das <i>Passifloras</i> .....	23
2.4 Espécies <i>cincinnata</i> e <i>quadrangularis</i> .....	26
2.5 Caracterização botânico-agronômica.....	27
2.6 Importância agronômica.....	29
2.7 Caracterização citogenética.....	31
2.8 Fenologia do florescimento.....	32
2.9 Biologia da reprodução.....	35
2.10 Comportamento meiótico.....	35
2.11 Viabilidade polínica.....	37
2.12 Receptividade estigmática.....	38
2.13 Hibridação em <i>Passiflora</i> .....	39
2.14 Compatibilidade genética.....	41
 CAPÍTULO 2: CARACTERIZAÇÃO DE PARENTAIS PARA PRODUÇÃO DE HÍBRIDOS DE <i>Passiflora cincinnata</i> Mast. e <i>Passiflora</i> <i>quadrangularis</i> Linn. COM BASE EM DESCRITORES BOTÂNICO- AGRONÔMICOS E CITOGENÉTICOS.....	 43
1. INTRODUÇÃO.....	43
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	45
2.1 Material vegetal.....	45
2.2 Condições de cultivo.....	46
2.3 Caracterização botânico-agronômica.....	47
2.4 Caracterização citogenética.....	50
3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	52
4. RESULTADOS.....	53
4.1 Caracterização botânico-agronômica.....	53
4.2 Características citogenéticas.....	64



5 DISCUSSÃO.....	67
5.1 Caracterização morfológica.....	67
5.2 Caracterização agronômica.....	68
5.3 Caracterização citogenética.....	70
6 CONCLUSÕES.....	72
REFERÊNCIAS.....	73
CAPITULO 3: DETERMINAÇÃO DO SISTEMA REPRODUTIVO DE PARENTAIS PARA PRODUÇÃO DE HÍBRIDOS DE <i>P. cincinnata</i> e <i>P. quadrangularis</i> L.....	
1. INTRODUÇÃO.....	78
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	80
2.1 Material vegetal.....	80
2.2 Condições de cultivo.....	80
2.3 Estudo da fenologia do florescimento.....	81
2.4 Estudo de compatibilidade intraespecífica.....	81
2.4.1 Estimativa da taxa de autoincompatibilidade.....	82
2.4.2 Classes de autoincompatibilidade.....	83
2.5 Comportamento meiótico.....	83
2.6 Viabilidade polínica.....	84
2.7 Receptividade estigmática.....	84
3. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	85
4. RESULTADOS.....	86
4.1 Estudo da fenologia.....	86
4.2 Estudo da compatibilidade intraespecífica.....	88
4.3 Comportamento meiótico.....	89
4.4 Viabilidade polínica.....	94
4.5 Receptividade estigmática.....	97
5 DISCUSSÃO.....	99
5.1 Estudo da fenologia.....	99
5.2 Estudo da autoincompatibilidade.....	100
5.3 Comportamento meiótico.....	101

5.4 Viabilidade polínica.....	102
5.5 Receptividade estigmática.....	103
6 CONCLUSÕES.....	105
REFERÊNCIAS.....	106
CAPITULO 4: PRODUÇÃO DE HÍBRIDOS VIA CRUZAMENTO ENTRE GENÓTIPOS DE <i>P. cincinnata</i> e <i>P. quadrangularis</i> IDENTIFICADOS POR MEIO DE MARCADORES MORFOLÓGICOS QUALITATIVOS E QUANTITATIVOS E CITOGENÉTICOS.....	
1. INTRODUÇÃO.....	111
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	113
2.1 Germoplasma vegetal .....	113
2.2 Hibridações interespecíficas.....	113
2.3 Condições de cultivo.....	115
2.4 Obtenção de dados morfológicos.....	116
2.5 Análise citogenética.....	117
3. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	118
4. RESULTADOS.....	119
4.1 Obtenção de dados morfológicos.....	119
4.2 Análise citogenética.....	124
5. DISCUSSÃO.....	127
5.1 Obtenção de dados morfológicos.....	127
5.2 Análise citogenética.....	128
6 CONCLUSÕES.....	131
REFERÊNCIAS.....	132
<u>REFERÊNCIAS COMPLEMENTARES</u> .....	134

## 1 INTRODUÇÃO

As *Passifloraceae* estão largamente distribuídas pelos trópicos (OLIVEIRA, 1987). Segundo Souza e Melleti (1997), há mais de 580 espécies, a maioria procedente da América tropical e, principalmente, do Brasil. Grande parte dos autores, incluindo Killip (1938) e Sacco (1980), considera que essa família é composta de 12 gêneros. Lopes (1994) cita que, no Brasil, são encontrados os gêneros *Dilkea* e *Passiflora*. Segundo Vanderplank (1996), a família *Passifloraceae* é formada por 630 espécies em 18 gêneros. Desses, o gênero *Passiflora* é o mais importante economicamente e o que apresenta maior número de espécies, cujo maior centro de distribuição geográfica localiza-se no Centro-Norte do Brasil (LOPES, 1991). Estima-se que o gênero *Passiflora* seja composto de 465 espécies, das quais de 150 a 200 são originárias do Brasil e podem ser utilizadas como alimento, remédio e ornamento. Cerca de 70 espécies produzem frutos comestíveis (CUNHA e outros, 2002). Portanto, existe ampla variabilidade genética a ser conhecida, caracterizada, protegida, conservada e convenientemente utilizada comercialmente ou em programas de melhoramento genético.

Para que a diversidade genética disponível seja explorada, é necessária a caracterização e documentação de genótipos para uso nos programas de melhoramento genético (BORÉM e MIRANDA, 2009). A caracterização morfológica é a forma mais acessível e mais utilizada para quantificar a diversidade genética de uma reserva de germoplasma (RABANNI e outros, 1998).

Ter conhecimento do modo de reprodução da espécie em estudo é um importante pré-requisito nos programas de melhoramento (ALLARD, 1971), pois a escolha do método adotado dependerá dessa informação. Nesse sentido, podem-se realizar estudos voltados para determinação do modo de reprodução propriamente dito, e outros voltados para observação de características que interferem no processo de polinização, como a

viabilidade polínica, taxa de receptividade estigmática, a polinização *in vivo*, bem como o florescimento.

Análises citogenéticas podem trazer contribuições indispensáveis no sentido de aumentar a eficiência das estratégias de conservação e mesmo de trabalhos de melhoramento. Cada cromossomo ou par deles representa um papel decisivo no desenvolvimento de um indivíduo. A caracterização precisa do cariótipo tem fundamental importância, quando o objetivo é comparar cariologicamente espécies diferentes ou analisar a variação entre indivíduos de uma mesma espécie. Um dos caracteres mais utilizados para caracterização citológica de uma espécie é o número cromossômico (PEDROSA e outros, 1999). Para Sybenga (1998), a citogenética fornece informações indispensáveis para a manipulação das plantas.

Hibridações interespecíficas ocorrem para que a transferência de caracteres favoráveis aconteça. De acordo com Melletti e Bruckner (2001), o caminho da hibridação natural interespecífica exige muitos ciclos de retrocruzamento para recompor o vigor natural das plantas e as características interessantes para comercialização.

Este trabalho objetivou produzir híbridos a partir do cruzamento das espécies *Passiflora cincinnata* Mast. e *P. quadrangularis* L., analisando a morfologia floral e vegetativa, fruto, biologia da reprodução, parâmetros fenológicos do florescimento e citogenética. Dessa forma, espera-se contribuir para conservar e explorar os recursos genéticos existentes nos programas de pesquisas da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Família Passifloraceae

Em 1569, Nicolae Monardes descreveu espécie *Passiflora incarnata*, sendo esse registro considerado o primeiro do ponto de vista taxonômico na família Passifloraceae. Porém, as passifloras haviam sido mencionadas por Cieza de Leon, em 1553, como "granadilla". Este nome foi utilizado em analogia com a romã, *Punica granatum* L. (Punicaceae), devido à semelhança do fruto (VANDERPLANK, 2000).

Em 1605, flores de passiflora (*Passiflora incarnata*) foram enviadas por missionários católicos ao Papa Paulo V, cujas peças florais foram associadas aos símbolos da crucificação de Cristo, originando, assim, o nome latino da planta, "flor da paixão", comum para os espanhóis e ingleses, mas ainda não usado no Brasil (FUMIS e SAMPAIO, 2007).

Apesar do nome *passiflora* ser projetado por Pluckenet em 1696 (CERVI, 1997), foi em 1745 que o gênero *Passiflora* foi oficializado, a partir do primeiro trabalho de classificação e identificação de *Passiflora*, realizado por Linnaeus, que descreveu 22 espécies (VANDERPLANK, 2000).

A família Passifloraceae é nativa das regiões tropicais e subtropicais (HEYWOOD, 1993), podendo encontrar plantas silvestres na Índia Ocidental, Galápagos, Austrália, Sudeste Asiático, Malásia, Filipinas, Polinésia e em algumas ilhas do Oceano Pacífico (VANDERPLANK, 2000) e, ainda, algumas espécies de clima temperado nas Américas, sul da China e Nova Zelândia (FEUILLET e MACDOUGAL, 2007). A América tropical é considerada como o principal centro de diversidade genética, incluindo desde a região Amazônica até o Paraguai e o Nordeste da Argentina (SILVA e outros, 2004).

A família Passifloraceae compreende trepadeiras herbáceas ou lenhosas, frequentemente arbustos, com gavinhas axilares originadas de

modificação das inflorescências; suas folhas são sempre alternas, espiraladas, simples ou raramente compostas, frequentemente lobadas, com ou sem estípulas (KILLIP, 1938; JUDD e outros, 1999; SOUZA e LORENZI, 2005). Em geral, possuem glândulas nectaríferas no pecíolo ou lâmina, sendo que a sua forma, número e posição são características taxonômicas importantes na separação entre espécies e grupos de espécies (VANDERPLANK, 1996). As flores têm uma ampla gama de cores e são geralmente bissexuais, com simetria radial.

A corona consiste de uma até várias linhas de filamentos, projeções ou membranas, e nasce no ápice da superfície interna do hipanto, sendo usualmente colorida, o que atrai polinizadores. Há um disco nectarífero na base do hipanto. Os frutos são do tipo cápsula ou baga, com arilos ao redor das sementes, geralmente sendo dispersas por pássaros (KILLIP, 1938; JUDD e outros, 1999).

Anteriormente, as passifloráceas pertenciam à ordem Violales, principalmente pela placentação parietal (CRONQUIST, 1988). Para outros autores, pertenceria à ordem Passiflorales, tribo *Passiflorae* e família Passifloraceae, esta com 18 gêneros e 630 espécies, com distribuição principalmente nos trópicos da América, Ásia e África (VANDERPLANK, 1996; BARBOSA, 1998). Atualmente, a família integra a ordem Malphigiales, e com base em estudos filogenéticos, a mesma é considerada monofilética, perfazendo um total de 20 gêneros e cerca de 650 espécies (APG II, 2003). Judd e outros (1999) afirmaram que a monofilia de Passifloraceae é sustentada basicamente pela presença da corona nas flores.

A família Passifloraceae está dividida em duas tribos, *Paropsieae* e *Passiflorieae* (ESCOBAR, 1988; CERVI, 1997; CERVI, 2006). As espécies da tribo *Paropsieae*, arbustos e árvores sem gavinhas, são consideradas representantes de um complexo basal parafilético na família. *Passiflorieae*, ao contrário, é claramente monofilética, evidenciado por seu hábito escandente, gavinhas axilares e flores especializadas (JUDD e outros, 1999). Cervi (1997) descreveu a tribo *Paropsieae*, sendo composta por seis gêneros:

*Androsphonia* Stapf, *Viridivia* J. H. Hemsl. e Verdc., *Smeathmannia* Sol. ex R. BR., *Barteria* Hook. f., *Paropsiopsis* Engl. E *Paropsia* Noronha ex Thouars. Segundo o mesmo autor, a tribo *Passiflorieae* é representada por 14 gêneros: *Adenia* Forssk, *Ancistrothyrsus* Harms, *Basananthe* Peyr., *Crossostemma* Planch. ex Hook., *Deidamia* E. A. Noronha ex Thouars, *Dilkea* Mast., *Hollurngia* K. Schum., *Efulensia* C. H. Wright, *Mitostemma* Mast., *Passiflora* L., *Schelecterina* Harms, *Tetrapathaea* (DC.) Rchb., *Tetrastylis* Barb. Rodr. e *Tryphostemma* Harv. Porém, Cervi (2006) relata que a tribo *Passiflorieae* está representada no continente americano por quatro gêneros, entre os quais se destaca o gênero *Passiflora*.

## 2.2 Gênero *Passiflora*

O gênero *Passiflora* é o maior da família Passifloraceae, com cerca de 530 espécies (FEUILLET e MACDOUGAL, 2007); é numérica e economicamente o mais importante da família (PÉREZ e outros, 2007), apresentando ampla variabilidade genética inter e intraespecífica (BELLON e outros, 2009). Esse gênero é originário da América tropical (ALEXANDRE e outros, 2004) e, pelo menos, um terço de suas espécies tem os respectivos centros de origem no Brasil (MELETTI e outros, 2007), que agregam cerca de 100 a 200 espécies (BERNACCI e outros, 2003; NUNES e QUEIROZ, 2006). Além do Brasil, a Colômbia também concentra riqueza de espécies do gênero (PÉREZ e outros, 2007).

Vários autores descrevem a ampla variabilidade genética inter e intraespecífica existente no gênero *Passiflora* (FERREIRA e OLIVEIRA 1991; ALEXANDRE e outros, 2004; MELETTI e outros, 2005) e concordam que grande parte dessa variabilidade está dispersa no território brasileiro, que agrega cerca de 100 a 200 espécies (BERNACCI e outros, 2003; NUNES e QUEIROZ, 2006), colocando o Brasil entre os principais centros de diversidade genética do gênero, e o centro norte como o principal centro de dispersão geográfica. No estado da Bahia, o gênero *Passiflora*

possui 32 espécies com ampla distribuição ( NETO, 2008), sendo que *P. saxicola*, *P. bahiensis*, *P. mucugeana* (NUNES e QUEIROZ, 2006) e *P. cacaoensis* (VIANA, 2009) são consideradas endêmicas. Os principais centros de diversidade na Bahia ocorrem na floresta Atlântica do sul do estado e na Chapada Diamantina (NUNES e QUEIROZ, 2006).

Considerado o gênero mais representativo da família Passifloraceae, *Passiflora* apresenta ainda grande importância econômica na agricultura e na horticultura. Muitas espécies são empregadas para fins alimentares, medicinais e ornamentais (SOUSA e MELETTI, 1997). O uso alimentar por meio do consumo de frutos constitui o principal objetivo do cultivo dessas espécies. O Brasil é considerado o maior produtor mundial de maracujá, com uma produção de 330 mil toneladas, numa área de 33 mil hectares com o cultivo do maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* O. Degener) em 95% dos plantios do País. A Bahia é o estado de maior produção nacional, com 77 mil toneladas, numa área de 7,8 mil hectares de maracujazeiros (FIBGE, 2002).

### **2.3 Botânica e taxonomia das *Passifloras***

As passifloras apresentam hábito herbáceo, são trepadeiras, produzem flores cuja beleza desperta curiosidade e encantamento e incluem algumas poucas ervas eretas ou plantas lenhosas, arbustivas (VANDERPLANK, 2000). Em sua maioria, são perenes e essencialmente pantropical, podendo encontrar algumas espécies como a *P. gracilis*, *P. tenella*, que são anuais, e outras espécies como *P. lutea* e *P. incarnata* em zonas temperadas (ULMER e MACDOUGAL, 2004), sendo esta última utilizada em hibridações com *P. edulis*, por apresentar a característica de interesse: tolerância à baixa temperatura (BRUCKNER e OTONI, 1999).

As principais características das plantas desse gênero são: gavinhas axilares, nectários, folhas alternas normalmente simples, coroa de estaminódios, gineceu e androceu com base comum (androgínóforo) e



sementes ariladas (FEUILLET, 2004). Uma outra característica bastante peculiar é a variabilidade foliar encontrada, que é a maior encontrada em todas as angiospermas (MACDOUGAL, 1994).

A raiz das passifloras é do tipo axial ou pivotante, porém, quando propagadas por estacas, podem desenvolver raízes adventícias (CUNHA e outros, 2002). O caule pode ser cilíndrico, angular, subangular, raramente quadrangular e estriado longitudinalmente. As gavinhas são solitárias e axilares, bem desenvolvidas. As estípulas estão sempre presentes e são muito variáveis quanto à forma, desde setáceas ou lineares, até amplamente ovadas (CERVI, 1997; TEIXEIRA, 1995).

As folhas do gênero *Passiflora* são quase sempre alternadas, mas muito variáveis entre as espécies, inclusive dentro da mesma espécie, como em *P. setacea* L. (ULMER e MCDUGAL, 2004). Os lobos das folhas podem ser sem divisão (*P. laurifolia*), bi, tri ou até pentalobadas. A margem das folhas normalmente é inteira, mas podem ser denteadas ou serreadas. As folhas podem ser tri-nervadas, mas podem existir folhas com quatro a nove nervos, alcançando a margem (VANDERPLANK, 2000). No pecíolo, encontram-se glândulas extraflorais (nectaríferas) com diversas formas: sésseis, subsésseis, orbiculares e estipitadas. A presença ou ausência destas glândulas, bem como sua forma e posição são importantes caracteres utilizados para diferenciar as espécies. O pedúnculo na maioria das espécies é único, nasce nas axilas das folhas e termina em uma flor. A espécie *P. multiflora* é uma exceção, produzindo de duas a seis flores em um mesmo pedúnculo (ULMER e MCDUGAL, 2004). As brácteas normalmente estão presentes em número de três, podem ser lineares ou setáceas e sua forma, tamanho e posição são caracteres importantes taxonomicamente para separar subgênero, seções e espécies (CERVI, 1997; ULMER e MACDOUGAL, 2004).

O gênero *Passiflora* apresenta flores de coloração variável, com cores que variam do vermelho intenso até o rosa pálido. As sépalas são em número de cinco, de lineares a oblongas, possuem coloração semelhante ao

tubo do cálice, frequentemente verde nas bordas, de coloração intensa no centro da sépala. As pétalas geralmente são membranáceas e nascem sobre a margem do tubo do cálice (VANDERPLANK, 2000; ULMER e MACDOUGAL, 2004). Na maioria das espécies, as pétalas são menores e mais finas do que as sépalas, alternando-se com as mesmas. *P. pectinata* e *P. guatemalensis* são uma exceção, nas quais as pétalas são ligeiramente maiores e mais largas, respectivamente, do que as pétalas (VANDERPLANK, 2000).

A corona de filamentos é uma característica marcante das espécies do gênero *Passiflora*, com forma e tamanhos variáveis (ABREU e outros, 2009). Geralmente, os filamentos da corona são bandeados horizontalmente com diversas cores, sendo composta de uma a várias séries de filamentos filiformes, onde a segunda série, quando presente, geralmente apresenta-se mais curta (VANDERPLANK, 2006). Acredita-se que devido à variação de formas e cores, bem como seu aroma agradável e adocicado, a corona de filamentos atraia insetos e pássaros, que são responsáveis pela polinização de suas flores (AIZZA e DORNELAS, 2009).

As flores são hermafroditas, com presença de androginóforo (NUNES e QUEIROZ, 2006), cujo androceu é formado por cinco estames e o gineceu formado por três estiletos e três estigmas, embora em estudos realizados com *P. cincinnata* foram observadas flores com dois, quatro ou cinco estigmas (ARAÚJO e outros, 2008; KILL e outros, 2010). O ovário é súpero, localizado no ápice do androginóforo, tricarpelar e unilocular. Com muitos óvulos de placentação parietal, o ovário é globuloso, ovoide ou fusiforme, unilocular. Os estiletos, em número de três, são livres ou unidos na base (NUNES e QUEIROZ, 2006).

Os frutos são caracterizados como bagas, geralmente indeiscentes, exceto em *P. capsularis* e *P. rubra* (cápsula loculicida), globosos ou ovoides, raramente fusiformes, possuindo, no geral, coloração amarela, existindo frutos de coloração vermelha e roxa (VANDERPLANK, 2000; ULMER e MACDOUGAL, 2004). A casca é coriácea, quebradiça e lisa,

protegendo o mesocarpo, no interior do qual estão as sementes. Estas são, em sua maioria, comprimidas, reticuladas, pontuadas ou transversalmente alveoladas, envolvidas por um arilo mucilaginoso (VANDERPLANK, 2000). As sementes são tidas como ortodoxas ou ortodoxas intermediárias, tolerantes à perda de umidade (NUNES e QUEIROZ, 2001).

#### 2.4 Espécies *cincinnata* e *quadrangularis*

*Passiflora cincinnata* Mast. é uma espécie silvestre, não comercial, incluída na série Incarnata (APONTE e JÁUREGUI, 2004), popularmente conhecida como maracujá-mochila, maracujá-do-mato ou maracujá-tubarão (BERNACCI e outros, 2003). Distribuem-se do nordeste do Brasil até o norte da Argentina, sudeste do Paraguai e oeste da Bolívia, e foi introduzida na Venezuela (VANDERPLANCK, 2000). No Brasil é encontrada em Pernambuco, São Paulo, Paraíba, Santa Catarina, Alagoas e Bahia, dentre outros estados (OLIVEIRA e RUGGIERO, 2005).

*P. cincinnata* é descrita como uma espécie nativa da caatinga, liana glabra ou levemente pilosa, de caule cilíndrico, cujas flores são axilares, de coloração azul-rosadas ou violeta e frutos globosos ou ovoides; é aplicado para fins nutricionais (KILL e outros, 2010), medicinais (ZUCARELLI, 2007), ornamentais (VANDERPLANCK, 2000). Por causa de suas características de fruto, também é empregada como fonte de genes em programas de melhoramento (MELETTI e outros, 2002).

Seus frutos são comercializados nas pequenas feiras livres das regiões semiáridas, sendo explorada apenas para subsistência e de forma extrativista (KILL e outros, 2010) e o produto processado na forma de geleia foi incluído na merenda escolar dos municípios de Uauá, Curaçá e Canudos na Bahia e já começa a ser exportado para Alemanha e Itália (ARAÚJO e ALVES, 2007).

A *P. cincinnata* apresenta resistência a patógenos sistêmicos que afetam outras espécies de *Passiflora* (OLIVEIRA e RUGGIERO, 2005). Por

isso, vem sendo utilizada em programas de melhoramento genético, principalmente para obtenção de genótipos, tolerante a bactéria *Xanthomonas campestris* (MELETTI e outros, 2002) e nematoides (OLIVEIRA e RUGGIERO, 1998). Também vem sendo utilizada, devido à resistência à seca (ARAÚJO e ALVES, 2007), na produção de porta enxerto (ZUCARELI e outros, 2009).

*Passiflora quadrangularis* Linn., conhecida popularmente de maracujá melão ou maracujá-açu, é uma trepadeira vigorosa, de hastes quadrangulares e aladas. As folhas, de 25 a 35 cm, são alternas, ovadas, inteiras, cordadas, glabras, pecioladas. As flores são grandes, axilares azul-lilases. Há uma variedade com flores vermelho-escuras. O fruto é uma baga ovoide, amarelo-esverdeada de até 25 cm de comprimento, com três sulcos longitudinais, casca verde, fina resistente, pericarpo espesso de 4 a 5 cm, sementes pretas e numerosas, com arilo mucilaginoso, translúcido, esbranquiçado, doce-acidulado. É ótimo para sorvetes, refrescos, geleias e licores. O pericarpo é comestível ao natural e em compotas e doces. Excelente com vinho e açúcar. Provoca o sono se consumido em grande quantidade. As raízes são narcóticas e venenosas (GOMES, 1989).

## **2.5 Caracterização botânico-agronômica**

A caracterização permite identificar genótipos duplicados, estabelecer coleções nucleares, identificar os modos de reprodução predominantes nos genótipos, bem como inferir a ocorrência ou não de variabilidade genética entre os genótipos (VALLS, 2007). O conhecimento dos genótipos, nível de diversidade, caracterização agronômica, fenótipos de interesse econômico são fundamentais (FERREIRA e RANGEL, 2005).

Caracterização botânico-agronômica possibilita obtenção de mais informações sobre o material estudado, tornando, assim, a utilização do mesmo mais efetiva (RAMOS e QUEIROZ, 1999), sendo normalmente a forma mais acessível e mais utilizada para quantificar a diversidade

(RABBANI e outros, 1998). A lei de nº 9456/97, referente à proteção de cultivares, em seu inciso II do artigo 3º, conceitua descritores como as características morfológicas, fisiológicas, bioquímicas ou moleculares que sejam herdadas geneticamente, utilizadas na identificação de uma cultivar.

Os caracteres descritivos são diferenciados em fixos e variáveis, nos quais os primeiros, também chamados qualitativos, dependem de um ou poucos genes, sofrem pouca influência ambiental e não podem ser medidos por um sistema de numeração contínua. As chamadas variáveis ou quantitativas dependem da ação de muitos ou poucos genes que interagem com o meio ambiente, e seus valores são expressos em números (SILVA, 2005).

Caracterização agrônômica e morfológica foram realizadas em seleções do BAG de *passifloras* do IAC, denominadas “Roxinho-Miúdo”, “Paulista” e “Maracujá-Maçã”, para identificar cruzamentos com características comerciais desejáveis e disponibilizar sementes de matrizes selecionadas aos produtores (MELETTI e outros, 2005). Neste estudo, todas as seleções apresentaram características comerciais desejáveis. A divergência genética através de dados morfológicos foi estimada entre acessos de *Passiflora cincinnata* Mast., conservados na coleção de trabalho da Embrapa Semi-Árido (ARAÚJO e outros, 2008). A avaliação foi realizada em 32 acessos, com base em 23 caracteres. Os acessos apresentaram variabilidade genética para todos os descritores utilizados na avaliação.

Recentemente, foi lançada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) a instrução para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE) de cultivares de maracujá, abrangendo espécies ornamentais, medicinais, frutíferas e híbridos interespecíficos (MAPA, 2008), uniformizando, assim, o procedimento técnico de comprovação de que a cultivar apresentada é distinta de outra.

Por meio da observação de descritores botânico-agronômicos, têm sido realizados estudos referentes à caracterização, variabilidade e

diversidade em várias espécies: batata-doce, *Ipomea batatas* L. (DAROS e outros, 2002), maracujazeiro-doce, *Passiflora alata* Curtis (MELETTI e outros, 2003), *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg (NEGREIROS e outros, 2007), milho, *Zea mays* (PAIXÃO e outros, 2008), amendoin forrageiro, *Arachis pintoi* (CARVALHO e QUESENBERRY, 2009) cebola, *Allium cepa* L. (BUZAR e outros, 2009) entre outros.

## 2.6 Importância agronômica

Os cultivos comerciais de *Passiflora* em quase todo o país baseiam-se em uma única espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* - maracujá-amarelo ou azedo (MELETTI e outros, 2005). O Brasil destaca-se como o maior produtor mundial desse maracujá, representando 95% dos pomares, devido à qualidade dos seus frutos, vigor, produtividade e rendimento em suco (MELETTI e BRÜCKNER, 2001; FERREIRA, 2005). Em 1999, foram cultivados cerca de 35.000 ha com essa fruteira (AGRIANUAL, 2002), o que faz do País o maior produtor mundial, sendo a região Nordeste do Brasil a produtora responsável por 44% da produção, com uma área cultivada de 17.306 ha e cerca de 214.467 t anuais, destacando-se os Estados da Bahia, Ceará e Sergipe como os maiores produtores (AGRIANUAL, 2006).

Segundo Inglez de Souza e Meletti (1997), no gênero *Passiflora* destacam-se 50-60 espécies que produzem frutos comestíveis. Em menor escala, com importância bastante regionalizada e comercialização restrita, são cultivados o maracujá-doce (*P. alata* Dryand.), o maracujá-roxo (*P. edulis* Sims), o maracujá-melão (*P. quadrangularis* L.), o maracujá-suspiro (*P. nitida* Kunth.) e o maracujá de boi (*P. cincinnata*).

De acordo com Souza e Meletti (1997), muitas das espécies de *Passiflora* são cultivadas pelas propriedades alimentícias, medicinais e ornamentais, principalmente pela qualidade de seus frutos. E os frutos, além de consumidos *in natura*, são usados para fazer sucos, doces, refrescos e sorvetes. Segundo Bernacci e outros, (2002) e Meletti e Maia (1999), o

maracujá-amarelo tem maior importância comercial devido à qualidade dos frutos, à divulgação junto aos consumidores e aos rendimentos industriais.

O maracujazeiro é cultivado, ainda, com fins medicinais, para extração de substâncias químicas de propriedades farmacêuticas como a passiflorina ou maracujina, que é um calmante natural, sendo um sedativo encontrado nos frutos e folhas (SOUZA e MELETTI, 1997); nas propriedades como vermífugo e febrífugo e também nos efeitos diuréticos, antituberculose, hipnóticos e abortivos para o gado (OLIVEIRA, 1987).

Além das propriedades alimentícias e medicinais, outro mercado que está em expansão é o da floricultura. Atribuindo o valor ornamental pelas belas flores que a planta produz, exercem atração pelo seu tamanho, pela exuberância de suas cores e pela originalidade de suas formas (SOUZA e MELETTI, 1997). Com isso, diversas variedades e híbridos interespecíficos vêm sendo desenvolvidos no gênero *Passiflora* para fins ornamentais, despertando o interesse de muitos produtores pelas belas flores (VANDERPLANK, 1996).

Segundo Araújo e outros (2006), os frutos de *P. cincinnata* já são comercializados nas feiras livres nas cidades do interior, sendo estas espécies de ocorrência espontânea nas caatingas do semiárido. A produção ainda é proveniente do extrativismo e de áreas cultivadas em escala doméstica. Este tipo de atividade começa a crescer com a produção de doces e geleias nas indústrias de beneficiamento instaladas no estado da Bahia.

Embora a *P. cincinnata* não tenha a importância comercial igual a de *P. edulis*, os indivíduos de *P. cincinnata* são consumidos como frutífera, sendo comercializado em feiras livres, principalmente no sertão de Pernambuco e na Bahia. Indivíduos de *P. cincinnata* são potencialmente importantes em programas de melhoramento genético, já que a mesma é resistente à seca e a *Epicauta atomaria*, uma bactéria, e aos nematoides do gênero *Meloidogyne* (OLIVEIRA e RUGGIERO, 1998).

## 2.7 Caracterização citogenética

As análises citogenéticas podem trazer contribuições indispensáveis no sentido de aumentar a eficiência das estratégias de conservação e mesmo de trabalhos de melhoramento com a espécie. Estas pesquisas têm contribuído para o estudo da evolução, principalmente porque os cromossomos constituem o próprio material genético, o que os torna significativos para o rumo evolutivo das espécies. Cada cromossomo ou par de cromossomos representa um papel decisivo no desenvolvimento de um indivíduo. Por isso, o número de cromossomos e as variantes que cada um deles apresenta, dentro de uma espécie, são dados importantes para a determinação da posição filogenética e taxonômica (GUERRA, 1988), tanto dentro de táxons inferiores quanto em níveis superiores (GUERRA, 1990).

A caracterização precisa do cariótipo tem fundamental importância quando o objetivo é comparar cariologicamente espécies diferentes ou analisar a variação entre indivíduos da mesma espécie. Um dos parâmetros mais utilizados para a caracterização citológica de uma espécie é o número cromossômico (PEDROSA e outros, 1999). Para Sybenga (1998), a citogenética fornece informações indispensáveis para a manipulação das plantas. Neste contexto, o número cromossômico é um dos parâmetros mais utilizados para a caracterização citológica de uma espécie que, aliado a outros caracteres citológicos, fornece informações para o entendimento das alterações genéticas envolvidas.

O gênero *Passiflora*, bem como os demais gêneros, tem sido pouco estudado do ponto de vista citológico. Os mais amplos trabalhos foram realizados por Bowden (1945); Beal (1969ab, 1973); Storey (1950); Guerra (1986); Snow e MacDougal (1993); Mayeda e Vieira (1995); Barbosa e Vieira (1997); Soares-Scott (1998); Soares-Scott e outros (1999); Passos (1999); Melo e outros (2001); Melo (2002); Melo e outros (2003); Souza e outros (2003a, b); Souza e outros (2004); Soares-Scott e outros (2005); Hansen e outros (2006) e Souza e outros (2007). No entanto, esses trabalhos



representam citogeneticamente 16,1% das espécies registradas (MELO e outros, 2001), sendo que parte desses trabalhos tem se limitado à contagem cromossômica.

De acordo com Melo e Guerra (2003), que estudaram um número significativo de *Passiflora* para o Brasil, as duas espécies *P. edulis* e *P. cincinnata* pertencem ao grupo cromossômico três, caracterizado por apresentar  $x=9$  e quatro sítios de DNAr 45S, sugerindo que as espécies são citologicamente compatíveis.

A caracterização dos cromossomos foi, por muito tempo, fundamentada unicamente em parâmetros morfológicos, a exemplo do tamanho dos braços, posição dos centrômeros e localização das constrições secundárias. Com a introdução das técnicas de bandeamento, possibilitou-se a visualização de blocos de coloração diferenciada (bandas), havendo um avanço significativo na caracterização dos cromossomos (BRASILEIRO-VIDAL e GUERRA, 2002).

Nesse caso, a heterocromatina é um dos caracteres mais importantes para caracterização cromossômica. A heterocromatina foi definida por Heitz (1928) como segmentos cromossômicos que permanecem condensados durante todo o ciclo celular, e Brown (1966) concluiu que existe pelo menos dois tipos de heterocromatina: a facultativa e a constitutiva. A primeira pode comportar-se como eucromatina ou como heterocromatina, enquanto a segunda permanece condensada durante todo o ciclo celular, caracterizando-se pela presença de sequências de DNA curtas, altamente repetitivas e transcricionalmente inativas (REDI e outros, 2001) e, para a sua detecção, a técnica empregada é, em geral, o bandeamento (PARDUE e GALL, 1970).

## **2.8 Fenologia do florescimento**

Para que ocorra o florescimento, o meristema caulinar vegetativo deve diferenciar-se em estruturas reprodutivas. Nesse processo, diferentes sinais, indutores do florescimento (ambientais e fisiológicos), são detectados

pelas folhas, produzindo estímulos florais no meristema apical ou induzindo diretamente o desenvolvimento dos primórdios florais (BOSS e outros, 2004).

O modelo de atividade gênica responsável pelo controle da arquitetura floral da maioria das dicotiledôneas com flores completas foi obtido a partir de mutações em genes homeóticos em *Arabidopsis thaliana* (ANGELO, 2005). Este modelo, conhecido como modelo ABC, reúne os genes ativos nas vias que definem a identidade dos meristemas florais, agindo de forma combinada. A classe A é constituída pelos genes *APETALA1* e *2* (*API* e *AP2*), cuja expressão age sobre a formação das sépalas; a classe B é constituída pelos genes *APETALA 03* (*AP3*) e *PISTILLATA* (*PI*); a combinação AB atua sobre a formação das pétalas, os genes *AGAMOUS* (*AG*) constituem a classe C, cuja combinação específica de BC é responsável pela formação de estames, e a expressão de C, pela formação dos carpelos (JACK, 2004). O gene *LFY* foi identificado como atuante na transição do meristema vegetativo para meristema reprodutivo, pois induz a expressão do *API* (HEMPEL e outros, 2000). Além dessa função, fala-se que o *LFY* também regula no desenvolvimento de diferentes produtos do meristema apical como folhas e gavinhas, e as passifloras têm sido fortemente utilizadas para verificação de tal função, uma vez que contém as estruturas morfológicas em que o referido gene atua (CUTRI, 2009). A emissão das primeiras peças florais, na gema floralmente determinada, é chamada de evocação floral (PEREIRA e outros, 2003). Em plantas de flores completas, durante a evocação floral, os genes homeóticos interagem entre si e com outros genes, também relacionados com o florescimento, resultando no surgimento sequencial das peças florais, nas quais as células primordiais da camada mais externa dão origem às sépalas. Aquelas na segunda camada originam as pétalas; na terceira camada as células tornam-se estames; e na quarta e mais interna camada, dão origem aos carpelos (ANGELO, 2005).

A fenologia do florescimento pode ser influenciada por diversos fatores ambientais, como umidade, temperatura ou radiação (MICHALSKI e DURKA, 2007). A temperatura, por exemplo, afeta os índices de desenvolvimento da flor e pode levar a variação do florescimento em um determinado período (MURZA e DAVIS, 2005). Assim, é possível observar diferenças entre genitores, referente a parâmetros fenológicos do florescimento, como taxa, pico, intensidade relativa (%) e duração média de florescimento, número de flores/dia e precocidade de florescimento (ROZA e outros, 2005), dentre outros, fato que diferencia uma espécie de outra.

A maioria das espécies de *Passiflora* floresce abundantemente durante vários meses no ano. Os meses entre março e maio correspondem ao período de florescimento para *P. amethystina* e *P. suberosa*, enquanto que para *P. cincinnata* é de março a dezembro (DUARTE e outros, 2009); para o maracujá-amarelo, foi observada uma duração de nove meses de floração, de setembro a maio (BENEVIDES e outros, 2009); em *P. setacea*, foi observado florescimento durante os meses de setembro a fevereiro; em *P. recurva* Mast., de agosto a dezembro; em *P. kermesina* Link., de fevereiro a novembro (NUNES e QUEIROZ, 2001) em ambientes com umidade, temperatura e radiação solar adequados, como no litoral da Bahia.

Em muitas espécies, as flores permanecem abertas por um dia, como em *P. amethystina*, *P. suberosa*, *P. cincinnata* (DUARTE e outros, 2009), em outras, como *P. aurantia* G. Forster, *P. cinnabarina* Lindl, *P. herbertiana* Ker Gawle *P. jorullensis* Kunth, as flores permanecem abertas por até três dias (ULMER e MACDOUGAL, 2004).

## **2.9 Biologia da reprodução**

A caracterização da biologia da reprodução em plantas é realizada principalmente para conhecer o modo de reprodução da espécie de interesse. Para programas de melhoramento, essa caracterização é um pré-requisito importante (ALLARD, 1971), pois o fato da planta ser autógama (autofecundação) ou alógama (fecundação cruzada) auxiliará no manejo da espécie para sua manutenção no campo experimental. Com esse conhecimento, diferenciadas práticas de polinização poderão ser adotadas (CRUDEN, 1977) e interferirão na escolha do método de melhoramento a ser adotado (BORÉM e MIRANDA, 2009).

A estrutura de uma população autógama é caracterizada pela mistura de plantas homozigóticas e a variedade melhorada são, às vezes, um simples genótipo que se reproduz fielmente. A cultura alógama pode ser comparada a um pool de genes que se combinam de várias maneiras para formar diversos genótipos, geração após geração, na qual uma simples planta pode produzir muitos tipos de gameta, que sempre se combinam ou que, na maioria das vezes, associam-se com gametas de outras plantas (AMARAL e outros, 2005).

Na maioria das passifloras, a reprodução através da polinização cruzada é determinada pela morfologia da flor, onde as anteras são localizadas abaixo do estigma; e, principalmente, devido à autoincompatibilidade (BRUCKNER e outros, 2002). Nas *passifloras* existem dois mecanismos principais que favorecem a alogamia: a deflexão dos estiletes (ENDRESS, 1994) e a autoincompatibilidade (LOSS, 2006).

## **2.10 Comportamento meiótico**

A meiose é considerada o mais importante evento citogenético entre os processos de diferenciação dos organismos, sendo o principal responsável pelo sucesso evolutivo da reprodução sexuada em eucariotos (HOLLIDAY,

1984). Na meiose, são produzidas células haploides que permitem que, após a fecundação, o número de cromossomos permaneça igual ao dos pais. É durante a meiose que ocorre também a recombinação dos genes, evento de máxima importância na adaptação das populações e evolução dos seres vivos (GUERRA, 1988).

O processo meiótico envolve duas divisões, sendo, em geral, a primeira caracterizada por uma fase e longa na prófase I e por ser reducional, ou seja, originando células com número cromossômico haploide, mas com a quantidade de DNA ainda duplicada. Da segunda divisão, muito parecida com a divisão mitótica, resultam células haploides com o conteúdo de DNA reduzido (ALBERTS e outros, 2002). A análise do processo meiótico permite observar e identificar eventos que podem ser utilizados em estudos evolutivos e na construção de mapas citogenéticos. Por exemplo, rearranjos cromossômicos podem ser detectados por configurações resultantes do pareamento dos cromossomos homólogos e são importantes para verificar a viabilidade das células e detectar a origem poliploide ou híbrida do material (FUKUI e NAKAYAMA, 1996).

Muitos dos genes relacionados à esterilidade têm ação pré-meiótica, pois podem induzir a formação de anteras sem pólen, enquanto outros têm ação pós-meiótica, ou seja, o pólen é formado, mas não se desenvolve (ALCOCHETE, 2005). Como pode ser constatado por Moraes (2007), que o fenômeno da esterilidade masculina é dado por um complexo sistema de regulação gênica.

Palma-Silva e outros (2004) analisaram o comportamento meiótico e a viabilidade polínica de 15 espécies pertencentes aos gêneros *Vriesea* Beer e *Aechmea* Ruiz e Pav. (Bromeliaceae). Todas as taxas mostraram pareamento regular dos bivalentes, assim como segregação regular cromossômica durante a meiose, o que pode ser confirmado pelo elevado índice de viabilidade polínica (88%). Porém, univalentes na metáfase I, cromossomos extras e divisão precoce dos centrômeros em metáfase II também foram observados.

O estudo da estabilidade meiótica, juntamente com a análise da viabilidade do grão de pólen, permite indicar o potencial para cruzamentos da planta, fornecendo subsídios para usos futuros em programas de seleção, cruzamento e produção de sementes viáveis (VARGAS e outros, 2004).

### **2.11 Viabilidade polínica**

A análise da viabilidade polínica é considerada importante e útil na condução de experimentos nas áreas agrícola e biotecnológica, pois possibilita correlacionar anormalidades meióticas à infertilidade do pólen, auxiliar na seleção de materiais genéticos e fazer inferências sobre as direções dos cruzamentos (TECHIO, 2002). A viabilidade do pólen fornece informações básicas de aplicação prática na conservação genética, bem como na agricultura, para o planejamento de programas de melhoramento, além de contribuir em estudos taxonômicos, ecológicos e palinológicos (ALEXANDER, 1980; ARROYO, 1981; GUINET 1989).

O estudo da viabilidade polínica para o melhoramento de plantas é extremamente importante, pois, em espécies alógamas, cada grão de pólen leva consigo informações genéticas consequentes da homozigose, fazendo com que essas plantas não transmitam para a próxima geração genótipos em que os genes estejam fixados ou em homozigose, mas sim o próprio gameta, tamanha a probabilidade de diferentes combinações entre os alelos (SOUZA e outros, 2002). Considerando que a manifestação do genótipo de um indivíduo é o resultado da contribuição trazida pelos gametas masculinos e femininos, quanto maior a viabilidade polínica, maior a possibilidade da formação de diferentes combinações entre alelos e, em última análise, de variabilidade genética (SOUZA e outros, 2002).

A necessidade de avaliar a viabilidade do pólen usado na polinização artificial e em experimentos de melhoramento genético é muito importante (STONE e outros, 1995), assim como a compreensão dos problemas de esterilidade (RODRIGUEZ-RIANO e DAFNI, 2000), sendo para qualquer

espécie de planta, essencial para melhoristas e produtores de sementes comerciais (RIGAMOTO e TYAGI, 2002).

### **2.12 Receptividade estigmática**

Conhecer o período que o estigma encontra-se receptivo ao grão de pólen é fundamental para garantir o sucesso em experimentos de hibridação e em todo e qualquer procedimento que ocorra polinização artificial (BRUCKNER e outros, 1995a). Permitindo, assim, programar o processo de polinização, em termos de tempo despendido e quantidade de pólen utilizado, uma vez que, devido à falta de informações sobre o período exato de receptividade do estigma, as polinizações são feitas repetidas vezes, para assegurar produção de sementes (HODGSON, 1976). Existem numerosas técnicas para estimar a receptividade do estigma (DAFNI, 1992; KEARNS e INOUE, 1993), uma delas é o uso de peróxido de hidrogênio, no qual ocorre a detecção da ação da peroxidase (OSBORN e outros, 1998), sendo este um método simples e barato (MAUÉS e COUTURIER, 2002).

No maracujazeiro amarelo, o número de estigma polinizado (um, dois, três ou quatro) não interfere na formação de frutos. Podem interferir na qualidade de suas características como números de semente, espessura da casca, peso e diâmetro do fruto, as quais estão correlacionadas com maior número de óvulos da planta e com o recebimento do maior número de grãos de pólen distribuídos de forma homogênea nos estigmas (SIQUEIRA e outros, 2009). A receptividade estigmática tem sido avaliada durante o tempo de abertura da flor, por meio de testes histoquímicos associados à polinização *in vivo*. Resultados de experimentos realizados com maracujá amarelo mostraram contraste entre o teste histoquímico e a polinização controlada, nos quais os primeiros indicaram receptividade de 85% até cinco horas após abertura da flor, enquanto que a polinização controlada apresentou valores médios inferiores a 35% nesse mesmo horário (SOUZA e outros, 2004). Testes similares foram realizados em *P. suberosa*, *P. coriacea*

e *P. morifolia*, cujos resultados referentes aos testes histoquímicos mostraram estigmas receptivos em todos os horários, para todas as espécies. Tratando da polinização controlada, houve comportamento diferenciado do histoquímico, a depender da espécie, sendo que, em *P. suberosa*, os índices de receptividade mostraram-se superiores a 60%, mesmo às 17 horas; em *P. morifolia*, os melhores índices ocorreram das 9 às 13 horas, enquanto que, em *P. suberosa*, os melhores resultados foram os de 7 horas (FONSECA e outros, 2005).

### **2.13 Hibridação em *Passiflora***

Entende-se por híbrido a união de quaisquer dois gametas, que diferem na constituição alélica em um ou mais locos (DUVICK, 1967; BRUCKNER, e outros, 1995). Diversas são as formas de hibridação. O tipo de hibridação mais comum é encontrado em indivíduos de espécies que se reproduzem sexuadamente por polinização cruzada e, em consequência, do cruzamento produzem uma descendência variável resultante da segregação e recombinação (ALLARD, 1971).

Técnicas de hibridação em passifloras são relativamente simples, uma vez que o florescimento de muitas espécies é abundante e ocorre durante vários meses do ano. Na maioria das espécies, as flores são grandes assim como as anteras e os estigmas, e a viabilidade do pólen e receptividade do estigma ocorrem no mesmo dia (BRUCKNER e OTONI, 1999).

O primeiro relato de híbridos de *Passiflora* surgiu em 1819, quando o inglês Thomas Milne cruzou *P. caerulea* e *P. racemosa*, obtendo o híbrido sexual que denominou de *P. 'Violacea'*, segundo a fórmula de hibridação descrita por Jean-Louis-Auguste-Loiseleur- Destongchamps, em 1928 (VANDERPLANK, 2000). Autores como Ulmer e MacDougal (2004) e mais recentemente King (2007) relatam um grande número de plantas híbridadas registradas.



Muitas espécies de *Passiflora* podem ser cruzadas sem qualquer dificuldade, e em algumas espécies é mais fácil polinizar a planta com o pólen de outra espécie do que da mesma planta, devido à autoincompatibilidade (BRUCKNER e outros, 1995b). O resultado do cruzamento entre duas espécies puras tem frequentemente gerado progênies com características diferentes das plantas genitoras: geralmente a geração F1 do cruzamento demonstra um fenótipo intermediário com vistas às características dos genitores (ULMER e MACDOUGAL, 2004). As técnicas de hibridação sexuada são simples e citadas por muitos autores, como Allard (1960), Vanderplank (2000), e Ulmer e MacDougal (2004). Os cruzamentos entre espécies como *P. alata*, *P. amethystina*, *P. antioquiensis*, *P. caerulea*, *P. cincinnata*, *P. gilberti*, *P. incarnata*, entre outras, vêm sendo utilizados para a criação de numerosos híbridos, muitos deles já utilizados em estufas e jardins americanos e europeus, como *P.* ‘Star of Bristol’, *P.* ‘Star of Kingston’, *P.* ‘Lady Margareth’ e *P.* ‘Sunburst’ (ULMER e MACDOUGAL, 2004).

A hibridação interespecífica tem sido extensivamente utilizada, mas seu sucesso depende do relacionamento filogenético entre as espécies envolvidas no cruzamento. Dessa forma, um dos problemas desse tipo de hibridação é o referente à incongruidade, ou seja, incompatibilidade entre espécies. Para que a obtenção do híbrido interespecífico seja bem-sucedida, é necessário que as espécies a serem combinadas apresentem homologia cromossômica, garantindo, assim, a viabilidade do híbrido. Portanto, o conhecimento das relações genômicas é necessário para o sucesso de um programa de hibridação (PEREIRA e outros, 2005).

Torres e Martin (1974) obtiveram, com sucesso, híbridos de *Passiflora* por meio do cruzamento de *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. alata*. Os autores verificaram que as características morfológicas foliares dos genitores foram facilmente reconhecidas nos híbridos. O formato e comprimento da estípula, posição e morfologia de glândulas são aspectos importantes a serem observados e de grande importância para identificação. Estas características,

em particular, foram altamente individualísticas entre os híbridos estudados. As flores desses híbridos apresentaram aspectos intermediários a dos seus pais para muitas características, entretanto, para os filamentos da coroa, verificou-se que estes variaram em número de séries, estrutura, comprimento e coloração, quando comparado a dos genitores. Assim como a folhagem e as flores, os frutos dos híbridos foram geralmente intermediários ao dos seus pais. Os híbridos apresentaram frutos com aroma e sabor melhor que seus pais e possuíram uma quantidade considerável de sementes, sugerindo que seleções de gerações parentais podem se tornar um sucesso no desenvolvimento de novas variedades.

#### **2.14 Compatibilidade genética**

A autoincompatibilidade em *Passiflora* é relatada desde o século XIX (NETTANCOURT, 1977). Estudos iniciais relataram que o sistema de autoincompatibilidade no maracujazeiro era do tipo esporofítica, uma vez que a reação de rejeição ocorre no estigma, e esta característica seria controlada por um loco com cinco alelos responsáveis (HO; SHII, 1986). Estudos posteriores verificaram que crescimento do tubo polínico foi inibido no tecido de transmissão do estilete, indicando a existência do sistema gametofítico (RÊGO e outros, 2000). Há ainda a evidência de que a autoincompatibilidade é controlada por seis alelos (*S1* a *S6*) e dois locos gênicos, ao invés de um (RÊGO e outros, 2000), provavelmente devido à presença de genes gametofíticos agindo em associação com genes esporofíticos (SUASSUNA e outros, 2003). Contudo, a autoincompatibilidade no maracujazeiro-amarelo não resulta somente da série de alelos S, mas também de outros locos, que devem estar condicionados por um complexo gênico (FALLEIRO, 2000).

A reprodução de forma sexuada em *Passiflora* envolve diferentes sistemas de reprodução, dependendo da espécie (ENDRESS, 1994). A espécie *P. incarnata* L. (MCGUIRE, 1999), por exemplo, é

autoincompatível. Em um provável mutante de *P. edulis* f. *flavicarpa*, com flores de coroa branca que foram utilizadas como marcador fenotípico, os resultados de polinização *in vivo* e comportamento meiótico o indicaram como autocompatível, com gametas normais, sendo assim considerado um genótipo promissor aos programas de melhoramento (SOUZA e outros, 2010).

A autoincompatibilidade constitui-se num mecanismo que induz à alogamia e que mantém um alto grau de heterozigose, impedindo a autopolinização (DUVICK, 1967). Conforme Bruckner e outros (1995a), a auto-incompatibilidade em *P. edulis* f. *flavicarpa* é do tipo homomórfica esporofítica, ocorrendo no estigma, característica do sistema esporofítico. Payán e Martín (1974) não consideraram a autoincompatibilidade uma barreira em cruzamentos interespecíficos, sendo a falta de estímulo hormonal o principal obstáculo à hibridação. Segundo estes autores, a aplicação de substâncias promotoras de crescimento no ovário conduziu à produção normal de frutos, o mesmo sendo conseguido pela técnica do ‘pólen mentor’, utilizando-se polinização dupla, na qual dois estigmas são polinizados por outra espécie e o terceiro por uma planta compatível da mesma espécie.

## CAPÍTULO 2

### CARACTERIZAÇÃO DE PARENTAIS PARA PRODUÇÃO DE HÍBRIDOS DE *Passiflora cincinnata* Mast. e *Passiflora quadrangularis* Linn. COM BASE EM DESCRITORES BOTÂNICO-AGRONÔMICOS E CITOGENÉTICOS

#### 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos mais importantes centros de diversidade do maracujazeiro, pois mais de 120 espécies silvestres de *Passiflora* são nativas do país (BERNACCI e outros, 2005), sendo algumas endêmicas (FERREIRA, 1994). Mas apesar da ampla diversidade genética e clima extremamente favorável (SOUZA e PEREIRA, 2003), espécies como o *Passiflora cincinnata* Mast. ainda não são comerciais (APONTE e JÁUREGUI, 2004), contudo, tem sido utilizada para fins nutricionais, ornamental, medicinal (ZUCARELLI, 2007) e em programas de melhoramento genético (MELETTI e outros, 2002).

A caracterização morfológica, processo pelo qual, por meio de caracteres descritivos, são obtidas informações sobre o germoplasma (RAMOS e QUEIROZ, 1999), é uma técnica utilizada para inferir as diferenças entre genótipos. As flores das passifloras são consideradas exóticas e complexas, algumas de coloração forte e brilhante, outras de coloração suave e marcante, devido, principalmente, à presença da coroa, que caracteriza a família *Passifloraceae* (ABREU e outros, 2009).

A avaliação de populações nativas e comerciais de *Passiflora* permite a seleção. Para tanto, faz-se necessária a identificação de acessos mais produtivos, mais adaptados às diferentes regiões de cultivo e/ou com características comercialmente desejáveis. Estes estudos ampliam o conhecimento da base genética disponível e fundamentam o melhoramento genético do gênero. A inexistência de cultivares comerciais dificulta ainda

mais a obtenção de material de propagação selecionado e, por isso, as mudas resultam de sementes sem seleção, retiradas de frutos do comércio varejista, aumentando também a variabilidade das plantas. Oliveira e outros (1982) observaram que o polimorfismo dos maracujazeiros resulta em significativas variações no tamanho e formato dos frutos, peso, espessura da casca, coloração e porcentagem de polpa e número de sementes.

A caracterização genética de diferentes genótipos constitui-se uma importante fonte de dados para melhoristas e conservacionistas, uma vez que permite um melhor gerenciamento do “*pool*” gênico, bem como uma seleção mais eficiente dos recursos genéticos, facilitando a detecção da variabilidade genética para fins de melhoramento genético ou com fins biotecnológicos (BENKO-ISEPPON, 2001). Sendo assim, o estudo citogenético em espécies vegetais pode contribuir de forma significativa, pois o número cromossômico torna a característica mais utilizada, assim como auxilia no entendimento das variações cariológicas envolvidas na evolução de um grupo (GUERRA, 2000). Muitas vezes, a simples indicação do número cromossômico pode auxiliar na indicação e escolha de materiais a serem utilizados em cruzamentos viáveis (SYBENGA,1998).

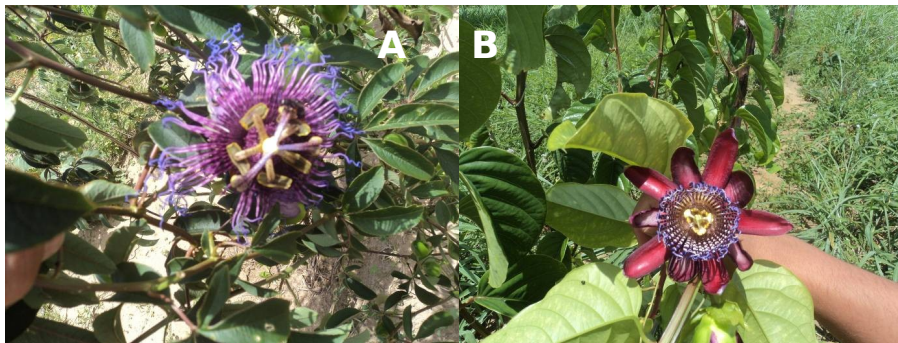
Nesse contexto, este trabalho objetivou caracterizar morfológica, agrônoma e citogeneticamente genótipos das espécies *P. cincinnata* e *quadrangularis* do campo experimental da UESB, com base em descritores para os diferentes aspectos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal

O material vegetal utilizado constou de seis acessos, sendo três de *P. quadrangularis* e três de *P. cincinnata*.

Britto, F.F., 2012



**Figura 1-** Espécies de *Passiflora* do campo experimental da UESB (Vitória da Conquista-BA). (A). *Passiflora cincinnata* Mast.; (B). *Passiflora quadrangularis* L.

Os genótipos atualmente se encontram no campo experimental (Figura1) da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), situada no município de Vitória da Conquista, Bahia, a 14° 51' Latitude Sul, 40° 50' Longitude Oeste, a uma altitude de 928m (OLIVEIRA, 2007). As plantas da espécie *P. cincinnata* já se encontravam no campus da Instituição, contudo, os três indivíduos representantes da espécie *P. quadrangularis*, ainda em desenvolvimento vegetativo apresentando caules jovens com aproximadamente 25cm, foram coletados no mês de janeiro de 2011 no povoado Mata dos Mendes, na zona rural do município de Seabra-BA, localizada na Chapada Diamantina, transportados em sacos plásticos contendo substrato do lugar para Vitória da Conquista e plantados no mesmo mês na área de realização de experimentos da UESB (Tabela 1).

**Tabela 1-** Genótipos de maracujazeiros, procedência e seus respectivos números de classificação no herbário. Vitória da Conquista-Ba/UESB, 2012.

<b>Espécie</b>	<b>Procedência</b>	<b>Genótipos</b>	<b>Acervo</b>
<i>P. cincinnata</i>	Lc: UESB	01	<i>in vivo</i>
<i>P. cincinnata</i>	Lc: UESB	02	<i>in vivo</i>
<i>P. cincinnata</i>	Lc: UESB	03	<i>in vivo</i>
<i>P. quadrangularis</i>	Lc: Seabra-BA	04	<i>in vivo</i>
<i>P. quadrangularis</i>	Lc: Seabra-BA	05	<i>in vivo</i>
<i>P. quadrangularis</i>	Lc: Seabra-BA	06	<i>in vivo</i>

Lc: local coleta \* Acervo *in vivo*

## 2.2 Condições de cultivo

As plantas foram mantidas sob sistema de condução do tipo espaldeira, em campo aberto (Figura 2). Mensalmente, foram realizadas podas e adubação com a formulação NPK (4-14-8) a cada 60 dias. A irrigação foi realizada pelo sistema de gotejamento. Foram avaliados dez repetições por genótipo para caracterização morfológica floral ou vegetativa, e sete para análise agronômica. As avaliações iniciaram por ocasião do florescimento de cada genótipo, fato que ocorreu no mês de novembro e dezembro de 2011 para *P. quadrangularis* e *P. cincinnata*, respectivamente. A frutificação dos indivíduos aconteceu no início de janeiro de 2012, tanto com os genótipos de maracujá-do-mato (*P. cincinnata*) quanto com os indivíduos de maracujá melão (*P. quadrangularis*).

Britto, F.F.,2012



B



**Figura 2-** Locais de cultivo.(A) Sistema de condução espaldeira com genótipos de *P. quadrangularis*; (B) Sistema de condução espaldeira com genótipos de *P. cincinnata*.

### 2.3 Caracterização botânico-agronômica

#### A) Caracterização morfológica



A caracterização morfológica dos genótipos foi realizada inicialmente mediante descritores morfológicos, sendo vinte e cinco quantitativos (dez florais e 15 vegetativos) e seis qualitativo (cinco florais e um vegetativo), totalizando 31 caracteres avaliados. Esses foram selecionados de acordo com descritores oficiais de *Passiflora* (MAPA, 2008) e alguns ausentes na lista como diâmetro da flor (DF), diâmetro do caule (DC), número de folhas por ramo (NFR), diâmetro do espiral da gavinha (DEG), comprimento do espiral da gavinha (CEG), área foliar (AFo), diâmetro dos ramos (DH), forma do perianto (ForPer) e forma dos filamentos da coroa (Fil), baseados na experiência prévia de pesquisadores.

Foram avaliadas as seguintes características morfológicas quantitativas: comprimento da pétala (CP) em mm, desde a inserção da flor até o ápice; largura da pétala (LP) em mm, na maior dimensão; comprimento da sépala (CS) em mm, desde a inserção na flor até o ápice; largura da sépala (LS) em mm, na maior dimensão; diâmetro da flor (DF) em mm, a partir dos pontos extremos da flor; diâmetro da coroa (DC) em mm, a partir dos pontos extremos dos filamentos da coroa; comprimento dos filamentos da série interna da coroa (CFC1) em mm e o comprimento dos filamentos da série externa da coroa (CFC2) em mm, a partir da inserção no receptáculo da flor até o ápice; comprimento da bráctea (CB) em mm, desde a inserção do pedúnculo até o ápice e largura da bráctea (LB) em mm, na maior dimensão; comprimento do nectário do pecíolo (CNP) em mm; largura do nectário do pecíolo (LNP) em mm; diâmetro de ramos (DR) em mm; comprimento de lâminas foliares (CLF) em mm; largura de lâminas foliares (LLF) em mm; comprimento do pecíolo (CPe) em mm; número de folhas/ramo (NFR); diâmetro do espiral da gavinha (DEG) em mm; comprimento do espiral da gavinha (CEG) em mm; área foliar (AF) em cm<sup>2</sup>; presença de tricomas da folha; margem e forma da folha; altura da planta em m; diâmetro do caule (DH) em mm, estas cinco últimas tendo sido feito uma única medição. Os dados quantitativos foram obtidos com auxílio de paquímetro digital e régua.

Com relação aos caracteres qualitativos, observou-se: período predominante de antese (Pant), coloração predominante no perianto (CorPer), coloração predominante da corona (CorCoro), forma dos filamentos da corona (Fil), forma do perianto (ForPer) e coloração predominante da folha (CorFolh).

Para os dados qualitativos, foram atribuídos códigos sequenciais numéricos, de acordo com descritores para *Passiflora* (MAPA,2008), exceto para a cor da folha, na qual foi utilizada a Carta de Cores de Munsell para Tecido Vegetal (MUNSSEL,1981).

### **B) Caracterização agrônômica**

A caracterização agrônômica teve sete descritores quantitativos e três qualitativos analisados: massa média dos frutos (g); comprimento dos frutos (cm); diâmetro equatorial dos frutos (cm); número de sementes por fruto; espessura do mesocarpo (cm); acidez dos frutos (%), teor de sólidos solúveis (°Brix), cor da casca do fruto, cor da polpa do fruto e formato do fruto.

Para a análise dos frutos, considerou-se uma amostra de sete frutos por genótipo, colhidos na máxima maturação fisiológica ainda presos à planta-mãe. As determinações da espessura do mesocarpo e comprimento e diâmetro do fruto foram feitas com paquímetro digital por leitura direta em cada amostra, sendo medidas em centímetros. A massa dos frutos foi obtida individualmente, numa balança fixa com 15 kg de capacidade e sensibilidade de 1 g. O teor de sólidos solúveis (°Brix) foi determinado por leitura direta em refratômetro manual, com os dados corrigidos pela temperatura. A acidez foi medida determinando-se a percentagem de ácido cítrico. O número de sementes foi contado fruto a fruto (Figura 3). Para a cor da casca e da polpa e o formato dos frutos, foram utilizados os códigos sequenciais numéricos, de acordo com descritores para *Passiflora* (MAPA, 2008).

Britto, F.F., 2012



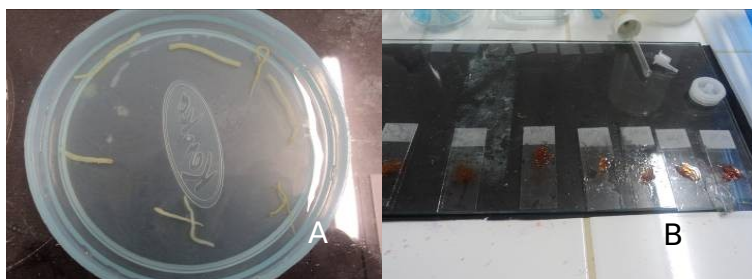
**Figura 3-** (A) Retirada de sementes do fruto de *P. quadrangularis*; (B) Sementes de frutos de *P. quadrangularis*; (C) Pesagem de polpa de frutos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*; (D) Titulação em frutos de *P. quadrangularis*.

## 2.4 Caracterização citogenética

Para a análise citogenética, foram coletadas pontas de raiz pré-tratadas com água destilada a 10°C, por 3 horas; em seguida, fixados em etanol acético (3:1) e mantidos a 7°C, durante 24hs. As lâminas foram

preparadas após lavagem e hidrólise em HCl 5N por 20 minutos, em seguida, foram esmagados em ácido acético 45%, congeladas para remoção da lamínula, secas ao ar, coradas convencionalmente com Giemsa 2% (GUERRA e SOUZA,2002)(Figura 4). As regiões organizadoras do nucléolo (NOR) também foram identificadas. As NORs são trechos dos cromossomos envolvidos no transcrito de genes ribossômicos e, de acordo com sua atividade na interfase que precede a mitose, possibilita visualização apenas do que é colorido pelo nitrato de prata. A coloração pelo nitrato de prata detecta NORs ativas (Ag-NOR), uma vez que o material corado não é o DNAr, mas sim um conjunto de proteínas, envolvidas no processo dos ribossomos (HOWELL; BLACK, 1980) (Figura 5). As melhores células foram capturadas com câmera fotográfica digital Sony, com resolução de 12.1 megapixels. Para a identificação do número cromossômico, pelo menos dez metáfases foram examinadas por indivíduo. Foi adotada a nomenclatura cromossômica sugerida por Guerra (1988).

Britto, F.F., 2012

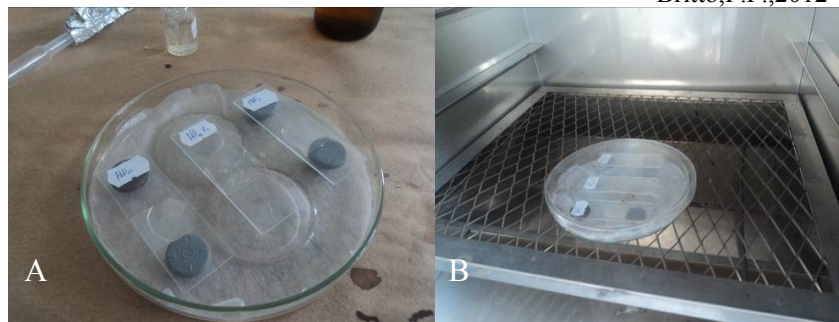


D



**Figura 4-** (A) Radícula de *P. cincinnata*; (B) Lâminas com raízes de *P. cincinnata* esmagadas e coradas; (C) Lâminas com lamínulas coradas com Carmim acético; (D) Lâminas imersas em Corante Giemsa.

Britto,F.F.,2012



**Figura 5-** (A) Lâminas com radículas marcadas com  $\text{AgNO}_3$ ; (B) Lâminas em estufa a  $37^\circ\text{C}$ .

### 3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Para as características morfológicas quantitativas, foram calculadas as médias aritméticas e os desvios padrões dos valores referentes a cada um dos descritores. O teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, possibilitou apresentação da diferença entre as médias das medidas dos frutos, empregando-se o delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se sete tratamentos e sete repetições. Células foram analisadas para estabelecimento de médias referentes à fase mitótica, número de cromossomos e regiões organizadoras de nucléolo (NOR).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Caracterização botânico-agronômica

#### A) Caracterização morfológica

Na Tabela 2 estão apresentados os valores mínimo, máximo, médio e desvio padrão de vinte caracteres morfológicos quantitativos para *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*.

A margem da folha dos genótipos de *P. cincinnata* apresenta-se serrilhada, tendo estas forma de folha inteira (Figura 6B). Não há tricomas nas folhas dos genótipos da espécie. A altura dos genótipos 01,02 e 03 de *P. cincinnata* tem 3,15m, 2,05m e 1,95m, bem como diâmetro do caule 11,76mm, 14,27mm e 8,81mm, respectivamente. O período de antese ocorreu entre 6hs30min e 19hs, a cor do perianto dos genótipos apresentou-se roxa (5) e côncava, a corona roxo intenso (5), os filamentos da corona ondulados (2) e bandeados com branco(Figura 7 A-D) e a cor da folha foi verde (10G), valores encontrados tanto nas instruções para execução dos

ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de maracujá do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento quanto na Carta de Cores de Munssel para tecido vegetal.

**Tabela 2-** Valores mínimo, máximo e médio e desvio padrão dos descritores morfológicos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*. UESB/Vitória da Conquista-BA,2012

<b>Espécie</b>	<b>Genótipo</b>	<b>CP (mm)</b>	<b>LP (mm)</b>	<b>CS (mm)</b>	<b>LS (mm)</b>
<i>P. cincinnata</i>	01	(41,93-50,03)45,40±2,47	(12,58-15,44)14,02±0,96	(35,00-41,49)38,51±2,28	(15,00-19,88)17,68±1,54
	02	(39,66-45,87)43,89±1,92	(10,79-14,28)12,78±1,31	(15,34-41,31)33,00±6,87	(12,27-22,08)17,27±2,9
	03	(39,43-47,7)45,19±2,80	(10,66-13,57)12,24±1,07	(36,32-42,51)38,40±2,11	(15,93-21,69)18,88±2,18
<i>P. quadrangularis</i>	04	(46,13-57,56)51,12±3,03	(15,56-20,15)17,39±1,75	(41,49-44,37)42,71±1,48	(14,86-20,21)18,06±1,81
	05	(50,24-57,91)53,52±2,65	(16,71-19,79)18,29±0,96	(44,92-50,67)49,01±1,88	(19,75-24,47)21,10±1,39
	06	(41,48-58,09)52,77±5,11	(20,66-31,17)23,31±3,46	(44,78-58,30)52,84±5,18	(23,62-28,83)26,62±1,55

CP- comprimento da pétala (mm); LP- largura da pétala (mm); CS- comprimento da sépala (mm); LS- largura da sépala (mm).



**Tabela 2-** Valores mínimo, máximo e médio e desvio padrão dos descritores morfológicos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*. UESB/Vitória da Conquista-BA, 2012 (continuação da Tabela 2).

<b>Espécie</b>	<b>Genótipo</b>	<b>DF (mm)</b>	<b>DC (mm)</b>	<b>CFC1 (mm)</b>	<b>CFC2 (mm)</b>
<i>P. cincinnata</i>	01	(76,19- 119,53)93,94±10,71	(56,53- 108,49)80,42±15,6 8	(43,31- 57,41)46,69±4,76	(48,40- 61,09)55,31±5,56
	02	(83,69- 106,36)92,43±8,96	(61,51- 95,56)83,46±9,37	(38,26- 50,48)44,34±3,58	(45,43- 54,29)50,45±3,00
	03	(82,41- 104,65)95,97±7,01	(71,42- 96,99)88,16±8,22	(41,43- 53,26)46,21±4,06	(43,96- 56,20)50,41±3,95
<i>P. quadrangularis</i>	04	(90,63- 112,69)102,12±7,36	(45,78- 55,48)50,18±3,00	(36,36- 43,82)39,92±2,28	(40,23- 54,52)49,67±4,26
	05	(87,86- 106,5)97,78±6,55	(30,49- 44,93)39,69±4,56	(39,92- 50,58)45,16±3,26	(46,77- 54,77)50,54±2,5
	06	(57,42- 106,88)85,28±15,39	(35,41- 58,58)50,42±6,92	(40,64- 49,79)44,97±2,97	(44,56- 54,71)49,02±3,47

DF – diâmetro da flor (mm); DC – diâmetro da coroa (mm); CFC1 e CFC2 – comprimento da primeira e segunda séries de filamentos da coroa (mm).

**Tabela 2-** Valores mínimo, máximo e médio e desvio padrão dos descritores morfológicos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*. UESB/Vitória da Conquista-BA, 2012 (continuação da Tabela 2).

<b>Espécie</b>	<b>Genótipo</b>	<b>CB (mm)</b>	<b>LB (mm)</b>	<b>CNP (mm)</b>	<b>LNP (mm)</b>
<i>P. cincinnata</i>	01	(29,88-33,11)31,47±1,15	(22,00-30,17)25,5±2,68	(0,61-1,37)1,04±0,24	(1,82-2,91)2,37±0,33
	02	(24,18-30,24)27,82±1,96	(18,45-25,16)20,83±2,22	(0,57-1,34)1,03±0,22	(1,43-2,79)2,06±0,39
	03	(24,18-31,68)28,99±2,28	(18,42-51,56)24,18±9,81	(0,70-1,47)1,06±0,21	(1,65-2,56)2,08±0,27
<i>P. quadrangularis</i>	04	(18,83-28,01)25,12±2,59	(8,98-17,38)12,5±2,21	(2,04-3,44)2,56±0,39	(1,58-2,25)1,91±0,24
	05	(22,08-35,66)29,82±3,83	(14,37-20,26)16,83±2,14	(2,42-3,77)3,17±0,4	(2,08-3,16)2,49±0,35
	06	(22,84-42,20)32,65±6,92	(13,59-23,62)18,82±3,31	(1,98-3,26)2,67±0,46	(1,66-2,47)2,1±0,3

CB - comprimento da bráctea (mm); LB - largura da bráctea (mm); CNP- comprimento do nectário do pecíolo (mm); LNP- largura do nectário do pecíolo(mm).

**Tabela 2-** Valores mínimo, máximo e médio e desvio padrão dos descritores morfológicos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*. UESB/Vitória da Conquista-BA, 2012 (continuação da Tabela 2).

<b>Espécie</b>	<b>Genótipo</b>	<b>DR (mm)</b>	<b>CLF (cm)</b>	<b>LLF (cm)</b>	<b>CPe (cm)</b>	<b>NFR (und.)</b>
<i>P. cincinnata</i>	01	(4,00-5,06)4,55±0,31	(4,4-7,4)5,96±1,09	(6,9-9,9)8,4±1,02	(1,8-3,1)2,62±0,41	(11-31)20,1±7,2
	02	(3,79-4,96)4,34±0,45	(5,2-9,1)6,54±1,24	(6,3-10,5)8,6±1,57	(2,5-4,3)3,46±0,59	(10-22)15,5±3,1
	03	(3,25-4,72)4,06±0,44	(5,0-7,6)6,26±0,97	(6,6-9,9)8,01±1,02	(2,0-3,5)3,05±0,49	(14-32)21,9±5,6
<i>P. quadrangularis</i>	04	(5,99-8,61)6,98±0,73	(9,5-17,5)13,88±2,48	(6,2-15,5)11,65±2,83	(2,3-5,5)3,76±0,95	(8-24)15,4±5,6
	05	(5,23-10,14)7,6±1,43	(11,4-19,1)14,68±2,03	(8,4-17,1)11,56±2,47	(2,4-4,6)3,68±0,79	(8-23)14,9±5,46
	06	(4,31-8,36)6,11±1,54	(13,8-22,8)18,46±2,6	(9,5-19,1)14,15±2,57	(2,8-7,0)4,77±1,22	(3-16)8,4±3,8

DR- diâmetro do ramo (mm); CLF- comprimento da lâmina foliar (cm); LLF- largura da lâmina foliar (cm); CPe - comprimento do pecíolo (mm); NRF –número de folha/ramo (und.).

**Tabela 2-** Valores mínimo, máximo e médio e desvio padrão dos descritores morfológicos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* UESB/Vitória da Conquista-BA, 2012 (continuação da Tabela 2).

<b>Espécie</b>	<b>Genótipo</b>	<b>CEG (mm)</b>	<b>DEG (mm)</b>	<b>AFo (cm<sup>2</sup>)</b>
<i>P. cincinnata</i>	01	(49,74-84,33)63,86±10,31	(3,10-7,15)5,02-1,15	(30,36-72,27)50,55-13,86
	02	(64,30-113,01)84,082±14,38	(3,25-9,36)5,95-1,84	(32,76-90,09)54,36-18,23
	03	(45,73-88,22)69,31±16,41	(3,22-8,54)5,51-1,75	(34,32-67,5)50,92-11,07
<i>P. quadrangularis</i>	04	(73,13-167,16)116,40±30,76	(3,84-7,63)5,14±1,16	(58,9-243,11)167,38±63,64
	05	(83,99-192,77)133,99±34,99	(3,22-7,14)5,22±1,46	(95,76-326,61)173,85±63,21
	06	(90,16-194,59)120,84±33,65	(2,61-5,26)4,09±1,02	(131,1-435,48)266,78±83,07

CEG- comprimento do espiral da gavinha (mm); DEG- diâmetro do espiral da gavinha (mm); AFo – área foliar (cm<sup>2</sup>).

Britto, F.F., 2012



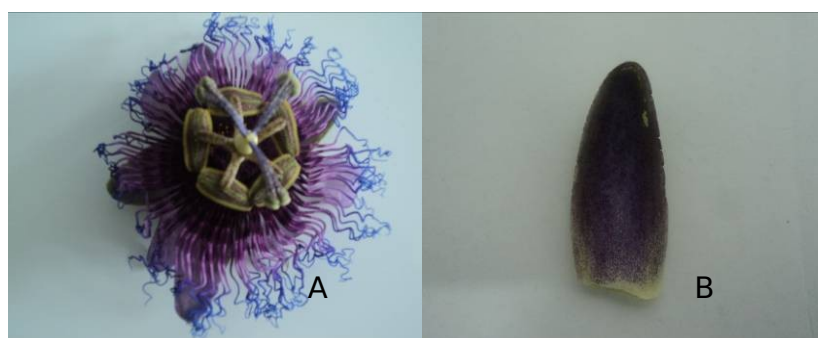
B



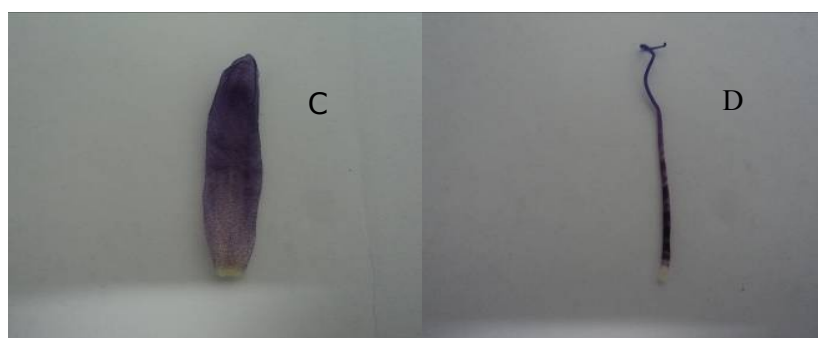
**Figura 6** - (A) Folha de *P. quadrangularis*; (B) Folha de *P. cinnamata*.

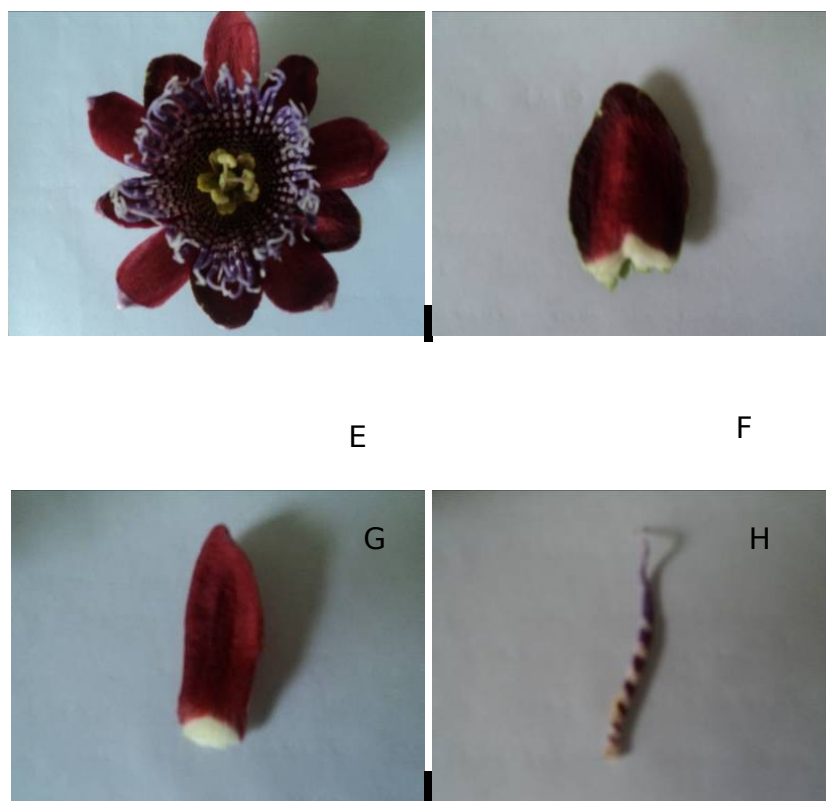
A folha dos genótipos de *P. quadrangularis* apresenta-se com margem e forma inteira (Figura 6A). Observa-se inexistência de tricomas nas folhas dos genótipos da espécie. As alturas dos genótipos 04, 05 e 06 de *P. quadrangularis* são, respectivamente, 2.05 m, 1.70 m e 1.98 m. Os diâmetros dos caules dos genótipos 04, 05 e 06 de *P. quadrangularis* são correspondentes a 17.07 mm, 18.14 mm e 16.31mm. O período de antese ocorreu entre 6hs e 18 hs30 min, a cor do perianto dos genótipos apresentou-se vermelho(3) e aplanado, a corona roxa (5), os filamentos da corona ondulados e bandeados (2) com branco e roxo (Figura 7 E-H) e a cor da folha foi descrita como verde (5G).

Britto, F.F.,2012



D





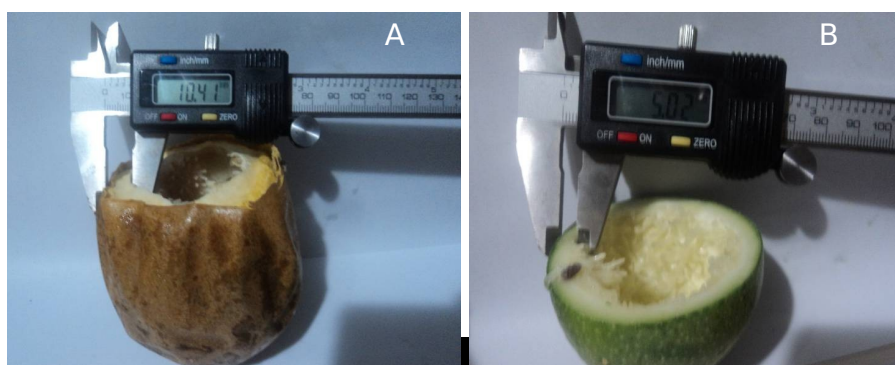
**Figura 7** - (A) Flor de *P.cincinnata*; (B) Sépala de *P. cincinnata*; (C) Pétala de *P. cincinnata*; (D) Filamento de corona de *P. cincinnata*; (E) Flor de *P.quadrangularis*; (F) Sépala de *P.quadrangularis*; (G) Pétala de *P.quadrangularis*; (H) Filamento de corona de *P.quadrangularis*.

## B) Características agronômicas

Os dados da avaliação dos frutos dos genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* encontram-se na Tabela 3. A massa do fruto dos genótipos de *P.quadrangularis* foi superior aos de *P. cincinnata*. Os indivíduos 04 e 05, com relação ao comprimento e diâmetro equatorial do fruto, apresentaram-se com produtos maiores. Para o número de sementes, foi observada diferença significativa entre os genótipos de *P. cincinnata* 01 e de *P.quadrangularis* 04, tendo o primeiro valores mais elevados que o segundo. Quanto à espessura do mesocarpo, o genótipo de *P. quadrangularis* 06 é

maior que o genótipo 04 desta espécie, bem como aqueles da espécie *P. cincinnata*, no entanto, não difere significativamente da planta 05 de *P. quadrangularis*, que, por sua vez, assemelha-se estatisticamente ao genótipo 04 de *P. quadrangularis* (Figura 8). Os teores de SS (°Brix) foram maiores nos genótipos 04 e 05 de *P. quadrangularis*, e o genótipo 06 de *P. quadrangularis*, apesar de menor que os outros da mesma espécie, teve seus produtos agrícolas superiores aos indivíduos de *P. cincinnata*. Quanto à porcentagem de acidez, o genótipo 01 de *P. quadrangularis* foi maior que aqueles de *P. cincinnata*, porém, não diferiu significativamente dos outros indivíduos de *P. quadrangularis*. Segundo Cunha e outros (2004) e Melleti e outros (2002), o gênero *Passiflora* apresenta ampla variabilidade genética natural.

Britto, F.F.,2012



**Figura 8** - Medição de espessura de mesocarpo (mm). (A) Fruto de *P. quadrangularis*; (B) Fruto de *P. cincinnata*.



**Tabela 3-** Médias de características dos frutos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*. Vitória da Conquista, UESB (BA), 2012.

Genótipos de Passiflora	Massa fruto (g)	Compr. Fruto (cm)	Ø Equat. Fruto (cm)	Número Semente fruto	Esp. mesoc. (cm)	Teor SS (°Brix)	Teor acidez (%)
<i>P. cincinnata I</i>	158,1 bc	6,5 c	7,1 b	391,4 <sup>a</sup>	0,59 c	5,00 c	6,33 b
<i>P. cincinnata II</i>	160,4 b	7,0 c	6,9 bc	348,5ab	0,57 c	5,07 c	5,91 b
<i>P. cincinnata III</i>	123,2 c	6,4 c	6,4 c	324,1ab	0,52 c	4,37 c	6,07 b
<i>P. quadrangularis I</i>	217,7a	9,2 b	7,1 b	261,2 b	0,92 b	9,27 a	7,83a
<i>P. quadrangularis II</i>	233,1a	10,7a	7,8a	313,3ab	1,08ab	10,28a	6,68ab
<i>P. quadrangularis III</i>	252,1a	11,3a	8,1a	354,1ab	1,19a	7,12 b	6,60ab

**compr.**= comprimento, **Ø equat.**= diâmetro equatorial, **esp. mesoc.**= espessura do mesocarpo; **SS**= sólidos solúveis; médias acompanhadas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A coloração da casca do fruto de *P. cincinnata* apresentou-se verde (1), a cor da polpa foi identificada como amarela alaranjada (4) e o formato dos frutos arredondados e oblongos (2-3). Nos frutos de *P. quadrangularis*, observou-se cor amarela (2), a polpa com coloração esbranquiçada (1) e a forma dos frutos oval (1) (Figura 9), observada nas instruções do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Britto, F.F., 2012



C



**Figura 9-** (A) Fruto de *P. cincinnata* Mast.; (B) Fruto de *P. quadrangularis* L.; (C) Comparação da dimensão dos frutos de *P. cincinnata* (a esquerda) e *P. quadrangulares* (a direita).

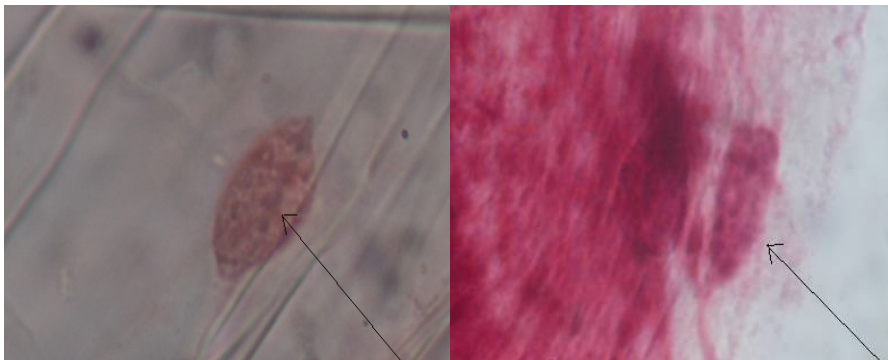
#### 4.2 Características citogenéticas

As espécies analisadas, *Passiflora cincinnata* e *Passiflora quadrangularis*, apresentaram cariótipos com  $2n=18$ , identificadas pelas respectivas metáfases (Figura 10). Os cromossomos dos genótipos de *P. cincinnata* sinalizaram menor comprimento do que os indivíduos de *P. quadrangularis*. Com relação às regiões organizadoras do nucléolo-NOR, houve também similaridade entre o número de sítios, entretanto, observa-se maior atividade no material da espécie *P. quadrangularis* (Figura 11). A Tabela 4 sumariza as características citogenéticas dos materiais estudados.

**Tabela 4** - Lista de espécies e genótipos de *Passiflora* analisados, incluindo local de coleta e herbário, além de características citogenéticas avaliadas em células mitóticas. NC= número cromossômico, Ag-NOR=bandeamento de Regiões Organizadoras do Nucléolo a partir de nitrato de prata. Vitória da Conquista-Ba/UESB, 2012

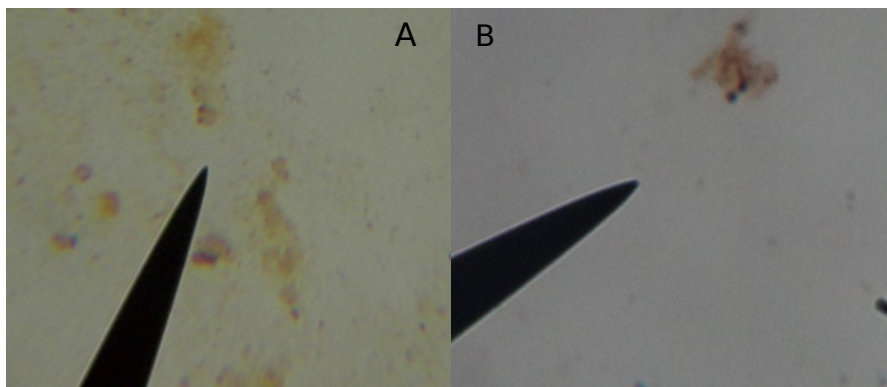
Espécie /Genótipo	Procedência	Herbário	NC(2x)	Ag- NOR
<i>P. cincinnata I</i>	Vitória da Conquista-BA	01	18	2 regiões
<i>P. cincinnata II</i>	Vitória da Conquista-BA	02	18	2 regiões
<i>P. cincinnata III</i>	Vitória da Conquista-BA	03	18	2 regiões
<i>P. quadrangularis I</i>	Seabra-BA	04	18	2 regiões
<i>P. quadrangularis II</i>	Seabra-BA	05	18	2 regiões
<i>P. quadrangularis III</i>	Seabra-BA	06	18	2 regiões

Britto,F.F.,2012



**Figura 10** - (A) Metáfase em *P.cincinnata* 02; (B) Metáfase em *P.quadrangularis* 06.

Britto, F.F., 2012



**Figura 11** - (A) Duas Regiões Organizadoras de Nucléolo em *P. cincinnata*; (B) Duas Regiões Organizadoras de Nucléolo em *P. quadrangulares*.

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização morfológica

Os genótipos de *P. cincinnata* apresentam valores menores com relação ao DF do que aqueles encontrados por Araújo e outros (2008) de 164,5 mm. O CPC1 e CPC2 dos trabalhos de CERVI (1997) variaram de 30-50 mm e 20-40 mm, respectivamente, medidas inferiores às observadas nos indivíduos analisados neste trabalho. Para a variável CP e LP, foram observados valores menores do que os encontrados por Nunes e Queiroz (2006).

Os descritores morfológicos auxiliam na diferenciação de espécies de *Passiflora*. Espécimes de *P. cincinnata* e *P. caerulea* podem ser confundidas, devido às folhas pentalobadas, tornando-se perceptivelmente diferentes pela observação do tamanho de suas flores. Uma das estratégias para diferenciá-las encontra-se na observação da coloração dos filamentos da coroa, que são maiores em comprimento do que as pétalas, e de coloração arroxeadas em *P. cincinnata*, no entanto, são menores do que as pétalas, e de coloração azulada em *P. caerulea* (NUNES e QUEIROZ, 2006).

Análise do DH permitiu notar variação próxima a 4,5-10,10 mm, encontrado por Araújo e outros (2008). A área foliar apresentou valores bem inferiores ao intervalo de 221,4 e 732,00, encontrados por Araújo e outros (2008). Além destas características observadas, existem estudos considerando os aspectos vegetativos em algumas espécies de *Passiflora*, porém, em estágio de muda (SILVA e outros, 2004). O estudo vegetativo é importante para avaliar o crescimento e desenvolvimento das plantas, uma vez que as folhas constituem o aparato fotossintético e são responsáveis pela

produção de carboidratos, que serão alocados para os órgãos vegetativos e reprodutivos das mesmas (BASTOS e outros, 2002).

Utilizando os descritores qualitativos, foi notada antese no turno matutino para ambas as espécies, semelhante ao observado por Kill e outros, (2010) e Auler e outros, (2004) em *P. cincinnata*. O fato das espécies investigadas terem este comportamento similar permite que haja cruzamento entre as mesmas. O vermelho púrpura (SOUZA e outros, 2010) das flores do maracujá melão é, geralmente, devido a um tipo de flavonoide chamado antocianina, pigmento que, possivelmente, conferiu perianto dos genótipos de *P. quadrangularis* à cor vermelha. O perianto de *P. cincinnata* apresentou-se roxo. Cervi (1997) classificou as pétalas e sépalas das *P. cincinnata* como violáceas.

As folhas tiveram determinação conforme formato H V/C da carta de Munsell, no qual o parâmetro H refere-se ao comprimento de onda de luz, V refere-se ao brilho ou tonalidade, varia de 0 a 10, e C refere-se à intensidade ou pureza da cor, variando de 0 a 12 ou mais (BOTELHO e outros, 2006). Conforme a Carta de Munsell, a cor da folha foi verde (10G) para *P. cincinnata* e (5G) para *P. quadrangularis*, variando quanto ao nível de luminosidade e saturação. Os filamentos em ambas as espécies mostraram-se com predominância roxa, e apresentaram bandeamento branco. Nos indivíduos *P. cincinnata*, os filamentos são totalmente ondulados e *P. quadrangularis* com ondulações apenas no ápice. Nunes e Queiroz (2006), em *P. cincinnata*, observaram cor semelhante com ondulações no ápice.

## 5.2 Caracterização agronômica

As medidas dos frutos podem fornecer informações importantes para a caracterização de aspectos agronômicos das espécies, constituindo também instrumento relevante para detectar a variabilidade genética dentro de populações e as relações entre esta variabilidade e os fatores ambientais. Estes, por sua vez, contribuem em estudos sobre a diversidade genética,

conservação e exploração dos recursos de valor econômico (GUSMÃO e outros, 2006).

Comprimento e diâmetro do fruto são parâmetros relacionados com o número de sementes (NASCIMENTO e outros, 1996) e estas, ao rendimento de suco (FORTALEZA e outros, 2005), sendo, portanto, características interessantes tanto para frutos *in natura* quanto para industrialização.

No maracujá amarelo, Farias e outros (2005) encontraram valores médios de 11,46 ° Brix. Chen e outros (1991) relatam valores médios de 15,5 ° Brix, Nascimento e outros (2003) citam valores de 16,2° Brix e Gamarra Rojas e Medina(1996), 16,8 ° Brix. De acordo com Nascimento e outros (2003), as diferenças nos teores de sólidos solúveis, reportadas nos trabalhos com maracujá amarelo, podem ser consequências da variabilidade inerente à forma *flavicarpa*. Os genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*, analisados neste trabalho, apresentaram teores de sólidos solúveis abaixo daqueles investigados na literatura anteriormente citada.

O fruto do maracujazeiro é classificado como uma baga, com epicarpo às vezes lignificado e mesocarpo com espessura variando de 0,5 a 4,0 cm (DURIGAN e outros, 2004), intervalo que enquadra tanto valores encontrados nos genótipos de *P. cincinnata* quanto nos de *P. quadrangularis*. O tamanho e o formato são diferenciados conforme a espécie (SILVA e SÃO JOSÉ, 1994). No maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f.*flavicarpa* Deg.), o diâmetro varia de 4,9 a 7,8 cm, o comprimento de 5,4 a 10,4 cm, com peso de fruto entre 52,5 e 153,4 g (MELETTI e outros, 1992). Dos indivíduos medidos neste trabalho, os genótipos 01 e 02 de *P. cincinnata* e todos de *P. quadrangularis* apresentam pesos superiores ao *P. edulis* citado; com relação ao comprimento, os acessos 05 e 06 de *P. quadrangularis* têm maiores valores que o maracujá amarelo relatado e os diâmetros dos frutos, em média, do indivíduo 06 de *P. quadrangularis* encontram-se acima daquele apontado por MELETTI e outros (1992).

### 5.3 Caracterização citogenética

O gênero *Passiflora*, bem como os demais gêneros de passifloráceas, tem sido muito pouco estudado citologicamente. As mais amplas contagens cromossômicas foram realizadas por Bowden (1945), Beal (1969a), Storey (1950), Guerra (1986) e Snow e MacDougal (1993). A escassez nas análises pode ser relacionada com a dificuldade de germinação das sementes das espécies e pelo pequeno tamanho dos cromossomos no gênero (JUNQUEIRA e outros, 2005), como observado para obtenção de dados neste trabalho.

As espécies estudadas no gênero *Passiflora* possuem amplitude significativa para tamanho e número de cromossomos, podendo ser agrupadas segundo o número básico de cromossomos ( $x$ ) em três grupos:  $x=6$ ,  $x=9$  e  $x=9$  ou  $10$ , que estão em maior frequência, mas há registro para  $x=7,10,11,12,32$  e  $42$  (JUNQUEIRA e outros, 2005). No caso das espécies estudadas neste trabalho, o número básico de cromossomos foi  $x=9$ .

A presença em genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* de um mesmo número básico de cromossomos, como observado neste trabalho, favorece o cruzamento interespecífico entre os mesmos. Em geral, não se encontram barreiras muito fortes para hibridação entre espécies de *Passiflora*, pois apenas algumas combinações não são bem sucedidas (TORRES e MARTIN, 1974).

Moraes-Fernandes e outros (2000) enfatizam que o conhecimento sobre relações citotaxonômicas, estrutura citogenética e história evolutiva das espécies envolvidas nos cruzamentos é importante para a escolha da espécie doadora de características como resistência a doenças, e fornecem



contribuição valiosa ao melhoramento varietal (MORAES-FERNANDES, 1982).

A identificação de dois satélites ou regiões organizadoras de nucléolo nos braços dos cromossomos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* corroboram Souza e outros (2003), que apontaram o mesmo número de satélites em *P. alata* Dryand., *P. malacophylla* Mast., *P. edmundoi* Sacco, *P. mucronata* Lam., *P. galbana* Mast. e *P. quadrangularis* L..

O DNA ribossômico (DNAr) é responsável pela síntese de proteínas por meio da transcrição dos diferentes tipos de RNAr. Esses genes estão localizados em porções que, após a compactação, formam as constrições secundárias, denominadas regiões organizadoras de nucléolos ou RONS (JUNQUEIRA e outros, 2005). Neste trabalho, houve observação de regiões maiores nos genótipos de *P. quadrangularis*, apontando atividade superior nas regiões genéticas anteriormente citadas.

## 6 CONCLUSÕES

Os genótipos 02 de *P. cincinnata* e 06 de *P. quadrangularis* apresentaram-se mais divergentes quanto às características morfológicas, em especial, quanto ao comprimento da pétala.

*Passiflora cincinnata* e *P. quadrangularis* apresentam divergências relacionadas às características dos frutos em termos de espessura do mesocarpo e comprimento e largura do fruto.

Ambos os genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* mostraram  $2x=18$ , bem como duas Regiões Organizadoras do Nucléolo, sendo a NOR da última espécie mais evidente que a primeira.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, P. P. et al. Passion flower hybrids and their use in the ornamental plant market: perspectives for sustainable development with emphasis on Brazil. **Euphytica**, v.166, p. 307-315, 2009.
- APONTE, Y.; JÁUREGUI, D. Algunos aspectos de la biología floral de *Passiflora cincinnata* Mast. **Revista de la Facultad de Agronomía**, Universidad del Zulia, v. 21, n. 3, p. 211- 219, 2004.
- ARAÚJO, F. P.; SILVA, N. S.; QUEIROZ, M. A. Divergência genética entre acessos de *Passiflora cincinnata* Mast com base em descritores morfoagronômicos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p. 723-730, 2008.
- ARAUJO, F. P. **Caracterização da variabilidade morfoagronômica de maracujazeiro (*Passiflora cincinnata* Mast.) no semi-árido brasileiro**. 2007. 94f. Tese (Doutorado em Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.
- AULER, N. M. F.; BATTISTIN, A.; REIS, M. S. Número de cromossomos, microsporogênese e viabilidade do pólen em populações de carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) DC.] do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 2, p. 55-63, 2004.
- BASTOS, E.A. et al. Parâmetros de crescimento do feijão caupi sob diferentes regimes hídricos. **Engenharia. Agrícola**, v.22, n.1, p.43-50, 2002.
- BENKO-ISEPPON, A. M. Estudos moleculares e citogenéticos no Caupi e em espécies relacionadas: Avanços e perspectivas. EMBRAPA Documentos, v. 56, p. 327-332, 2001.
- BERNACCI, L. C. et al. Espécies de maracujá: caracterização e conservação da biodiversidade. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**, Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 559-586 p, 2005.

BOTELHO, M. R. et al. Medida da cor em solos do Rio Grande do Sul com a carta de Munsell e por calorimetria. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n.4, p 1179-1185, 2006.

BOWDEN, M. W. A list of chromosome numbers in higher plants.II *Menispermaceae* to *Verbenaceae*. **American Journal of Botany**, v. 32, p. 191-201, 1945.

CERVI, A. C. *Passifloraceae* do Brasil. Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. **Fonqueria**, Madri, v. 45, 95p, 1997.

CHEN, C. S. et al. Evaluation of citrus processing system for passion fruit juice concentration. **Proceeding Florida State Horticultural Society**, Winter Haven, v. 104, n. 104, p. 51-54, 1991.

CUNHA, M. A. P. et al. In: LIMA, A. A.; CUNHA, M. A. P. **Maracujá: produção e qualidade na passicultura**. Embrapa Mandioca e Fruticultura – Cruz das Almas. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, p. 13-36, 2004.

DURIGAN, J. F. et al. Qualidade e Tecnologia Pós-colheita do Maracujá. In: LIMA, A. A.; CUNHA, M. A. P. **Maracujá: Produção e qualidade na Passicultura**. Cruz das Almas: EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, 2004.

FARIAS, M. A. A. et al. Caracterização física e química de frutos de maracujá amarelo de ciclos de seleção massal estratificada e de populações regionais. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 17, n. 2, p. 83-87, 2005.

FERREIRA, F. R. Germoplasma de passiflora no Brasil. In: SÃO JOSÉ, A.R. (Ed.), **Maracujá: Produção e Mercado**. Vitória da Conquista: UESB, p. 24-26, 1994.

FORTALEZA, J. M. et al. Características físicas e químicas em nove genótipos de maracujá-azedo cultivado sob três níveis de adubação potássica. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 124-127, 2005.

GAMARRA ROJAS, G.; MEDINA, V. M. Mudanças bioquímicas do suco de maracujá-amarelo em função da idade do fruto. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz da Almas, v. 18, n. 1, p. 75-83, 1996.

GUERRA, M. **Introdução a citogenética geral**. Guanabara. Rio de Janeiro, 1988.

GUERRA, M. Chromosome number variation and evolution in Monocots. In: Wilson, K. L.; Morrison, D. A. (Eds.). **Monocots: systematics and evolution**. CSIRO, Melbourne, p. 127-136, 2000.

GUERRA, M. S. Citogenética de Angiospermas coletadas em Pernambuco. **Revista Brasileira Genética**, v. 9, p. 21-40, 1986.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. Como Observar os Cromossomos: Um Guia de Técnicas em Citogenética Vegetal, Animal e Humana. In: Guerra M., Souza M. J. (eds.) **Como analisar os cromossomos mitóticos**. FUNPEC, São Paulo, pp.23-38. 2002.

GUSMÃO, E.; VIEIRA F. A.; FONSECA – JUNIOR, E. M. Biometria de frutos e endocarpos de murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss.). **Cerne**, Lavras, v. 12, n. 1, p. 84 - 91, 2006.

HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer; a 1 step method. **Experientia**, v. 36, p. 1014- 1015, 1980.

JUNQUEIRA, N. T. V. et al. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO F.G., JUNQUEIRA N.T.V., BRAGA M.F. (Eds.), **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 81-108p, 2005.

KILL, L. H. P. et al. Biologia reprodutiva de *Passiflora cincinnata* Mast. (Passifloraceae) na região de Petrolina (Pernambuco, Brazil). **Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 1, p. 115-127, 2010.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2008. Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de Passiflora. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 28 dez. 2012.

MARGARIDO, V. P.; GALETTI P. M. Amplification of a GC-rich heterochromatin in the freshwater fish *Leporinus desmotes* (Characiformes, Anostomidae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 3, p. 569-573, 2000.

MELETTI, L. M. M. et al. Caracterização de germoplasma de maracujazeiro (*Passiflora sp*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 14, n.2, 1992.

MELETTI, L. M. M. et al. Novas tecnologias melhoram a produção de mudas de maracujá. **O Agrônômico**, Campinas, v.54, n.1, p.30-33, 2002.

MORAES-FERNANDES, M. I. B. de. Citogenética. In: OSÓRIO, E. A. (Ed.). **Trigo no Brasil**. Campinas: Fundação Cargill, p. 95-144, 1982.

MORAES-FERNANDES, M. I. B. et al. Cytogenetics and immature embryo culture at Embrapa Trigo breeding program: transfer of disease resistance from related species by artificial resynthesis of hexaploid wheat (*Triticum*

*aestivum* L. em Thell). **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p. 1051-1062, 2000.

MUNSELL, A. H. **A color notation**. Baltimore; Maryland: Macbeth, A division of Kollmorgen Coporation, 67p, 1981.

NASCIMENTO, T. B. **Qualidade do maracujá-amarelo produzido em diferentes épocas no sul de Minas Gerais**. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras. 1996.

NASCIMENTO, W. M. O. et al. Seleção de progênies de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) quanto à qualidade de frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 186-188, 2003.

NUNES, T. S.; QUEIROZ, L. P. A Família Passifloraceae na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. **Sitientibus**, v. 1, n. 1, p. 33-46, 2001.

NUNES, T. S.; QUEIROZ, L. P. Flora da Bahia: Passifloraceae. **Sitientibus**, v.6, n.3, p. 194- 226, 2006.

OLIVEIRA, J. C. de.; RUGGIERO, C. **Recursos Genéticos de Passiflora**. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Ed.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, cap. 6, p. 143-158, 2005a.

OLIVEIRA, J. C. et al. Variações observadas em frutos de *Passiflora alata* Ait. **Proceedings of the tropical region** – American Society of Horticultural Science, v. 25, p. 343-345. 1982.

OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. Espécies de Maracujá com potencial agrônomo. In FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (eds). **Maracujá Germoplasma e melhoramento genético**. Embrapa Cerrados, p. 141 – 158, 2005b.

OLIVEIRA, S. P. **EFEITO DA PODA E DE ÉPOCAS DE COLHEITA SOBRE CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DA MANDIOCA**. Vitória da Conquista, 74p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista. 2007.

RAMOS, S. R. R.; QUEIROZ, M. A. Caracterização morfológica: experiência do BAG de Cucurbitáceas da Embrapa Semi-Árido, com acessos de abóbora e moranga. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 17, p. 9-12, 1999.

SILVA, A. C.; SÃO JOSÉ, A. R. Classificação botânica do maracujazeiro. In; SÃO JOSÉ, A. R. (ED.) **Maracujá: produção e mercado**. Vitoria da Conquista: DFZ/UESB, cap.1, 1994.

- SILVA, M. A. et al. Crescimento de mudas de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis) associadas a fungos micorrízicos arbusculares (Glomeromycota). **Acta Botânica Brasilica**, v. 18, n.4, p. 981-985, 2004.
- SNOW, N.; MACDOUGAL, J. P. New Chromosomes Reports in *Passiflora* (Passifloraceae). **Syst. Bot.**, v. 18, n. 2, p. 261-273, 1993.
- SOUZA, L. S. et al. Índice de cruzabilidade entre espécies de passifloras nas condições do Distrito Federal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, FRUTAS DO BRASIL: SAÚDE PARA O MUNDO, 2006. Cabo Frio. **Palestras e Resumos...** p.244, 2006.
- SOUZA, M. M. et al. Karyotype of six *Passiflora* species collected in the state of Rio de Janeiro. **Cytologia**, v.68, p. 165-171, 2003.
- SOUZA, M. M.; VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S. A putative mutant of a self-compatible yellow passion fruit with the corona color as a phenotypic marker. **Bragantia**, v. 69, n. 1, p. 9-16, 2010.
- STOREY, W. B. Chromosomes numbers of some species of *Passiflora* occurring in Hawaii. **Pacific Science**, v. 4, p. 37-42, 1950.
- SYBENGA, J. Forty years of cytogenetics in plant breeding a personal view. In: LELLEY, T. **Current Topics in plant cytogenetics related to plant improvement**. Viena: Universitäts Verlag, p. 22-33, 1998.
- TORRES, R. R.; MARTIN, F. W. First-Generation hybrids of edible passion fruit species. **Euphytica**, v. 23, p. 61-70, 1974.
- VASCONCELLOS, M. A.; BRANDÃO FILHO, J. U. T.; VIEITES, R. L. Maracujá-doce. In: BRUKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. (Ed.). **Maracujá: Tecnologia de produção, Pós-colheita, Agroindústria, Mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, p. 387-408, 2001.
- ZUCARELLI, V. **Germinação de sementes de *Passiflora cincinnata* Mast: Fases, Luz, Temperatura e Reguladores Vegetais**. 2007. 111p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, 2007.

## CAPITULO 3

### **DETERMINAÇÃO DO SISTEMA REPRODUTIVO DE PARENTAIS PARA PRODUÇÃO DE HÍBRIDOS ENTRE *P. cincinnata* Mast. e *P.* *quadrangularis* Linn.**

#### **1. INTRODUÇÃO**

A família Passifloraceae compreende 20 gêneros (SOUZA e LORENZI, 2005), dos quais o gênero *Passiflora* é o mais importante (PÉREZ e outros, 2007), compreendendo aproximadamente 530 espécies (FEUILLET e MACDOUGAL, 2007), dispersas nas regiões pantropicais. O Brasil e a Colômbia são os países com maior número de espécies (NUNES e QUEIROZ, 2006). Cerca de 120 espécies são nativas do Brasil (BERNACCI e outros, 2003), sendo 32 delas encontradas na Bahia, das quais algumas como *P. mucugeana* (NUNES e QUEIROZ, 2006) e *P. cacaoensis* (VIANA e outros, 2009) são consideradas endêmicas.

Conhecer a fenologia é fundamental do ponto de vista ecológico por fornecer parâmetros para a conservação e exploração racional, conciliando sustentabilidade com economicidade (MELLINGER e RICHERS, 2005), lembrando que, em experimentos de hibridação interespecífica, informações referentes ao florescimento são imprescindíveis, auxiliando na escolha dos genitores, cujo florescimento seja sincronizado (BELO, 2010).

A fenologia auxilia no entendimento da ocorrência de eventos biológicos repetitivos e sua relação com mudanças no meio biótico e abiótico (SILVA e outros, 2007). O estudo da fenologia pode ser realizado em seis níveis: única flor, planta individual, planta dioica, população, comunidade e aspecto filogenético (DAFNI, 1992).



A maioria das espécies de maracujá, mesmo apresentando flores completas, é incapaz de realizar autopolinização. Esse mecanismo é importante para manter altos níveis de heterozigose, uma vez que induz alogamia e, conseqüentemente, contribui para o aumento da variabilidade genética (LOSS e outros, 2006). A polinização cruzada em *Passifloras* ocorre principalmente pela autoincompatibilidade (BRUCKNER e outros, 2002).

Os estudos referentes à biologia da reprodução das plantas são importantes, pois contribuem para sua conservação e manejo sustentado (LENZI e outros, 2005), e interferem diretamente na escolha do método a ser utilizado nos programas de melhoramento genético (ALLARD, 1960).

A determinação das estratégias a serem adotadas em um programa de melhoramento genético de plantas é fortemente influenciada pela biologia reprodutiva da espécie, especialmente quando se utilizam técnicas de polinização artificial para hibridação de espécies. Dessa maneira, a possibilidade de cruzamento entre progenitores selecionados requer também o conhecimento nos indivíduos a serem cruzados, do período em que o estigma encontra-se receptivo ao grão de pólen (STIEHL-ALVES e MARTINS, 2008). Essas informações são importantes, pois favorecem o planejamento e a execução das estratégias a serem adotadas em cruzamento, reduzindo, assim, mão de obra e tempo despendidos (COSTA e outros, 2008).

O estudo da estabilidade meiótica, juntamente com a análise da viabilidade do grão de pólen, permite indicar o potencial para cruzamentos de uma planta, fornecendo subsídios para usos futuros em programas de seleção, cruzamento e produção de sementes viáveis (VARGAS e outros, 2004).

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi estudar os parâmetros fenológicos mais comuns: taxa de florescimento (TF), pico de florescimento e intensidade relativa de florescimento (%IRF) (OLLERTON e DAFNI, 2005), a compatibilidade intraespecífica, o comportamento meiótico, a

viabilidade polínica e a receptividade estigmática de *Passiflora cincinnata* e *P. quadrangularis*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal

Foram avaliados seis genótipos, sendo três de *P. cincinnata* Mast e três de *P. quadrangularis* Linn. Os genótipos utilizados (Tabela 5) são do campo experimental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), situado no município de Vitória da Conquista, Bahia (14° 51' Latitude Sul, 40° 50' Latitude Oeste, à uma altitude de 928m).

**Tabela 5** - Lista de *Passiflora cincinnata* e *P. quadrangularis*, procedência e seus respectivos números de classificação no herbário. Vitória da Conquista-Ba/UESB, 2012.

Espécie	Procedência	Genótipos
<i>P. cincinnata</i> Conquista-Ba	Vitória da	01
<i>P. cincinnata</i> Conquista-Ba	Vitória da	02
<i>P. cincinnata</i> Conquista-Ba	Vitória da	03
<i>P. quadrangularis</i>	Seabra-Ba	04
<i>P. quadrangularis</i>	Seabra-Ba	05
<i>P. quadrangularis</i>	Seabra-Ba	06

### 2.2 Condições de cultivo

As plantas foram mantidas sob sistema de condução do tipo espaldeira, em campo aberto. Mensalmente, foram realizadas podas e a

adubação com a formulação NPK (4-14-8) a cada 60 dias, durante 1 ano. A irrigação foi realizada pelo sistema de gotejamento. As avaliações iniciaram por ocasião do florescimento de cada genótipo, fato que ocorreu no mês de novembro de 2011 com os genótipos de *Passiflora quadrangularis* e no mês de dezembro de 2011 nos genótipos de *P. cincinnata*. A frutificação dos acessos das duas espécies aconteceu no início de janeiro de 2012.

### 2.3 Estudo da fenologia do florescimento

O número de flores foi registrado diariamente em todas as plantas em estudo, de dezembro de 2011 a janeiro de 2012, para obtenção dos seguintes dados: a) épocas de início do florescimento; b) horário da abertura da flor; c) número de flores abertas por planta/dia.

Com base nesses dados, foram calculados (DAFNI, 1992):

. Taxa de florescimento (TF): percentagem cumulativa de flores na antese.

$$TF = \frac{\text{N}^\circ \text{ total flores}}{\text{N}^\circ \text{ de dias}}$$

. Pico de florescimento: maior nº de flores alcançadas em um dia.

. Intensidade relativa de florescimento (%IRF): incremento percentual cumulativo de flores ao dia:

$$\%IRF = \frac{\text{N}^\circ \text{ de flores no dia de pico}}{\text{N}^\circ \text{ total de flores abertas}} \times 100$$

### 2.4 Estudo de compatibilidade intraespecífica

Os estudos de compatibilidade intraespecífica foram realizados mediante estimativas da taxa de autoincompatibilidade. Para isso, foram realizados os seguintes tipos de polinização: polinização aberta, polinização cruzada controlada e autopolinização controlada. Para observação de polinização aberta, botões florais próximos à antese foram marcados com fitas coloridas, posteriormente, foram contadas as flores com frutos em

início de desenvolvimento. Para estimativa da autopolinização controlada, botões florais próximos à antese foram protegidos com sacos de papel um dia antes da abertura. As flores foram autopolinizadas com auxílio de cotonete e protegidas novamente por sacos de papel, por 24h após a polinização. Para estimativa da polinização cruzada controlada, as flores foram emasculadas antes do momento da abertura e protegidas com sacos de papel. Os estigmas foram polinizados com pool de pólen de diferentes plantas (polinização cruzada), e as flores foram novamente protegidas por 24h. Para todos os casos (polinização aberta e controlada), dez flores foram utilizadas e depois de polinizadas foram identificadas por fitas coloridas e, cinco dias após a polinização, foi verificada a taxa de pegamento. O número de frutos originários das polinizações foi registrado e os mesmos foram cobertos com sacos de papel para proteção contra queda no amadurecimento (BRUCKNER e OTONI, 1999). Os dados obtidos foram utilizados nas estimativas das taxas de autopolinização e autoincompatibilidade. Os dados referentes ao percentual de frutos vingados em relação ao número de flores polinizadas por tipo de polinização foram submetidos à análise de variância e teste de médias (Tukey,  $p < 0,05$ ). As análises foram realizadas no programa SISVAR (FERREIRA, 2008).

#### **2.4.1 Estimativa da taxa de autoincompatibilidade**

Foi utilizado o índice ISI (“Index to measure Self-Incompatibility”), de acordo com Dafni (1992):  $ISI = N^{\circ} \text{ de frutos provenientes de autopolinização} \div N^{\circ} \text{ de frutos de polinização cruzada (ambas controladas)}$ . Os valores de ISI refletem as seguintes possibilidades:

- a)  $>1$  autoincompatibilidade;
- b)  $>0.2 < 1$  parcialmente autoincompatível;
- c)  $<0.2$  quase autoincompatível;
- d)  $0$  autoincompatível.

#### **2.4.2 Classes de autoincompatibilidade**

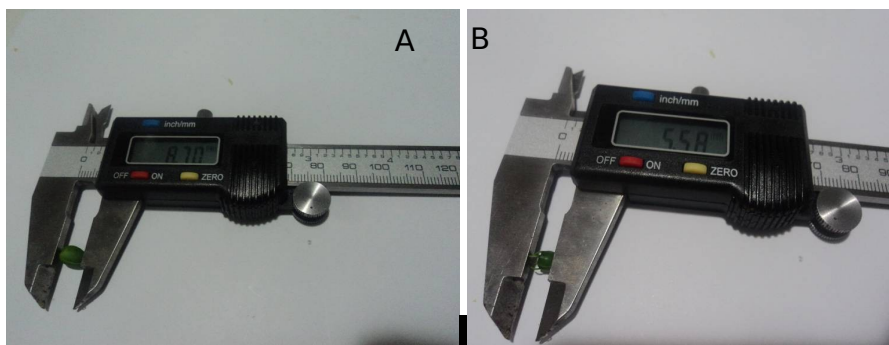
A taxa de pegamento (número de frutos), após autopolinização artificial, foi utilizada para definir as classes de autoincompatibilidade:

- a) autoincompatível = 0-3%, classe 0;
- b) levemente autoincompatível = 3-30%, classe 1;
- c) altamente autoincompatível = >30%, classe 2.

#### **2.5 Comportamento meiótico**

Quarenta botões florais, de diferentes tamanhos, foram coletados ao acaso em todos os genótipos de *P. cincinnata* e de *P. quadrangularis*, sendo vinte de cada espécie. Os botões foram fixados em etanol-ácido acético 3:1. No momento do preparo da lâmina, os comprimentos dos botões com brácteas a serem maceradas foram medidos com auxílio de paquímetro digital (Figura 12). Anteras de cada botão foram maceradas sobre a lâmina em carmin acético a 1% e observadas ao microscópio óptico para registro da fase meiótica. Os dados referentes ao comprimento dos botões, relativos a cada estágio da microsporogênese, foram submetidos à análise de variância.

Britto, F.F., 2012



**Figura 12** - Medida de botões florais. (A) Botão de *P. cincinnata*; (B) Botão de *P. quadrangularis*.

## 2.6 Viabilidade polínica

O estudo de viabilidade polínica foi conduzido com seis genótipos (três *P. cincinnata* e três *P. quadrangularis*), apresentando cada um sete repetições a serem analisadas. Os tratamentos consistiram de cinco horários de coletas, feitas às 6:30hs, 9:30hs, 12:30hs, 15:30hs e 18:30hs com *P. quadrangularis* e *P. cincinnata*. Em cada horário de coleta, as anteras foram transferidas para frascos. Em seguida à coleta, foram preparadas as lâminas, nas quais foram contados 300 grãos de pólen por horário e repetição, totalizando 63000 grãos de pólen analisados. Os mesmos foram classificados em normais/viáveis (corados) e anormais/inviáveis (não corados ou com citoplasma retraído) com base na reação de coloração de grãos de pólen em carmim acético (DAFNI, 1992). Os efeitos dos horários de coleta sobre a viabilidade polínica foram estudados por análise de regressão.

## 2.7 Receptividade estigmática

Para os estudos de receptividade, foram realizados testes histoquímicos nos genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*. Os tratamentos consistiram de cinco horários, com intervalo de 3 horas, a partir das 6:30hs da manhã. Foi utilizado o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), que indica receptividade pela presença de peroxidase (OSBORN e outros, 1998)

através da formação de bolhas de ar (PEARSE, 1972). Nesse processo, botões florais em pré-antese foram protegidos com sacos de papel. No dia seguinte à proteção, após abertura das flores, os estigmas foram coletados nos respectivos horários e transferidos para vidros contendo a solução - teste, sendo mantidos totalmente submersos no peróxido de hidrogênio. Os estigmas foram classificados em receptivos se o filete estigmático atingisse a cor preta e formasse bolhas. Para obter resultados confiáveis, estigmas danificados ou com pólen na superfície não foram utilizados, evitando-se resultado falso positivo.

### **3. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Para a fenologia do florescimento (aparecimento de flores de 6 genótipos avaliados em 6 semanas), pegamento do fruto (21 cruzamentos em cada um dos 6 genótipos), comprimento de botão floral em relação à fase meiótica (medição de 20 botões para cada uma das espécies) e quantidade de polens viáveis (observação de 300 polens em cada horário: 6,5hs, 9,5hs, 12,5hs, 15,5hs e 18,5hs), os valores foram submetidos à análise de variância, procedendo-se a comparação entre médias pelo teste de Tukey a 5% de significância em delineamento inteiramente casualizado.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Estudo da fenologia

Em *P. cincinnata*, o tempo desde a formação do botão à abertura da flor foi de aproximadamente 25 dias. Estas se abriram a partir das 6:30hs e permaneceram assim até às 19hs. Já para os genótipos de *P. quadrangularis*, isso aconteceu por volta de 20 dias, com as flores se abrindo às 6hs e se fechando em torno de 18:30hs, quando o processo de senescência floral se caracterizou pelo murchamento das pétalas.

A análise de variância indicou que os genótipos apresentaram diferença significativa quanto ao número de flores (Tabela 6). Houve distinção entre o genótipo 01 (*P. cincinnata*) e os demais, tendo este maior número de flores. O genótipo 02 (*P. cincinnata*) apresentou semelhança com o genótipo 04 (*P. quadrangularis*), contudo, superou em número os genótipos 03 (*P. cincinnata*) e os genótipos 05 e 06 (*P. quadrangularis*). O genótipo 06 teve os menores números de flores no período investigado (Tabela 7).

O florescimento ocorreu de modo diferente entre as espécies, cujos genótipos 04, 05 e 06 (*P. quadrangularis*) iniciaram nas últimas semanas do mês de novembro de 2011, diferentemente dos genótipos 01, 02 e 03 (*P.*



*cincinnata*), que tiveram início da abertura de flores no início do mês de dezembro de 2011.

**Tabela 6-** Resumo da análise de variância do número de flores dos genótipos *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*. Vitória da Conquista-BA/UESB, 2012.

FV	GL	SQ	QM	Fc
Genótipo	5	145,450292	29,090058	46,314*
Erro	30	18,843183	0,628106	
Total	35	164,293475		

FV-fonte de variação; GL- grau de liberdade; \*1% de probabilidade pelo teste Tukey; SQ- soma dos quadrados; MQ-média dos quadrados; F- valor calculado

**Tabela 7 -** Número médio semanal de flores dos genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* Vitória da Conquista-BA/UESB, 2012.

Espécie	Genótipo	Semana						Média <sup>1</sup>
		1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	
<i>P. cincinnata</i>	HUESB 1001	5,14	8	7	8,28	7,57	6,71	7,11 <sup>a</sup>
	HUESB 1002	3	3,42	2	3,28	3,85	4,85	3,4 b
	HUESB 1003	2	0,85	0,85	2,71	1,71	2,85	1,82 cd
	HUESB 1004	2,14	2,28	2,71	3,71	3,57	1,85	2,71bc
<i>P. quadrangularis</i>	HUESB 1005	1,71	0,85	1,14	0,85	1	1	1,09 d
	HUESB 1006	1,57	2,14	1,42	1	1,71	1,57	1,56 cd

<sup>1</sup>Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste tukey ao nível de 5% de significância.

Os parâmetros fenológicos estão apresentados na Tabela 8. A maior taxa de florescimento foi de 7,11 no genótipo 01 e a menor foi de 1,09 (genótipo 05). O pico de florescimento variou de três flores no genótipo 05 (*P. quadrangularis*) a 14 flores no genótipo 01 (*P. cincinnata*), ambos ocorreram no mês de dezembro. A intensidade relativa de florescimento variou de 0,1114 no genótipo 01 a 0,1552 no genótipo 05(Tabela 8).

**Tabela 8 -** Taxa de florescimento (TF), pico de florescimento (PF) e intensidade relativa de florescimento (%IRF) dos genótipos *P. cincinnata* e *P. quadrangulares*. Vitória da Conquista-BA/UESB, 2012.

Espécie	Genótipo	TF	PF	% IRF
<i>P. cincinnata</i>	HUESB1001	7,11	14	0,1114
	HUESB1002	3,5	7	0,1133
	HUESB1003	1,83	5	0,1546
<i>P. quadrangularis</i>	HUESB1004	2,73	6	0,1242
	HUESB1005	1,09	3	0,1552
	HUESB1006	1,5	4	0,1511

#### 4.2 Estudo da compatibilidade intraespecífica

Os resultados percentuais de pegamento das polinizações controladas (cruzada e autopolinização) e polinização aberta para os genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* estão apresentados na Tabela 9. Observa-se que, de maneira geral, a polinização cruzada controlada apresentou o maior número de frutos obtidos, seguida da polinização aberta e, por último, a autopolinização, que não apresentou pegamento.

Pela análise de variância, a taxa de pegamento foi influenciada pelo genótipo, pelo tipo de polinização, contudo, não houve interação genótipo x polinização (Tabela 10). A média percentual de pegamento dos frutos variou de 23,33 a 66,67, ambos nos genótipos *P. cincinnata*, respectivamente, com polinização aberta e cruzada controlada.

**Tabela 9** - Percentual de pegamento de frutos por polinizações controladas e abertas em genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*, Vitória da Conquista-BA/UESB, 2012.

Espécie	Genótipo	Tipo de polinização		
		Aberta (%)	Autopolinização (%)	Cruzada (%)
<i>P. cincinnata</i>	01	20,00	0	90,00
	02	20,00	0	50,00

	03	30,00	0	60,00
	Média	23,33	0	66,67
<i>P. quadrangularis</i>	04	60,00	0	80,00
	05	50,00	0	70,00
	06	20,00	0	20,00
	Média	43,33	0	56,67

**Tabela 10-** Resumo da análise de variância da taxa de pagamento de fruto resultante de dois tipos de polinização (aberta e cruzada controlada), realizada em diferentes genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*, Vitória da Conquista-BA/UESB, 2012.

FV	GL	SQ	QM	F
Genótipo	5	3,275000	0,655000	3,089*
Polinização	1	2,408333	2,408333	11,358*
Genótipo x Polinização	5	1,341667	0,268333	1,266ns
Resíduo	108			

\*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F

#### a) Estimativa da taxa de autopolinização

No teste para autopolinização, nenhuma das flores utilizadas produziu fruto, essas flores secaram e caíram sem apresentar qualquer sinal de frutificação. Esse fenômeno ocorreu tanto para os genótipos de *P. cincinnata* quanto para os de *P. quadrangularis*.

#### b) Estimativa da taxa de autoincompatibilidade

O índice de autoincompatibilidade (ISI) encontrado para os genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* foi zero, indicando-as como autoincompatíveis, classe 0 (0-3% de taxa de pagamento de

autopolinização), segundo Dafni (1992). A inexistência da autopolinização confirma a autoincompatibilidade e a alogamia dos genótipos, o que pode ser favorável à hibridação interespecífica.

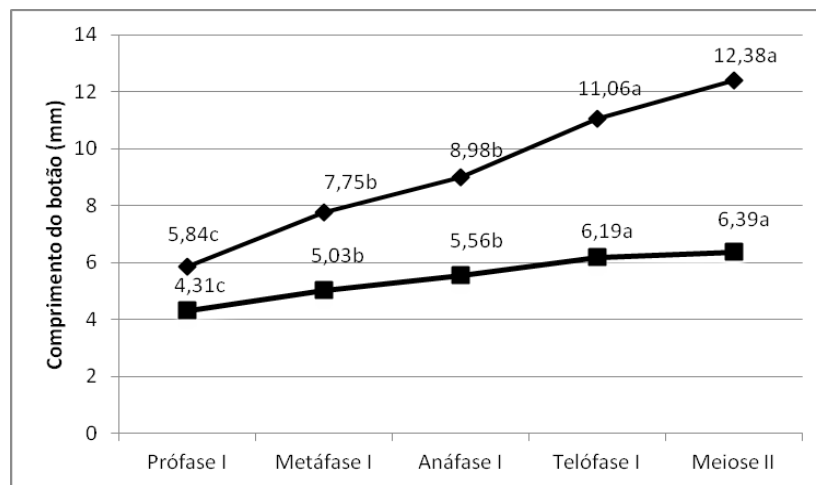
### 4.3 Comportamento meiótico

Por meio da análise de variância, demonstrou-se haver diferença significativa entre os estádios de desenvolvimento para a variável comprimento de botão, tanto em *P. cincinnata* quanto em *P. quadrangularis* (Tabela 11). As fases da meiose I puderam ser diferenciadas em relação às médias dos tamanhos de botão, apesar dos botões de tamanhos semelhantes apresentarem-se em fases meióticas diferentes, contudo, as fases da meiose II não foram diferenciadas para fins de análise de resultados (Figura 13).

**Tabela 11** - Resumo da análise de variância para o caráter comprimento de botão em função dos estádios de meiose de genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*. Vitória da Conquista-BA/UESB, 2012.

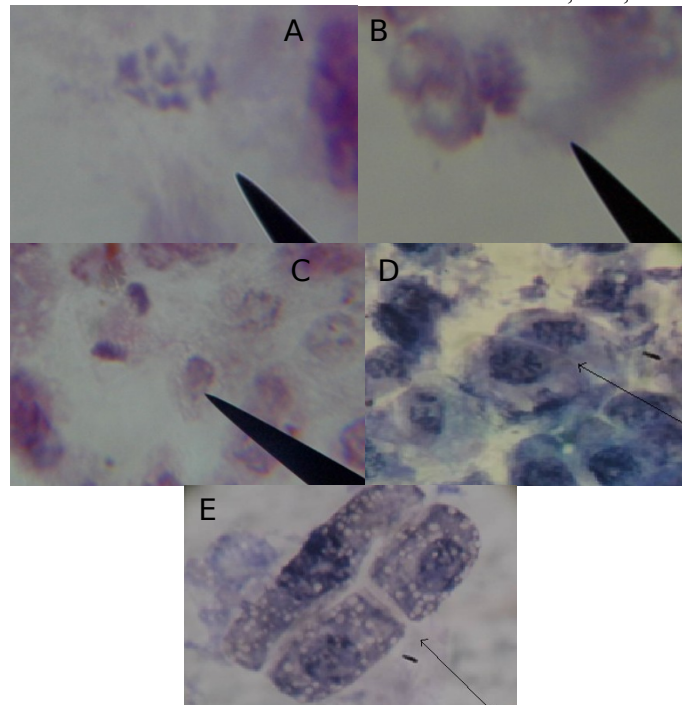
Fontes de variação	G.L.	Comprimento de Botão <i>P. cincinnata</i>		Comprimento de Botão <i>P. quadrangularis</i>	
		S.Q.	Q.M	S.Q.	Q.M.
Estádios	4	107,928400	26,982100*	11,646680	2,911680*
Resíduo	15	9,799700	0,653313	0,964375	0,064292
Coefficiente de Variação			8,7		4,61
		8%		%	

\*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F



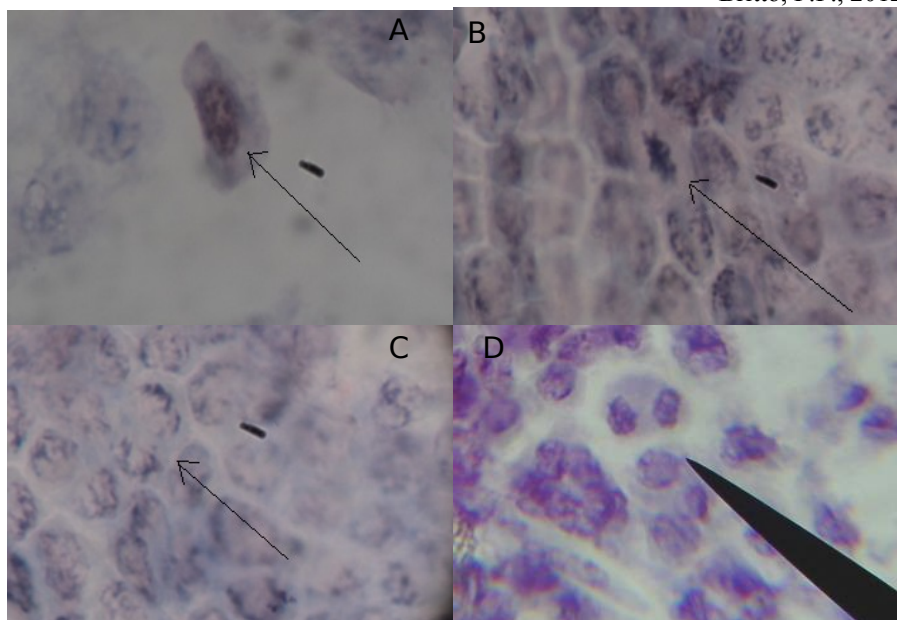
**Figura 13-** Valores médios dos comprimentos de botão de genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* em função dos estádios de meiose. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo Teste de Tukey (5% de probabilidade).

Britto, F.F., 2012



**Figura 14** - (A) Prófase I (diplóteno) em *P. quadrangularis* a partir de botão de 4,30 mm; (B) Metáfase I em *P. quadrangularis*, analisado a partir de botão de 5,02 mm; (C) Anáfase I em *P. quadrangularis* a partir de botão de 5,52 mm; (D) Telófase I em *P. quadrangularis* a partir de botão de 6,18mm; (E) Meiose II em *P. quadrangularis* a partir de botão de 6,65 mm.

Britto, F.F., 2012



E



**Figura 15** - (A) Prófase I em *P. cincinnata* a partir de botão de 5,83 mm; (B) Metáfase I em *P. cincinnata*, analisado a partir de botão 7,56 mm; (C) Anáfase I em *P. cincinnata* a partir de botão de 8,32 mm; (D) Telófase I em *P. cincinnata* a partir de botão de 10,58 mm; (E) Meiose II em *P. cincinnata* a partir de botão de 11,78mm.

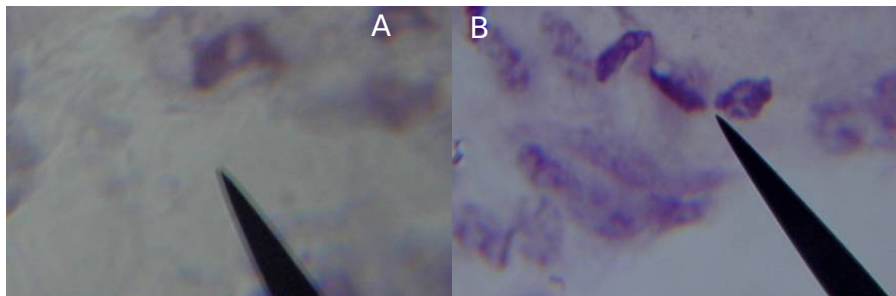
Para estudos no maracujazeiro envolvendo cultura *in vitro*, quanto aos estádios de microsporogênese, em particular para as fases de meiose I, o mais indicado é a coleta de botões, quando em tamanho aproximado de 4,55 mm-11,72 mm em *P. cincinnata* e em *P. quadrangularis* de 4,07-6,38 mm (Tabela 12). Para as fases da meiose II, pode-se estimar um tamanho de 11,65-13,41 em *P. cincinnata* e 5,97-6,67 em *P. quadrangularis* (Figura 14-15).

**Tabela 12** - Estádios de meiose de genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*, associados aos valores mínimos, máximos e médios dos comprimentos de botão, em mm.

Estádios	Comprimento de botão <i>P. cincinnata</i> (mm)		Comprimento de botão <i>P. quadrangularis</i> (mm)	
	Valores	Média	Valores	Média
Prófase I	4,55-6,41	5,84	4,07-4,57	4,31
Metáfase I	6,54-8,42	7,75	4,66-5,37	5,03
Anáfase I	8,27-9,88	8,98	5,41-5,81	5,56
Telófase I	10,34-11,72	11,06	5,92-6,38	6,19
Meiose II	11,65-13,41	12,38	5,97-6,67	6,39

As análises realizadas no comportamento meiótico das espécies de *P.cincinnata* e *P.quadrangularis* permitiram observar pareamento regular com 9 bivalentes e segregação normal. No entanto, foram observadas formações de pontes na meiose I, durante a anáfase em células de *P.quadrangularis*, bem como aparecimento de cromossomo extranumerário nas mesmas, o que pode aumentar a diversidade genética nesta espécie (Figura 16).

Britto, F.F., 2012



**Figura 16** - (A) Duas pontes anafásicas; (B) Cromossomo extranumerário ou cromossomo b ao lado de placa metafásica.

#### 4.4 Viabilidade polínica

As duas espécies analisadas tiveram viabilidade máxima às 9hs30min, mantendo percentual próximo às 12hs30min, havendo, a partir daí, um decréscimo na viabilidade, atingindo o mínimo. A função quadrática com tendência côncava foi o modelo que melhor representou este comportamento. O percentual médio de viabilidade polínica foi influenciado negativamente pelo horário de coleta, tendo os menores valores encontrados no fim da tarde. Observa-se na Tabela 13 que o horário 9hs30min foi superior aos demais, sendo indicado para a realização de polinização. Às 12hs30min foram encontrados, em média, 95,44% e 97,14% de grãos de pólen viáveis para as espécies *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*, respectivamente, números que também são considerados elevados. Nos



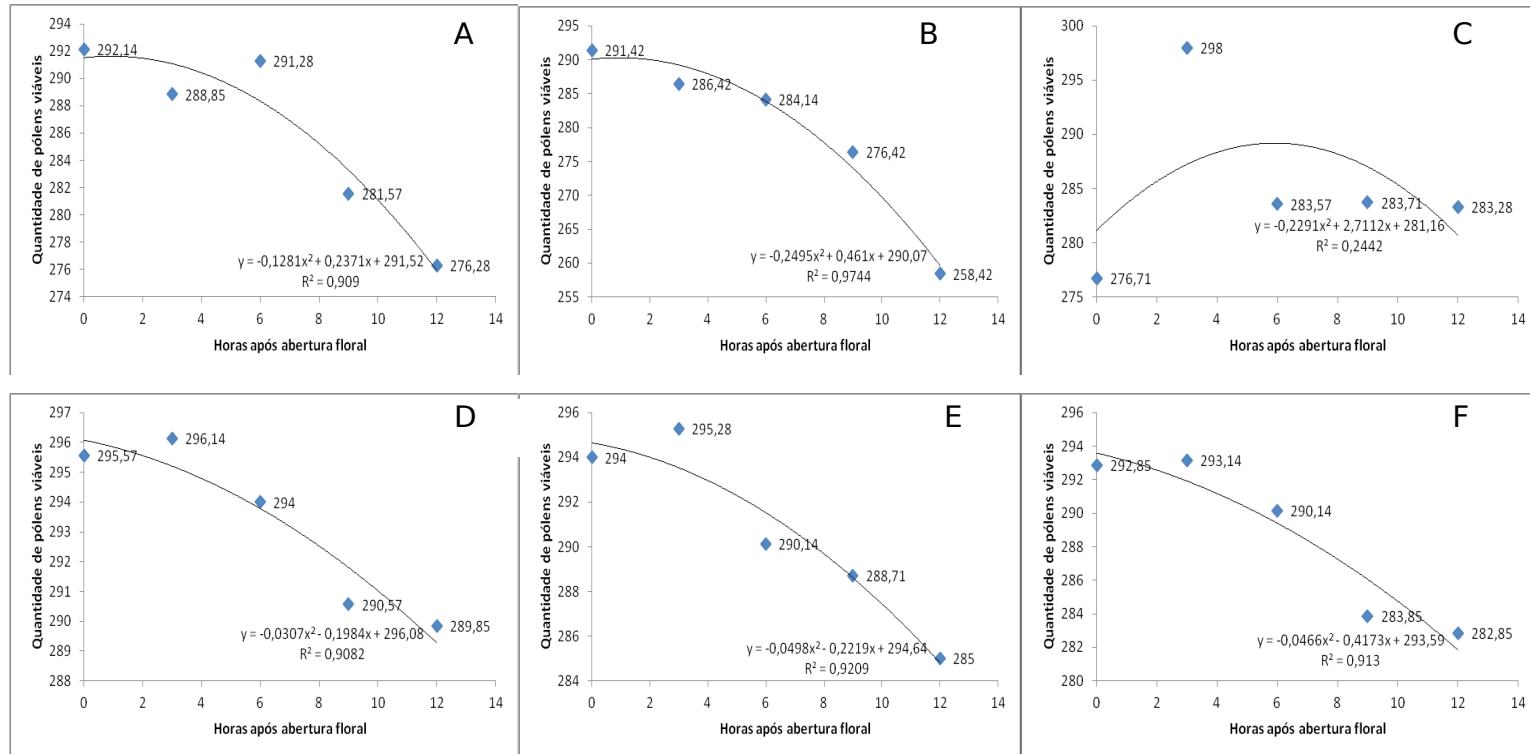
horários de 15h30min e 18hs30min, a viabilidade polínica variou de 90,88-93,52% em *P. cincinnata* e 95,30-95,90% em *P. quadrangularis*.

**Tabela 13-** Valores médios percentuais de grãos de pólen (GP) viáveis de genótipos de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis*, em diferentes horários.

Horário de coleta	<i>P.cincinnata</i> (%GP viáveis)	<i>P.quadrangularis</i> (%GP viáveis)	Médias
6hs30min	95,58	98,04	96,81
9hs30min	97,03	98,28	97,65
12hs30min	95,44	97,14	96,29
15hs30min	93,52	95,90	94,71
18hs30min	90,88	95,30	93,09
Médias	94,49	96,93	95,71

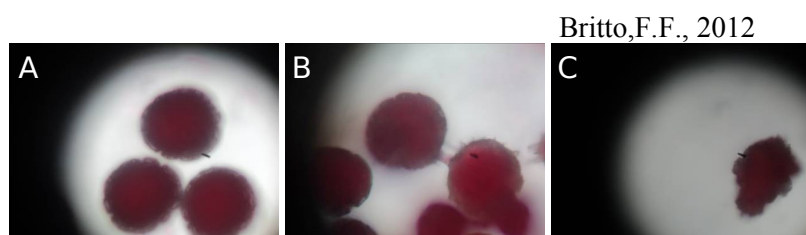
Em híbridos somáticos de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* + *Passiflora cincinnata* Mast. (BARBOSA; VIEIRA, 1997), o índice mais baixo de viabilidade polínica foi de 72,9%, em consequência de anormalidades meióticas observadas, como presença de univalentes, bivalentes, tetravalentes, e alterações como a presença de cromossomos retardatários na placa metafásica e pontes anafásicas, que foram considerados fatores causadores de grãos de pólen imperfeitos e, consequentemente, inviáveis. Nesses casos, porém, a regularidade meiótica e consequente viabilidade polínica dependem, principalmente, da homologia cromossômica entre as espécies envolvidas no cruzamento.

As relações entre quantidade de polens viáveis e período em horas após antese floral, tanto para os genótipos de *Passiflora cincinnata* quanto para *Passiflora quadrangularis*, são mostradas na figura 17. Apesar da abertura floral dos genótipos de *P. quadrangularis* ocorrer às 6hs, a coleta teve início às 6hs30min. A quantidade de polens viáveis nos genótipos investigados apresentou relação quadrática, com tendência convexa das 6hs30min às 18hs30min. O genótipo 03 de *P.cincinnata* variou com relação ao horário de 6hs30min dos demais, pois apresentou um valor baixo.

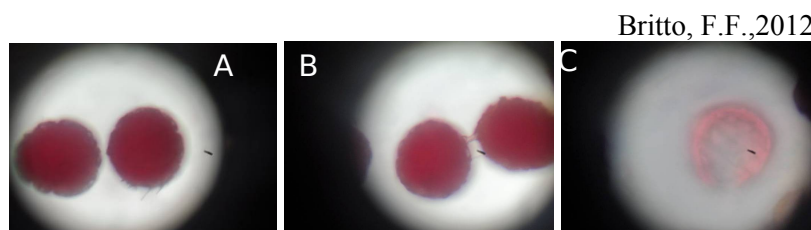


**Figura 17-** Viabilidade do grão de pólen de genótipos de *P. cinninnata* (A-C) e *P. quadrangularis* (D-F) em cinco horários de coleta. (A) 01 (B) 02 (C) 03 (D) 04 (E) 05 (F) 06

Os grãos de pólen dos genótipos analisados de *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* tiveram coloração e forma semelhante. Quando inviáveis os polens dos indivíduos investigados, perderam o formato ou não se coloriram. Ambos apresentaram estabelecimento de ligação entre si, configurando-se como uma ponte, fenômeno conhecido como citomixia (Figura 18-19).



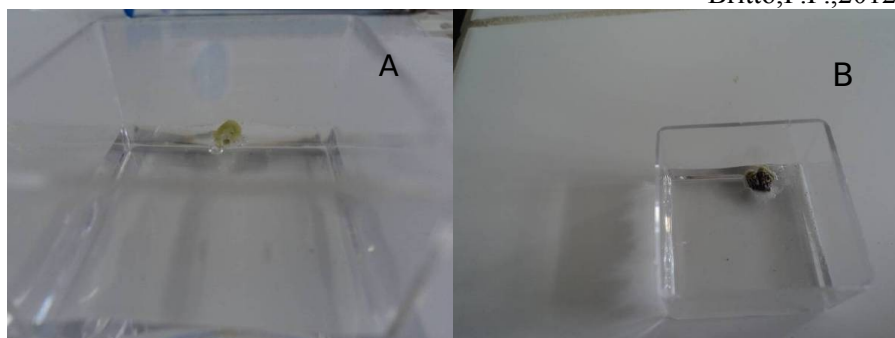
**Figura 18-** (A) Grãos de polens viáveis de *P. cincinnata*; (B) Grãos de polens viáveis realizando citomixia de *P. cincinnata*; (C) Grão de pólen inviável de *P. cincinnata*.



**Figura 19-** (A) Grãos de pólen viáveis de *P. quadrangularis* (B) Grãos de pólen viáveis realizando citomixia de *P. quadrangularis*; (C) Grão de pólen inviável de *P. quadrangularis*.

#### 4.5 Receptividade estigmática

Os estudos de receptividade apontaram ser os seis genótipos, três de *P. cincinnata* e três *P. quadrangularis*, receptivos nos diferentes horários investigados, sendo o comportamento semelhante das 6:30hs às 18:30hs. Houve formação de bolhas de ar, bem como o filete estigmático dos genótipos analisados atingiram cor preta (Figura20).



**Figura 20** - Estigmas imersos em peróxido de hidrogênio. (A) Estigma de *P. quadrangularis*; (B) Estigma de *P. cincinnata*.

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Estudo da fenologia

Nos indivíduos de *P. cincinnata*, foi registrado início da separação das sépalas e pétalas por volta de 5:15hs, estando a flor totalmente aberta às 6:30hs, mesmo horário observado por Duarte e outros (2009). O horário registrado neste trabalho para fechamento das flores foi às 19hs, momento semelhante ao relatado por Duarte e outros, (2009). Não há relatos na literatura investigada do período de antese de *Passiflora quadrangularis*, sendo, neste trabalho, das 6hs às 18h30min.

Espécies de maracujá apresentam períodos de abertura floral diferentes, quase sempre curtos, dificilmente passando de oito horas, sendo geralmente o horário de antese e fechamento das flores adaptadas aos períodos de atividade dos polinizadores (COSTA e outros, 2009). Existem diferentes horários para uma mesma espécie atribuída a diferentes condições climáticas, diferenças genéticas entre as plantas e a combinação de ambos os fatores (DUARTE, 1996).

A observação feita em ambos os genótipos das espécies corresponde ao período em que os mesmos estão aptos ao florescimento. Em *P. cincinnata*, o florescimento e frutificação ocorrem em quase o ano todo (NUNES e QUEIROZ, 2006), mais especificamente de março a dezembro (DUARTE e outros, 2009).

A taxa de florescimento indica o número médio de flores novas a cada dia (DAFNI,1992) e esta indicou um baixo número de flores nos genótipos de *P. quadrangularis*.

## 5.2 Estudo da autoincompatibilidade

As autopolinizações indicaram *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* serem espécies autoincompatíveis. Estudos realizados por Duarte e outros (2009) em *P. cincinnata* mostram resultados semelhantes.

A determinação da alogamia, verificada neste trabalho, está relacionada à autoincompatibilidade, impedindo que plantas produtoras de gametas masculinos e femininos funcionais produzam sementes, quando autopolinizadas (BRUCKNER e outros, 2005), sendo considerado mecanismo extremamente importante, pois promove a manutenção da variabilidade genética (SCHIFINO-WITTMANN e DALL'AGNO, 2002). A incompatibilidade em Passiflora já foi citada como gametofítica (FALEIRO e outros, 2000), quando o grão de pólen carrega um alelo também presente no estigma e que inibe o desenvolvimento do tubo polínico (SCHIFINO-WITTMANN e DALL'AGNOL, 2002). Bruckner (1994) relata a possibilidade de autofecundação, quando flores estão em pré-antese.

O sucesso na produção de frutos e sementes, investigadas nesta pesquisa, dependeu também da presença de polinizadores na área, uma vez que as espécies são autoincompatíveis. Nas variedades cultivadas, o agente polinizador mais efetivo de Passiflora é a mamangava (*Xylocopasp.*) (SOUZA, 1994). Dessa forma, o percentual de fertilização depende do número de polinizadores, o que pode ser afetado pela frequência de uso de defensivos agrícolas, por isso, recomenda-se que as pulverizações em pomares de maracujazeiros sejam realizadas à noite ou pela manhã (JUNQUEIRA e outros, 2001).

### 5.3 Comportamento meiótico

De acordo com as análises citológicas realizadas neste trabalho, o tamanho do botão floral não deve ser usado como parâmetro indicativo para fase meiótica, durante a microsporogênese. Lauxen e outros (1995) relacionaram os estádios de microsporogênese a quatro intervalos preestabelecidos de comprimento de botão floral em cultivares brasileiras de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), esta relação é possível com o *P.cincinnata* e *P.quadrangularis*, de acordo com o que foi investigado.

Outros parâmetros, além do tamanho de botão floral, podem ser associados aos estádios de desenvolvimento de estruturas reprodutivas. Willcox et al. (1990), em estudo feito com amendoim (*Arachis hypogaea* L.), demonstraram que, não o tamanho, como visto neste trabalho, mas sim o formato da base do botão floral forneceu boa correlação com o desenvolvimento do micrósporo, mesmo considerando que tais diferenças podem ocorrer por causa das condições ambientais, e não apenas como resultado de diferenças genótípicas. Em pimentão (*Capsicum annum* L.), as características morfológicas do botão floral puderam ser associadas ao estágio de micrósporo em todos os genótipos, cujos botões tinham pétalas de tamanho igual ou pouco maior que as sépalas, e as anteras tinham traços de antocianina em sua extremidade (SILVA e outros, 1995).

Os estudos meióticos realizados por Storey (1950), Beal (1969a) e Barbosa (1998) confirmam os dados deste trabalho com relação à distribuição cromossômica. Posteriormente, Melo et al. (2001) observaram esse mesmo comportamento com 9 bivalentes e segregação normal na anáfase em *P. cincinnata*.

As pontes anafásicas relatadas neste trabalho em células de *Passiflora quadrangularis* podem ser relacionadas com a má qualidade na produção de polens em decorrência de anormalidades da própria meiose da espécie. Este fato foi destacado por Gomes (1998), que informou ainda da

presença de univalentes, bivalentes e alterações como a presença de cromossomos retardatários na placa metafásica, como fatores considerados causadores de grãos de pólen imperfeitos.

O cromossomo B, verificado no *Passiflora quadrangularis*, é também chamado de extranumerário ou acessórios em fungos, plantas e animais. Esses cromossomos possuem um padrão de segregação não mendeliano, podendo existir de uma a várias cópias por indivíduo (BEUKEBOOM, 1994).

#### **5.4 Viabilidade polínica**

O menor valor médio encontrado neste trabalho foi de 90,88% na média dos genótipos de *Passiflora cincinnata*, no horário de 18hs30min. Segundo Ruggiero e outros (1996), é ainda um alto percentual de viabilidade (acima de 70%). Esses dados podem ser explicados pelo fato de o grão de pólen do maracujazeiro ser pegajoso, recoberto por uma substância chamada *pollenkit* que, dentre outras funções, atua como protetor, minimizando a desidratação do pólen e consequente perda de viabilidade (PACINI e FRANCHI, 1993)

Inviabilidade polínica, notada neste trabalho, pode ocorrer durante a microgametogênese, em que falhas no comportamento meiótico resultam em gametas com cromossomos desbalanceados ou anucleados, ou ainda durante a microgametogênese, resultando em grãos de pólen com citoplasma retraído (TWELL, 1995). A interferência do efeito do ambiente no comportamento meiótico, e consequentemente na viabilidade dos grãos de pólen, foi observado em *Bougainvillea* sp., quando foram comparadas variedades de várias regiões do Brasil (ADAMOWSKI e outros, 1995).

A citomixia relatada em ambos os genótipos de maracujazeiro pode ser interpretada como transferência de material de uma estrutura para a



outra, atribuída algumas vezes à deficiência na formação da parede celular, podendo ocorrer tanto em mitose quanto em meiose, podendo em alguns casos está ligada com o fenômeno de degenerescência. Bhandari e outros (1967) observaram passagem de nucléolo de uma célula meiótica para outra, sem que isso afetasse a fertilidade do pólen, fato que pode ter ocorrido neste trabalho. Por outro lado, Latta S. K. e outros (2006) afirmam que a citomixia, geralmente, está associada com erros meióticos e, conseqüentemente, baixa fertilidade.

### **5.5 Receptividade estigmática**

As flores de *P. cincinnata* estão receptivas durante toda a antese, estando os estigmas flexionados ou não (VARASSIN e SILVA, 1999; KILL e outros, 2010). Os estigmas de ambas as espécies mostraram-se com alta receptividade em todos os horários de coleta neste trabalho. Duarte e outros (2009) relatam que em *P. cincinnata*, durante a abertura da flor, o estigma já se encontrava receptivo. Apesar da receptividade, as espécies apresentam hercogamia, isto é, no início da antese, o posicionamento dos estiletos erguidos faz com que as flores apresentem-se funcionalmente masculinas, ocasião em que as abelhas, ao visitarem as flores, se “sujam” de pólen, mas não tocam o estigma (KILL e outros, 2010). A movimentação dos órgãos reprodutivos estabelece uma barreira temporal para a polinização em estigmas receptivos, mas não uma barreira fisiológica, pois o pólen está disponível durante a antese, e os estigmas estão receptivos, indicando que, potencialmente, as flores podem ser polinizadas durante toda antese (VARASSIN e SILVA, 1999). Foi observado em *P. edulis* que a eficiência da polinização está associada às adaptações morfológicas das flores aos visitantes, à sincronização temporal entre o horário de coleta das abelhas, abertura da flor e deflexão dos estiletos (SIQUEIRA e outros, 2009), fato também verificado neste trabalho.

A quantidade de estigma polinizado pode também influenciar na taxa de pegamento, bem como na característica do fruto (SIQUEIRA e outros, 2009). Esses autores observaram no maracujá amarelo maior formação de frutos nas flores com três estigmas, quando todos eles foram utilizados na polinização cruzada, porém, naquelas em que foi feita a polinização em apenas um estigma, obteve-se a formação de um único fruto, totalmente deformado.

## 6 CONCLUSÕES

Os genótipos estudados da espécie *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* possuem antese diurna matutina. Os genótipos de ambas as espécies diferem entre si quanto ao número de flor.

Nos indivíduos de *P. quadrangularis*, o pico de florescimento foi atingido em dezembro com 6 flores e, em *P. cincinnata*, foi de 14 flores no mês de dezembro.

As plantas das espécies *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* são autoincompatíveis.

Os botões florais não devem ser usados como parâmetro indicativo para a fase meiótica durante a microsporogênese.

A viabilidade polínica das espécies *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* encontra-se elevada no turno matutino, sofrendo redução à tarde.

Os estigmas apresentam-se receptivos durante todo o dia, sendo ideal para realização de polinizações.

## REFERÊNCIAS

- ADAMOWSKI, E. V.; PAGLIARINI, M. S.; VALVA, F. D. A. Estudo comparativo do comportamento meiótico de variedades de *Bougainvillea* sp. cultivadas em diferentes regiões do Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 41., 1995, Caxambu. **Programa e Resumos...** Caxambu: SBG, p. 433. 1995.
- ALLARD, R.W. **Princípios do melhoramento genético das plantas.** Tradução Almiro Blumenschein, Ernesto Paterniani, José T. do Amaral Gurgel e Roland Vencovsky. Nova York: John Wiley & Sons, Inc., 381p, 1960.
- BARBOSA, L. V. **Citologia de híbridos somáticos de *Passiflora* spp. obtidos por fusão de protoplastos.** 94p. Tese (Doutorado)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo. 1998.
- BARBOSA, L. V.; VIEIRA, M. L. C. Meiotic behavior of passion fruit somatic hybrids, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener + *P. amethystine* Mikan. **Euphytica**, v. 98, p. 121-127, 1997.
- BEAL, P. R. Chromosome numbers of exotic *Passiflora* species in Australian. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 26, n. 1, p. 73-81, 1969b
- BEAL, P. R. Cytology of the native Australian *Passiflora* species. 1. Chromosome number and horticultural value. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 26, n. 3, p. 407-421, 1969a.
- BELO, G. O. **Análises Morfológicas E Genéticas Em Progênie Híbrida F1 Do Cruzamento *Passiflora gardneri* Mast x *Passiflora gibertii* N.E. Brow.** 112f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus. 2010
- BERNACCI L. C.; VITTA F. A.; BAKKER Y. V. Passifloraceae. In: WANDERLEY M.G.L.; SHEPPERD G.J.; MELHEM T.S.; GIULIETTI A.M.; KIRIZAWA M. (Eds.) **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo.** RIMA/FAPESP, v. 3, p. 247-274, 2003.
- BEUKEBOOM, L. W. BewilderingBs: na impressiono f the 1<sup>st</sup> B-chromosome conference *Heredity*, 73:328-336.1994.
- BHANDARI, N. N.; TANDON, S. L.; JAIN, S. Some observations on the cytology and cytomixis in. **Canavalia** DC. *Cytologia*, v. 34, p. 22-8, 1967.
- BRUCKNER, C. H. **Autoincompatibilidade no maracujá (*Passiflora edulis* Sims).** 85f. Tese (Doutorado)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 1994.

- BRUCKNER, C. H. et al. **Auto - incompatibilidade do maracujá-implicações no melhoramento genético**. In: Faleiro, F. G.; Junqueira, N. T. V., Braga, M. F.. maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Embrapa Cerrados, Planaltina, 315 – 338, 2005.
- BRUCKNER, C. H. et al. **Maracujazeiro**. In: BRUCKNER, C.H. Melhoramento de fruteiras tropicais. Viçosa: UFV, p. 373-409, 2002.
- BRUCKNER, C. H.; OTONI, W. C. Hibridação em maracujá. In: BORÉM, A. (Ed). **Hibridação artificial de plantas**. Ed. UFV – Viçosa, p. 379-399. 1999.
- COSTA, L. V.; LOPES, M. T. G.; LOPES, R.; ALVES, S. R. M. Polinização e fixação de frutos em *Capsicum chinense* Jacq. **Revista Acta Amazônica**, v. 38, n. 2, p. 361-364, 2008.
- COSTA, R. S.; MORO, F. V.; OLIVEIRA, J. C. de. Influência do momento de coleta sobre a viabilidade de grão de pólen em maracujá - doce (*Passiflora alata* Curtis). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.31, n.4, p. 956-961, 2009.
- DAFNI, M. **Pollination Ecology: a practical approach**. Oxford University Press, New York. 250p, 1992.
- DUARTE, J. **Aspectos do florescimento e caracterização do fruto do maracujá caerulea (*Passiflora caerulea* L.)**. 72f. Tese - Faculdade de Ciências Agrárias. Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 1996.
- DUARTE, M. O. et al. Biologia Reprodutiva de três espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) Em Uberlândia, Mg, Brasil. In: IX Congresso de Ecologia do Brasil, 9, São Lourenço (MG). **Anais...** São Lourenço, 2009.
- FALLEIRO, T. M. **Herança da auto-incompatibilidade no maracujazeiro *Passiflora edulis* Sims**. 49 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2000.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium** (Lavras), v. 6, p. 36-41, 2008.
- FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J. M..*Passifloraceae*. In: KUBITZI, K. (Ed.). **The Families and Genera of Vascular Plants**.v. IX. Berlin: Springer, p. 270-281. 2007.
- GOMES, P. R. **Viabilidade e conservação do grão de pólen de cebola (*Allium cepa* L.)**:54f. Dissertação (Mestrado em Ciência e tecnologia de sementes) – FAEM – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 1998.

JUNQUEIRA, N. T. V. et al. **Importância da polinização manual para aumentar a produtividade do maracujazeiro**. 1. Ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, 16p, 2001.

KILL, L. H. P. et al. Biologia reprodutiva de *Passiflora cincinnata* Mast. (Passifloraceae) na região de Petrolina (Pernambuco, Brazil). **Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 1, p. 115-127, 2010.

LAUXEN, L.R.; VILLELA, F. A.; SOARES, R. C. Desempenho fisiológico de sementes de algodão tratadas com tiametoxam. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v. 32, n.3, p. 61-68, 2010.

LATTOO S K, Khan S, Bamotra S and Dhar A K. Cytomixis impairs meiosis and influences reproductive success in *Chlorophytum comosum* (Thunb) Jacq. – an additional strategy and possible implications; **J. Biosci.** **31** 629–637.2006.

LENZI, M.; ORTH, A. I.; GUERRA, T. M. Ecologia da polinização de *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae), em Florianópolis, SC, Brasil. **Revista brasileira Botânica**, v. 28, n. 3, p. 505-513, 2005.

LOSS, A. C. C. et al. Diversidade genética de populações de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) no estado do Espírito Santo, Brasil. **Natureza on line**, v. 4, n. 2, p. 55-61, 2006.

MELLINGER, L. L.; RICHERS, B. T. *Fenologia de espécies oleaginosas na RDS Amaña (AM) – dados parciais*. 2005. Disponível em: <<http://www.mamiraua.org.br/arq/Mellinger&Richers-FenologiaOleaginosasAmana-SAPII.pdf>>. Acesso em: 28 dez. 2012.

MELO, N. F.; CERVI, A. C.; GUERRA, M. Karyology and cytotaxonomy of the genus *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 226, p. 69-84, 2001.

NUNES, T. S.; QUEIROZ, L. P. Flora da Bahia: Passifloraceae. **Sitientibus**, v. 6, n. 3, p. 194-226, 2006.

OLLERTON, J.; DAFNI, A. Functional floral morphology and phenology. In: Dafni, A.; Kevan, P.G.; Husband, B.C. (Eds.), **Practical Pollination Biology**. Enviroquest, Ltd., Cambridge, p. 1-26. 2005.

OSBORN, M. M.; KEVAN, P. G.; LANE, M. A. Pollination biology of *Opuntia polyacantha* and *Opuntia phaeacantha* (Cactaceae) in southern Colorado. **Plant Systematics and Evolution**.v. 159, p. 85-94, 1998.

PACINI, E.; FRANCHI, C. G. Role of the tapetum and pollen and spore dispersal. **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 7, p. 1-11, 1993.

PEARSE, A. G. E. Histochemistry: Theoretical and Applied, n.2. **Chuchill, Edinburgh**. 87p, 1972.

PÉREZ, J. O. et al. Diversity of Colombian Passifloraceae: biogeography and an updated list for conservation. **Biota Colombiana**, v. 8, n. 1, p. 1-45, 2007.

RUGGIERO, C. et al. **Maracujá para exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília: EMBRAPA. 64p, 1996.

SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; DALL'AGNOL, M. Autoincompatibilidade em plantas. **Ciência Rural**, v. 32, n. 6, p. 1083-1090. 2002.

SILVA, F. J. T.; SCHWADE, M. R. M.; WEBBER, A. C. Fenologia, biologia floral e polinização de *Erythroxylum* cf *macrophyllum* (Erythroxylaceae), na Amazônia Central. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 1, p. 186-188, jul. 2007.

SILVA, R.; LUZ, J. M. Q.; DAVIDE, L. C.; PINTO, J. E. B. P. Relação entre microsporogênese e tamanho do botão floral em pimentão (*Capsicum annum* L.). In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 41., 1995, Caxambu. **Programa e Resumos...** Caxambu: SBG, p. 433. 1995.

SIQUEIRA, K. M. M. et al. Ecologia da polinização do maracujá-amarelo, na região do vale do submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 1-12, 2009.

SOUZA, P. J. S.. Polinização em maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A. R. ed. **Maracujá, produção e mercado**. Vitória da Conquista, DFZ/UESB. p. 65-70. 1994.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 291p. 2005.

STIEHL-ALVES, E. M.; MARTINS, M. P. Biologia reprodutiva de *Acacia mearnsii* De Wild.:receptividade de estigmas. **Revista Árvore**, v. 32, n.4, p. 609-616, 2008.

STOREY W. B. Chromosome numbers of some species of *Passiflora* occurring in Hawaii. **Pacific Science**, v. 4, p. 37-42, 1950.

TWELL, D. Diphtheria toxin-mediated cell ablation in developing pollen: vegetative cell ablation blocks generative cell migration. **Protoplasma**, New York, v. 187, p. 144-154, 1995.

VARASSIN, I. G.; SILVA, A. G. A melitofilia em *Passiflora alata* Dryander (Passifloraceae), em vegetação de restinga. **Rodriguésia**, v. 50, n. 76/77, p. 5-17, 1999.

VARGAS, S. M. e outros, Caracterização meiótica de *C. argentea*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 50, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Costão do Santinho Resort, 2004.

VIANA, A. J. C. et al. Caracterização morfológica e polínica em *Passiflora edulis* e *Passiflora cacaoensis* para utilização como genitoras em hibridações interespecíficas. In: Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 5º, Guarapari. **Anais...** Guarapari, CBPM, CD,2009.

WILLCOX, M. C. et al. Microsporogenesis in peanut (*Arachis hypogaea*). **American Journal of Botany**, Ohio, v. 77, n. 10, p. 1257-1259, 1990.



## CAPITULO 4

### **PRODUÇÃO DE HÍBRIDOS VIA CRUZAMENTO ENTRE GENÓTIPOS DE *P. cincinnata* Mast. e *P. quadrangularis* Linn. IDENTIFICADOS POR MEIO DE MARCADORES MORFOLÓGICOS QUALITATIVOS E QUANTITATIVOS E CITOGENÉTICOS.**

#### **1. INTRODUÇÃO**

A hibridação entre genótipos silvestres de *Passiflora* é atraente para o melhoramento de espécies que podem se tornar comerciais como alimento. Além disso, pode ser uma forma de conservação do material genético, tendo em vista que algumas espécies silvestres podem ser usadas como genitoras e mantidas em campos experimentais.

Em *Passiflora cincinnata* Mast., por ser silvestre, há indivíduos tolerantes a doenças e nematoides considerados potencialmente importantes para uso como porta-enxerto, sendo considerada uma boa espécie para trabalhos visando o melhoramento genético do gênero *Passiflora*.

No Brasil, são produzidas 665 mil toneladas de maracujá, o que representa aproximadamente 56% da produção mundial dessa fruta (HENRIQUE e outros, 2009), sendo a região Nordeste responsável por mais de um terço da produção nacional (IBGE, 2007). Na Bahia, a cultura do maracujá ocupa uma área de 17.559 hectares, correspondente a 57% de todo o plantio no país, com rendimento médio de 13.183 kg hectare<sup>-1</sup>. A produção é de aproximadamente 230.000 toneladas, o que perfaz 55% do total da produção nacional da fruta (IBGE, 2007).

A hibridação interespecífica é uma metodologia muito utilizada, seja para transferência de genes de um material resistente para um suscetível ou para a produção de híbridos diferentes dos genitores. Porém, o conhecimento sobre a direção do cruzamento é importante, uma vez que, em algumas espécies, o cruzamento interespecífico é efetivo e exclusivo em uma determinada direção (PEREIRA e outros, 2005). Entretanto, para que a hibridação seja bem sucedida, é necessário que as espécies genitoras sejam

geneticamente próximas e apresentem certa homologia cromossômica, minimizando os problemas de incongruidade ou incompatibilidade cruzada e, deste modo, viabilizando a utilização do híbrido. A direção e a facilidade com que duas espécies podem ser cruzadas e o comportamento dos cromossomos, durante a meiose de genitores e híbridos, são considerados importantes critérios para a avaliação do grau de proximidade genética entre espécies e acessos (RAO e RAO, 1984).

As técnicas de hibridação sexuada são muito simples (BRUCKNER e OTONI, 1999; VANDERPLANK, 2000; ULMER e MACDOUGAL, 2004), e geralmente utilizadas em programas de melhoramento que visem à obtenção de genótipos com características intermediárias às dos genitores. Muitas espécies de *Passiflora* podem ser cruzadas sem qualquer dificuldade. Já foram obtidos muitos híbridos interespecíficos com passifloras porque as barreiras de incompatibilidade são frágeis (MELETTI e outros, 2005).

Diversas técnicas podem ser utilizadas para identificação de híbridos, desde aquelas baseadas em caracteres morfológicos, que são mais simples e requerem um menor custo, até as que envolvem análises em nível molecular como o uso de marcadores (OLIVEIRA e outros, 2000). Em casos como os de genótipos híbridos, a confirmação da fecundação cruzada pode ser feita por meio de características de natureza dominante e de fácil visualização, que sejam contrastantes entre as espécies envolvidas (genes marcadores). Porém, na ausência de tais características ou na impossibilidade de avaliação das mesmas rapidamente, ou em determinada fase da planta, marcadores moleculares de DNA têm sido utilizados com relevante sucesso (ALZATE-MARÍN e outros, 1996).

Este trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência da fecundação cruzada em híbridos interespecíficos F1, obtidos por meio do cruzamento *P. cincinnata* Mast. x *P. quadrangularis* Linn., utilizando marcadores citogenéticos e caracteres morfológicos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Germoplasma vegetal

Genótipos das espécies *Passiflora cincinnata* Mast. e *Passiflora quadrangularis* Linn. foram utilizados como genitores. As espécies vêm sendo mantidas no campo experimental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), campus de Vitória da Conquista, Bahia, a 14° 51' Latitude Sul, 40° 50' Longitude Oeste, à altitude de 928m (OLIVEIRA, 2007).

### 2.2 Híbridagens interespecíficas

Foram realizados trinta cruzamentos, por hibridação simples, *P. cincinnata* x *P. quadrangularis*. Trinta botões florais em fase de pré-antese foram protegidos no dia anterior. Noventa anteras de *P. quadrangularis* foram coletadas três horas após a antese e seus grãos de pólen, depositados cuidadosamente, com o auxílio de cotonete, sobre a superfície estigmática de *P. cincinnata* previamente emasculada. As flores polinizadas foram identificadas e posteriormente protegidas com sacos de papel por um período de 24hs (Figura 21). Cinco dias após a polinização, observou-se a permanência ou abortamento do botão floral. As híbridagens foram iniciadas no dia 02 de dezembro de 2011, sempre pela manhã. No dia 27 de dezembro, já havia ocorrido trinta cruzamentos, no entanto, não houve pegamento. No dia 28 de dezembro, foram feitas polinizações duplas, sendo duas em cada genótipo de *P. cincinnata*, resultando em pegamento. Seis frutos resultantes dessas híbridagens bem sucedidas foram protegidos com sacos de papel até o seu completo amadurecimento, quando então foram coletados; as sementes extraídas manualmente, secas em temperatura ambiente, acondicionadas em sacos de papel revestidos por sacos plásticos e conservadas a 10°C na geladeira do laboratório de tecnologia de sementes da UESB. Cento e dez

sementes foram semeadas em bandejas contendo substrato vermiculita, mantidas em câmara de germinação a 25°C. Foram analisadas 20 plantas.

Britto, F.F.,2012



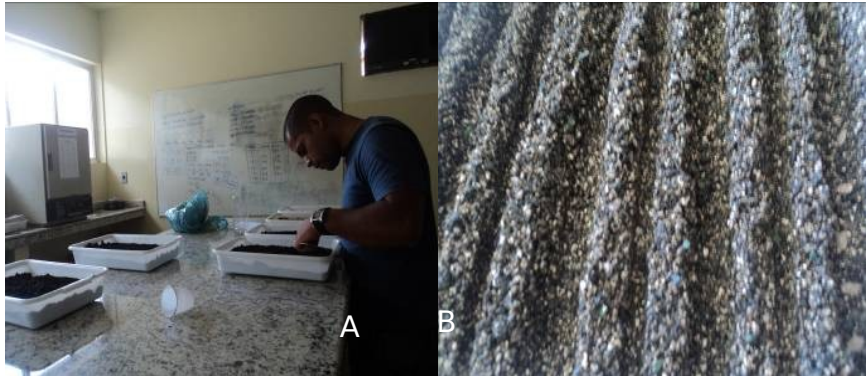


**Figura 21-** (A) Proteção do botão floral de *P. quadrangularis*; (B) Botão floral protegido por saco de papel; (C) Retirada de saco de papel do botão de *P. quadrangularis* em antese; (D) Retirada de antera de *P. quadrangularis*; (E) Polinização da flor de *P. cincinnata*.

### 2.3 Condições de cultivo

Após a germinação (Figura 22), as plantas foram transplantadas para os vasos com capacidade de 42 L, preenchidos com solo areno-argiloso horizonte A e mantidas em casa de vegetação por 30 dias. A casa de vegetação é do tipo rústica, em semiarco, com cobertura plástica aditivada contra raios UV e revestida com sombrite 30%. Transferidas para o campo (Figura 23), as plantas foram cultivadas no sistema de espaldeira; a irrigação ocorreu por gotejamento (gotejadores do tipo botão), com vazão de 2 L por hora em sistema automatizado, com período de rega de 30 minutos, apenas no turno da manhã. As adubações foram realizadas a cada 15 dias com 23,3 g L<sup>-1</sup> de ureia, solução de micronutrientes por um ano.

Britto, F.F., 2012

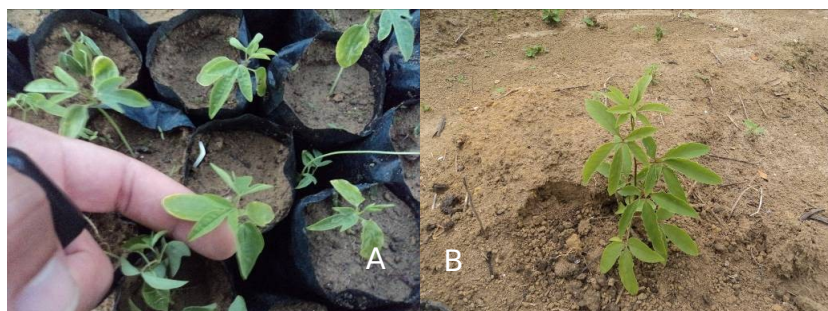


D



**Figura 22** - (A) Preparo do substrato para germinação de sementes dos híbridos; (B) Vermiculita com linhas contendo sementes dos híbridos; (C) Germinação das sementes dos híbridos; (D) Plântulas com folhas primordiais dos híbridos putativos.

Britto, F.F., 2012



**Figura 23** - (A) Mudas dos híbridos putativos de maracujazeiros; (B) Híbrido HP19 no campo; (C) Híbrido HP20 no campo.

#### **2.4 Obtenção de dados morfológicos**

Foram avaliados 13 descritores morfológicos, sendo nove qualitativos e quatro quantitativos. Os descritores avaliados fazem parte da lista utilizada para o registro e proteção de cultivares de maracujazeiro, elaborado pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Nesta lista constam características de *Passiflora* contendo descritores, relacionados a características qualitativas e quantitativas.

Para as análises, foram escolhidas 10 folhas. Utilizou-se paquímetro digital para as medições. Analisou-se as seguintes características



morfológicas: coloração do ramo do caule (1. verde clara; 2. verde-escuro; 3. verde-arroxeadado; 4. roxo) , forma do limbo foliar (1. lanceolado; 2. ovado; 3. cordato; 4.oblongo; 5.elíptico; 6.fendado; 7.pareado; 8.seccionado), divisão do limbo foliar (1. simples; 2. bilobado; 3. trilobado; 4. pentalobado; 5. heptalobado), comprimento do limbo foliar (3.curto < 8cm; 5.médio 8-15cm; 7.longo >15cm), largura do limbo foliar (1.curto < 8cm; 2.médio 8-15cm; 3. longo >15cm), sinus no limbo (1.ausência; 2.presença), profundidade do sinus no limbo foliar (3.rasa; 5.média; 7.profunda), bulado no limbo foliar (1.ausência; 2.presença), pilosidade no limbo foliar (1.ausência; 2.presença) comprimento de pecíolo (3.curto < 2cm; 5.médio 2-4cm; 7.longo >4cm); posição de nectário no pecíolo (3.adjunto ao limbo foliar; 5.próximo ao meio do limbo;7.distante do limbo foliar); coloração verde do limbo (3.clara;5.média;7.escura), largura máxima do lóbulo terminal-LMLT (3.curta < 2,33cm; 5.média 2,33-5cm; 7.larga >5cm).

Devido ao interesse na identificação de aspectos indicadores da formação de híbridos, foram avaliadas características vegetativas caulinares e foliares.

## **2.5 Análise citogenética**

Os aspectos citogenéticas foram descritos por meio de análises mitóticas e bandeamento Ag-NOR. Para a análise mitótica, foram coletadas pontas de raiz, pré-tratadas com água a 10°C, por 3 horas; em seguida, fixadas em etanol acético (3:1) e mantidas a 7°C. As fixações foram mantidas por 2-24 horas à temperatura ambiente; em seguida, estocadas a -20°C até posterior análise. As lâminas foram preparadas após lavagem e hidrólise em HCl 5N, por 20 minutos, na sequência, foram esmagados em ácido acético 45%, coradas com carmim acético, bem como congeladas para remoção da laminula, secas ao ar, coradas convencionalmente com Giemsa 2% e montadas com Entellan (GUERRA e SOUZA, 2002). As melhores

células foram capturadas com câmera fotográfica Sony com resolução de 12.1 megapixels. Para bandeamento Ag-NOR, foi utilizada solução aquosa de gelatina (solução coloidal), preparada com dissolução de 0,5g de gelatina e 25ml de água de ionizada, em meio aquecido, e depois de resfriada houve acréscimo de 0,25ml de ácido fórmico (SIGMA) a 1% em água deionizada (solução reveladora). Solução de nitrato de prata foi preparada pela dissolução de 1g de cristais de nitrato de prata (MERCK) em 2ml água ultra pura, filtrada e acondicionada em frasco escuro, para evitar a oxidação do nitrato de prata. A preparação ocorreu no momento da coloração. As duas soluções foram utilizadas na proporção de 1:2, respectivamente, no momento da coloração. Para o procedimento de coloração, retirou-se as lâminas com material do congelador, e deixou-se secar ao ar. A seguir, foram adicionadas ao esfregaço gotas das soluções na proporção de 1:2, respectivamente, até cobrir o esfregaço. Em seguida, as lâminas foram colocadas na estufa a 37°C, por 20 minutos, momento de obtenção de coloração marrom-dourado na superfície do esfregaço. As lâminas foram enxaguadas em água destilada e secas ao ar. Depois de coradas, as lâminas permaneceram ao abrigo da luz até o momento da microscopia óptica, a um aumento de 1000x (HOWELL e BLACK, 1982)

### **3. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Para avaliação das características morfológicas quantitativas, foram calculadas a média e o desvio-padrão dos híbridos putativos. As análises citogenéticas foram feitas por meio da média do número cromossômico de 10 células em metáfase e do número de bandas NOR de 10 células.

## 4. RESULTADOS

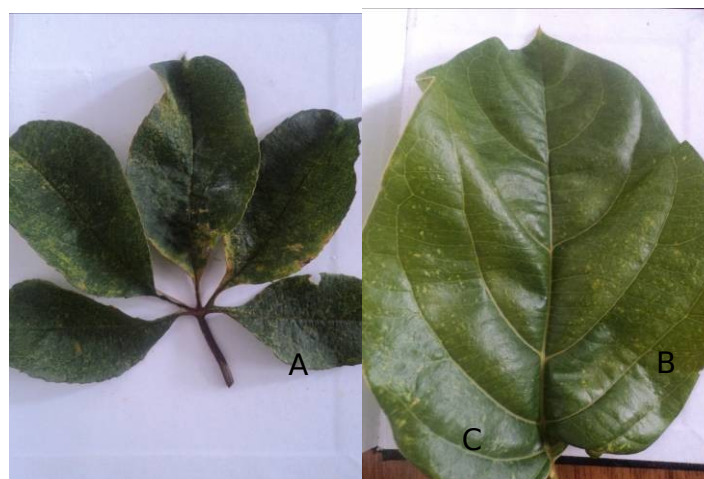
### 4.1 Obtenção de dados morfológicos

Os descritores morfológicos qualitativos e quantitativos dos híbridos putativos de maracujazeiros foram apresentados na Tabela 14. As características qualitativas e quantitativas dos ramos e das folhas dos híbridos putativos revelaram semelhanças com os parentais. Sessenta por cento dos híbridos putativos assemelham-se aos genótipos de *Passiflora quadrangularis* com relação à coloração do ramo. Quarenta e cinco por cento têm forma do limbo foliar como aquela encontrada nos genitores. Cem por cento dos indivíduos tem divisão do limbo foliar pentalobada, igual aos genótipos de *Passiflora cincinnata*. Trinta por cento apresentam comprimento do limbo foliar similar aos genótipos de *Passiflora cincinnata*, tendo todos médias inferiores aos genótipos de *P. quadrangularis*. Setenta por cento possuem largura do limbo foliar semelhante aos parentais. Cinquenta por cento têm largura máxima do lóbulo terminal similar aos indivíduos de *Passiflora cincinnata*. Cinquenta e cinco por cento apresentam sinus no limbo foliar, diferindo-se dos genitores. Com relação à coloração do limbo foliar, 35% tem coloração dos genótipos de *P. cincinnata* e 20% de *P. quadrangularis*. Aqueles que apresentam sinus no limbo foliar a maioria, 55%, tem profundidade média. A ausência de bulado e pilosidade foliar é observada em todos os indivíduos investigados, assim como nos genótipos de *Passiflora cincinnata* e *Passiflora quadrangularis*. Oitenta e cinco por cento têm comprimento de pecíolo semelhante aos genitores *P. cincinnata*. Sessenta e cinco por cento apresentam nectário posicionado distante do limbo foliar, característica vista nos genitores *P. cincinnata*.

**Tabela 14** - Descritores morfológicos qualitativos e quantitativos dos híbridos putativos de maracujazeiros. Vitória da Conquista-BA/UESB, 2012

Genótipo	HP.1	HP.2	HP.3	HP.4	HP.5	HP.6	HP.7	HP.8	HP.9	HP.10	HP.11	HP.12	HP.13	HP.14	HP.15	HP.16	HP.17	HP.18	HP.19	HP.20	P.C	P.Q.
Ramo	3	3	2	3	3	3	3	2	3	1	2	2	3	4	3	4	4	3	3	3	4	3
Forma Limbo	8	2	8	2	2	8	8	8	2	2	8	2	2	2	8	8	2	8	8	8	2	2
Divisão Limbo	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1
Comprimento Limbo	5	3	3	3	3	5	5	5	5	5	5	5	5	3	5	5	5	3	5	5	3	7
Largura Limbo	5	3	3	3	3	5	5	5	5	5	5	5	5	3	5	5	5	3	5	5	5	5
LMLT*	3	3	3	3	3	5	5	3	5	5	5	5	5	5	3	5	3	3	5	5	5	-
Sinus Limbo	2	1	2	1	1	1	2	2	1	1	2	1	2	1	2	2	1	2	2	2	1	1
Coloração verde Limbo	3	5	3	5	5	5	5	7	5	3	7	7	5	5	7	3	7	5	7	7	7	3
Profundidade Sinus Limbo	5	-	5	-	-	-	7	5	-	-	3	-	7	-	5	7	-	5	3	7	-	-
Bulado	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Pilosidade	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Comprimento peciolo	3	5	3	5	5	5	7	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	7
Posição de nectários	7	5	5	7	7	7	5	7	5	7	5	7	7	7	7	7	5	5	7	7	7	5

\*Largura máxima do lóbulo terminal ; HP=Híbrido Putativo; PC=*Passiflora cincinnata*; PQ=*Passiflora quadrangularis*



**Figura 24-** Folhas dos maracujazeiros. (A) *P. cincinnata* (B) *P. quadrangularis* (C) Híbrido Putativo HP20. Vitória da Conquista-BA/UESB, 2012.



**Figura 25-** Comparação de folhas de *P. quadrangularis* (à esquerda), Híbrido Putativo HP20 (central), *P. cincinnata* (à direita).

Com relação aos valores das características quantitativas, as médias da largura máxima do lóbulo terminal e do comprimento do pecíolo dos híbridos putativos analisados foram semelhantes aos genótipos de *Passiflora cincinnata* (Figura 24-25). Porém, as médias dos híbridos putativos 07 e 20, para o comprimento do limbo foliar, foram superiores às médias do *P. cincinnata*, estando próximo aos valores observados nos indivíduos *P. quadrangularis*. A largura do limbo foliar dos híbridos putativos 09, 11, 13 e 20 foi semelhante aos genitores *P. quadrangularis* (Tabela 15).



**Tabela 15-** Valores médios de índices morfológicos dos híbridos putativos de maracujazeiros, Vitória da Conquista-BA/UESB, 2013.

	Comprimento Limbo	Largura Limbo	LMLT	Comprimento do pecíolo
HP.1	97,48	89,86	16,15	10,62
HP.2	<b>61,91</b>	78,09	16,39	22,40
HP.3	66,14	77,86	15,64	18,26
HP.4	75,28	76,74	21,04	24,52
HP.5	72,34	78,70	18,13	21,97
HP.6	99,63	103,43	23,37	23,43
HP.7	117,48	<b>144,18</b>	31,43	<b>47,08</b>
HP.8	81,90	102,40	18,80	25,65
HP.9	94,53	125,44	24,43	30,24
HP.10	93,19	115,00	25,90	34,09
HP.11	94,51	122,83	28,50	23,65
HP.12	92,29	92,91	30,01	21,06
HP.13	105,96	127,61	25,81	30,27
HP.14	64,78	67,37	24,71	27,39
HP.15	90,77	89,24	18,82	33,75
HP.16	86,61	83,92	25,39	25,90
HP.17	93,44	94,23	21,07	31,54
HP.18	73,38	73,80	22,72	25,47
HP.19	98,38	111,55	29,44	35,35
HP.20	110,57	124,77	25,41	32,50
Média	88,52	98,99	23,15	27,25
Desvio-padrão	15,48	21,91	4,78	7,61
<i>P. cincinnata</i>	62,53	83,33	24,49	30,40
<i>P. quadrangularis</i>	156,70	124,50	-	40,70



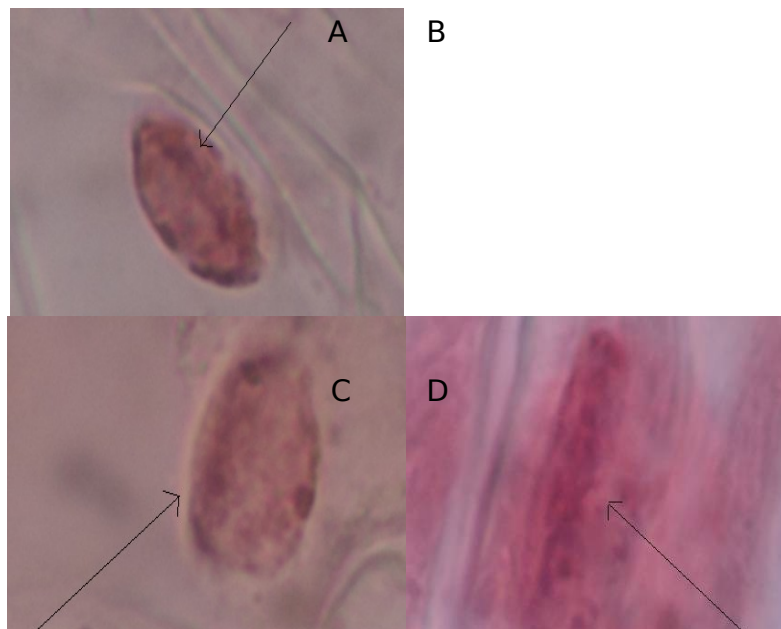
#### 4.2 Análise citogenética

Todos os híbridos putativos analisados tiveram número cromossômico igual aos genótipos de *Passiflora cincinnata* e *Passiflora quadrangularis*, sendo constituído de células com  $2x=18$ (Figura 26). Com relação às bandas NOR, foram verificadas nos híbridos 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 duas regiões organizadoras de nucléolo, mesmo número visto nos genitores *Passiflora cincinnata* e *Passiflora quadrangularis*, porém, com tamanho similar aos genótipos de *Passiflora cincinnata*. O híbrido putativo 01 apresentou cinco regiões que organizam o nucléolo, diferindo-se dos demais (Figura 27). Os híbridos putativos 11 e 20 foram similares aos outros, exceto o híbrido 01; no entanto, revelaram duas regiões de tamanhos diferentes, sendo uma semelhante ao *P.cincinnata* e a outra ao *P.quadrangularis* (Figura 28) (Tabela 16).

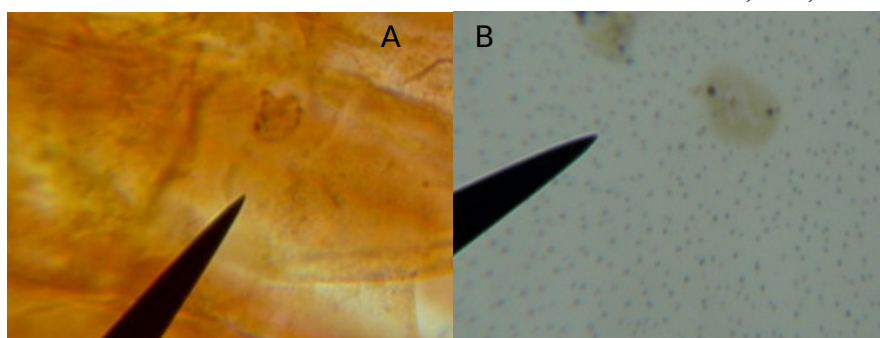
**Tabela 16** - Número cromossômico e número de regiões organizadoras do nucléolo dos híbridos. Vitória da Conquista-BA/ UESB, 2012.

Genótipo	NC(2n)	Ag-NOR
HP01	18	5 regiões
HP02	18	2 regiões
HP03	18	2 regiões
HP04	18	2 regiões
HP05	18	2 regiões
HP06	18	2 regiões
HP07	18	2 regiões
HP08	18	2 regiões
HP09	18	2 regiões
HP10	18	2 regiões
HP11	18	2 regiões**
HP12	18	2 regiões
HP13	18	2 regiões
HP14	18	2 regiões
HP15	18	2 regiões
HP16	18	2 regiões
HP17	18	2 regiões
HP18	18	2 regiões
HP19	18	2 regiões
HP20	18	2 regiões**

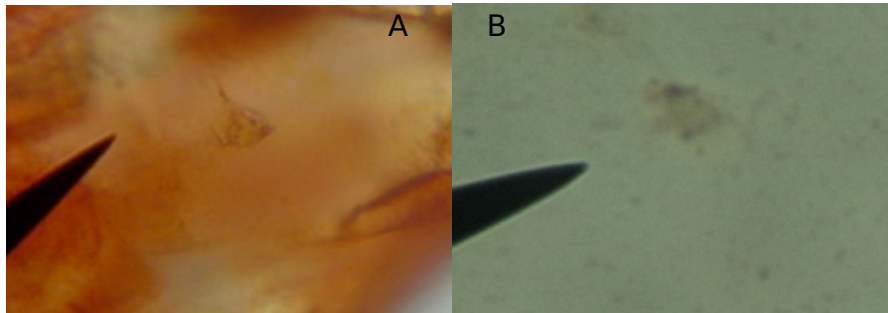
\*\*Uma região maior e outra região menor



**Figura 26-** (A) Metáfase HP01; (B) Metáfase HP11; (C) Metáfase HP19; (D) Metáfase HP20. Maracujazeiros. Fotos Britto, F.F. Vitória da Conquista-BA/ UESB,2013



**Figura 27 -** (A) Cinco bandas NOR no HP01; (B) Duas bandas NOR no HP19. Maracujazeiros.Fotos Britto F.F. Vitória da Conquista-BA/ UESB, 2013



**Figura 28-** (A) Duas bandas NOR, uma maior e outra menor de HP11; (B) Duas bandas NOR, uma maior e outra menor do HP20. Maracujazeiros. Vitória da Conquista-BA/ UESB, 2012

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1 Obtenção de dados morfológicos

A polinização dupla, ocorrida para obtenção das progênes, corrobora com Payán e Martin (1974), uma vez que estes não consideraram a autoincompatibilidade uma barreira em cruzamentos interespecíficos, sendo a falta de estímulo hormonal o principal obstáculo à hibridação. Segundo estes autores, a aplicação de substâncias promotoras de crescimento no ovário conduziu à produção normal de frutos, o mesmo sendo conseguido pela técnica do ‘pólen mentor’, utilizando-se dois estigmas polinizados por outra espécie e o terceiro por uma planta compatível da mesma espécie.

A caracterização morfológica utilizada neste trabalho para confirmação de hibridação compõe o repertório dos descritores botânicos, compreendendo os descritores referentes à coloração, proporção e formato da planta e suas partes. Os descritores morfológicos são exigidos para o registro e proteção de cultivares, sendo definidos pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA,2008). Esses descritores são extremamente úteis para apresentar ao agricultor os caracteres biológicos de interesse na escolha da cultivar e para que a mesma não seja comercializada por terceiros sem autorização.

Os dados que aproximam os híbridos putativos do genitor masculino *P. quadrangularis* apontam ocorrência da hibridação. A largura do limbo foliar e a coloração do ramo caulinar tiveram percentuais elevados de semelhança com a média dos genótipos de *P.*

*quadrangularis*. Para Faleiro e outros (2008), sete descritores contribuíram para a diferenciação de híbridos de maracujá, sendo eles: coloração do ramo, comprimento e largura do limbo foliar, comprimento do pecíolo, comprimento da sépala, diâmetro da corona e coloração predominante do perianto (sépalas e pétalas), caracteres utilizados neste trabalho. Segundo Nakasone e outros (1967), poucos caracteres do maracujazeiro possuem estudos de herdabilidade, principalmente aqueles de natureza quantitativa.

O comprimento do limbo foliar nos híbridos putativos 07 e 20, por ser superior ao *P. cincinnata* e com medida próxima ao *P. quadrangularis*, indica expressão similar a este. Devido à largura do limbo foliar das progênes híbridas 09, 11, 13 e 20, sugere-se existência de potencial relação genética entre eles e o parental *quadrangularis*. Crochemore, M.L. e outros (2003) informam que a semelhança de alguns caracteres encontrados num acesso, em *P.coccinea* e em *P.caerulea*, leva-nos a supor que *Passiflora* sp. seja resultado de um possível cruzamento.

## 5.2 Análises citogenéticas

O gênero *Passiflora* é pouco estudado citologicamente e os trabalhos têm se limitado à contagem do número de cromossomos (SNOW, 1993; MACDOUGAL, 1993). Em função desta limitação, obter resultados adicionais como a quantidade de NOR, aumenta a chance de conclusões mais seguras.

O número de cromossomos  $2x=18$  observado nas progênes, resultantes dos cruzamentos de *P.cincinnata* e *P.quadrangularis*, aponta similaridade entre a F1 e os parentais. Bruckner (1997) afirma

que, quanto ao nível de ploidia, a maioria das espécies são diploides ( $2n=12$  ou  $18$ ), existindo alta compatibilidade interespecífica em cruzamentos dentro desse grupo.

A partir das informações citogenéticas de duas espécies de plantas, pode-se prever a viabilidade de um possível híbrido. A introdução de genes pode ser incrementada por procedimentos eficientes para a detecção de cromossomos ou segmentos cromossômicos (JIANG e outros, 1994), pois o estado híbrido de uma planta pode ser determinado pelo número somático de cromossomos (SETHI, 1989).

A regularidade da mitose observada nos híbridos putativos, apresentando um mesmo número cromossômico, favorece à formação de estruturas vegetativas e reprodutivas, uma vez que a divisão mitótica ocorre com as células somáticas e responde pela renovação tecidual, pelos fenômenos de regeneração e pelo desenvolvimento orgânico (SOARES, 1971).

O encontro de bandas NOR em um mesmo número que nos parentais, na maioria dos híbridos putativos, pode ser resultante da herança de apenas um genitor. A localização de regiões organizadoras de nucléolo, constricções secundárias ou satélites, mediante impregnação pela prata (Ag-NOR), é importante para a identificação de cromossomos homólogos e homeólogos ou de relações de parentesco entre espécies próximas, distinguindo possíveis rearranjos cromossômicos (SOARES-SCOTT e outros, 2005).

As técnicas de bandeamento cromossômico expandiram os horizontes da citogenética, e a primeira aplicação do bandeamento deu-se no pareamento cromossômico. Essas técnicas têm possibilitado

compreender melhor as alterações cromossômicas que se estabelecem em cada genótipo (GUERRA, 1988).

A presença de 5 NOR no híbrido HP01 pode sinalizar maior atividade genômica neste indivíduo, demonstrando variabilidade. Contudo, foram encontradas divergências em relação ao número de satélites. Em *P. edulis*, Mayeda e Vieira (1995) apontam dois satélites e Soares-Scott e outros (1999) três.

Os híbridos HNP11 e HNP20, por análise das regiões organizadoras do nucléolo, são os indivíduos com maior chance de definição de hibridação, pois reúnem bandas dos respectivos parentais, podendo ser considerados como não putativos. Estudos citogenéticos em híbridos interespecíficos de *Passiflora*, tanto zigóticos como somáticos, são muito pouco frequentes. É importante considerar que a maioria dos híbridos obtidos, mesmo os que não foram analisados citogeneticamente, é originada de progenitores com  $2n = 18$  (SOARES-SCOTT,1999) cromossomos, sempre envolvendo espécies de interesse agrônômico. Esses híbridos sexuais mostraram compatibilidade interespecífica, já que apresentaram alguma fertilidade na parte masculina ou feminina.

Em função da provável origem dos indivíduos relatados neste trabalho, podemos considerá-los híbridos putativos, a exceção do HNP11 e HNP20, como Franco e Hidalgo (2003), que apontaram cruzamento *Passiflora* x *Rosea* com formação de híbridos putativos, existindo necessidade de mais informações, especialmente molecular, para que as inferências sejam mais precisas.

## 6 CONCLUSÕES

Houve diferença morfológica dos híbridos putativos e os parentais, bem como semelhança entre essas progênes e o genitor masculino *P. quadrangularis*.

Os híbridos não-putativos HP11 e HP20, por análise das regiões organizadoras do nucléolo, são os indivíduos com maior chance de definição de hibridação, pois reúnem bandas dos respectivos parentais.



## REFERÊNCIAS

ALZATE-MARIN, A. L. et al. Use of RAPD-PCR to identify true hybrid plants from crosses between closely related progenitors. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 19, n. 4, p. 621-623, 1996.

BRUCKNER, C. H.; OTONI, W. C. Hibridização em Maracujá. In BÓREM, A. (Ed.) **Hibridização artificial em plantas**. Viçosa: UFV, 546 p, 1999.

CRUZ, C. D. Programa GENES: Aplicativo computacional em estatística aplicada à genética (GENES - Software for Experimental Statistics in Genetics). **Genetics and Molecular Biology**, v. 21, p. 1415-4757, 1997.

CUNHA, M. A. P.; BARBOSA, L. V.; FARIA, G. A. Botânica. In: LIMA, A. A.; CUNHA, M. A. P. **Maracujá: produção e qualidade na passicultura**. Embrapa Mandioca e Fruticultura – Cruz das Almas. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, p. 13-36. 2004.

HENRIQUE, J. R. et al. Utilização de maracujá integral no desenvolvimento de sobremesa láctea (flan) e avaliação de suas características físico-químicas e sensorial. **Anais... II Semana de Ciência e Tecnologia do IFMG Campus Bambuí & II Jornada Científica 19 a 23 de Outubro de 2009**. Disponível em: <http://www.cefetbambui.edu.br/sct/trabalhos/Produ%C3%A7%C3%A3o%20Aliment%C3%ADcia/112-PT-7.pdf>. Acesso em 28/11/2012.

HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer with a protective colloidal developer: a 1-step method. **Experimentia**, 62: 361-367, 1982.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola e Municipal. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=ba&tema=lavourapermanente2007>. Acesso em: 28/11/2012.

MELETTI, L. M. M. et al. Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 55-78 p, 2005.

OLIVEIRA, S. P. **EFEITO DA PODA E DE ÉPOCAS DE COLHEITA SOBRE CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DA MANDIOCA**. Vitória da Conquista, 74p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. 2007.

OLIVEIRA, R. P.; NOVELLI, V. M.; MACHADO, M. A. Frequência de Híbridos em Cruzamento entre Tangerina ‘Cravo’ e Laranja ‘Pêra’. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 9, p. 1895-1903, 2000.

PAYÁN, F. R.; MARTIN, F. W. Barriers to the hybridization of *Passiflora* species. **Euphytica**, v. 24, p. 709-716, 1975.

PEREIRA, A.L.C; CAMPACCI.C.A.; CIANCIULLI,P.L. Maracujá: seu cultivo, espécies e moléstias. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 1.1971. Campinas. **Anais...** Campinas: SBF, v. 2, p. 641-658 HENRIQUE et al., 2009.

PEREIRA, C. A. M.; YARIWAKE, J. H.; MCCULLAGH, M. Distinction of the flavone C-glycoside pairs orientin/isoorientin and vitexin/isovitexin using LC-MS exact mass measurement and in-source CID. **Phytochem Analysis**, v. 16, p. 295-301, 2005.

RAO, S. V.; RAO, B. G. S. Studies on the crossability relationships of some spinous *Solanums*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 67, p. 419-426, 1984.

ULMER, T.; MACDOUGAL, J. M. **Passiflora: Passionflowers of the world**. Portland: Timber Press, 27 p. 2004.

VANDERPLANK, J. **Passion flowers**. 3<sup>a</sup> ed. Cambridge: The MIT Press, 224 p. 2000.

ZAHN, R. et al. Social concepts are represented in the superior anterior temporal cortex. **Proc Natl Acad Sci USA**. v. 104, p. 6430-6435, 2006.

## REFERÊNCIAS COMPLEMENTARES

ABREU, P. P. et al. Passion flower hybrids and their use in the ornamental plant market: perspectives for sustainable development with emphasis on Brazil. **Euphytica**, v.166, p. 307-315, 2009.

AGRIANUAL. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP, p. 359-365, 2006.

AGRIANUAL. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP, p.402-408, 2002.

AIZZA, L.C.B.; DORNELAS, M. C. Desenvolvimento da corona em flores do gênero *Passiflora* (*Passifloraceae*). IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 2009, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza: SBFV, 2009.

ALBERTS, B. et al. **Molecular biology of the cell**. 4 ed. Garland Science. New York, 1464p. 2002.

ALCOCHETE, A. A. N. **Diversidade genética e mapeamento de QTLs do sistema gênico de macho-esterilidade termosensível (TGMs) do genoma de arroz (*Oryza sativa* L.)**. Tese (Doutorado) - Universidade de Brasília, Brasília, 293p, 2005.

ALEXANDER, M. P. A. Versatile stain for pollen fungi, yeast and bacterium. **Stain Technology**, v. 1, n. 5, p. 13-8, 1980.

ALEXANDRE, R. S. et al. Germinação de sementes de genótipos de maracujazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 12, p. 1239-1245, 2004.

ALLARD, R. W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Editora Edgard Blücher Ltda, 485 p, 1960.

ALLARD, R.W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. Edgard Blucher - São Paulo, 381p, 1971.

AMARAL, C. L. et al. O ensino e a pesquisa com recursos genéticos vegetais na UESB. In: ROMÃO, R. L.; RAMOS, S. R. R. (Eds.). **Recursos Genéticos Vegetais do Estado da Bahia**. Feira de Santana: UEFS, p. 157-175, 2005.

ANGELO, P. C. S. Expressão gênica nos estigmas e estiletos de plantas da família Solanaceae: seqüências relacionadas com a patogênese. **Bragantia**, v. 64, n. 2, p. 177-184, 2005.

APG II. **An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II.** Bot J Linn Soc, v.141, p.399–436, 2003.

APONTE, Y.; JÁUREGUI, D. Algunos aspectos de la biología floral de *Passiflora cincinnata* Mast. **Revista de la Facultad de Agronomía**, Universidad del Zulia, v. 21, n. 3, p. 211- 219, 2004.

ARAÚJO, D.; ALVES, M. Variabilidade Morfológica de *Passiflora foetida* L.: Quantas variedades existem no estado de Pernambuco? **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, v. 2, p. 852-854, 2007.

ARAÚJO, F. P. et al. Estabelecimento de acessos de *Passiflora cincinnata* Mast. por organogênese direta in vivo de segmentos radiculares. In: ENCONTRO DE GENÉTICA DO NORDESTE, 17, 2006, Recife. Conhecimentos para o novo Milênio: [resumos]. Recife: SBG, 2006. 1 **CD-ROM**, 2006.

ARAÚJO, F. P.; SILVA, N. S.; QUEIROZ, M. A. Divergência genética entre acessos de *Passiflora cincinnata* Mast com base em descritores morfoagronômicos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p. 723-730, 2008.

ARROYO, M. T. K. Breeding systems and pollination biology in leguminosae. In: POLHILL, M.; RAVEN, P. H. (Eds). **Advances in legumes systematics**, Kew: Royal Botanic Gardens, 1981.

BALBACH, A.; BOARIM, D. As Hortaliças na Medicina Natural. 2ª Ed. Itaquacetuba: Vida Plena, 280p, 1993.

BARBOSA, L. V.; VIEIRA, M. L. C. Meiotic behavior of passion fruit somatic hybrids, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener + *P. amethystine* Mikan. **Euphytica**, v. 98, p. 121- 127, 1997.

BEAL P. R. Cytology of the native Australian *Passiflora* species. 1. Chromosome number and horticultural value. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 26, n. 3, p. 407-421. 1969a.

BEAL, P. R. Chromosome numbers of exotic *Passiflora* species in Australian. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 26, n. 1, p. 73-81. 1969b.

BELLON. G. et al. Variabilidade genética de acessos obtidos de populações cultivadas e silvestres de maracujazeiro-doce com base em marcadores rapd. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 31, n. 1, p. 197-202, 2009.

- BENEVIDES, C. R.; GAGLIANONE, M. C.; HOFFMANN, M. Visitantes florais do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. Passifloraceae) em áreas de cultivo com diferentes proximidades a fragmentos florestais na região Norte Fluminense, RJ. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, n.3, p. 415-421, 2009.
- BERNACCI, L. C. et al. *Passiflora ischnoclada* Harms (Passifloraceae), uma espécie endêmica de São Paulo e em perigo de extinção. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE EDUCAÇÃO AMBIENTAL NA AGRICULTURA, 4., Campinas. **Anais...** Campinas: IAC, p.29-30, 2002.
- BERNACCI, L. C.; VITTA, F. A.; BAKKER, Y. V. Passifloraceae. In: WANDERLEY M. G. L. et al. (Eds.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. RiMa/FAPESP, São Paulo, 3, 2003a. 247-274 p.
- BERNACCI, L.C.; VITTA, F.A.; BAKKER, Y.V. **Passifloraceae**. In: WANDERLEY M.G.L. et al. (Eds.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**, RiMa/FAPESP, São Paulo, 3, 2003b. 247-274 p.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de Plantas**. Viçosa, Ed. UFV, 5 ed., 529p,2009.
- BOSS, P. K. et al. Multiple pathways in the decision to flower: enabling, promoting and resetting. **The Plant Cell**, v. 16, p. 18-31, 2004.
- BOWDEN, M. W. A list of chromosome numbers in higher plants. II *Menispermaceae* to *Verbenaceae*. **American Journal of Botany**, v. 32, p. 191-201, 1945.
- BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; GUERRA, M. **Citogenética molecular em cereais**. In: BRAMMER, S. P.; IORCZESKI, E. J. (Org.). Atualização em técnicas celulares e moleculares aplicadas ao melhoramento genético vegetal. Passo Fundo: Embrapa Trigo, p. 277-298, 2002.
- BROWN, S. W. **Heterochromatin**. **Science**, v. 151, p. 417-425, 1966.
- BRUCKNER, C. H. et al. Maracujazeiro. In: Bruckner, C. H. (Ed). **Melhoramento de fruteiras tropicais**. Viçosa, MG: UFV, 2002. p. 373-409.
- BRUCKNER, C. H. et al. Self-incompatibility in passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). **Acta Horticulturae**, v. 370, n.1, p. 45-52. 1995a.
- BRUCKNER, C.H.; et. al. Self-incompatibility in passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). **Acta Horticulturae**, v. 370, p. 45-57, 1995b.
- BUZAR A. G. R; OLIVEIRA V. R; BOITEUX L. S. Estimativa da diversidade genética de germoplasma de cebola via descritores

morfológicos, agrônômicos e bioquímicos. **Horticultura Brasileira**, v. 25, p. 527-532, 2009.

CARVALHO, M. A.; QUESENBERRY, K. H. Morphological characterization of the USA *Arachis pintoii* Krap. and Greg. collection. **Plant Systematics and Evolution**, v. 277, p. 1-11, 2009.

CERVI, A. C. O gênero *Passiflora* (Passifloraceae) no Brasil, espécies descritas após o ano de 1950. **Adumbrationes ad Summae**. Editionem, v. 16, p. 1-5, 2006.

CERVI, A. C. Passifloraceae do Brasil. Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. **Fontqueira**, v. 45, p. 1-92, 1997.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. 2<sup>a</sup> ed. New York Botanical Garden, Bronx, p.1-7, 1988.

CROCHEMORE, M.L.; MOLINARI, H.B.; STENZEL, N.M.C. Caracterização Agromorfológica do Maracujazeiro (*Passiflora spp.*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, p.5-10, 2003.

CRUDEN, R.W. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. **Evolution**, Iowa-EUA. v.31, p.32-46, 1977.

Cruz das Almas. Brasília: **Embrapa Informação tecnológica**, p. 15-24. 2002.

CUNHA, M. A. P.; BARBOSA, L. V.; JUNQUEIRA, N. T. V. Aspectos botânicos. In: LIMA, A. A. (Ed.) **Maracujá produção: aspectos técnicos**. Embrapa mandioca e Fruticultura Cruz das Almas. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, p. 15-24. 2002.

CUTRI, L. **Estudo da função do gene leafy (LFY) em duas espécies de Passiflora**. 2009. Dissertação (Mestrado em Biologia vegetal) – Instituto do Biologia. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

DAFNI, A. **Pollination ecology – a practical approach**. New York: Oxford University Press, 1992.

DAROS, M.; MARAL JÚNIOR, A. T.; PEREIRA, T. N. S.; LEAL, N. R.; FREITAS, S. P.; SEDIYAMA, T. Caracterização morfológica de acessos de batata-doce. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 43-47, 2002.

DUARTE, M. O. et al. Biologia Reprodutiva de três espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) Em Uberlândia, Mg, Brasil. In: IX Congresso de Ecologia do Brasil, 9, São Lourenço (MG). **Anais ...São Lourenço**, CD, 2009.

DUVICK, D. N. Influence of morphology and sterility on breeding methodology. In: FREY, K.J. (Ed.) **Plant breeding**. Iowa, EUA: Iowa State University Press, p. 85-138, 1967.

ENDRESS, P. K. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. 14, Cambridge [England]; New York, NY, USA : Cambridge University Press,. 511p, 1994.

ESCOBAR, L. K. **Passifloraceae**. In: Pinto P and Lozano G (eds). Flora da Colombia. Univ. Nac. de Colombia, Bogotá, v. 10, p. 1-138, 1988.

FRANCO, T.L, e HIDALGO, R. Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Filogenéticos. Boletín técnico n.8, Cali, Colombia. 89p, 2003.

FALEIRO, F.G. et al. **BRS Estrela do Cerrado, BRS Rubiflora, BRS Roseflora: híbridos de maracujazeiro para uso como plantas ornamentais**. In: Faleiro, F.G.; Farias Neto, A.L.; Ribeiro Júnior, W.Q. (Eds.) *Livros e cultivares apresentados no II Encontro da Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas – Regional DF*. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 44-45, 2008.

FALLEIRO, T. M. **Herança da auto-incompatibilidade no maracujazeiro *Passiflora edulis* Sims**. 49 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2000.

FARIA, F. S.; STEHMANN, J. R. Biologia reprodutiva de *Passiflora capsularis* L. e *P. pohlii* Mast. (Decaloba, Passifloraceae). **Acta Botânica Brasileira**, v. 24, n. 1, p. 262-269, 2010.

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

FERREIRA, F.R. Recursos genéticos de passiflora. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds.). **Maracujá, germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 41-51. 2005.

FEUILLET, C. Passifloraceae (Passion Flower Family). IN: SMITH, N. et al. (Eds.) **Flowering Plants of the Neotropics**. Princeton - Oxford: Princeton University Press & New York Botanical Garden, p. 286-287, 2004.

FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J. M. 2007. *Passifloraceae*. In: KUBITZI, K. (Ed.). **The Families and Genera of Vascular Plants**. v. IX. Berlin: Springer, p. 270-281, 2007.

FIBGE. Ministério da Integração Nacional. Secretaria da Infra-estrutura Hídrica. Departamento de Desenvolvimento Hidroagrícola. **Maracujá**. Brasília, p.1-4, 2002.

FONSECA, J. W. S. et al. Receptividade do estigma e polinização in vivo, associada às características do fruto em espécies silvestres de *Passiflora* como subsídio para programas de hibridação. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UESC, 11, Ilhéus, Ba. **Resumo...** Ilhéus, p. 118-119,2005.

FUKUI, K.; NAKAYAMA, S. **Plant chromosomes: laboratory methods**. Boca Raton, CRC Press, 274p. 1996.

FUMIS, T. F.; SAMPAIO, A.C. Aspectos botânicos do maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryand). IN: LEONEL, S.; SAMPAIO, A. C. (Orgs.) **Maracujá-doce – Aspectos técnicos e econômicos**. UNESP, p. 25-29, 2007.

GOMES, F. FRUTICULTURA BRASILEIRA. São Paulo, 11ª edição. 325p, 1989.

GRIFFITHS, A. J. F. et al. **Introdução à genética**. 6ª ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro. 856 p, 1998.

GUERRA, M. Citogenética de angiospermas coletadas em Pernambuco, I. **Genetics and Molecular Biology**, v. 9, p. 21-40. 1986.

GUERRA, M. **Introdução a citogenética geral**. Guanabara. Rio de Janeiro,142p, 1988.

GUERRA, M. S. A situação da citotaxonomia de angiospermas nos trópicos e, em particular, no Brasil. **Acta Botanica Brasílica**, São Paulo, v. 4, n. 2, p. 75-86, 1990.

GUINET, P. H. **Advances in legume biology: structure evolution, and biology of pollen in Leguminosae**. St. Louis: Missouri Botanical Garden, 842p, 1989.

HANSEN, A. K. et al. Phylogenetic relationships and chromosome number evolution in *Passiflora*. **Systematic Botany**, v. 31, p. 138-150, 2006.

HEITZ, E. Das heterochromatin der moose. I. Jabet. **Wiss. Botany**, v. 69, p. 762-818, 1928.

HEMPEL, F. D.; WELCH, D. R.; FELDMAN L. J. Floral induction and determination: where is flowering controlled? **Trends in Plants Science**, v.5, n.1, p. 17-21, 2000.



HEYWOOD, V. H. **Flowering plants of the world**. London: B T Batsford Ltd, 335 p, 1993.

HO, W. F.; SHIH, C. T. Incompatibility system in passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). **Acta Horticulturae**, v. 194, p. 31-38, 1986.

HODGSON, L. M. Some aspects of flowering and reproductive behaviour in *Eucalyptus grandis* (Hill) Maiden at J.D.M.. Keet Forest Research Station (Formerly Zomerkomst Forest Research Station): 3 - relative yield, breeding systems, barriers to selfing and general conclusions. **South African forestry Journal**, Pretoria, v. 9, p. 53-58, 1976.

HOLLIDAY, R. The biological significance of meiosis. Symposium of the Society Exp. **Biology**, v. 38, p. 381-394, 1984.

JACK, T. Molecular and Genetic Mechanisms of Floral Control. **The Plant Cell**, v. 16, S1-S17. 2004.

JIANG, J.; FRIEBE, B.; GILL, B. S. Recent advances in alien gene transfer in wheat. **Euphytica**, v. 73, p. 199-212, 1994.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. **Plant Systematics - A Phylogenetic approach**, 464p. New York: Inc. Press, 1999.

KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologists**. Niwot: University Press of Colorado, p. 579, 1993.

KILL, L. H. P. et al. Biologia reprodutiva de *Passiflora cincinnata* Mast. (Passifloraceae) na região de Petrolina (Pernambuco, Brazil). **Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 1, p. 115-127, mar. 2010.

KILLIP, E. P. **The American species of Passifloraceae**. Publ. / Field Mus. Nat. Hist., Bot. ser. 613 p, 1938.

KING, L. A. Newly-Registered Cultivars. **Passiflora**, v. 17, n. 2, 2007.

LEWIN B. *Genes VIII*. Prentice Hall, 1056p, 2004.

LOPES, S. C. Citogenética do maracujá, *Passiflora* spp. In: SÃO JOSÉ, A. R. **Maracujá: produção e mercado**. Vitória da Conquista: UESB, p. 19-23, 1994.

LOPES, S. C. **Citogenética do maracujá, Passiflora spp.** In: SÃO JOSÉ, A. R., FERREIRA, F. R.; VAZ, R. L. (Ed.) *A cultura do maracujá no Brasil*. Jaboticabal: FUNEP, p.201-209, 1991.

LOSS, A. C. C. et al. Diversidade genética de populações de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) no estado do Espírito Santo, Brasil. **Natureza on line**, v. 4, n. 2, p. 55-61, 2006.

MACDOUGAL, J. M. Revision of *Passiflora* subgenus *Decaloba* section *Pseudodysosmia* (Passiflorácea). **Systematic Botany Monographs**. v. 41, p. 1-46, 1994.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2008. Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de *Passiflora*. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 29 dez. 2012.

MAUÉS, M. M.; COUTURIER, G. Biologia floral e fenologia reprodutiva do camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae) no Estado Pará, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 4, p. 441-448, 2002.

MAYEDA, L. Y.; VIEIRA, M. L. C. Estudo cariotípico de três espécies do Gênero *Passiflora* (Passifloraceae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 18 p. 426, 1995.

MCGUIRE, M. C. *Passiflora incarnata* (Passifloraceae): A new fruit crop. *Economic Botany*. **Springer New York**, v. 53, n. 2, p. 161-176, 1999.

MELETTI, L. M. M. et al. Crioconservação de sementes de seis acessos de maracujazeiro. **Scientia Agrária Paranaensis**, v. 6, p. 13-20, 2007.

MELETTI, L. M. M. et al. Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 55-78 p, 2005.

MELETTI, L. M. M. et al. Novas tecnologias melhoram a produção de mudas de maracujá. **O Agrônomo**, Campinas, v. 54, n.1, p. 30-33, 2002.

MELETTI, L. M. M. et al. Variabilidade genética em caracteres morfológicos, agronômicos e citogenéticos de populações de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 275-278, 2003.

MELETTI, L. M. M.; BRÜCKNER, C. H. Melhoramento Genético. In: BRÜCKNER, C. H.; PIKANÇO, M. C. **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, p. 345-385, 2001.

MELETTI, L. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C. Caracterização fenotípica de três seleções de maracujazeiro-roxo (*Passiflora*

edulis Sims). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 2, p. 268-272, 2005.

MELETTI, L.M.M; MAIA, M.L. **Maracujá: produção e comercialização**. Campinas: Instituto Agrônômico, 64 p. (Boletim Técnico, 181),1999.

MELO, N. F. **Caracterização citogenética de espécies silvestres e cultivadas de maracujazeiro (*Passiflora* spp.)**. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, 125f, 2002.

MELO, N. F.; CERVI, A. C.; GUERRA, M. Karyology and cytotaxonomy of the genus *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Plant Systematics and Evolution**. v. 226, p. 69-84, 2001.

MELO, N. F.; GUERRA, M. Variability of the 5S and 45S DNAr Sites in Passifloraceae L. Species with Distinet Base Chromosome numbers. **Annals of Botany**, London, v. 92, p. 309-316, 2003.

MICHALSKI, S. G.; DURKA, W. Synchronous Pulsed Flowering: Analysis of the Flowering Phenology in *Juncus* (Juncaceae). **Annals of Botany**, v. 100, p. 1271-1285. 2007.

MORAES, I. C. R. **Caracterização citogenética e da biologia reprodutiva de três espécies do gênero *Hypericum* L. (Clusiaceae)**. 64 p. Tese (Doutorado)-Instituto Agrônômico, Campinas-SP, 2007.

MURZA G. L.; DAVIS A. R. Flowering phenology and reproductive biology of *Drosera anglica* (Droseraceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 147, p. 417-426. 2005.

NAKASONE, H.Y.; HIRANO, R.; ITO, P. **Preliminary observations on the inheritance of several factors in the passion fruit *Passiflora edulis* and forma flavicarpa**. Hawaii: Agric. Exp. Sta., 11p. (Tec. Progr. Rep., 161), 1967.

NEREIRO, J. R. S. et al. Diversidade Genética Entre Progênies de Maracujazeiro Amarelo Baseado em Características Morfo Agrônômicas. **Revista Ceres**, v. 54, n. 312, p. 153-160, 2007.

NETO, E. M. C. Análise semântica dos nomes comuns atribuídos às espécies de *Passiflora* (Passifloraceae) no Estado da Bahia, Brasil. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 3, n. 2, p. 86-94. 2008.

NETTANCOURT, D. Incompatibility in angiosperms. New York: **Springer**, p.163-216,1977.

NUNES, T. S.; QUEIROZ, L. P. A família Passifloraceae na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. **Sitientibus**, v. 1, n. 1, p. 33-46, 2001.

NUNES, T.S.; QUEIROZ, L.P. Flora da Bahia: Passifloraceae. **Sitientibus**, v. 6, n. 3, p. 194- 226, 2006.

OLIVEIRA, J. C. **Melhoramento genético**. In: RUGGIERO, C. (Ed.) Cultura do maracujazeiro. Ribeirão Preto: L. Summa, p. 218-246, 1987.

OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. Aspectos sobre o melhoramento do maracujazeiro amarelo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 5. 1998, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEPp. 291-310, 1998.

OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. Espécies de Maracujá com potencial agrônomo. In FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (eds). **Maracujá Germoplasma e melhoramento genético**. Embrapa Cerrados, p. 141 – 158, 2005.

OSBORN, M. M.; KEVAN, P. G. LANE, M. A. Pollination biology of *Opuntia polyacantha* and *Opuntia phaeacantha* (Cactaceae) in southern Colorado. **Plant Systematics and Evolution**, v. 159, p. 85-94, 1998.

PAIXAO, S.L. et al. Divergência Genética e Avaliação de Populações de Milho em Diferentes Ambientes no Estado de Alagoas. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 4, p. 191-195, 2008.

PALMA-SILVA, C. et al. Chromosome numbers, meiotic behavior, and pollen viability of species of *Vriesea* and *Aechmea* genera (Bromeliaceae) native to Rio Grande do Sul, Brazil. **American Journal Botany**, v. 91, p. 804-807, 2004.

PARDUE, M. L.; GALL, J. G. Chromosomal localization of the mouse satellite DNA. **Science**, v. 168, p. 1356-1358, 1970.

PASSOS, I. R. S. **Comportamento in vitro em *Vitis* ssp. e em *Passiflora nitida* HBK.** 122 f. Tese (Doutorado)-Piracicaba: Universidade de São Paulo. 1999.

PAYÁN, F. R.; MARTIN, F. W. Barriers to the hybridization of *Passiflora* species. **Euphytica**, v. 24, p. 709-716, 1974.

PEDROSA, A. et al. Citogenética de Angiospermas coletadas em Pernambuco – V. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 49 – 60, 1999.

PEDROSA, A. et al. Citogenética de Angiospermas coletadas em Pernambuco – V. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 49 – 60, 1999.

- PEIXOTO, M. Problemas e perspectivas do maracujá ornamental. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 457-464, 2005.
- PEREIRA, I. A. M.; PINTO, J. E. B. P.; DAVIDE, L. C. Época da indução e evocação floral em *Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. Pêra Rio. **Ciência Rural**, Santa Maria, 2003, v. 33, n. 5, p. 857-862, 2003.
- PEREIRA, T.N.A.et al. Caracterização morfológica e reprodutiva de espécies silvestres do gênero *Passiflora*. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.; PINTO, A.C.Q.; SOUSA, E.S. (Eds) **IV Reunião Técnica de Pesquisas em Maracujazeiro**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p.29-34, 2005.
- PÉREZ, J. O. et al. Diversity of Colombian Passifloraceae: biogeography and an updated list for conservation. **Biota Colombiana**, v. 8, n.1, p. 1-45, 2007.
- RABBANI, M. A. et al. Variation and the relationship among mustard (*Brassica juncea*) germplasm from Pakistan. **Euphytica**, Dordrecht, v. 101, p. 357-366, 1998.
- RAMOS, S. R. R.; QUEIROZ, M. A. Caracterização morfológica: experiência do BAG de Cucurbitáceas da Embrapa Semi-Árido, com acessos de abóbora e moranga. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 17, p. 9-12, 1999.
- REDI, C. A. et al. The other chromatin. **Chromosoma**, v. 110, p. 136-147, 2001.
- RÊGO, M. M. et al. Pollen tube behavior in yellow passion fruit following compatible and incompatible crosses. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 101, n. 5/6, p. 685-689, 2000.
- RIGAMOTO, R. R.; TYAGI, A. P. Pollen Fertility Status in Coastal Plant Species of Rotuma Island. **South Pacific Journal Natural Science**, v. 20, p. 30-33, 2002.
- RODRIGUEZ-RIANO, T.; DAFNI, A. A. new procedure to asses pollen viability. **Sex Plant Reprod**, v. 12, p. 241-244, 2000.
- ROZA, F. A. et al. Estudo de parâmetros da fenologia floral em espécies silvestres de *Passiflora* como subsídio para programas de hibridação. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UESC, 11, Ilhéus, BA. 2005. **Anais...** Ilhéus: UESC-Empresa Júnior de Informática, p. 84-86. CD Rom, 2005.

SACCO, J. D. A. C. *Pasifloraceae*. In: R. REITZ (ed.) Flora ilustrada catarinense. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 130p, 1980.

SETHI, G. S. Towards the introgression of rye genes into wheat. In: MUJEEB-KAZI, A.; SITCH, L. A. (Ed.). **Review of advances in plant biotechnology**: 1985-1988. Mexico: CIMMYT, p. 145-155, 1989.

SILVA, A. C.; LUCENA, C. C.; VASCONCELLOS, A. S.; BUSQUET, R. N. B. Avaliação das fenofases em espécies do gênero *Passiflora*. **Agronomia**, v. 38, n.2, p. 69-74, 2004.

SILVA, H. T. Descritores mínimos indicados para caracterizar cultivares/variedades de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 32p, 2005.

SIQUEIRA, K. M. M. et al. Ecologia da polinização do maracujá-amarelo, na região do vale do submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 1-12, 2009.

SNOW, N.; MACDOUGAL, J. P. New Chromosomes Reports in *Passiflora* (Passifloraceae). **Syst. Bot.**, v. 18, n. 2, p. 261-273, 1993.

SOARES, J. Biologia no Terceiro Milênio. São Paulo: Sipione, 1999.

SOARES-SCOTT, M. D. **Caracterização citogenética de algumas espécies e híbridos inter-específicos de *Passiflora***. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 1998.

SOARES-SCOTT, M. D. et al. Citogenética clássica e molecular em *Passifloras*. In: Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. In: Faleiro FG, Junqueira NTV e Braga MF (Ed.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, cap. 9, p. 213-237, 2005.

SOARES-SCOTT, M. D.; MAGOLIN, C. A.; RECCO-PIMENTEL, S. M. Análise citogenética e métodos de isolamento do DNA gênomico de espécies e híbridos de *Passiflora* L. **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, p. 381, 1999.

SOUSA, J.S.I.; MELETTI, L.M.M. **Maracujá – Espécies, Variedades e Cultivo**. FEALQ, Piracicaba, 179 p. 1997.

SOUZA M. M.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa degener*). **Ciência Agrotécnica**, Lavras. v. 26, n. 6, p. 1209-1217, 2002.

SOUZA, J. S. I.; MELETTI, L. M. M. **Maracujá: espécies, variedades, cultivo**. Piracicaba: FEALQ. 177p. 1997.

SOUZA, M. M. et al. Flower receptivity and fruit characteristics associated to time of pollination in the yellow passion fruit *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener (Passifloraceae). **Scientia Horticulturae**, v. 101, p. 373-385, 2004.

SOUZA, M. M. et al. Karyotype of six *Passiflora* Species collected in the state of Rio de Janeiro. **Cytologia**, v. 68, n. 2, 165-171. 2003a

SOUZA, M. M. et al. Meiotic irregularities and pollen viability in *Passiflora edmundoi* Sacco (Passifloraceae). **Caryologia**. v. 56, p. 157-165. 2003b.

SOUZA, M. M. et al. Pollen viability and fertility in wild and cultivated *Passiflora* species (Passifloraceae). **Beitrag zur Biologie der Pflanzen**, v. 73, p. 1-18. 2004.

SOUZA, M. M. et al. Utilização de espécies de passiflora como plantas ornamentais na Bahia. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 58, **Anais...** São Paulo, CD Rom, 2007.

SOUZA, M. M.; VIANA, A. P.; PEREIRA, T. N. S. A putative mutant of a self-compatible yellow passion fruit with the corona color as a phenotypic marker. **Bragantia**, v. 69, n. 1, p. 9-16, 2010.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII**. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 291p, 2005.

STONE, J. L.; THOMSON; J. D.; DENT-ACOSTA, S. J. Assessment of pollen viability in hand-pollination experiments: a review. **American Journal Botany**, v. 82, p. 1186-1197, 1995.

STOREY, W. B. Chromosome numbers of some species of *Passiflora* occurring in Hawaii. **Pacific Science**, v. 4, p. 37-42. 1950.

SUASSUNA, T. M. F. et al. Selfincompatibility in passionfruit: evidence of gametophytic-sporophytic control. **Theoretical and applied genetics**, v. 106, p. 298-302, 2003.

SYBENGA, J. **Forty years of cytogenetics in plant breeding a personal view**. In: LELLEY, T. Current Topics in plant cytogenetics related to plant improvement. Viena: Universitäts Verlag, p.22-33, 1998.

TECHIO, V. H. **Meiose e análise genômica em *Pennisetum* spp.** 104f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2002.

- TEIXEIRA, C. G. Cultura. In: ITAL. **Maracujá: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos**. 2 ed. rev. e ampl. Campinas, (Série Frutas Tropicais, 9).p.1-142, 1995.
- TORRES, R. R.; MARTIN, F. W. First-Generation hybrids of edible passion fruit species. **Euphytica**, v. 23, p. 61-70, 1974.
- ULMER T.; MACDOUGAL J. M. **Passiflora: Passionflowers of the world**. Portland: Timber Press, 27 p. 2004.
- ULMER, T.; MACDOUGAL, J.M. **Passiflora- Passionflowers of the world**.Portland: Timber Press, 430 p. 2004.
- VALLS, J. F. M. Caracterização de recursos genéticos vegetais. In: NASS, L.L. (Ed.). **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília: Embrapa, p.281-305. 2007.
- VANDERPLANK, J. **Passion flowers**. 2 ed. Cambridge: The MIT, 224p. 1996.
- VANDERPLANK, J. The Beautiful World of *Passiflora*. **The passion flower legend**, United Kingdom, 2006. Disponível em: <http://www.passiflora-uk.co.uk/passion-flower-legend.shtml>. Acesso em: 28 dez. 2012.
- VARGAS, S. M. e outros, Caracterização meiótica de *C. argentea*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 50, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Costão do Santinho Resort, 2004.
- VIANA, A. J. C. **Delimitação entre as espécies *Passiflora edulis* Sims e *Passiflora sp. nativa da bahia com base em características citogenéticas, moleculares e morfológicas***.. 117 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, Ilhéus. 2009.
- ZUCARELI, V. et al. Fotoperíodo, Temperatura e Reguladores Vegetais na Germinação de Sementes de *Passiflora cincinnata* Mast. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 3, p. 106-114, 2009.
- ZUCARELLI, V. **Germinação de sementes de *Passiflora cincinnata* Mast: Fases, Luz, Temperatura e Reguladores Vegetais**. 2007. 111p. Tese (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, 2007.