UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ

PRISCILLA PATROCINIO ABREU

ANÁLISES EM *Passiflora palmeri*, *Passiflora foetida* E HÍBRIDOS F₁ ORNAMENTAIS: RELAÇÕES CITOGENÉTICAS E CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA

> ILHÉUS - BAHIA 2008

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

PRISCILLA PATROCINIO ABREU

ANÁLISES EM Passiflora palmeri, Passiflora foetida E HÍBRIDOS F₁ ORNAMENTAIS: RELAÇÕES CITOGENÉTICAS E CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, da Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Área de Concentração: Melhoramento de Plantas e Biotecnologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Margarete Magalhães de Souza.

ILHÉUS - BAHIA

2008

PRISCILLA PATROCINIO ABREU

ANÁLISES EM Passiflora palmeri, Passiflora foetida E HÍBRIDOS F₁ ORNAMENTAIS: RELAÇÕES CITOGENÉTICAS E CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA

	Dra. Margarete Magalhães de Souza
	UESC
	(Orientadora)
_	Dr. Alex-Alan Furtado de Almeida UESC
_	Dra. Telma Nair Santana Pereira UENF

Dra. Luciana Veiga Barbosa
UFBA

DEDICATÓRIA

À minha MÃE, razão de minha vida e meu porto seguro, as minhas irmãs, ao meu pai e ao meu amado Alexandre.

AGRADECIMENTOS

A DEUS por todas as graças concedidas em minha vida e durante o curso.

À Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), pela minha formação profissional, e em especial ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pela oportunidade concedida.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal pelos conhecimentos compartilhados.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pela concessão da bolsa de estudos.

A Professora Dra. Margarete Magalhães de Souza pela disponibilidade e confiança em orientar-me e por sua amizade, companheirismo, generosidade, paciência e apoio fundamentais para a conclusão deste estudo.

Ao Professor Dr. Alex-Alan Furtado de Almeida, pelo apoio, generosidade, confiança e ensinamentos transmitidos.

Ao Professor Dr. Fábio Pinto Gomes, pelo apoio valioso nas atividades de campo e análise.

À mulher mais importante da minha vida, minha mãe Ivanilda, por tudo que significa para mim.

A meu pai, João, pelo incentivo e apoio.

As minhas irmãs, Lorena e Patrícia, pelo apoio incondicional e constante.

Ao meu amor e futuro marido, Alexandre, pela paciência, apoio, incentivo e companheirismo durante este e todos os momentos da minha vida. Sua paciência e companheirismo foram essenciais nesta etapa de minha vida.

Aos meus grandes amigos Eileen e Marcel pela amizade, apoio e companheirismo fundamentais ao desenvolvimento deste trabalho, assim como pelos ótimos momentos de lazer e distração.

A minha amiga e técnica da Casa de Vegetação das Passifloras (UESC), Jôsie Cloviane, pela amizade e todo auxílio prestado no desenvolvimento do projeto.

Aos meus companheiros e amigos, Abel e Vilma, por toda ajuda dispensada, apoio e amizade.

Aos companheiros do Laboratório de Citogenética Américo, Juliane, Gabriela, Pabliane, Vanderly, Olívia, Cíntia, Poliana, Grazziella, Daniella, Samuel, Lígia, e Gilvana pelo apoio e amizade.

Aos meus amigos do curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal pela amizade e incentivo.

Aos funcionários do Departamento de Pós-Graduação em Produção Vegetal.

Aos amigos que não estiveram fisicamente próximos, mas que de alguma forma contribuíram para este trabalho.

ANÁLISES EM Passiflora palmeri, Passiflora foetida E HÍBRIDOS F₁ ORNAMENTAIS: RELAÇÕES CITOGENÉTICAS E CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA

RESUMO

As passifloras inserem-se no rol de plantas ornamentais devido a beleza intrínseca de suas flores e folhas. A hibridação interespecífica é usada para a produção de plantas ornamentais únicas. Com o objetivo de contribuir com informações básicas para programas de melhoramento que visem a obtenção de passifloras híbridas ornamentais foi realizada neste trabalho a caracterização das relações cariotípicas, comportamento meiótico e formação do gametófito masculino em genitores *Passiflora foetida* var. *foetida* ∂x *Passiflora palmeri* var. sublanceolata ♀ e híbridos interespecíficos F₁ (UESC-HD13). Paralelamente, com o objetivo de fornecer informações básicas sobre estes híbridos ornamentais para cultivo de interiores, realizaram-se estudos fisiológicos em resposta a ambientes sombreados. O cariótipo das espécies genitoras e parte da progênie apresentaram 2n = 22. O número cromossômico observado em alguns híbridos da progênie confirma citologicamente sua origem e proximidade filogenética entre os genitores. Alguns híbridos da progênie apresentaram 2n =20. A eliminação cromossômica é um evento comum em híbridos e pode ser associada as diferenças de coloração observadas na progênie F₁. Os cariótipos foram semelhantes com cromossomos metacêntricos e submetacêntricos e um par de cromossomos satelitados. A análise meiótica confirmou a homologia cromossômica entre as espécies. Configurações em bivalentes foram observadas na maioria das células analisadas dos híbridos e espécies genitoras. Algumas configurações em multivalentes (8 II + 1 IV ou 9 II + 1 IV) e univalentes (10 II + 2 I; 9 II + 2 I) também puderam ser observadas nos híbridos, o que sugere a ocorrência de recombinação genética. As análises meióticas indicaram a presença de anormalidades durante a androsporogênese, que devem ser as responsáveis pela diminuição da viabilidade polínica no genitor feminino. O índice meiótico indicou alta estabilidade citológica nas espécies e híbridos analisados. O híbrido mostrou diminuição na viabilidade polínica quando comparado ao genitor masculino. Os tipos grãos de pólens inviáveis mostraram variação no diâmetro que foram associadas as anormalidades. Os estudos de desenvolvimento do gametófito masculino evidenciaram que as etapas da androsporogênese não podem ser associadas ao tamanho de botão e antera, apenas para os estádios da androgametogênese. Sobreposições entre os comprimentos de antera e botão e estádios da androsporogênese foram observados. Os andrósporos e andrófitos foram caracterizados como uninucleados, com baixa frequência de células binucleadas. Andrófitos binucleados e com um ou dois micronúcleos foram considerados irregulares. Verificou-se que não existe um padrão de desenvolvimento basal, central ou final destes gametófitos no microsporângio, encontrando-se andrófitos com núcleos submedianos e com núcleo próximos a parede da célula em diferentes secções da antera. As respostas fisiológicas de dois híbridos representantes da progênie F₁ permitiram caracterizá-los como plantas adaptadas a ambientes de sombra, podendo ser utilizadas na ornamentação de interiores.

Palavras-chave: Híbridos ornamentais, caracterização cromossômica, comportamento meiótico, viabilidade polínica, gametogênese masculina, respostas fisiológicas ao sombreamento.

ANALYSIS IN Passiflora palmeri, Passiflora foetida AND INTERSPECIFIC F₁ HYBRIDS ORNAMENTAL: RELATIONS CYTOGENETIC AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION

ABSTRACT

The passion flowers are inserted in the roll of ornamental plants because of the intrinsic beauty of its flowers and leves. The interespecific hibridization is used for the production of single ornamental plants. Aiming to contribute with basic information for programs of improvement that have in view the obtaining of ornamental hybrids passifloras, it was done in this work the characterization of the karyotype relations, meiotic behavior and gameta male development in parents Passiflora foetida var. foetida 3x Passiflora palmeri var. sublanceolata \mathcal{P} and interspecific hybrids F_1 (UESC-HD13). Parallel to this characterization on the response of these hybrids to shaded environments were carried in order to supply basic information to the inside cultivation of the hybrids. The karyotypes of parental species and part the sexual hybrids showed 2n = 22. The chromosomic number observed in some hybrids of the lineage confirms their origin cytologically and filogenetic proximity between the parental species. Some hybrids of the lineage had presented 2n = 20. The chromosomic elimination is a common event in hybrids and it can be associated with the differences of coloration observed in the F₁ lineage. The kariotypes were similar with metacentric and submetacentric chromosomes and a pair of chromosomes with satellites. The meiotic analys in both the sexual hybrids confirmed the chromosomic homology between the parental species. The bivalents configurations had been observed in the majority of the analyzed cells of the interespecific hybrids and the parental species. Some configurations in multivalents (8) II + 1 IV or 9 II + 1 IV) and univalentes (10 II + 2 I; 9 II + 2 I) could also have been observed, suggesting the occurrence of genetic recombination. The meiotic analysis had indicated the presence of abnormalities during gameta male development, that may be the responsible for the reduction of the pollen viability in P. palmeri var. sublanceolata. When compared with the *P. foetida* var. *foetida*, the interespecific hybrid showed reduction in the pollen viability. The variation in diameter types of pollen grains unviable were linked to the meiotics abnormalities. The studies of gameta male development showed that the only stages of androgametogenese may be related to the size of button and anther. Overlaps between anther and button sizes and meiotics stages were observed. Studies showed low frequency of the cells with two nucleus, therefore the androsporos and androfitos have in cells a nucleus. Irregulars androfitos were considered when presented with one nucleus and one or two micronuclei in their cells. It was observed in the microsporangio that a standard of the development does not exist. It has been found in different sections of the anther, androfitos with submedianos nuclei and with nucleus next the cell wall. The physiological answers of two representative hybrids of the F₁ lineage allowed characterize them as suitable plants to surrounding shadings, being able to use in the interiors ornamental.

Key-Words: ornamental hybrids, chromosome characterization, meiotic behavior, pollen viability, male gametogenesis, physiological responses to shading.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 3.1. Flores de genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora*. A) *P*. 40 foetida var. foetida (2n = 22); B) P. palmeri var. sublanceolata (2n =22); C) Indivíduo UESC-HD13 representando o grupo de híbridos com 2n = 22; D) Indivíduo UESC-HD13 representando o grupo de híbridos com 2n = 20. Caracterização do número cromossômico em genitores e híbridos F₁ 44 Figura 3.2. UESC-HD13 de Passiflora. (A) P. foetida var. foetida; (B) P. palmeri var. sublanceolata; (C) Indivíduo UESC-HD13 representando o grupo de híbridos com 2n = 22 cromossomos; (D) Indivíduo UESC-HD13 representando o grupo de híbridos com 2n = 20 cromossomos. (Barra = 5 μm). Figura 3.3. Amostra bimodal dos híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora* indicando 44 a existência de dois grupos, com valores centrados em dois pontos diferentes do eixo de valores. Figura 3.4. Ideogramas de genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora*. A) 48 P. palmeri var. sublanceolata; B) P. foetida var. foetida; C) Híbrido com 2n = 22; D) Híbrido com 2n = 20, evidenciando o comprimento total (CT) e o comprimento relativo (R) de cada cromossomo. 73 Figura 4.1. Comportamento meiótico em genitores Passiflora foetida var. foetida (3) x P. palmeri var. sublanceolata (\updownarrow) e híbridos F₁ UESC-HD13 corados com DAPI. A) Diplóteno em P. palmeri var. sublanceolata, n = 11; B) Diplóteno em P. foetida var. foetida, n = 11; C) Diacinese em híbridos F_1 UESC-HD13 com n = 11, demonstrando 10II e 2I (seta); D) Diacinese em híbridos F_1 UESC-HD13 com n = 10, demonstrando 9II e 2I (seta). Figura 4.2. Comportamento meiótico em genitores *Passiflora foetida* var. *foetida* (3) x 77 *P. palmeri* var. *sublanceolata* (\mathcal{P}) e híbridos F_1 UESC-HD13 corados com DAPI. A) Metáfase I regular em P. foetida var. foetida; B) Segregação Irregular (seta) em metáfase I de P. palmeri var. sublanceolata; C) Anáfase I
- Figura 4.3. Comportamento meiótico em genitores *Passiflora foetida* var. *foetida* (3) x *P. palmeri* var. *sublanceolata* (\$\beta\$) e híbridos F₁ UESC-HD13 corados com DAPI. A) Metáfase II regular em *P. foetida* var. *foetida;* B) Segregação irregular (seta) em metáfase II nos híbridos F₁ UESC-HD13;C) Anáfase II regular nos híbridos F₁ UESC-HD13; D) Assincronia em meiose II com um pólo em metáfase e o outro em anáfase nos híbridos F₁ UESC-HD13

com micronúcleo nos híbridos F₁ UESC-HD13.

regular em híbrido; D) Pontes cromossômicas (seta) em anáfase I de *P. palmeri* var. *sublanceolata*; E) Telófase I regular em híbrido; F) Telófase I

Figura 4.4.	Comportamento meiótico em genitores $Passiflora$ foetida var. foetida (\circlearrowleft) x P . palmeri var. sublanceolata (\updownarrow) e híbridos F_1 UESC-HD13 corados com DAPI. A) Anafase II com desorientação das fibras do fuso (Fuso tripolar) II de P . foetida var. foetida; B) Telófase II regular em híbrido F_1 UESC-HD13; C) Teléfase II formada por fuso transverso em P . foetida var. foetida; Telófase II regular em híbrido; D) Telófase II polinuclear (5 núcleos) em P . palmeri var. sublanceolata.	79
Figura 4.5.	Comportamento pós-meiótico em genitores <i>Passiflora foetida</i> var. <i>foetida</i> (\circlearrowleft) x <i>P. palmeri</i> var. <i>sublanceolata</i> (\hookrightarrow) e híbridos F_1 UESC-HD13 corados com DAPI. A) T) Tétrade regular em híbridos F_1 UESC-HD13; B) Políade em <i>P. palmeri</i> var. <i>sublanceolata</i> ; C) Díade em <i>P. foetida</i> var. <i>foetida</i> ; D) Mônade em <i>P. palmeri</i> var. <i>sublanceolata</i> ; E) Tríade em híbridos F_1 UESC-HD13.	82
Figura 4.6.	Testes com Diacetato de Fluoresceína (DFA), solução de Alexander e lugol em genitores <i>P. foetida</i> var. <i>foetida</i> (A, D, G) x <i>P. palmeri</i> var. <i>sublanceolata</i> (B, E, H) e híbridos F ₁ UESC-HD13 (C, F, I). A-C) Teste com DFA evidenciando GP verdes fluorescentes viáveis; D-F) Teste com solução de Alexander, com setas indicando GP não íntegros, com GP inviável contraído (Figura D), GP inviável pulverizado (Figura E) e GP inviável vazio (Figura F); G-I) Teste com lugol, demonstrando reação positiva (coloração alaranjada) ao amido (seta), e negativa em GP não íntegros	84
Figura 4.4.	Frequência de GP inviáveis T1, T2 e T3 em genitores e híbrido F ₁ . A) <i>Passiflora foetida</i> var. <i>foetida</i> ; B) <i>P. palmeri</i> var. <i>sublanceolata</i> ; C) Híbrido UESC-HD13.	89
Figura 5.1.	Metodologia aplicada ao estudo de correlação do tamanho do botão e antera, posição nuclear e lóculo da antera, durante desenvolvimento do GP. (A-B) Comprimento da antera e análise das tecas da antera, seccionadas em quatro partes equivalentes; (C) Medidas de comprimento, largura e maior distância do núcleo (MDN) para inferir o estágio de desenvolvimento do GP; (D-F) Desenvolvimento regular do GP; (D) GP em estágio inicial de desenvolvimento com núcleo situado na região mediana; (E) GP em estágio intermediário de desenvolvimento com núcleo situado na região final de desenvolvimento com núcleo situado próximo à parede do GP; (G-I) Desenvolvimento irregular do GP; (G) GP dois núcleos de mesmo tamanho; (H) GP com um micronúcleo; (I). GP com dois micronúcleos	113

Figura 5.2. Média dos valores de botão floral e antera em função da androgênese do gameta masculino de *P. foetida* var. *foetida* *Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Figura 5.3.	Média dos valores de botão floral e antera em função da androgênese do gameta masculino de <i>P. palmeri</i> var. <i>sublanceolata</i> . *Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).	118
Figura 5.4.	Média dos valores de botão floral e antera em função androgênese do gameta masculino do híbrido F ₁ UESC-HD13 *Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).	119
Figura 5.5.	Desenvolvimento regular e irregular dos gametófitos em genitores e híbridos F ₁ UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> . (A) Andrósporos em <i>P. foetida</i> var. <i>foetida</i> ; (B) Andrófito I com núcleo na posição submediana em <i>P. palmeri</i> var. <i>sublanceolata</i> ; (C) Andrófito I com núcleo próximo à parede nos híbridos UESC-HD13; (D) Andrófito com núcleos de mesmo tamanho (seta) nos híbridos UESC-HD13; (E) Andrófito com um micronúcleo (seta) em <i>P. foetida</i> var. <i>foetida</i> ; (F) Andrófito com dois micronúcleos (seta) em <i>P. palmeri</i> var. <i>sublanceola</i> .	122
Figura 5.6.	Posição nuclear dos gametófitos em genitores e híbridos F_1 UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> associada a distância média do núcleo a parede do GP *Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).	125
Figura 6.1.	Curso diurno da radiação fotossinteticamente ativa (RFA), temperatura e umidade relativa do ar, de cada tratamento de sombra, medidos ao nível da extremidade superior das plantas entre 8 às 18 h.	141
Figura 6.2.	Curvas de resposta da taxa fotossintética líquida (<i>A</i> ; µmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹) à radiação fotossinteticamente ativa (RFA; µmol fótons m ⁻² s ⁻¹) em híbridos interespecíficos F ₁ ornamentais de passifloras, UESC-HD13-141 (A) e UESC-HD13-133 (B) cultivadas em diferentes níveis de sombreamento, aos 170 dias após a aplicação dos tratamentos.	147
Figura 6.3.	Variáveis de emissão de fluorescência da clorofila em híbridos interespecíficos F_1 ornamentais de passifloras, UESC-HD13-141 e UESC-HD13-133, cultivadas em diferentes níveis de sombreamento, aos 170 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de três repetições. *Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).	149

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1.	Morfometria cromossômica dos genitores e híbridos F ₁ UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> , evidenciando o comprimento médio do braço longo (BL), braço curto (BC), satélite (SAT), comprimento total do cromossomo* (CT) (μm), e razão entre os braços (r) e classificação (CLASS) dos cromossomos segundo o posicionamento do centrômero, em metacêntrico (M) e submetacêntrico (SM).	46
Tabela 3.2.	Resumo da ANOVA para a característica comprimento dos cromossomos em genitores e dois grupos de híbridos F_1 UESC-HD13 ($2n = 22$ e $2n = 20$) de <i>Passiflora</i> .	49
Tabela 3.3.	Resumo da ANOVA para o comprimento de cada par cromossômico entre os genitores e dois grupos de híbridos F_1 UESC-HD13 ($2n = 22$ e $2n = 20$) de <i>Passiflora</i> .	49
Tabela 3.4.	Fórmulas cariotípicas, comprimento médio dos cromossomos (χ) , posição dos microssatélites (SAT; braço e cromossomo), comprimento do lote haplóide (CLH) e índice de assimetria cromossômica (TF%) em genitores e híbridos F_1 UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> .	51
Tabela 4.1.	Valores médios do número de quiasmas terminais (QT), intersticiais (QI) e totais (QTT), e índice de recombinação (IR) em genitores e híbridos F_1 UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> .	74
Tabela 4.2.	Resumo da ANOVA para as características quiasmas terminais (QT), quiasmas intersticiais (QI), quiasmas totais (QTT) e índice de recombinação (IR) em genitores e dois grupos de híbridos F_1 UESC-HD13 ($n = 11$ e $n = 10$) de <i>Passiflora</i> .	75
Tabela 4.3.	Valores percentuais médios de células observadas em cada fase da meiose I em genitores e híbridos F ₁ UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> .	75
Tabela 4.4.	Valores percentuais médios de células observadas em cada fase da meiose II em genitores e híbridos F_1 UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> .	76

Tabela 4.5.	Resumo da ANOVA para a característica índice meiótico em genitores e híbridos F_1 UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> .	81
Tabela 4.6.	Resumo da ANOVA para as características corabilidade e viabilidade dos grãos de pólen (GP) em genitores e híbridos F ₁ de <i>Passiflora</i> : GP viáveis e GP inviáveis do Tipo 1 (vazio), Tipo 2 (contraído) e Tipo 3 (Pulverizado) com solução de Alexander e Diacetato de Fluoresceína.	85
Tabela 4.7.	Valores percentuais médios, mínimos (Mín) e máximos (Máx) de grãos de pólen (GP) viáveis e inviáveis em genitores e híbridos F ₁ UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> obtidos por meio de teste com Diacetato de Fluoresceína.	86
Tabela 4.8.	Valores percentuais médios, mínimos (Mín) e máximos (Máx) de grãos de pólen (GP) viáveis e inviáveis T ₁ (vazio), T ₂ (contraído) e T ₃ (pulverizado) em genitores e híbridos F ₁ UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> obtidos por meio de teste com solução de Alexander.	87
Tabela 4.9.	Resumo da ANOVA para a característica comprimento dos grãos de pólen (GP) viáveis e Inviáveis (IN) Tipo 1 (vazio), Tipo 2 (contraído) e Tipo 3 (Pulverizado) em genitores e híbridos F ₁ UESC-HD13 de <i>Passiflora</i>	88
Tabela 4.10.	Valores médios, mínimos (Mín) e máximos (Máx) dos comprimentos (μm) de grãos de pólen (GP) viáveis e inviáveis T1 (vazio), T2 (contraído) e T3 (pulverizado), em genitores e híbridos F₁ de <i>Passiflora</i> .	88
Tabela 5.1.	Estágios do desenvolvimento dos microgametófitos em genitores e híbridos F ₁ UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> associado aos valores máximos e mínimos, médias e desvio padrão (dp) dos comprimentos de botão e antera (mm).	115
Tabela 5.2.	Resumo da ANOVA dos estágios de desenvolvimento do grão de pólen dos genitores e híbridos F ₁ UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> associado aos valores máximos e mínimos e médios dos comprimentos de botão e antera (mm).	120
Tabela 5.3.	Análise de correlações de Pearson entre as variáveis comprimento do botão (CB) e comprimento da antera (CA) em genitores e híbridos F ₁ UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> .	121

Tabela 5.4.	rrequencia (%) do número de nucleos observados em celulas de andrósporos e andrófitos em genitores e híbridos F ₁ UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> .	121
Tabela 5.5.	Valores médios, máximos e mínimos do comprimento do botão (CB) e da antera (CA) (mm), largura (LG) e comprimento (CG) do gametófito (μ m) e da distância do núcleo (DN) à parede do gametófito (μ m) em genitores e híbridos F_1 UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> .	123
Tabela 5.6.	Resumo da ANOVA do comprimento do botão (CB) e da antera (CA) (mm), largura (LG) e comprimento (CG) do gametófito (μm) e da distância do núcleo (DN) à parede do gametófito (μm) em genitores e híbridos F ₁ UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> .	124
Tabela 5.7.	Valores médios das variáveis comprimento (CG), largura (LG) e distância do núcleo (DN) à parede do gametófito em relação à posição do núcleo (µm) em genitores e híbridos F ₁ UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> .	126
Tabela 5.8	Associação das secções da antera (lóculos 1, 2, 3 e 4) e as variáveis de comprimento (CG), largura (LG), e distância do núcleo (DN) à parede do gametófito (µm) em genitores e híbridos F ₁ UESC-HD13 de <i>Passiflora</i> .	127
Tabela 6.1.	Variáveis climáticas referentes ao período experimental (novembro de 2007 a maio de 2008).	142
Tabela 6.2.	Valores médios dos parâmetros derivados das curvas de respostas a luz para em híbridos interespecíficos F ₁ ornamentais de passifloras, UESC-HD13-141 e UESC-HD13-133, cultivadas em três níveis de sombreamento, aos 170 dias após a aplicação dos tratamentos.	146
Tabela 6.3.	Valores médios da taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (g_s), taxa transpiratória (E) e razão entre a concentração intercelular e ambiente de CO_2 (C_i/C_a) em híbridos interespecíficos F_1 ornamentais de passifloras, UESC-HD13-141 e UESC-HD13-133, cultivadas em três níveis de sombreamento, aos 170 dias após a aplicação dos tratamentos, em RFA \geq 600 μ mol fótons m ⁻² s ⁻¹	148

SUMÁRIO

	Resumo	vii
	Abstract	viii
1.	INTRODUÇÃO	1
2.	REVISÃO DE LITERATURA	4
CAP	PÍTULO I	
3.	RELAÇÕES CARIOTÍPICAS ENTRE OS GENITORES Passiflora foetida var. foetida x Passiflora palmeri var. sublanceolata E HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS F ₁ ORNAMENTAIS RESUMO	36 36
3.1.	INTRODUÇÃO	37
3.2.	MATERIAL E MÉTODOS	39
3.3.	RESULTADOS	43
3.4.	DISCUSSÃO	51
3.5.	CONCLUSÕES	58
3.6.	AGRADECIMENTOS	58
3.7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
CAP	PÍTULO II	
4.	AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE REPRODUTIVA NOS GENITORES Passiflora foetida var. foetida x Passiflora palmeri var. sublanceolata E HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS F ₁ ORNAMENTAIS	65
	RESUMO	65
4.1.	INTRODUÇÃO	66
4.2.	MATERIAL E MÉTODOS	68
4.3.	RESULTADOS	72
4.4.	DISCUSSÃO	90
4.5.	CONCLUSÕES	97
4.6.	AGRADECIMENTOS	98
4.7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98

CAPÍTULO III

	106
	100
,	107
RESULTADOS	114
DISCUSSÃO	128
CONCLUSÕES	131
AGRADECIMENTOS	132
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	132
CAPÍTULO IV	
EFEITOS DO SOMBREAMENTO NAS CARACTERÍSTICAS FOTOSSINTÉTICAS NOS HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS F ₁ ORNAMENTAIS ENTRE Passiflora foetida var. foetida x Passiflora palmeri var. sublanceolata	137
	137 138
MATERIAL E METODOS	140
RESULTADOS	145
DISCUSSÃO	150
CONCLUSÕES	153
AGRADECIMENTOS	154
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	154
CONCLUSÕES GERAIS	158
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	159
	DISCUSSÃO CONCLUSÕES AGRADECIMENTOS REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS CAPÍTULO IV EFEITOS DO SOMBREAMENTO NAS CARACTERÍSTICAS FOTOSSINTÉTICAS NOS HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS F1 ORNAMENTAIS ENTRE Passiflora foetida var. foetida x Passiflora palmeri var. sublanceolata RESUMO INTRODUÇÃO MATERIAL E MÉTODOS RESULTADOS DISCUSSÃO CONCLUSÕES AGRADECIMENTOS REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS CONCLUSÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

Originário das Américas (KILLIP, 1938), o gênero *Passiflora* L. é o mais representativo da família Passifloraceae Juss. (Ordem Malpighiales) (VANDERPLANK, 2000; MILWARD-DE-AZEVEDO; BAUMGRATZ, 2004). Apresenta uma expressiva diversidade genética, sendo constituído por 21 subgêneros (NUNES; QUEIROZ, 2001) e cerca de 520 espécies descritas (CERVI, 2005), amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais (VANDERPLANK, 2000; ULMER; MACDOUGAL, 2004). O Brasil é o país de maior representatividade e centro de origem de cerca de 200 espécies de *Passiflora*, com o centro de diversidade localizado notadamente na região Centro-Norte (LOPES, 1994). Além disso, possui uma condição privilegiada quanto aos recursos genéticos de *Passiflora*, possuindo a ampla variabilidade genética a ser utilizada em programas de melhoramento (MELETTI et al., 2000). Entre os estados brasileiros, a Bahia se destaca apresentando uma expressiva ocorrência de espécies do gênero *Passiflora*, com 45 espécies relatadas, como a *P. villosa* Dombey ex Triana & Planch. e *P. galbana* Mast. (NUNES; QUEIROZ, 2001).

O gênero compreende plantas trepadeiras perenes de hábito herbáceo ou lenhoso, geralmente com gavinhas, raramente ervas eretas, espécies arbustivas ou pequenas árvores (VANDERPLANK, 2000; ULMER; MACDOUGAL, 2004). Devido as suas propriedades agronômicas, farmacêuticas e paisagísticas, as espécies de maracujá são largamente conhecidas no mundo. Suas espécies despertam fascínio devido ao exotismo, beleza e variedade de formatos, tamanho e coloração de suas flores e folhas (VANDERPLANK, 2000; ULMER; MACDOUGAL, 2004). As flores de *Passiflora* spp. possuem uma beleza inquestionável e são consideradas por muitos exóticas e complexas, com coloração variando do forte e brilhante ao suave e marcante devido, principalmente, à presença de corona, que caracteriza a família (VANDERPLANK, 2000). Outros atributos estéticos como a característica excêntrica de suas flores, número abundante e florescimento ao longo do ano acrescenta valor ornamental a estas espécies (SOUZA; PEREIRA, 2003).

Igualmente fascinante é a folhagem exuberante com ampla variedade de formatos, tamanhos e tonalidades de verde, tendo muitas espécies valor ornamental exclusivamente em função da folhagem (SOUZA; PEREIRA, 2003). Estes atributos estéticos agregam valor ornamental, que adicionado ao apelo religioso como a 'Flor da Paixão', referenciando a semelhança da morfologia das flores com os elementos da crucificação de Jesus Cristo, potencializa a utilização das passifloras no mercado de plantas ornamentais (PEIXOTO, 2005).

O uso das passifloras como ornamental é relatado há cinco séculos, desde sua introdução no 'Velho Mundo', por volta de 1625, que se têm destacado na Europa e América do Norte no mercado de sementes e mudas de espécies silvestres e híbridas (VANDERPLANK, 2000; ULMER; MACDOUGAL, 2004; PEIXOTO, 2005). As hibridações interespecíficas vêm sendo utilizada desde o séc. XIX para produção de plantas ornamentais únicas nesses países (VANDERPLANK, 2000; PEIXOTO, 2005). A beleza das espécies silvestres e híbridos de *Passiflora* é muito pouco conhecida no Brasil. Esta problemática vem sendo contornada pelo desenvolvimento de programas de hibridação específicos para a obtenção de híbridos ornamentais de *Passiflora*, pioneiro na Universidade Estadual de Santa Cruz, desde 2005.

Considerando a variabilidade genética do gênero, a análise e conhecimento citogenético permite a seleção de espécies com genótipos hábeis ao cruzamento interespecífico (OHRI, 1998), compatíveis somática e reprodutivamente (SOUZA et al., 2004), prevendo o sucesso da hibridação e a viabilidade do híbrido. A condição híbrida de uma planta pode assim ser determinada pelo número de cromossomos e comportamento meiótico (SOARES-SCOTT et al., 2005). As análises cariotípicas podem sugerir, ainda, relações filogenéticas e evolutivas num grupo de planta (RUAS, 1989).

As análises meióticas são importantes na confirmação do sucesso do programa de hibridação. O pareamento entre os cromossomos homeólogos, a recombinação cromossômica e o grau de irregularidades e viabilidade gamética esperada são informações relevantes e adquiridas por meio das análises meióticas (SOUZA et al., 2003b). O pareamento cromossômico, de acordo com Vanderplank (2000), é muito importante para a exata divisão dos cromossomos, quando o conjunto diplóide de cromossomos em um adulto é reduzido a um conjunto haplóide nos gametas. Quando tais cromossomos não pareiam, os gametas recebem um número irregular de cromossomos, e apenas poucos gametas recebem o número correto de cromossomos, puramente ao acaso, o que diminui o número de células capazes de

produzir gametas viáveis. Assim, o número de células viáveis surge em proporção ao aumento da homologia dos cromossomos parentais (VANDERPLANK, 2000).

Os estudos sobre o pareamento cromossômico, índice meiótico e viabilidade do pólen permitem analisar a estabilidade meiótica (LOVE, 1951) durante a androsporogênese, e a formação dos grãos de pólen durante a androgametogênese, proporcionando estimar a capacidade de fertilidade da planta, fenômenos que têm influência sobre as características morfológicas desejáveis transmitidas de uma geração a outra.

O efeito do sombreamento artificial sobre os processos fisiológicos é complexo e envolve a diminuição da intensidade de radiação luminosa, variação na temperatura, umidade relativa do ar e do solo (ZANELLA et al., 2006). Nesse contexto, a adaptação das plantas ao ambiente de luz depende do ajuste de seu aparelho fotossintético, de modo que a irradiância seja utilizada de maneira mais eficiente possível, sendo as respostas dessa adaptação refletidas no crescimento global da planta (FANTI; PEREZ, 2003). Em passifloras, estudos sobre respostas fisiológicas ao sombreamento são escassos.

Com o presente estudo, objetivou-se obter híbridos interespecíficos entre duas espécies silvestres de potencial ornamental, *P. palmeri* Rose var. *sublanceolata* Killip e *P. foetida* var. *foetida* L., confirmar a natureza híbrida por meio de análises cariotípicas, meióticas e de desenvolvimento e viabilidade do grão de pólen, além de realizar a caracterização fisiológica dos híbridos interespecíficos produzidos. Além disso, pretende-se com este trabalho chamar a atenção para o potencial comercial e produtivo das passifloras e híbridos como plantas ornamentais de interiores na geração de renda na agricultura familiar da região sul da Bahia.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A FAMÍLIA PASSIFLORACEAE E O GÊNERO PASSIFLORA

A família Passifloraceae Juss. encontra-se atualmente incluída na ordem Malpighiales (MILWARD-DE-AZEVEDO; BAUMGRATZ, 2004). É uma família de expressiva diversidade, composta de 18 gêneros e cerca de 630 espécies (VANDERPLANK, 2000). Não há um consenso entre os autores sobre o número de espécies incluídas nesta família. Watson & Dallwitz (1992) e Vanderplank (2000) apontam 530 espécies em cerca de 18 gêneros. Barroso (1978) aponta 600 espécies em 23 gêneros e Feuillet (2004) menciona 700 espécies em 18 gêneros.

São, principalmente, trepadeiras, mas há também arbustos e árvores baixas. As principais características são a presença de gavinhas axilares, glândulas extraflorais ou nectários, folhas alternas simples, coroa de estaminódios, gineceu e androceu com base comum (androginóforo) e sementes ariladas (VANDERPLANK, 2000). Possui distribuição principalmente tropical, mas também ocorre em regiões subtropicais, como no norte da Argentina, África do Sul, Austrália, Nova Zelândia, América do Norte e Ásia (VANDERPLANK, 2000; ULMER; MACDOUGAL, 2004).

A maioria dos gêneros tem distribuição restrita ao hemisfério ocidental (tribo *Passifloreae* D.C.) ou ao hemisfério oriental (tribo *Paropsieae* D.C.). A exceção a esta distribuição é o gênero *Passiflora*, que apesar de ser predominantemente americano, apresenta muitas espécies registradas também em áreas do Sul da Ásia, África e Oceania (VANDERPLANK, 2000). A tribo *Paropsieæ* é representada por 6 gêneros: *Androsiphonia* Stapf. e *Viridivia* Hemsl. & Verdc., que são gêneros monotípicos; *Smeathmannia* Sol. ex R. Br., com duas espécies; *Barteria* Hook.f., com 5 espécies; *Paropsiopsis* Engl., com 7 espécies; e *Paropsia* Noronha ex Thouars, a mais numerosa com 10 espécies (CERVI, 1997). A tribo *Passiflorieæ* é representada por 14 gêneros. No continente latino-americano a tribo é

representada por cinco gêneros: *Dilkea* Mast., com 6 espécies; *Mitostemma* Mast., com 3 espécies; *Tetrastylis* Barb. Rodr., gênero monotípico (*T. ovalis*); *Ancistrothyrsus* Harms, com 2 espécies; e *Passiflora* L., com cerca de 400 espécies (CERVI, 2007).

No Brasil são registrados quatro destes gêneros, excetuando-se *Ancistrothyrsus* (BARROSO, 1978). Dentre os quais, o de maior representatividade é o gênero *Passiflora*, constituído por 22 subgêneros (KILLIP, 1938) e cerca de 520 espécies descritas no mundo (CERVI, 2005). Entre os países de maior representatividade está o Brasil, centro de origem de cerca de 200 espécies de *Passiflora* e o maior centro de distribuição geográfica do gênero localizado na região Centro-Norte do país (LOPES, 1994; BERNACCI et al., 2003). O estado da Bahia se constitui um centro de expressiva diversidade com cerca de 45 espécies relatadas, dentre as quais, quatro espécies foram citadas pela primeira vez, *P. luetzelburgii* Harms, *P. villosa* Vell., *P. rhamnifolia* Mast. e *Passiflora sp. nov*. Outras três são endêmicas, *P. saxicola* Gontsch., *P. bahiensis* Klotzsch e *P. mucugena* Nunes & Queiroz. Ambas as espécies, *Passiflora sp. nov*. e *P. mucugena*, são espécies novas e endêmicas da Bahia, sendo conhecidas apenas em pequena área e próxima à cidade de Mucugê (NUNES; QUEIROZ, 2001). Os principais centros de diversidade encontrados no estado ocorrem na Chapada Diamantina e no Sul da Bahia, em fragmentos de Mata Atlântica em altitudes elevadas (NUNES; QUEIROZ, 2001).

Assim como para a família Passifloraceae, há controvérsias também quanto ao número de espécies incluídas no gênero *Passiflora*. Têm-se estimado em mais de 500 espécies (FEUILLET, 2004; CERVI, 2005) tradicionalmente agrupadas em 22 subgêneros desde o trabalho de Killip (1938), mas revisões recentes propõem a existência de três ou quatro grupos naturais. Numa das classificações mais recentes, Feuillet & MacDougal (2003) consideraram 4 subgêneros: *Astrophea* D.C., *Deidamioides* (Harms) Feuillet & MacDougal, *Decaloba* (D.C.) Rehb. e *Passiflora* L. Muschner et al. (2003), por meio de análises moleculares os autores encontraram 3 grandes clados (*Astrophea*, *Decaloba* e *Passiflora*), mas não descartaram a possibilidade de existência do sub-gênero *Deidamioides*. Do ponto de vista da morfologia das flores e da polinização, esta revisão possui um aspecto interessante: as linhagens de *Passiflora* parecem se subdividir em um clado com flores maiores, *Passiflora*, e outros com flores menores, onde estão inclusos *Astrophea* e *Decaloba* (MUSCHNER et al., 2003).

O gênero compreende plantas comumente conhecidas como maracujás, de origem tupi-guarani e deriva do termo murukuia que significa "comida preparada em cuia", numa alusão ao formato dos seus frutos, dentre os quais se destacam maracujá-roxo (*P. edulis*

Sims. f. *edulis*), maracujá-amarelo (*P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* O. Deg) e maracujá-doce ou maracujá-peroba (*P. alata* Dryander). Tillett (1988) realizou um levantamento histórico dos registros de *Passiflora* na Europa, mencionando que o primeiro deles seria o de 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 (CERVI, 1997). Menciona-se também um registro de Pietro Antonio Michiel, entre 1553 e 1565, da planta já cultivada na Itália. Segue-se o primeiro registro taxonômico por Nicolae Monardes, em 1569, e, finalmente, o envio de flores para o Papa Paulo V, em 1605, por missionários católicos, afirmando-se que a flor exibia símbolos da crucificação de Cristo, de onde se originou o nome latino da planta, ainda comum em espanhol e inglês, *fruit de la passion* ou *passion flower* (ULMER; MACDOUGAL, 2004). A partir deste ano ímpar, as passifloras foram cultivadas e propagadas para vários países católicos da Europa.

A formalização da interpretação legendária da flor foi feita com as ilustrações do historiador e eclesiástico Jacomo Bosio, por volta de 1610, em "La trionfante e gloriosa Croce", e segundo a qual as estruturas da planta remetiam à crucificação de Cristo (VANDERPLANK, 2000). Então, a partir do século XVII começaram a surgir referências científicas, destacando-se os trabalhos pré-lineanos de Hernández, Pluchenet, Plumier e Tournefort (CERVI, 1997). O nome *Passiflora* (derivado do latim: *passioni flos*) foi cunhado por Pluckenet, embora o gênero tenha sido oficializado apenas em 1735 por Lineu, na primeira edição do Sistema Naturae (CERVI, 1997). Cervi (1997) publicou um levantamento histórico do estudo da família Passifloraceae e do gênero *Passiflora* no Brasil.

O gênero é constituído de trepadeiras herbáceas ou lenhosas, ervam eretas, arbustivas ou arborescentes, e com gavinhas. São plantas hermafroditas, com flores geralmente entomófilas e grandes, solitárias ou aos pares (cimeiras reduzidas), axilares e normalmente com três brácteas, com hipanto, com cálice e corola bem distintos, pentâmeras. O cálice tubuloso herbáceo ou subcarnoso, com cinco sépalas carnosas, membranáceas ou coriáceas, às vezes dorsalmente corniculadas ou aristadas próximo ao ápice. A corola tem cinco pétalas brancas ou coloridas, membranáceas, alternas às sépalas, livres ou levemente concrescidas na base, insertas nas bordas do tubo calicinal (ULMER; MACDOUGAL, 2004). A corona é formada de um a cinco verticilos, inserta na base do tubo calicinal e composta por filamentos diversos dispostos de uma a várias séries concêntricas, de cores vivas e atraentes A corona, juntamente com o androginóforo, caracterizam a família Passifloraceae. O ovário é globuloso, ovóide ou fusiforme, unilocular, com placentação parietal e multiovulado. Os estiletes, em número de três, são livres ou conatos na base. O androceu formado por cinco estames com

filetes livres, insertos abaixo do ovário, e as anteras são dorsifixas (VANDERPLANK, 2000; ULMER; MACDOUGAL, 2004).

Na maioria das espécies, as folhas são simples e alternas, elípticas ou orbiculares, pecioladas, inteiras ou lobadas, com três lobos no limbo foliar e três nervuras. Possuem margem foliar geralmente inteira, serrada ou dentada, de base arredondada e glabra. As nervuras principal e secundária são mais salientes na face abaxial e o pecíolo mede, geralmente, de 1 a 5cm. Apresentam três brácteas pequenas ou foliáceas, verticiladas e alternadas no pedúnculo, algumas vezes decíduas (VANDERPLANK, 2000; ULMER; MACDOUGAL, 2004). Os frutos geralmente são bagas ou cápsulas loculicidas, como em *P. rubra* L. e *P. capsularis* L., geralmente indeiscentes, globosos ou ovóides, raramente fusiformes, de coloração amarela, vermelha ou roxa, com grande número de sementes. Suas sementes apresentam arilo mucilaginoso e endosperma oleoso e protéico. São, em sua maioria, compridas, reticuladas, pontuadas ou transversalmente alveoladas, consideradas ortodoxas ou ortodoxas intermediárias, tolerantes a perda de umidade (VANDERPLAK, 2000; NUNES; QUEIROZ, 2001; ULMER; MACDOUGAL, 2004).

2.2. POTENCIAL ORNAMENTAL

As passifloras despertam o fascínio nas pessoas devido, principalmente, a extrema beleza de suas flores (VANDERPLANK, 2000; ULMER; MACDOUGAL, 2004). São consideradas complexas, de coloração forte ou suave, principalmente devido à presença da corona, característica da família Passifloraceae (SOUZA; PEREIRA, 2003). Igualmente fascinante é a ampla variedade de formatos das folhas dentro do gênero, tendo muitas espécies valor comercial ornamental somente em função da folhagem (SOUZA; PEREIRA, 2003). Por diversas características, as passifloras podem ser inseridas na lista de plantas ornamentais, como flores com característica excêntrica, coloridas, vistosas e exóticas, com coloração que se exprime desde o branco ou verde suave, a espetaculares amarelos, azul, violeta, rosa, laranja e vermelho (ULMER; MACDOUGAL, 2004). Possui um perfume encantador e um número abundante de flores (VANDERPLANK, 2000; ULMER; MACDOUGAL, 2004). Estas plantas, que florescem em abundância por um período prolongado, habitualmente

permanecem abertas por um período do dia, excetuando-se algumas espécies como *P. bahiensis* Klotzsch e *P. eichleriana* Mast., cujas flores conservam-se abertas por mais de 24 horas (VIANA et al., 2006a), e *P. aurantia* G. Forst., *P. cinnabarina* Lindl. e *P. herbertiana* Ker. Gawl., que mantém suas flores abertas por até três dias consecutivos (ULMER, MACDOUGAL, 2004).

Devido aos atributos estéticos de suas exóticas flores e folhas, e de sua ampla variabilidade inter e intra-específica (MELETTI et al., 2000), as passifloras vêm sendo utilizadas na ornamentação de casas de vegetação e jardins europeus desde sua introdução no 'Velho Mundo', por volta de 1625, séc. XVII, pelos jesuítas (ULMER; MACDOUGAL, 2004; PEIXOTO, 2005). Podem ser utilizadas de modo decorativo, com efeito harmonioso entre vaso e planta (PEIXOTO, 2005; SOUZA, 2006), além de seu uso em cercas, muros, pérgulas e estufas (VANDERPLANK, 2000; ULMER; MACDOUGAL, 2004). Nos Estados Unidos e em muitos países da Europa, as passifloras são atualmente utilizadas na ornamentação de jardins, muros, cercas, pérgulas e estufas (VANDERPLANK, 2000; RUSHING, 2003), enquanto que em países de clima tropical, como Brasil e Austrália, o potencial ornamental destas espécies é quase inexplorado (ELLISON, 1999; PEIXOTO, 2005).

Têm se destacado em muitos países o potencial ornamental de passifloras híbridas, com sementes largamente comercializadas na internet e em seções de jardinagem de mercados europeus e norte-americanos (http://www.gkexoticplants.com/). O Brasil, apesar da ampla variabilidade genética existente e do clima tropical favorável, não tem-se destacado neste próspero mercado de passifloras ornamentais devido, principalmente, à carência de programas de melhoramento para obtenção de híbridos ornamentais adaptados as diversas regiões do Brasil (SOUZA; PEREIRA, 2003; PEIXOTO, 2005). Os cruzamentos interespecíficos no país têm dado ênfase à transferência de genes de resistência às doenças que acometem os maracujazeiros, transferindo genes de espécies silvestres para o maracujá comercial (JUNQUEIRA et al., 2005).

O uso de passifloras para ornamentação no país, apesar de pouco difundido, encontrase associado ao uso nutricional dos frutos dos maracujazeiros no sudeste do Brasil, com as espécies *P. alata* Dryander e *P. edulis* Sims. utilizadas em pérgulas ou cercas para aproveitar os frutos e ter como bônus a beleza e o perfume da flor. Nas Regiões Norte e Nordeste, a situação se inverte, sendo as espécies silvestres *P. coccinea* Aubl. e *P. cincinatta* Mast., respectivamente, utilizadas por sua beleza *per si* (PEIXOTO, 2005).

O cultivo de passifloras ornamentais em lugares sombreados é perfeitamente viável. Para varandas ou lugares sombreados, pode-se usar *P. racemosa* Brot. ou *P. kermesina* Link & Otto, pela beleza de suas flores e folhas. Apesar de ter sido indicada para uso em cercas vivas, o uso em vasos para a ornamentação das espécies *P. sanguinolenta* Mast & Linden, *P. tulae* Urb. e *P. auriculata* H. B. & K. é viável por apresentarem grande quantidade de flores abertas e possuir folhas pequenas (PEIXOTO, 2005). Híbridos como *P.* 'Jara', *P.* 'Crimson Tears Duo' e *P.* 'Exclamac', entre muitos outros, têm sido cultivados em vasos para a ornamentação em diversos países do mundo.

2.2.1. HIBRIDAÇÕES EM PASSIFLORAS

A transferência de genes de espécies silvestres para espécies cultivadas por processos de hibridação interespecífica é de grande interesse para combinação genética das espécies, visando a introgressão de genes de resistência (JUNQUEIRA et al., 2005). O mesmo princípio pode ser utilizado para a obtenção de híbridos interespecíficos ornamentais de beleza ímpar. A obtenção de híbridos interespecíficos com variação morfológica, normalmente intermediária às espécies genitoras, é o que se requer em programas de melhoramento para obtenção de plantas ornamentais. As hibridações podem originar indivíduos com características morfológicas de folhas, flores e frutos de aspectos intermediários ao dos seus pais, ou com características de um genitor dominando sobre o outro. O híbrido do cruzamento de *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* O. Deg x *P. alata* Dryander, por exemplo, mostrou um aroma e sabor superior aos seus genitores e uma quantidade considerável de sementes nos estudos realizados por Torres & Martin, 1974, enquanto que os híbridos somáticos obtidos da fusão de protoplastos do mesofilo de *P. edulis*. f. *flavicarpa* e *P. incarnata* L. exibiram características morfológicas intermediárias aos seus genitores (OTONI et al., 1995)

Deve-se acrescentar a existência de híbridos naturais como um processo ocasionado por diversos fatores evolutivos, mas principalmente devido à auto-incompatibilidade (SCHIFINO-WITTMANN; DALL'AGNOL, 2002), comum ao maracujá amarelo e outras espécies (DORNELAS et al., 1995). Como um exemplo do potencial da auto-incompatibilidade na formação de híbridos naturais, acredita-se na hipótese de que *P. edulis* f.

flavicarpa seja um híbrido entre *P. edulis*. Sims. f. *edulis* e outras espécies relatadas (POPE, 1935; MARTIN; NAKASONE, 1970).

A auto-incompatibilidade impossibilita uma planta de formar semente viável quando fertilizada por seu próprio pólen (SCHIFINO-WITTMANN; DALL'AGNOL, 2002). As barreiras de incompatibilidade podem ser resultantes do retardamento ou inibição do crescimento do tubo polínico e da falta de germinação do grão de pólen ou, após a fertilização, ocorre a morte do embrião devida à degeneração do endosperma e a esterilidade total ou parcial das plantas híbridas (PRESTES; GOULART, 1995).

No maracujazeiro, a característica da auto-incompatibilidade é útil na produção de híbridos, tornando importante a polinização cruzada. A quebra destas barreiras interespecíficas é um dos mais importantes avanços no melhoramento de plantas (MAHAEWARAN et al., 1986). A técnica de hibridação sexuada é limitada pela incompatibilidade, que se comporta muitas vezes como uma barreira à hibridação (PAYÁN; MARTIN, 1975). A hibridação somática por fusão de protoplastos é considerada um método eficiente em passifloras para superar a barreira da incompatibilidade cruzada entre espécies (DORNELAS et al., 1995; OTONI et al., 1995). A técnica consiste na capacidade de fundir protoplastos, células desprovidas de parede celular por ação enzimática e isoladas de espécies ou até gêneros distintos, formando indivíduos poliplóides que carregam os alelos de ambos os pais. Nos híbridos somáticos expressam-se as características controladas por genes dominantes e co-dominantes (GROSSER; GMITTER, 1990).

Embora hajam dificuldades para a obtenção de híbridos através da utilização da hibridação sexuada, existe um grande potencial na utilização desta técnica. É uma importante ferramenta para possibilitar a introgressão de novos genes de interesse em variedades cultivadas ou outras espécies. Outra consideração importante sobre esta técnica relaciona-se com a ampla variabilidade genética geralmente liberada nas gerações subseqüentes (SIQUEIRA et al., 1988). Além disso, é um método simples e citado por muitos autores com muitos resultados promissores, como Vanderplank (2000; 2002) e Ulmer & MacDougal (2004). O método consiste na polinização de uma planta receptora de pólen, genitor feminino, pelo pólen de outra planta, genitor masculino. Contudo, este procedimento de hibridação requer certo cuidado, como a proteção do botão floral no dia anterior, evitando a visita de polinizadores e a fecundação do óvulo por grãos de pólen (BRUCKNER; OTONI, 1999; VANDERPLANK, 2000).

Dessa forma, os híbridos de passiflora vêm sendo obtidos por hibridação sexuada (VANDERPLANK, 2000; FEUILLET et al., 2000; VANDERPLANK, 2002;

VANDERPLANK et al., 2003; ULMER; MACDOUGAL, 2004; KING, 2007) ou somática (DORNELAS et al, 1995; OTONI et al., 1995), ambas as técnicas relatadas com resultados promissores em passifloras por diversos autores (RUBERTÉ-TORRES; MARTIN, 1974; PAYÁN; MARTIN, 1975; VANDERPLANK, 2000; 2002; ULMER; MACDOUGAL, 2004). Desde o primeiro híbrido de *Passiflora* produzido, diversos outros foram registrados com a finalidade de gerar flores para todos os gostos e ambientes. Atualmente, destaca-se como maior centro de produção de híbridos ornamentais a Alemanha, onde o Dr. Roland Fisher tem produzido passifloras híbridas ornamentais de extrema beleza, com flores maiores e mais vistosas (PEIXOTO, 2005).

A P. foetida var. foetida L. é uma espécie potencial para ser utilizada em programas de obtenção de híbridos ornamentais de pequeno porte. Apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo na América Central, nos países Porto Rico, Jamaica e Antilhas, e amplamente por toda América do Sul. No Brasil, é encontrada nos estados de Alagoas e, inclusive, em Pernambuco (KILLIP, 1938). É uma liana herbácea de caule cilíndrico estriado caracterizado por possuir alternas, membranáceas, hastadas a obovadas, ápice agudo, base cordada e margem ondulada a serreada. Pilosidade esparsa com tricomas glandulares menores que 1,5mm. Três brácteas verticiladas, iguais ou maiores em comprimento em relação às sépalas, com segmentos mais curtos que a metade da altura do eixo principal, verdes. Flores com hipanto curto-campanulado, verdes, com sépalas de face externa verde, interna branca a lilás, oblongas, corniculadas, corno viloso, ápice agudo, margem lisa, glândulas ausentes; pétalas brancas a lilases, oblongas, ápice arredondado. Filamentos da corona com até 5 séries. Séries externas mais longas, cada uma com 1cm comprimento, brancas com base vináceas a azuladas, filiformes, e séries internas mais curtas, cada uma com 2mm comprimento vináceas a azulados, filiformes. Flores com forte odor desagradável com nectarífero presente. Androginóforo com. 1cm de altura, reto, ovário globoso, hirsuto, e três estiletes. Fruto maduro de verde-pálido, baga elíptica, piloso. Sementes oblongas, achatadas lenticeladas, alveoladas e arilo alvo (ARAÚJO; ALVES, 2007). Esta espécie floresce duas vezes ao ano, em julho e nos meses de dezembro a abril. O tempo que P. foetida var. foetida L. levou da germinação até a florescimento foi de aproximadamente dois meses e o desenvolvimento de botões florais foi em média de 20 dias (ROZA et al., 2005).

A *P. palmeri* Rose var. *sublanceolata* Killip é uma variedade que já vem sendo utilizada como genitora em hibridações interespecíficas para a obtenção de híbridos ornamentais nos EUA e Europa (ULMER; MACDOUGAL, 2004), como o híbrido *P*. 'Pink Jewel 1' Vanderplank (*P. palmeri* Rose var. *sublanceolata* Killip x *P. foetida L.* var.

hirsutissima Killip) (VANDERPLANK, 2002). São originárias da Guatemala e México, possuindo uma distribuição geográfica restrita, ocorrendo em Yucatán, Campeche, Quintana Roo, Baja California e Cidade de Guatemala. No Brasil é considerada uma planta exótica ornamental. São trepadeiras herbáceas de médio porte com flores de grande beleza e caracterizada por possuir folhas alternas, membranáceas, hastadas a obovadas, ápice agudo, base cordada e margem ondulada a serreada. Follhas pilosas com tricomas glandulares com cerca de 1,5mm. Flores pentâmeras com até 8cm de comprimento, com sépalas cor de rosa, oblongas, ápice agudo, margem lisa, glândulas ausentes; e pétalas cor de rosa, oblongas, ápice arredondado, margem lisa e glândulas ausentes. Filamentos da corona com séries externas mais longas e séries internas mais curtas, filiformes e de coloração branca. Androginóforo reto, com ovário globoso e três estiletes. Fruto maduro de coloração vermelha, baga elíptica, pilosa. Sementes oblongas, achatadas, alveoladas e arilo alvo (ULMER; MACDOUGAL, 2004). Esta espécie floresce duas vezes ao ano, em novembro e entre os meses de janeiro a julho (ROZA et al., 2005). O tempo que P. palmeri Rose var. sublanceolata Killip levou da germinação até a florescimento foi curto, de aproximadamente cinco meses, e a precocidade no desenvolvimento de botões florais, em média de 11 dias, é uma característica desejável ao mercado de plantas ornamentais, tendo esta espécie grande potencial para comercialização e obtenção de híbridos interespecíficos ornamentais brasileiros (SOUZA et al., 2005a).

2.2.2. HISTÓRICO DA PRODUÇÃO DE HÍBRIDOS ORNAMENTAIS DE PASSIFLORAS

Até o século XIX, o cultivo ornamental de passifloras ficou restrito a utilização de espécies silvestres por mais de dois séculos, desde a introdução das passifloras no 'Velho Mundo' em 1625. Como por exemplo, *P. caerulea* L. e *P. incarnata* L., (PEIXOTO, 2005), as quais continuam sendo utilizadas (RUSHING, 2003). O primeiro relato de híbridos de *Passiflora* surgiu apenas em 1819, quando o inglês Thomas Milne cruzou a *P. racemosa* Brot. e *P. caerulea* L., obtendo o híbrido sexuado que denominou de *P. × violacea*, segundo a fórmula de hibridação descrita por Jean-Louis-Auguste-Loiseleur-Destongchamps em 1928 (VANDERPLANK, 2000). A finalidade da obtenção deste híbrido ainda permanece desconhecida, acreditando-se que tenha sido originado para fins ornamentais, já que somente

após a obtenção do primeiro híbrido é que a utilização destes para ornamentação se difundiu pela Europa.

Posteriormente à obtenção do híbrido P. × violacea Milne diversos outros foram relatados nos anos seguintes, possivelmente para ornamentação, que se difundiu por toda a Europa. A exemplo tem-se o híbrido sexuado P. × colvillii Sweet, um híbrido de flores brancas e corona variando do roxo ao branco (FEUILLET et al., 2000), divulgado em 1825, do cruzamento entre P. caerulea L. $(?) \times P$. incarnata L. (?). O híbrido P. \times belotii Pepin, assim como o anterior, foi relatado no século XIX, em 1849 (primeiro relato), a partir do cruzamento entre P. alata Dryander $(\mathcal{P}) \times P$. caerulea L. (\mathcal{T}) . É um híbrido de extrema beleza, de flores grandes e de pétalas carnosas de coloração branca e roxa, e corona que varia o branco e roxo. É uma planta híbrida de grande porte, de folhas grandes, como do genitor feminino, que suporta temperaturas de até 5°C (FEUILLET et al., 2000). É um híbrido ainda comercializado no híbridas mercado de sementes ornamentais (http://www.gkexoticplants.com/).

Seguindo a escala do tempo, o híbrido $P. \times decaisneana$ Hort. ex Planchon foi relatado em 1853 do cruzamento de P. alata Dryander (\mathcal{P}) \times P. quadrangularis L.(\mathcal{P}) (FEUILLET et al., 2000). Aparentemente muito semelhante a P. alata, com flores vermelho-amarronzadas e corona com bandas marrom, vermelho e branco. O híbrido $P. \times atropurpurea$ Nicholson, relatado em 1886 (primeiro relato), do cruzamento entre P. racemosa Brot. (\mathcal{P}) \times P. kermesina Link & Otto (\mathcal{P}) (VANDERPLANK et al., 2003) possui um grande potencial ornamental, com flores formosas e folhagem muito vistosa. É um híbrido semelhante ao P. x violacea e muitas vezes confundido com P. x violacea 'Victoria'. Na verdade, acredita-se que o híbrido P. 'Victoria' é uma seleção da P. x violacea Milne. Este híbrido, de fácil cultivo e que suporta temperaturas de até 5° C, possui uma flor grande, de coloração rosa variando para o roxo, com filamentos da corona variando de roxo na base à branco no ápice (FEUILLET et al., 2000; VANDERPLANK et al., 2003).

O híbrido P. × exoniensis Masters (FEUILLET et al., 2000), relatado primeiramente em 1872 no The Gardenrs' Chronicle, um jornal fundado em 1841, é amplamente utilizado até hoje em pérgulas de jardins em países de clima temperado. Este híbrido foi obtido do cruzamento de P. antioquiensis Karst, (\mathcal{P}) × P. mollissima (Kunth) Bailey (\mathcal{S}), duas espécies silvestres de beleza fascinante. O híbrido P. x insignis Masters, relatado em 1873, possui flores de coloração rosa, assim como a P. × exoniensis, e corona que varia do roxo ao branco. Curiosamente, os dois híbridos são muito semelhantes na coloração e formato de pétalas e sépalas, diferindo-se na coloração e tamanho dos filamentos da corona. O padrão de coloração

rosa pode também ser observado para um híbrido relatado apenas em 1888 (1901), o P. x kewensis Nicholson, resultante do cruzamento de P. caerulea L. $(\capprox{\cappcolern})$ x P. raddiana D.C. (\cappcolern) (FEUILLET et al., 2000). Este híbrido possui belas flores rosadas com coronas totalmente brancas. Em 1891 relata-se o aparecimento de P. 'Smythiana' Masters, obtido do cruzamento de P. manicata (Juss.) Pers. $(\capprox{\cappcolern})$ x P. mollissima (\cappcolern). Este hibrido possui uma particularidade impar, tem preferência ao frio, florescendo em temperatura de até -1°C (FEUILLET et al., 2000).

O híbrido *P. caerulea* 'Constance Eliott' Masters, amplamente utilizado até hoje, foi relatado primeiramente em 1884 no The Gardenrs' Chronicle, mas apenas em 1892 seu cultivo foi generalizado, tornando-se conhecido. Acredita-se numa hibridação natural, envolvendo *P. caerulea* e outras espécies não relatadas (FEUILLET et al., 2000; VANDERPLANK et al., 2003). Este híbrido foi cruzado com outras espécies e plantas híbridas, como *P*. 'Evatoria' Laurens, resultado do cruzamento entre *P*. × decaisneana × *P*. *caerulea* 'Constance Eliott', um século depois, em 1992 (FEUILLET et al., 2000). O híbrido *P. caerulea* 'Constance Eliott' Masters ainda é comercializado no mercado de sementes híbridas e plantas ornamentais (http://www.gkexoticplants.com/). Já outros híbridos relatados para este século, como *P*. 'Philippine' (1851), *P*. x *neumannii* Cels & Cels (1838) e *P*. x *militaris* (1899), não encontram-se mais disponíveis no mercado (FEUILLET et al., 2000; VANDERPLANK et al., 2003).

Fechando um século de produção de híbridos interespecíficos, tem-se o P. 'Margaret Wilson' Wilson, relatado em 1899, obtido do cruzamento entre $P \times buonapartea$ Baxt. $(\capprox) \times P$. caerulea L. (\capprox) . Este hibrido é utilizado como ornamental, uma vez que apresenta flores com 100mm de diâmetro, com sépala e pétalas de coloração que varia de rosa à lilás, e corona de beleza intrigante, com colorações que variam do azul-acizentado, marrom, tons de roxo e malva (FEUILLET et al., 2000).

Ao final do século XIX e início do século XX houve um aumento considerável na obtenção de híbridos com potencial ornamental, como P. 'Amethysth' Vanderplank (genitores desconhecidos); P. 'Angelo Blue' Vecchia (P. 'Amethysth' (\mathbb{P}) x P. subpeltata (\mathbb{P})); P. 'Asterix' Vecchia (P. 'Barbora' (\mathbb{P}) x P. caerulea 'Constance Eliott' (\mathbb{P})); P. 'Colet' Sevcik (P. racemosa (\mathbb{P}) x P. naviculata (\mathbb{P})); P. 'Coral Glow' ([P. molissima x P. manicata] (\mathbb{P}) x P. jamesonni (\mathbb{P})); P. 'Jelly Joker' Laurens (P. cincinnata (\mathbb{P}) x P. umbilicata (\mathbb{P})); P. 'Klara' Sevcik ([P. naviculata x P. racemosa] (\mathbb{P}) x P. caerulea 'Grandiflora'(\mathbb{P})); P. 'Lady Margaret' Skimina (P. coccinea (\mathbb{P}) x P. caerulea 'Constance Eliott' (\mathbb{P})); P. 'Natalia' Vecchia (\mathbb{P} . incarnata (\mathbb{P}) x P. nephrodes (\mathbb{P})); P. 'Temptation' Fisher (P. incarnata (\mathbb{P}) x P.

cincinnata (♂)); *P.* 'Vlasta' (*P. incarnata* (♀) x *P. racemosa* (♂)); entre muitos outros (FEUILLET et al., 2000; VANDERPLANK, 2002; VANDERPLANK et al., 2003; KING, 2007).

Como já relatado para alguns híbridos, a resistência ao frio é uma característica potencialmente interessante ao mercado de plantas ornamentais, principalmente em países de clima temperado. King (2000), por exemplo, relata a obtenção de um híbrido sexuado resistente ao frio, o P. 'Exel' King, obtido do cruzamento entre P. edulis Sims. (\mathcal{P}) que é pouco tolerante ao frio e P. caerulea \mathcal{P} . (\mathcal{P}), menos vulnerável ao frio. Apesar dos híbridos sexuais interespecíficos tenderem a assemelhar-se com o genitor feminino, P. 'Exel' possui características muito semelhantes à P. edulis (KING, 2000). O híbrido possui pétalas brancas e filamentos da corona com coloração que varia de branco no ápice à azul e branco na base (KING, 2000). Por ter-se apresentado resistente ao frio, mínimo de 10° C (ano de 2000, EUA), florescendo abundantemente no período de avaliação (KING, 2000), P. 'Exel' pode ser indicado para a ornamentação em lugares mais frios.

O híbrido *P*. 'Incense' Knight (*P. cincinnata* Mast. x *P. incarnata* L.) também pode ser indicado para a ornamentação em lugares frios. Obtido pelo acaso, na década de 70, suas flores são grandes e possuem uma coloração roxa, com coronas na mesma tonalidade. Embora, o programa de melhoramento do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) não ter alcançado completamente o sucesso, uma vez que objetivava obter frutos mais resistentes e de maior rentabilidade comercial, o programa de melhoramento obteve um híbrido de flores atrativas e de beleza inquestionável para o mercado de plantas ornamentais (KING, 2000).

E o século XXI vem somando consideravelmente a lista de espécies híbridas de Passiflora com potencial ornamental. Entre os anos de 2004 a 2007, foram registrados 112 híbridos sexuados, tetraplóides e poliplóides de potencial ornamental (KING, 2007). Dos 35 híbridos registrados em 2004, destacam-se os híbridos P. 'Blue Splash' Lang (P. 'Colet' (\mathcal{P}) × P. aff. crassifolia (\mathcal{P})); P. 'Tiffani' Fischer (P. incarnata 'Lorayne' (\mathcal{P}) × P. kermesina (\mathcal{P})); P. 'Paulo' King (P. edulis f. flavicarpa (\mathcal{P}) × P. caerulea (\mathcal{P})); P. 'Honeymoon' Fischer (P. kermesina (\mathcal{P}) × P. gritensis (\mathcal{P})) e o recíproco P. 'Magic Maiden' Fischer (P. gritensis (\mathcal{P}) × P. eichleriana (\mathcal{P})); P. 'White Queen' Wouters (P. caerulea 'Constance Eliott' (\mathcal{P}) × P. eichleriana (\mathcal{P})); P. 'White Wedding' Fischer & Wouters (P. caerulea 'Constance Eliott' (\mathcal{P}) × P. eichleriana (\mathcal{P})); P. 'Postman' Wills (P. caerulea (\mathcal{P}) × P. erstedii var. choconiana (\mathcal{P})); P. 'Morning Star' Wouters (P. 'Angelo Blu' (\mathcal{P}) × P. kermesina (\mathcal{P})); P. 'Swingtime' Wouters (P. 'Pura Vida' (\mathcal{P}) × P. amethystina 'Sao Sebastiao' (\mathcal{P})) (KING, 2007).

Em 2005 foram registrados 29 híbridos, podendo-se destacar, por sua beleza, alguns híbridos, como o P. 'Purple-heart' Vanderplank (P. amethystina São Sebastião (\mathbb{Q}) × P. amethystina (\mathbb{Q})); P. 'Valerie Bishop' Bishop (P. ×violacea 'Victoria' (\mathbb{Q}) × P. caerulea (\mathbb{Q})); P. 'Cupid's Blush' Costen (P. 'Kew Gardens' (\mathbb{Q}) × P. *violacea (unnamed backcross (\mathbb{Q})); P. 'Diane King' King (P. *violacea 'Victoria' (\mathbb{Q}) × P. loefgrenii 'Corupa' (\mathbb{Q})); P. 'First Love' Wouters (P. *kermesina (\mathbb{Q}) × P. oerstedii (\mathbb{Q})); P. 'Blue Bride' Wouters (P. incarnata f. alba (\mathbb{Q}) × P. loefgrenii 'Iporanga' (\mathbb{Q})); P. 'Tropical Showers' Wouters (P. 'Blaumilch' (\mathbb{Q}) × P. gritensis (\mathbb{Q})); P. 'Grand Duchess' Wouters (P. gritensis (\mathbb{Q}) × P. loefgrenii 'Iporanga' (\mathbb{Q})); P. 'Pink Festival' Wouters (P. gritensis (\mathbb{Q}) × P. amethystina (\mathbb{Q})); P. 'Sprinkle Rain' Wouters (P. 'Blaumilch' (\mathbb{Q}) × P. gritensis (\mathbb{Q})); P. 'Bright Eyes' Wouters (P. 'Angelo Blu' (\mathbb{Q}) × P. kermesina (\mathbb{Q})); P. 'Eye of the Storm' Wouters (P. 'Morning Star' (\mathbb{Q}) × P. gritensis (\mathbb{Q})); P. 'Alexia' Wouters (P. gritensis (\mathbb{Q}) × P. kermesina (\mathbb{Q})); o tetraplóide P. 'Déjà Vu' Fischer (P. *kermesina (\mathbb{Q}) × P. caerulea 'Constance Eliott' (\mathbb{Q})); e o poliplóide P. 'Betty Myles Young' Irvine (P. 'Clear Sky' (\mathbb{Q}) × P. loefgrenii 'Iporanga' (\mathbb{Q})) (KING, 2007).

Contrapondo-se aos anos anteriores, em 2006 houve um decréscimo considerável no registro de novas espécies híbridas, com apenas cinco híbridos registrados. Entre eles, o híbrido tetraplóide P. 'Panda' Fischer (P. 'Monika Fischer'(\mathcal{P}) × P. 'White Wedding'(\mathcal{P})), com flores de 10cm de diâmetro, pétalas e sépalas brancas e corona de coloração variando de branco (ápice), roxo escuro (meio) e preto (centro). Merece destaque também o híbrido poliplóide P. 'Lambiekins' Irvine (P. 'Emil Kugler' (\mathcal{P}) × P. loefgrenii 'Iporanga' (\mathcal{P}), com flores de até 11,5cm de diâmetro, levemente perfumadas e que podem permanecer vários dias abertas. As pétalas de suas flores são largas variando do branco ao roxo, as sépalas com bandas laterais rubras e bandas internas verdes, e filamentos da corona com faixas escuras do roxo, ao branco e azul. Semelhante a outros híbridos, suporta condições de frio, com temperatura mínima de -8°C (KING, 2007).

Ainda em 2006, o híbrido P. 'Mini Lamb' Irvine (P. 'Purple Haze' (\mathcal{P}) × P. loefgrenii 'Corupa' (\mathcal{P})) merece destaque por ter preferência à lugares sombreados e a condições de frio (mínimo de -5°C). Possui flores em torno de 8.5cm de diâmetro, com pétalas variando do rosa ao roxo e sépalas de coloração verde na superfície abaxial e rosa ao roxo na superfície adaxial. Os filamentos internos da corona possuem coloração roxo escuro e os filamentos externos possuem faixas escuras de roxo, branco e lilás (ápice) (KING, 2007).

Para os últimos anos relatos, 2007 foi o ano de maior registro de híbridos de *Passiflora*, com 43 híbridos, sendo 41 híbridos sexuados e dois híbridos tetraplóides. Dentre os 41 híbridos sexuados com potencial ornamental podemos citar *P*. 'Bahama Mama' Lang (*P*.

'Colet' (\capps) × P. amethystina (\capps) ; P. 'Blue for you' Lang (P) incarnata (\capps) × P. (\capps)); P. 'Neptune' Vanderplank (P) incarnata (\capps) × P. incarnata ($\capps)$); P. 'Neptune' Vanderplank (P) incarnata (\capps) × P. incarnata (\capps) × P. incarnata ($\capps)$); P. 'Abigail' Vanderplank (P) incarnata var. incarnata ($\capps)$); P. 'Purple Companion' Wouters (P) 'Morning Star' (\capps) × P. incarnata 'São Sebastião' ($\capps)$); P. 'Ariane' Wouters (P) incarnata ($\capps)$); P. 'Adoroso' Wouters (P) incarnata (\capps) × P. inc

Os dois híbridos tetraplóides registrados em 2007 apresentam flores brancas, que variam de 8.5 a 11cm de diâmetro, e filamentos da corona que variam sua coloração entre o branco (ápice) e o roxo (base). O híbrido P. 'Winterland' Wouters (P. 'White Wedding' (\mathcal{P}) × P. caerulea 'Emil Kugler' (\mathcal{P})), diferente do P. 'Sarapito' Padron (P. 'White Wedding' (\mathcal{P}) × P. caerulea 'Emil Kugler' (\mathcal{P})), suporta a temperatura mínima de -10°C (KING, 2007).

Em vista do que foi relatado, vale salientar que as passifloras podem ser inseridas no mercado de plantas ornamentais não somente pela beleza de suas flores, mas também pela variedade de coloração e formatos de suas folhas. Além de suas flores exuberantes, os híbridos *P*. 'Pink Jewel 1' Vanderplank (*P. palmeri* Rose var. *sublanceolata* Killip x *P. foetida* var. *hirsutissima* Killip), e *P*. 'Sarah Aimee' Vanderplank (*P. urbaniana* Killip × *P. foetida* var. *hirsutissima*) possuem formosas folhas trilobadas com tricomas, semelhante ao genitor masculino *P. foetida* var. *hirsutissima* (VANDERPLANK, 2002). Da mesma maneira, alguns híbridos podem ser usados como soluções paisagísticas de grandes áreas, como em lugares que necessitam de uma grande massa foliar como forma de proteção do solo exposto (PEIXOTO, 2005). Híbridos como *P*. 'Cordelia' e *P*. 'Lady Margaret' são apontados como soluções alternativas e paisagísticas para a cobertura de barrancos expostos ao sol e erosão (PEIXOTO, 2005).

O cultivo de híbridos de *Passiflora* também é viável em vasos médios e de grande porte, aliados a um suporte adequado e a uma poda criteriosa da planta, de maneira a mantê-la dentro dos limites desejados pelo cultor (PEIXOTO, 2005). Tem-se conhecimento da utilização de híbridos somáticos para o cultivo em vasos, como o formidável híbrido *P*. 'Pink Pride' Wouters + *P*. 'Pink Sedution' Wouters (http://www.hewo.nl/passiflora%

20hybrides/Thumbnails.html). Ambos genitores, citados primeiramente em 2000, foram obtidos do cruzamento entre o híbrido sexuado P. 'Rosa Stern' (♀) e a espécie silvestre *P. gritensis* (♂) (http://www.passiflora.it/Registro.htm; http://www.hewo.nl/passiflora% 20hybrides/Thumbnails.html). *P.* 'Jara' Fisher, é um híbrido tetraplóide e de florescimento abundante, utilizado amplamente no cultivo de vasos (PEIXOTO, 2005). Resultante do cruzamento entre *P. caerulea* L. x *P.* 'Purple Haze' (FEUILLET et al., 2000), é um híbrido de flores belas e vistosas e adaptadas ao cultivo de vasos, e dessa forma um exemplo do sucesso da indução à tetraploidia na obtenção de híbridos ornamentais (PEIXOTO, 2005).

Totalizando os registros levantados, verifica-se que foram registrados 685 híbridos até o ano de 2007 (FEUILLET et al., 2000; VANDERPLANK, 2002; VANDERPLANK et al., 2003; KING, 2007) com flores exuberantes e vistosas, e com grande potencial para a ornamentação.

2.3. ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM PASSIFLORAS

2.3.1. ESTUDOS CARIOTÍPICOS

O gênero *Passiflora*, bem como os demais gêneros de passifloráceas, tem sido muito pouco estudado citologicamente. As análises do gênero *Passiflora*, em sua maioria, permanece restrita à identificação do número cromossômico. Um pequeno número de passifloras tem o número cromossômico conhecido, cerca 100 espécies (CUCO et al., 2005), 8 subespécies e 14 híbridos (SOARES-SCOTT et al., 2005). As mais amplas contagens foram realizadas por Bowden (1945), Storey (1950), Beal (1969a; 1969b; 1973a; 1973b), Raven (1975), Morawetz (1986), Snow & MacDougal (1993), Melo et al. (2001) e Melo & Guerra (2003). Segundo Soares-Scott (1998) as informações citogenéticas registradas na literatura, cerca de 30% das passifloráceas, restringe-se em sua maioria (mais de 20%) à contagem do número cromossômico. Segundo Melo et al. (2001) esse número de espécies representa 16,1% no gênero. Essa variação está principalmente relacionada à variação no número de espécies para o gênero encontrado na literatura. A escassez de dados cariotípicos, resumindo-se muitas

vezes à contagem do número cromossômico somático ou haplóide, pode ser em parte justificada pela dificuldade de coleta e germinação de sementes das espécies e pelo pequeno tamanho dos cromossomos nas espécies do gênero (SOARES-SCOTT et al., 2005).

As espécies do gênero *Passiflora* possuem amplitude significativa no número de cromossomos encontrados na literatura, podendo ser agrupadas segundo o número básico de cromossomos (x) em três grupos, x = 6, x = 9 e x = 9 ou 10, onde está a maior freqüência de registros (MELO; GUERRA, 2003; VIEIRA et al., 2004; SOARES-SCOTT et al., 2005; SOUZA et al., 2008). Há registros também, em menor freqüência, para x = 7, 10, 11, 12, 18 e 42 (SOUZA et al., 2008). O número cromossômico 2n varia no grupo x = 6, havendo espécies com 2n = 12, 2n = 24, 2n = 36 e 2n = 84 cromossomos; no grupo x = 9 com espécies onde 2n = 18 cromossomos e no grupo x = 9 ou 10 com espécies 2n = 18, 2n = 20, 2n = 22 (SOARES-SCOTT et al., 2005). Sustenta-se a hipótese de que x = 6 é o numero cromossômico básico das passifloras, enquanto que x = 9, 10 e 12 seriam números derivados (MELO et al., 2001; MELO; GUERRA, 2003; SOARES-SCOTT et al., 2005; HANSEN et al., 2006; SOUZA et al., 2008).

Segundo Hansen et al. (2006), os dois maiores subgêneros da família Passifloraceae, Passiflora e Decaloba, têm números haplóides, n = 9 e n = 6, respectivamente. Contrariamente, os subgêneros Astrophea e Deidamioides possuem números haplóides de n =12 (HANSEN et al., 2006). O subgênero Dysosmia (D.C.) Killip apresenta algumas variações quanto aos números cromossômicos relatados. A P. foetida L. representa um caso específico de variação intraespecífica, com relatos de três números cromossômicos distintos, 2n = 18(HEITZ, 1927; JANAKI AMMAL, 1945), 2n = 20 (NISHIYAMA; KONDO, 1942; GUERRA, 1986) e 2n = 22 (BOWDEN, 1945; HARVEY, 1966). Esses resultados parecem indicar a ocorrência de aneuploidia na evolução dessa espécie, inferindo-o como parte do processo evolutivo no gênero Passiflora (SOARES-SCOTT et al., 2005; SOUZA et al., 2008). Já o menor número haplóide encontrado no gênero, x = 6 (n = 6), sugere a ocorrência de poliploidia nos processos evolutivos. Uma possível hexaploidia foi sugerida para a origem das espécies com 2n = 36 e poliploidia nas espécies com 2n = 84 (BOWDEN, 1945; STOREY, 1950). O número cromossômico em P. holosericea Ruiz & Pav. ex Mast e P. lobata (Killip) Hutch. ex MacDougal (2n = 12) pode ter sido originado por disploidia (SNOW; MACDOUGAL, 1993). As espécies agronomicamente importantes, como P. edulis Sims. f. flavicarpa O. Deg e P. edulis Sims. f. edulis, possuem 2n = 18. Há indicações sugerindo que as espécies com 2n = 18 poderiam ter evoluído através da poliploidias ou pelo

processo inverso, a partir de espécies com 2n = 24 por sucessivas perdas de pares cromossômicos (SOARES- SCOTT et al., 2005).

Em passifloras, análises cariotípicas no gênero indicam variação cariomorfológica intra e interespecíficas, com presença de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos e cariótipo simétrico variável (BEAL, 1973a; 1973b; MAYEDA, 1997; SOARES-SCOTT, 1998; MELO et al., 2001; SOUZA et al., 2003a; VIEIRA et al., 2004; SOARES-SCOTT et al., 2005), além de variações quanto ao número e posição de satélites, número e comprimento dos cromossomos, presença de constrição secundária e NOR (BEAL, 1973a; 1973b; SNOW; MACDOUGAL, 1993; MAYEDA, 1997; SOUZA et al., 2003a, 2008).

A análise citogenética, até o presente, demonstra a presença de cromossomos pequenos, com comprimento médio variando entre 1,63 a 3,73μm (SOARES-SCOTT et al., 2005). O comprimento máximo foi observado em *P. quadrangularis* L., 4,51μm (SOUZA et al., 2003a). Beal (1973a) analisou oito espécies de passifloras agrupadas em três grupos distintos, grupo com 2*n* = 12, 2*n* = 18, e 2*n* = 24. Observou que espécies, como *P. aurantia* Forst. e *P. herbetiana* Ker., com 2*n* = 12, apresentaram o menor comprimento médio dos cromossomos, variando entre 2,7 a 3,1μm e um comprimento haplóide (CLH) que variou entre 32,9 a 37,3μm. Espécies incluídas nos grupos com 2*n* = 18, *P. maliformis* L.e *P. seemannii* Griseb, apresentaram maior CLH, variando de 55,9 a 66,9μm e com comprimento cromossômico médio de 3,1 a 3,7μm. O mesmo padrão foi observado na espécie com 2*n* = 24, *P. suberosa* L., com CLH de 55,1μm e comprimento cromossômico médio de 2,3μm. Souza et al. (2003a) analisaram seis espécies de passifloras, *P. alata* Dryander, *P. edmundoi* Sacco, *P. malacophylla* Mast., *P. mucronata* Lam., *P. galbana* Mast. e *P. quadrangularis* L., e encontraram comprimentos cromossômicos que variaram entre 2,06 μm em *P. malacophylla* (CLH = 43,42μm) e 4,51μm em *P. quadrangularis* (CLH = 33,58μm).

Em outros estudos semelhantes, com *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* O. Deg., *P. amethystina* Mikan e *P. cincinnata* Mast., o comprimento variou entre 3,23 a 1,64μm (CUCO et al., 2005). As espécies com menor CLH atualmente relatadas são a *P. capsularis* L. com 8,03μm (MAYEDA, 1997), seguidas por *P. misera* Kunth, com 9,93μm (MELO et al., 2001), e *P. tricuspis* Mast., com 10,89μm (MELO et al., 2001). A razão entre os braços não é conhecida para maioria das espécies com cariótipos caracterizados (SOUZA et al., 2008). Dentre as espécies estudadas, os maiores valores foram observados em *P. morifolia* Mast. (r = 1,72μm), *P. misera* (r = 1,87μm) e *P. tricuspis* (r = 1,67μm). Os cariótipos apresentam-se simétricos, mas com diferenças significativas entre as passifloras. Segundo Soares-Scott et al. (2005), a relação entre os braços apresentam-se variáveis de 1,12 a 1,59μm.

Foram detectadas a presença de satélites em várias espécies (BEAL, 1973a; SOARES-SCOTT et al., 2005; SOUZA et al., 2008), com divergências na localização e número de cromossomos satelitados (SOUZA et al., 2008). Em passifloráceas, encontram-se até três pares cromossômicos satelitados, encontrados no braço longo ou curto dos cromossomos (SOUZA et al., 2008). Foi detectada a presença de cromossomos satélites em P. maliformis L., P. seemannii Griseb. e P. quadrangularis L.(BEAL, 1969a; 1969b), P. edulis Sims., P. amethystina Mikan, P. alata Dryander e P. gibertii Br. (MAYEDA; VIEIRA, 1995), P. incarnata L., P. setacea D.C. (SOARES-SCOTT et al., 1998), P. capsularis L., P. misera Kunth., P. morifolia Mast., P. coccinea Aubl. e P. nitida Kunth (MELO et al., 2001), P. malacophylla Mast., P. edmundoi Sacco, P. mucronata Lam., P. galbana Mast. (SOUZA et al., 2003a). Em P. edulis, Mayeda & Vieira (1995) apontam a presença de dois satélites, e Soares-Scott et al. (1999) três satélites. Em P. alata, há divergências na localização dos cromossomos com satélite. Melo et al. (2001) observaram satélites nos dois pares menores do cariótipo dessa espécies. Soares-Scott (1998) concordou quanto ao sétimo par, mas indicam a presença de satélites no quarto par cromossômico. Souza et al. (2003a) observaram os satélites nos pares um e dois.

Alguns autores acreditam que o número e localização dos satélites são característicos do subgênero. De acordo com Melo et al. (2001), as secções *Xerogona* (Raf.) Killip, *Decaloba* D.C. e *Cieca* (Medik.) Mast., do subgênero *Plectostemma* Masters, apresentam um número variável de contrição secundária, com número e posição sendo considerada uma importante característica do subgênero, principalmente da secção *Decaloba*. Este subgênero é ainda considerado o mais evoluído do gênero, com *P. capsularis* L. como único representante com TF% (índice de assimetria) caracterizado de 39,55% (MAYEDA, 1997).

Estudos cariotípicos em híbridos de *Passiflora*, tanto sexuados como somáticos, são muito pouco freqüentes. O número cromossômico conhecido, para a maioria dos híbridos obtidos, é de 2n = 18 e originado de cruzamento sexuado ou somático, envolvendo espécies de interesse agronômico (SOARES-SCOTT et al., 2005). Esses híbridos sexuais mostraram compatibilidade interespecífica, já que apresentaram alguma fertilidade na parte masculina ou feminina, apesar de não produzirem frutos, sugerindo que podem ser espécies relacionadas e com origens em comum. Para os híbridos sexuados relatados, o híbrido *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* O. Deg. x *P. setacea* D.C. apresenta variáveis cariotípicas intermediárias e número cromossômico idêntico aos genitores (SOARES-SCOTT, 1998). Outros híbridos têm seu número cromossômico conhecido, entre eles P. *maliformis* L. x *P. laurifolia* L. (STOREY, 1950) e *P. racemosa* Brot. x *P. coccinea* Aubl. (JANAKI AMMAL, 1945; STOREY, 1950)

com 2n = 18, P. quadrangularis L. x P. racemosa Brot. (BECKETT, 1960) com 2n = 27 (SOUZA et al., 2008).

2.3.2. COMPORTAMENTO MEIÓTICO E VIABILIDADE POLÍNICA

As análises meióticas realizadas por procedimentos de conhecimento do comportamento meiótico e de viabilidade do pólen devem preceder às hibridações, uma vez que fornecem informações importantes sobre o efeito do pareamento cromossômico em híbridos, recombinação cromossômica e grau de irregularidades e viabilidade gamética esperados para as plantas híbridas de Passiflora (SOUZA et al, 2003b). Os estudos sobre o pareamento cromossômico, índice meiótico e viabilidade do pólen permitem analisar a estabilidade meiótica (LOVE, 1951) durante a microsporogênese, e a formação dos grãos de pólen durante a microgametogênese, proporcionando estimar a capacidade de fertilidade da planta, fatores que têm influência sobre as características morfológicas desejáveis transmitidas de uma geração a outra. A viabilidade polínica é considerada por muitos autores uma importante ferramenta de medida de fertilidade do gametófito masculino e que pode ser determinada pela utilização de diversas metodologias e corantes (OLIVEIRA et al., 2001). A corabilidade polínica, viabilidade ou fertilidade do pólen pode ser verificada a partir de técnicas pouco onerosas. Podem ser constatadas: i) pela coloração com carmim acético (1%), onde, de modo geral, grãos de pólen viáveis cora uniformemente em vermelho o citoplasma, enquanto os grãos inviáveis apresentam coloração amarelo-claro; ii) pelo método de Alexander (1969), um teste confiável em estudos de corabilidade do grão de pólen, já que baseia-se em uma metodologia de tripla coloração com Laranja G, Fucsina Básica e Verde Malachita (ALEXANDER, 1969); iii) pelo teste com Diacetato de Fluoresceína (DFA), corante vital que permite um procedimento fidedigno e baseia-se na presença de atividade da enzima esterase; e vi) teste com solução de iodeto de potássio (Lugol; I₂KI), técnica indicada para grãos de pólen amiláceos, maduros e frescos (DAFNI, 1992).

Estudos de caracterização meiótica em passifloráceas foram iniciados por Storey (1950) e Beal (1969a; 1969b). Esses estudos evidenciaram o pareamento de nove bivalentes em *P. cincinnata* Mast., *P. coccinea* Aubl., *P. gilberti* N. E. Br., *P. nitida* Kunth e *P. setacea*

D.C., espécies com 2n = 18. Em outros estudos, as espécies *P. alata* Dryander, *P. edulis* Sims. f. flavicarpa O. Deg., P. amethystina Mikan e P. cincinnata Mast. (BARBOSA, 1998), P. setacea D.C. e P. incarnata L. (SOARES-SCOTT et al., 2003) tiveram a homologia cromossômica observada comprovada devido a presença de 9 bivalentes. Souza et al. (2003b) confirmaram a homologia cromossômica em P. edmundoi Sacco com o pareamento diplóide com 9 bivalentes em 86% das células analisadas, embora tenham sido observados a ocorrência de configurações diferentes, com 7II e 1IV em 11%, 5II e 2IV em 2% e 18I em 1% do total de células analisadas. As espécies com 2n = 18, em geral, apresentam estabilidade meiótica e alta viabilidade polínica (FERREIRA, 1994), muito embora algumas irregularidades possam ser observadas, como segregação irregular e pontes em anáfase (BARBOSA, 1998) devido às diferentes configurações que podem ser observadas. Nas espécies com 2n = 20, como relatadas em P. foetida var. fluminensis (M. Roem.) Killip e P. foetida L., observaram-se o pareamento de 10 bivalentes. Já em outras espécies como mesmo número somático, como P. filamentosa Cav., não ocorreram formação de bivalentes na maioria das células analisadas. Nessa espécie, a presença de univalentes foi associada à segregação irregular dos cromossomos aos pólos das células, devido principalmente a não homologia cromossômica, resultando em tétrades anormais, com presença de micronúcleos (OLIVEIRA et al., 1996).

Estudos sobre a freqüência e posição de quiasmas são excassos em *Passiflora*. Souza (2002) observou que a média total de quiasmas em espécies com n = 6 foi de 6,6, enquanto que em espécies com n = 9 e n = 12 foram de 10,5 e 12,1, respectivamente. O índice de recombinação variou cerca de 16,49% entre espécies com n = 6, 34% entre as espécies com n = 9, enquanto que, nas espécies com n = 12 a variação entre as espécies foi praticamente nenhuma, apenas 0,7%. O índice meiótico foi inferior a 89% em espécies com n = 12, como em P. pentagona e P. suberosa, e acima de 92% para as outras espécies estudadas (SOUZA, 2002). O comportamento meiótico no grupo das espécies com n = 12 foi o único considerado semelhante devido ao número de cerca de 12 quiasma por célula. Os quiasmas tenderam a encontrar-se na posição intersticial e IM foi em torno de 88% (SOUZA, 2002). De acordo com o Love (1951), as plantas com IM de 90% a 100% podem ser consideradas estáveis citologicamente, sendo improvável assegurar a estabilidade em plantas com índice inferior a 90%. Plantas com IM inferior a 90% são susceptíveis a proporcionar dificuldades para o melhorista em cruzamentos interespecíficos (SOUZA et al., 2008), estando relacionadas ao comportamento meiótico incomum, como observada em P. pentagona (SOUZA, 2002).

Os estudos de comportamento meiótico e viabilidade do pólen, recentemente realizados em espécies silvestres (SOUZA et al, 2003b; SOARES-SCOTT et al., 2003), híbridos sexuados (SOARES-SCOTT et al., 2003) e somáticos (BARBOSA; VIEIRA, 1997; SOARES-SCOTT et al., 2003), indicam instabilidade meiótica. Segregação irregular dos cromossomos em metáfase e anáfase, pontes cromossômicas na anáfase, ocorrência de univalentes e multivalentes, falhas na sinapse e na terminalização dos quiasmas, anormalidades na orientação do fuso e assincronismo são as anormalidades mais frequentes podendo, por exemplo, serem observadas em P. edmundoi Sacco, P. edulis Sims. f. flavicarpa O. Deg., P. incarnata L. e P. amethystina Mikan (SOUZA et al., 2003b; SOARES-SCOTT et al., 2003), P. edulis x P. setacea (SOARES-SCOTT et al., 2003), e P. edulis + P. incarnata (SOARES-SCOTT et al., 2003) e P. edulis f. flavicarpa + P. amethystina (BARBOSA; VIEIRA, 1997). Essas anormalidades meióticas conduzem a formação de produtos pósmeióticos anormais, como díades, tríades e políades, microgametas, e, por fim, gametas aneuplóides ou poliplóides (BARBOSA; VIEIRA, 1997; SOUZA, 2002; SOUZA et al, afetando a fertilidade dos gametas (SOARES-SCOTT et al., 2003b), consequentemente, inviáveis ou estéreis em sua maioria.

Nos híbridos sexuados ($P.\ edulis\ Sims.\ x\ P.\ setacea\ D.C.$) e somáticos ($P.\ edulis\ Sims.\ +\ P.\ incarnata\ L.$) Soares-Scott et al. (2003) observaram irregularidades meióticas. No híbrido somático foram observadas irregularidades desde a fase do paquíteno, com a formação de dois nucléolos e diferentes configurações cromossômicas observadas em metáfase e anáfase I. Multivalentes também puderam ser observadas em diacinese, assim como a presença de univalentes e multivalentes em metáfase I, e resultou em segregação irregular (SOARES-SCOTT et al., 2003). Análises no híbrido sexuado revelaram várias anormalidades meióticas, incluindo alta freqüência de multivalentes em metáfase I e segregação irregular dos cromossomos em metáfase e anáfase I. No híbrido sexuado não foi observado a univalentes (SOARES-SCOTT et al., 2003). Comparando-se a meiose entre os híbridos analisados por Soares-Scott et al. (2003), os híbridos somáticos mostraram-se mais irregulares que os sexuados. Considerando o número cromossômico em ambos os híbridos, híbrido sexuado $P.\ edulis\ x\ P.\ setacea\ apresentando\ com\ 2n=18\ e\ híbrido\ somático\ P.\ edulis+P.\ incarnata\ apresentando\ com\ 4n=36$, os autores sugerem que a presença de multivalentes indicariam a ocorrência de recombinação cromossômica nos híbridos.

Os híbridos F_1 *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* O. Deg x *P. edulis* Sims.citados por Lopes (1994), possuem o mesmo número cromossômico dos genitores (2n = 18) e comportamento meiótico normal, porém com baixa frequência e porcentagem de quiasmas terminalizados na

meiose. Em híbridos de *P. racemosa* Brot. x *P. coccinea* Aubl., P. *maliformis* L. x *P. caerulea* L. e *P. alata* Dryander x *P. caerulea* (STOREY, 1950) a esterilidade gamética foi atribuída, principalmente, às irregularidades meióticas.

A viabilidade polínica em espécies de Passiflora tem sido superior a 80% (RUBERTÉ-TORRES; MARTIN, 1974; SOUZA, 2002; SOUZA et al., 2003b). Em estudos realizados por Viana et al. (2006b), os autores observaram uma viabilidade polínica com percentual médio acima de 95%, com solução de Alexander, para P. bahiensis Klotzsch, conhecido como maracujá-da-Bahia, entre os horários de 9 a 17h, o que é considerado um alto percentual de viabilidade, pois está acima de 70% (RUGGIERO et al., 1996). Em P. micropetala Mart. ex Mast., uma espécie amazônica de pequeno porte das margens do Rio Japurá, o percentual médio de viabilidade polínica, com solução de Alexander foi superior a 80%, dentre os três horários analisados, das 7 ou 9h (FONSECA et al., 2006). Viana et al. (2005) analisaram a P. coriacea Juss., uma espécie de potencial ornamental com flores de coloração amarela e verde, e observaram um percentual médio de viabilidade polínica superior a 98% em testes histoquímicos com Lugol e acima de 93% com solução de Alexander. Resultados similares foram observados em P. morifolia Mast. (BELO et al., 2005a) e P. suberosa L. (SOUZA et al., 2005b) com viabilidade polínica acima de 90% em ambos testes realizados para as espécies, Lugol e solução de Alexander. Os grãos de pólen (GP) das espécies de *Passiflora* reagem positivamente ao lugol (SOUZA et al.; 2003c; 2005a; 2005b; BELO et al.; 2005a; 2005b; 2006; FONSECA et al., 2005; 2006; VIANA et al., 2006a; 2006b; ABREU et al., 2007a; 2007b; LESSA et al., 2007), confirmando sua característica amilácea, como substância de reserva (DAFNI, 1992).

De acordo com Souza et al. (2003b), em *P. edmundoi* Sacco foi possível observar dois tipos de pólen inviáveis, o GP vazio ou tipo 1 (T1) e o GP contraído ou tipo 2 (T2), que podem estar relacionados com o tipo de ação gênica. Com uma porcentagem e diâmetro superior de pólen T1 em relação ao pólen T2, os autores sugerem que as irregularidades meióticas que ocorreram durante androsporogênese eventualmente podem ter sido a principal causa da inviabilidade polínica nas espécies analisadas, apesar de genes pós-meióticos estarem também atuando durante androgametogênese (SOUZA et al., 2003b; 2003c). Estudos anteriores de comportamento meiótico associaram as irregularidades meióticas encontradas em algumas espécies *Passiflora* à percentagem de pólen justificando a associação relatada por Souza et al. (2003b). Grãos de pólens gigantes com células de até 54% maior do que a média de tamanho normal de pólen foi observada em espécies de *Passiflora*, provavelmente

indicando a existência de irregularidades no processo de desenvolvimento dos GP acarretando em gametas não-reduzidos (SOUZA, 2002; SOUZA et al., 2003b).

Alguns autores como Otoni et al. (1995) relataram alta viabilidade do pólen nos híbridos somáticos analisados com valores em torno de 80%, mais do que o esperado devido às irregularidades meióticas observadas pelos autores. Nos híbridos estudados por Soares-Scott et al. (2003), os autores observaram alterações na formação e tamanho do grão de pólen e diminuição na viabilidade polínica. A viabilidade polínica média nos híbridos somáticos foi de 37,2% e nos híbridos sexuados foi de 65,76%. A partir de mensurações do diâmetro dos GP puderam ser identificados cinco tipos não identificados nos genitores *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* O. Deg + *P. incarnata* L., GP viáveis grandes e médios, e GP inviáveis grandes, médios e pequenos. O diâmetro variou de 59,42μm em grãos viáveis e 44,42μm em grãos inviáveis. No híbrido sexuado *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* O. Deg x *P. setacea* D.C. foram identificados apenas os tipos observados nos genitores, com GP viável grande com 65,54μm e GP inviável grande com 59,50μm (SOARES-SCOTT et al. 2003).

Foi observado a formação de alguns multivalentes nos híbridos somáticos entre *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* O. Deg.+ *P. amethystina* Mikan analisados por Barbosa & Vieira (1997). Os autores propõem que as formações de multivalentes nos híbridos somáticos analisados podem indicar recombinação entre os cromossomos. Vale ressaltar que, de acordo com Barbosa & Vieira (1997), se em um híbrido somático não há pareamento entre cromossomos homeólogos, tais híbridos se comportam, em termos de segregação cromossômica, como indivíduos diplóides, formando bivalentes na metáfase. E apesar de constatarem irregularidades na meiose, observaram em média alta viabilidade polínica nos híbridos somáticos *P. edulis f. flavicarpa* + *P. amethystina* ((*E* + *Am*) #28, #13 e #12), com índices superiores a 80%, excetuando-se em um dos híbridos analisados, (*E* + *Am*) #35, com índice médio de 72,90%. Os autores observaram alta correlação negativa entre a viabilidade polínica e as irregularidades meióticas observadas (BARBOSA; VIEIRA, 1997).

2.5. RESPOSTAS FISIOLÓGICAS AOS DIFERENTES NÍVEIS DE SOMBREAMENTO

Alguns estudos têm evidenciado a plasticidade fisiológica de diversas espécies em relação à radiação fotossinteticamente ativa (RFA) disponível, por meio de avaliações fisiológicas em relação a diferentes níveis de sombreamento (ALMEIDA et al., 2005). Tais estudos em passifloráceas permitirão apresentar propostas que são de extrema importância para viabilizar propostas de utilização dessas plantas na decoração de interiores. No entanto, o número de informações na literatura é insuficiente, em decorrência do grande número de espécies de *Passiflora* e variáveis ambientais envolvidas no Brasil, mas, essencialmente, devido escassez de estudos realizados em referência às respostas fisiológicas destas espécies aos mais variados níveis de sombreamento.

A luz é um dos fatores que influenciam o crescimento e desenvolvimento das plantas, fundamentalmente, por ser a fonte primária de energia relacionada à fotossíntese. A capacidade de crescerem e se desenvolverem quando sombreadas é um mecanismo importante de adaptação das plantas, o que constitui uma preciosa estratégia para escapar às condições de baixa intensidade luminosa (MORAES NETO et al., 2000). A adaptação das plantas a este ambiente depende de ajustes no seu aparelho fotossintético, de maneira que a baixa irradiância seja utilizada do modo mais eficiente possível. O sucesso na adaptação de uma determinada espécie a ambientes com baixa ou alta irradiância está diretamente associado à eficiência na partição dos fotoassimilados para diferentes partes da planta, assim como, na rapidez em ajustar as variáveis morfofisiológicas no sentido de maximizar a aquisição dos recursos primários (DIAS-FILHO, 1997).

A fotossíntese de plantas em ambientes sombreados requer a maximização da quantidade de luz (fótons) absorvida, somadas a uma perda de CO₂ pela respiração (ZHANG et al., 2003). Por isso, plantas de sombra apresentam adaptações no aparato fotossintético, alterando a razão fotossistemas I/II (PS1/PS2) ou mudando os complexos antenas de captação de luz associados aos fotossistemas, visando manter um equilíbrio no fluxo de energia por meio desses dois fotossistemas. Já em outras plantas de sombra, em vez de alterar a razão entre os fotossistemas, adicionam mais clorofila no complexo antena do PS2 (TAIZ; ZEIGER, 2004). Em elevadas irradiâncias, as quantidades de Rubisco e de xantofilas, assim como o centro de reação de PS2, são aumentadas com a expansão do complexo coletor de luz

(TAIZ; ZEIGER, 2004). A capacidade fotossintética é, dessa maneira, uma característica intrínseca de cada espécie vegetal e suas condições de cultivo, e dependente, basicamente, da quantidade de Rubisco presente nos cloroplastos (BJÖRKMAN, 1981; LARCHER, 2000). Em plantas de sol, pode-se observar ainda um decréscimo no rendimento quântico de PS2 (F_v/F_m ; onde F_v = fluorescência variável e F_m = fluorescência máxima). Essa relação demonstra quais as condições das plantas quanto ao aparato fotossintético, com valores entre 0,75 e 0,85 indicativos de eficiência de conversão da energia luminosa de PS2 (TAIZ; ZEIGER, 2004).

A irradiância na qual as folhas alcançam o ponto de compensação da luz varia também conforme a espécie e condição de desenvolvimento em que a planta é submetida. Os pontos de compensação de luz em plantas de sol são superiores aos encontrados em plantas de sombra, variando entre 10 a 20μmol fótons m⁻²s⁻¹ e entre 1 a 5μmol fótons m⁻²s⁻¹, respectivamente. Os valores das plantas de sombra são menores, pois as taxas respiratórias também são baixas, sendo necessária uma pequena fotossíntese líquida para tornar as trocas de CO₂ praticamente nulas. Com a elevação do fluxo fotônico acima do ponto de compensação, há um aumento proporcional na taxa fotossintética, saturando entre 500 a 1000μmol fótons m⁻²s⁻¹ na maioria das folhas, podendo-se dizer ainda que os níveis de saturação da fotossíntese em plantas de sombra são inferiores aos encontrados geralmente em plantas de sol (TAIZ; ZEIGER, 2004).

O aumento do sombreamento provoca também alterações nos processos de abertura e fechamento dos estômatos. O funcionamento destes estômatos e influenciam diretamente na produtividade das plantas, uma vez que otimiza as trocas gasosas foliares, controla a absorção de CO_2 , evita a desidratação e regula a temperatura através da transpiração (E). Em plantas mais sombreadas espera-se uma menor condutância estomática (g_S) e menores quantidades de estômatos, havendo uma relação muito estreita no controle da transpiração (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Um dos fatores ligados à eficiência fotossintética das plantas e a sua adaptabilidade a diversos ambientes é o teor de clorofila e carotenóides, e de nitrogênio foliar. Além da concentração total dos pigmentos fotossintetizantes (clorofila e carotenóides), a proporção entre eles e entre as clorofilas a e b altera em função da irradiância disponível à planta. Os teores de clorofila e carotenóides nas folhas são utilizados para estimar o potencial fotossintético das plantas, pela sua ligação direta com a absorção e transferência de energia luminosa e ao crescimento e à adaptação a diversos ambientes (PORRA et al., 1989; CHAPPELLE; KIM, 1992). Uma planta com alto teor de clorofila é capaz de atingir taxas

fotossintéticas mais altas, pelo seu valor potencial de captação de 'quanta' na unidade de tempo (PORRA et al., 1989; CHAPPELLE; KIM, 1992). Entretanto, as clorofilas encontramse em constantes processos de síntese e degradação (fotooxidação). Sob radiações intensas, o processo degradativo ocorre de forma pronunciada (KRAMER; KOZLOWSKI, 1979; WHATLEY; WHATLEY, 1982; BRAND, 1997; ALVARENGA et al., 1998), enquanto que sob condições de sombreamento, as concentrações foliares de clorofilas tendem a aumentar (BRAND, 1997; ALVARENGA et al., 1998; FONTES; SILVA, 2001; FERRAZ; SILVA, 2001).

Os carotenóides são tetraterpenos de cores vermelha, amarela e laranja, que agem como pigmentos acessórios na fotossíntese e protegem os tecidos fotossintéticos contra a fotoxidação. Além de sua função como pigmento acessório, os carotenóides desempenham um papel essencial na fotoproteção (TAIZ; ZEIGER, 2004). Se grandes quantidades de energia absorvida pelos pigmentos não puderem ser armazenadas pela fotoquímica, as membranas fotossintéticas podem ser facilmente danificadas; esta é a razão de necessidade de um mecanismo de proteção (TAIZ; ZEIGER, 2004). Estresse devido à alta luminosidade é freqüente sob condições tropicais e as concentrações de clorofila e carotenóides nas plantas são indicativos da ação deste fator sobre as mesmas (STRAUSS-DEBENEDETTI; BAZZAZ, 1991). A concentração clorofila e de carotenóides por centro de reação tendem a aumentar com a redução da irradiância (FERRAZ; SILVA, 2001), e assim, folhas adaptadas à sombra possuem uma menor relação clorofila a/b do que as adaptadas ao sol (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Embora poucos estudos relacionem a concentração de nitrogênio foliar com trocas gasosas sob diferentes níveis de irradiância (ELLSWORTH; REICH, 1992; ALMEIDA, 2001), o conteúdo de nitrogênio foliar é maior nas folhas de sol do que nas folhas sombreadas na maioria das espécies (ABRAMS; MOSTOLLER, 1995). Entretanto, vários autores observaram que o conteúdo de nitrogênio foliar, quando baseado na massa foliar, o resultado é inverso, sendo maior o conteúdo nas folhas crescidas sob baixas intensidades luminosas (HOLMES; COWLING, 1993; DIAS FILHO, 1997).

O crescimento de uma planta pode refletir a sua capacidade de adaptação às condições de radiação adversas do ambiente em que estão se desenvolvendo. Geralmente, as características de crescimento são as variáveis mais utilizadas para inferir o grau de tolerância ou de intolerância das espécies à baixa disponibilidade de luz (SCALON et al., 2002). Acredita-se que as espécies tolerantes ao sombreamento apresentem um crescimento mais lento em relação às não-tolerantes, devido às suas taxas metabólicas mais baixas (GRIME, 1977). Várias características constituem parâmetros para avaliar as respostas de crescimento

de plantas submetidas à diferentes irradiâncias. Dentre essas, a de uso mais frequente é a altura das plantas, visto que a capacidade em crescer rapidamente, quando sombreadas, é um mecanismo de adaptação de espécies que procuram por irradiâncias maiores (ENGEL, 1989; MORAES NETO et al., 2000).

Outros parâmetros morfofisiológicos utilizados são o diâmetro do colo e a produção de massa seca. O crescimento em diâmetro depende da atividade cambial que, por sua vez, é estimulada por carboidratos produzidos pela fotossíntese e hormônios translocados das regiões apicais. Logo, o diâmetro de colo é um bom indicador da assimilação líquida, já que depende mais diretamente da fotossíntese (ENGEL, 1989). Assim como a variável de diâmetro do colo, a quantidade total de matéria seca acumulada pela planta é reflexo direto da produção fotossintética líquida, somada à quantidade de nutrientes minerais absorvidos (ENGEL, 1989), possuindo uma correlação diretamente proporcional à diminuição de irradiância, sugerindo uma menor alocação de biomassa nas raízes que na parte aérea da planta. A área foliar correlaciona-se diretamente com a área da superfície fotossintetizante útil de uma espécie, sendo um parâmetro morfofisiológico estratégico para se avaliar a adaptação de uma espécie a condições de baixa irradiância. O incremento da área foliar pelo sombreamento é uma das maneiras da planta aumentar a superfície fotossintetizante, assegurando um aproveitamento mais eficiente sob baixas irradiâncias (ENGEL, 1989), compensando, assim, as baixas taxas fotossintéticas por unidade de área, que são características de folhas de sombra (BOARDMAN, 1977; JONES; MCLEOD, 1990).

2.5.1. ESTUDOS FISIOLÓGICOS EM *PASSIFLORAS*

Os estudos da ecofisiologia das fruteiras de clima tropical são escassos, com o conhecimento ainda restrito a algumas espécies agronomicamente importantes em passifloras (VASCONCELLOS et al., 2005). Vasconcelos et al. (2005) acreditam que o uso mais amplo das passifloráceas, no âmbito comercial, se esbarra na falta de informações sobre o comportamento dessas plantas nas diferentes condições de cultivo.

Os aspectos relacionados ao comportamento ecofisiológico têm demonstrado que a produção do maracujazeiro encontra-se confinada a certas épocas do ano, uma vez que são

consideradas plantas de dias longos (VASCONCELLOS et al., 2005; CAVICHIOLI et al., 2006), necessitando entre 11h (WATSON; BOWERS, 1965; MELETTI, 1996) a 12h de luz (PIZA JUNIOR, 1993) para florescer. O mesmo ocorre com *P. gibertii* N. E. Br.. Nesta espécie, a antese ocorre às 16h, com o fechamento de suas flores às 10h do outro dia (VASCONCELLOS et al., 2005).

Para Menzel e Simpson (1988), a radiação solar é o fator ambiental que mais contribui para as flutuações de florescimento e a formação de frutos de maracujazeiro. A produção do maracujazeiro é afetada diretamente também por mudanças de temperatura, fotoperíodo e precipitação pluvial (MENZEL; SIMPSON, 1988; 1994), não se reportando, entretanto, aos modelos de crescimento vegetativo, ao efeito sobre as taxas fotossintéticas e às relações fontedreno das plantas, além do florescimento e pegamento de frutos (VASCONCELLOS et al., 2005). Menzel & Simpson (1988) verificaram menor produção do maracujazeiro com a diminuição dos níveis de radiação solar, não observando flores sob intenso sombreamento. Verificaram que as plantas submetidas a baixas radiações apresentaram maior comprimento do ramo, quando a radiação solar global incidente foi elevada para 20,9MJ m⁻²d⁻¹. Aumentaram também a área foliar, o número de botões florais, o número de flores abertas e o peso da matéria seca (MENZEL; SIMPSON, 1988). Os autores acrescentam que períodos intermitentes de uma a quatro semanas de forte sombreamento, durante um período de pleno sol, induzem efeito residual sobre o crescimento, florescimento e o potencial produtivo da cultura. Dessa maneira, ocorre uma menor produção de frutos de P. edulis Sims. em função da diminuição dos níveis de radiação solar, sem florescimento sob intenso sombreamento (MENZEL; SIMPSON, 1994; PIRES, 2008).

O primeiro estudo sobre a influência do fotoperíodo no desenvolvimento do maracujazeiro amarelo foi realizado por Watson & Bowers (1965). Os autores verificaram maior produtividade da cultura em fotoperíodo acima de 12h de luz, e redução do número de flores com a diminuição do fotoperíodo. Ainda segundo esses autores, o efeito do fotoperíodo sobre o crescimento vegetativo foi marcante. Em fotoperíodos menores que 8h e maiores que 16h as plantas apresentaram um aumento acentuado no crescimento, nas variáveis de comprimento do ramo, comprimento do entrenó e número de nós analisadas, em detrimento ao florescimento, ao passo que plantas expostas a fotoperíodos de 12h apresentam menor crescimento, porém maior número de flores.

Vasconcelos & Duarte Filho (2000), descreveram a influência do fotoperíodo nos cultivos realizados nas diferentes regiões geográficas do Brasil, em condições de não limitação hídrica. No Norte do país (0º latitude) as plantas crescem e florescem

continuadamente, devido a pouca variação da temperatura e fotoperíodo ao longo do ano. No Nordeste, o crescimento e tempo de florescimento são menores, cerca de 10 a 11 meses, em função da latitude, uma vez que esta região apresenta um inverno mais delimitado, em relação ao norte do Brasil, com uma pequena redução na temperatura e no fotoperíodo. No Sudeste, o período de produção é menor em relação ao Nordeste, variando de 10 a 8 meses. Nesta região as temperaturas são mais baixas no outono/inverno e o comprimento do dia diminui mais acentuadamente. Na região Sul, os efeitos da temperatura e fotoperíodo são fortes, reduzindo ainda mais o período produtivo das plantas, quando comparados com a região Sudeste (VASCONCELOS; DUARTE FILHO, 2000). Dessa maneira, no Brasil o período produtivo do maracujazeiro concentra-se nos meses de dezembro a julho, e os maiores preços da fruta são obtidos entre agosto e novembro, devido à diminuição da oferta do produto que está relacionada à menor duração do período luminoso (IES, 1981; PHILIPS, 1989; CAVICHIOLI et al., 2006).

Menzel & Simpson (1988) relatam que períodos de alta nebulosidade nas regiões tropicais influenciaram a produtividade do maracujazeiro, principalmente se o sombreamento ocorrer logo após um período de alta formação de frutos, devido à competição entre gemas e frutos em desenvolvimento. O mesmo raciocínio é utilizado por Vasconcellos & Duarte Filho (2000) para justificar a baixa produção por planta nos plantios adensados, já que o sombreamento natural dos ramos diminui o ganho fotossintético das plantas (IES, 1981; PHILIPS, 1989; CAVICHIOLI et al., 2006).

Em estudos realizados por Vasconcelos et al. (2005), no maracujazeiro-amarelo *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* O. Deg, e em duas passifloráceas silvestres, *P. gibertii* N. E. Br. e *P. cincinnata* Mast., foram observadas uma redução da fotossíntese em cerca de 85 a 95% nas folhas mais sombreadas e localizadas mais no interior das plantas. A *P. gibertii* apresentou valores médios da taxa de fotossíntese líquida superiores, cerca de 15μmol CO₂ m⁻²s⁻¹. Em *P. cincinnata* e *P. edulis f. flavicarpa* as taxas apresentaram valores médios em torno de 13,5μmol CO₂ m⁻²s⁻¹ e 9,5μmol CO₂ m⁻²s⁻¹, respectivamente. A baixa irradiância incidida nas folhas inferiores interferiu marcadamente na eficiência fotossintética destes maracujazeiros (VASCONCELLOS et al., 2005). Da mesma forma, a condutância estomática (*g*_S) e a transpiração (*E*) são afetadas pela localização das folhas, levando também a um menor valor das taxas fotossintéticas dessas folhas pela diminuição na abertura dos estômatos (VASCONCELLOS et al., 2005).

Na avaliação da fluorescência, os valores do rendimento quântico de PS2 $(F_v/F_m;$ onde F_v = fluorescência variável e F_m = fluorescência máxima) revelaram que nenhuma das

espécies estudadas por Vasconcelos et al. (2005), *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* O. Deg, *P. cincinnata* Mast. e *P. gibertii* N.E.Br. apresentaram problemas em seu aparato fotossintético, demonstrando com valores médios na ordem de 80 a 73. Valores de F_v/F_m entre 0,75 e 0,85 evidenciam eficiente conversão da energia luminosa no PS2. Os maiores valores de F_v/F_m foram observados em folhas localizadas na porção mais interna do dossel da plantas em *P. edulis f. flavicarpa* e *P. cincinnata*. Em *P. gibertii* os valores de rendimento quântico do PS2 sofreram uma pequena variação quando à exposição de irradiância a qual as folhas estavam submetidas. Logo, os valores reduzidos observados da taxa da fotossíntese líquida foram limitados pela radiação fotossinteticamente ativa (RFA), já que se as folhas que estavam localizadas em posição intermediária e à sombra (no interior do dossel do maracujazeiro) recebem quantidade maior de irradiância sendo possível o acréscimo na taxa fotossintética líquida. Folhas sob sombra não produzem fotoassimilados adequadamente devido à baixa irradiância, comportando-se assim, como um órgão-dreno (VASCONCELLOS et al., 2005).

Em estudos similares ao de Vasconcelos et al. (2005), Pires (2008) observou que o padrão de resposta em P. morifolia Mast. e P. palmeri Rose ao aumento da fotossíntese líquida máxima (A_{max}) com o aumento do nível de RFA, seguido de um declínio de A_{max} sob pleno sol, tem sido relatado para outras espécies tolerantes à sombra moderada (ALERIC; KIRKMAN, 2005). Os valores elevados da fotossíntese líquida máxima ($A_{\text{max}} = 27,06\mu\text{mol}$ fótons $m^{-2}s^{-1}$) e taxa respiratória na ausência de luz ($R_d = 2,12\mu\text{mol}$ fótons $m^{-2}s^{-1}$) de P. morifolia sob 50% de sombreamento, são um indicativo da plasticidade fisiológica desta espécie a adaptar-se em ambientes com reduzida RFA. Para P. suberosa L., observou-se valores elevados de fotossíntese líquida máxima ($A_{\text{max}} = 15,13 \mu\text{mol}$ fótons m⁻² s⁻¹), taxa respiratória na ausência de luz ($R_d = 2,06\mu$ mol fótons m⁻² s⁻¹), irradiância de compensação $(\Gamma_{RFA} = 31.8 \mu mol fótons m^{-2} s^{-1})$ e eficiência quântica aparente (α = 0.07 μmol μmol⁻¹) sob pleno sol. O valor elevado de A_{max} de P. suberosa sob pleno sol, com decréscimos nos níveis subsequentes de sombreamento, demonstra a capacidade de aclimatação dessa espécie à ambientes com elevada RFA, indicando que um grande requerimento de energia luminosa necessário para alcançar A_{max} . Este estudo permitiu caracterizar P. morifolia e P. palmeri como espécies tolerantes à sombra, enquanto que P. suberosa apresentou características de plantas heliófilas (PIRES, 2008). Os valores de A para P. morifolia, P. suberosa e P. palmeri foram de 21,09, 12,36 e 16,15μmol CO₂ m⁻² s⁻¹, atingidos nos níveis de 50%, pleno sol e 75% de sombreamento, respectivamente.

Em P. palmeri Rose foi observado fotoinibição a pleno sol, reportando a este processo a possível responsabilidade pelo valor extremamente reduzido de g_s em pleno sol (0,07mol

 H_2Om^{-2} s⁻¹), além de diminuir a taxa de assimilação (WONG et al., 1979). Os valores da razão entre as concentrações de CO_2 intercelular (mesofilo foliar; C_i) e atmosférica (C_a) (razão C_i/C_a) variam de acordo ao hábitat, com uma tendência de serem mais elevados em espécies mesomórficas do que em espécies xeromórficas (LLOYD; FARQUHAR, 1994; EHLERINGER; COOK, 1998), fato observado em estudos de Pires (2008), onde as espécies tolerantes a sombra P. morifolia e P. palmeri apresentaram valores da razão C_i/C_a mais elevados do que P. suberosa, considerada planta de sol.

Em estudos realizados por Zanella et al. (2006) sobre o desenvolvimento de mudas de maracujazeiro-amarelo sob sombra, observou-se que o tratamento de 80% de sombra foi o mais indicado para o crescimento de mudas, ao passo que o aumento do sombreamento promoveu uma menor relação clorofila *a/b* e acréscimos nas concentrações de clorofila e carotenóides totais. Estes autores verificaram que a redução na fotossíntese, sob radiação solar plena, o crescimento pode ter sido prejudicado também por um aumento da taxa respiratória (ROCHA, 2002), diminuindo, conseqüentemente, o ganho de biomassa nos maracujazeiros (ZANELLA et al., 2006).

O efeito da temperatura sobre o maracujazeiro é refletido na absorção de nutrientes, conforme constatado por Menzel et al. (1987), quando observaram que o acúmulo máximo de nutrientes na parte aérea das plantas ocorreu em temperatura diurna e noturna em torno de 25°C e 20°C, respectivamente. Neste estudo os autores relatam que os níveis de potássio aumentaram com o aumento da temperatura, enquanto, nitrogênio, enxofre e magnésio reduziram. Meinke & Karnatz (1990) relatam que híbridos de passifloras quando expostos à elevação de temperatura do ar e do solo, aumentam a área foliar, o número de folhas e o comprimento da planta (MEINKE; KARNATZ, 1990), além de acelerar o desenvolvimento de flores e da maturação, e aumentar a biomassa seca dos frutos e o número de sementes (UTSUNOMIYA, 1992). Observam-se, entretanto, respostas fisiológicas contrárias em híbridos submetidos a um decréscimo gradativo do potencial hídrico do solo, com a redução do peso seco da folha, raiz e caule, da área foliar, do número de botões florais e do tempo de abertura de flores, em resposta ao estresse hídrico submetido (MENZEL et al., 1986). Turner et al. (1996) acredita que o déficit hídrico do solo, quando submetidos às plantas, são impactantes na expansão das raízes de *Passiflora*, reduzindo a expansão foliar e promovendo maturação precoce.

Apesar do grande número de híbridos já obtidos, o conhecimento sobre a influência do sombreamento na fotossíntese, teor de clorofilas e carotenóides, condutância estomática, transpiração e outras variáveis fisiológicas em híbridos de passifloras são escassos. Sabe-se

que alterações nos níveis de irradiância provocam mudanças na anatomia foliar, na densidade de estômatos, na espessura foliar e da epiderme e na espessura do mesofilo, na diminuição da área foliar específica e aumento da espessura da cutícula, relatadas para outras espécies (ASHTON; BERLYN, 1994; COSTA et al., 1998; LEE et al., 2000; COSTA et al., 2001; TAIZ; ZEIGER, 2004) E tendo conhecimento que folhas com baixa densidade estomática e camada grossa de mesofilo são características típicas de espécies tolerantes à baixa irradiância, conhecidas como plantas C₃ (TAIZ; ZEIGER, 2004), acredita-se que as passifloras possam ser classificadas como plantas C₃.

Os dados aqui relatados demonstram as diferenças existentes entre algumas espécies de passifloráceas sob alguns aspectos fisiológicos, com o intuito de influenciar as formas de manejo das plantas, nas suas diferentes fases de cultivo, com intuito de atingir os maiores rendimentos de produção, ou de viabilizar propostas para a utilização de passifloráceas na decoração de interiores.

Relações Cariotípicas entre os Genitores *Passiflora foetida* var. *foetida* x *Passiflora palmeri* var. *sublanceolata* e Híbridos Interespecíficos F₁ Ornamentais

RESUMO

O gênero Passiflora L. (Passifloraceae) é constituído por cerca de 500 espécies amplamente distribuídas nos trópicos e conhecidas como maracujazeiros. São mundialmente valorizadas pelas características ornamentais de suas flores e folhagens exuberantes, amplamente utilizadas em cercas, muros, pérgulas e vasos nos Estados Unidos e Europa. Considerando o potencial ornamental das passifloras, este estudo teve como objetivo caracterizar o número cromossômico e a cariomorfologia das espécies P. palmeri var. sublanceolata e P. foetida var. foetida, utilizadas como genitoras na obtenção dos híbridos interespecíficos F₁ UESC-HD13 de interesse ornamental, e investigar a natureza cariotípica desta progênie. As análises revelaram que o número cromossômico observado divide os táxons estudados em dois grupos, com 2n = 22, no qual se incluem os genitores e parte da progênie F_1 , e com 2n = 20, com os demais híbridos desta progênie, nos quais ocorreu a eliminação de dois cromossomos. Os cariótipos apresentaram cromossomos metacêntricos e submetacêntricos. As fórmulas cariotípicas e o comprimento do lote haplóide (CLH; µm) para P. foetida var. foetida, P. palmeri var. sublanceolata, híbrido com 2n = 20 e híbrido com 2n = 22 cromossomos foram, respectivamente: 20m + 2sm, 12,33; 18m + 4sm, 15,53; 18m + 2sm, 13,64; 16m + 6sm, 12,59. Observou-se a presença de cromossomos satelitados nos braços curtos do par 4 de P. palmeri, e do par 2 de P. foetida e do híbrido com 2n = 22. Não foram observados cromossomos satelitados nos híbridos com 2n = 20. O índice de assimetria (TF%) foi superior aos 40% em todos os táxons analisados, variando entre 41,46% nos híbridos com 2n = 22 a 46,33% nos híbridos com 2n = 20. A eliminação cromossômica ocorreu, provavelmente, por mecanismos de controle genético nuclear. As análises das variações cariotípicas auxiliaram no entendimento das variações morfológicas observadas entre os indivíduos da progênie F₁ UESC-HD13.

Palavras-chave: Cariomorfologia, eliminação cromossômica, cariótipos simétricos, cromossomos satelitados.

3.1. INTRODUÇÃO

As passifloras são plantas apreciadas em muitos países do mundo por seu potencial ornamental, motivado pela beleza de suas flores e folhagem (ULMER; MACDOUGAL, 2004). O uso das passifloras silvestres para ornamentação é citado desde o século XVII, destacando-se a utilização de híbridos somente dois séculos depois, em 1819, com a obtenção do primeiro hibrido de *Passiflora* L., *P.* × *violacea* Milne (VANDERPLANK, 2000; ULMER; MACDOUGAL, 2004). Desde então, diversos híbridos com características únicas têm sido produzidos e comercializados no mercado de sementes híbridas (VANDERPLANK, 2000). Cerca de 685 híbridos foram registrados até o ano de 2007 (FEUILLET et al., 2000; VANDERPLANK et al., 2003; KING, 2007). A hibridação interespecífica é uma das alternativas utilizadas para a obtenção de híbridos ornamentais de passifloras em muitos países europeus e norte-americanos, que têm explorado a utilização das espécies silvestres e híbridas em cercas, muros, pérgulas e vasos (VANDERPLANK, 2000; ULMER; MACDOUGAL, 2004; PEIXOTO, 2005).

As análises citogenéticas no gênero *Passiflora*, em sua maioria, permanecem restritas à identificação do número cromossômico. Considerando a ampla variabilidade inter e intraespecífica do gênero, com cerca de 500 espécies (VANDERPLANK, 2000), um pequeno número de passifloras tem o número cromossômico conhecido, cerca 100 espécies (CUCO et al., 2005), 8 subespécies e 14 híbridos (SOARES-SCOTT et al., 2005).

O número cromossômico é um parâmetro importante na identificação do grau de relacionamento entre espécies (HANSEN et al., 2006). Os estudos de caracterização do número cromossômico conhecidos para o gênero *Passiflora*, realizados por Bowden (1945), Storey (1950), Beal (1969; 1973a; 1973b), Raven (1975), Morawetz (1986), Snow & MacDougal (1993), Melo et al. (2001), Melo & Guerra (2003) e Vieira et al. (2004) e identificam número de cromossomos variável para a maioria das espécies. Segundo Hansen et al. (2006), os dois maiores subgêneros, *Passiflora* e *Decaloba* (antigo *Plectostemma*, segundo as regras de IBCN-Código Internacional de Nomenclatura Botânica) têm números haplóides *n*

= 9 e n = 6, respectivamente. Contrariamente, os subgêneros *Astrophea* e *Deidamioides* possuem números haplóides n = 12 (HANSEN et al., 2006). Diversas variações nos números básicos de cromossomos em passifloras já foram citados, como x = 7, 10, 11, 12, 18 e 42, com ploidias de até 14x (SOARES- SCOTT et al., 2005; SOUZA et al., 2008). Diante destes fatos, alguns autores chegam a dividir as passifloras em quatro grupos cariotípicos, representados por x = 6, x = 9, x = 10 e x = 12, sugerindo vários números cromossômicos como número básico do gênero *Passiflora* (SOARES-SCOTT et al., 2005). Entretanto, sustenta-se a hipótese de que x = 6 é o numero cromossômico básico, enquanto que x = 9, 10 e 12 seriam números secundários, derivados (MELO et al., 2001; MELO; GUERRA, 2003; SOARES-SCOTT et al., 2005; HANSEN et al., 2006; SOUZA et al., 2008). As aneuploidias e poliploidias, relacionadas com eventos evolucionários, possivelmente, são as responsáveis pela variação do número cromossômico (MELO et al., 2001; SOARES-SCOTT et al., 2008).

A hipótese de perdas cromossômicas no gênero pode ser sustentada pela existência de espécies com números cromossômicos intermediários, como em P. foetida L., com 2n = 18, 2n = 20 e 2n = 22 (HEITZ, 1927; NISHIYAMA; KONDO, 1942; BOWDEN, 1945; JANAKI AMMAL; DARLINGTON, 1945; HARVEY, 1966; GUERRA, 1986a; SOARES-SCOTT et al., 2005; SOUZA et al., 2008). Em híbridos sexuados esta instabilidade é muito observada (LEVIN, 2002), e a eliminação cromossômica em híbridos interespecíficos é considerada, por alguns autores, como uma poderosa ferramenta em programas de melhoramento, facilitando a produção de linhas de adição e de substituição por meio da eliminação cromossômica diferencial (BAPTISTA-GIACOMELLI et al., 2000).

Em passifloras silvestres, análises cariotípicas intra e interespecíficas indicam variação na posição do centrômero levando a cromossomos metacêntricos e submetacêntricos e cariótipo simétrico variável (BEAL, 1973a, b; MAYEDA, 1997; MELO et al., 2001; SOARES-SCOTT, 1998; SOARES-SCOTT et al., 2005; SOUZA et al., 2003), além de apresentar variação também número e comprimento dos cromossomos, variações quanto ao número e posição de satélites, e presença de constrição secundária (BEAL, 1973a; 1973b; MAYEDA, 1997; SNOW; MACDOUGAL, 1993; SOUZA et al., 2003).

As análises cariotípicas também podem auxiliar na confirmação do sucesso da hibridação, uma vez que a condição híbrida de uma planta pode também ser determinada pelo número somático de seus cromossomos (SHARMA; GILL, 1983; SETHI, 1989). Presumidamente, quanto mais similar a constituição genética e o número cromossômico entre as espécies genitoras, maior a afinidade e chances de obtenção de híbridos interespecíficos

(LEVIN, 2002). Assim, espécies diplóides com números cromossômicos diferentes são mais divergentes e tendem a apresentar menor afinidade (LEVIN, 2002).

Como auxílio à caracterização citogenética do banco de germoplasma de *Passiflora* da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), na Bahia, bem como para a implantação do programa de melhoramento visando o uso de espécies silvestres na obtenção de híbridos interespecíficos ornamentais, o presente trabalho objetivou-se conhecer a homologia cromossômica das espécies *P. foetida* var. *foetida* L. e *P. palmeri* Rose var. *sublanceolata* Killip, com base em análises cariotípicas nestes e em sua progênie híbrida F_1 UESC-HD13. A progênie F_1 UESC-HD13 foi resultado do cruzamento sexuado entre *P. foetida* var. *foetida* (\lozenge) x *P. palmeri* var. *sublanceolata* (\lozenge).

3.2. MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1. MATERIAL VEGETAL

Foram utilizadas as espécies *Passiflora foetida* var. *foetida* L. (Figura 3.1A) proveniente da UENF - Campos de Goytacazes (RJ), e *P. palmeri* Rose var. *sublanceolata* Killip (Figura 3.1B) doada pela EMBRAPA Cerrados – Planaltina (DF), que vêm sendo mantidas no Banco Ativo de Germoplasma (BAG - Passifloras) da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), 39°13'59'' de longitude oeste e 14°45'15'' de latitude sul, Ilhéus, Bahia, Brasil. Foram analisados os híbridos interespecíficos resultantes do cruzamento entre *P. foetida* var. *foetida* & x *P. palmeri* var. *sublanceolata* \$\mathbb{Q}\$ (Figura 3.1C; D). A espécie *P. foetida* var. *foetida* foi selecionada como fonte de germoplasma nesse programa de melhoramento genético para obtenção de plantas ornamentais por apresentar pequeno porte,



Figura 3.1. Flores de genitores e híbridos F_1 UESC-HD13 de *Passiflora*. A) *P. foetida* var. *foetida* (2n = 22); B) *P. palmeri* var. *sublanceolata* (2n = 22); C) Indivíduo UESC-HD13 representando o grupo de híbridos com 2n = 22; D) Indivíduo UESC-HD13 representando o grupo de híbridos com 2n = 20.

flores pequenas de pétalas brancas e corona branco-lilás, sendo adequada para ornamentação de interiores. A utilização de *P. palmeri* var. *sublanceolata* deve-se à beleza das flores de pétalas rosas e corona branca, e folhagem delicada, com cor verde vivaz.

3.2.2. HIBRIDAÇÕES INTERESPECÍFICAS

Para a obtenção do híbrido interespecífico, cinco genótipos do genitor feminino P. palmeri var. sublanceolata (planta receptora de pólen) foram fertilizados utilizando-se um 'bulk' de pólen de cinco genótipos de P. foetida var. foetida. Para o controle da polinização, os botões florais em pré-antese dos genitores foram selecionados e protegidos com saco de papel, evitando a visita de polinizadores ou a fecundação por grãos de pólen carregados pelo vento, conforme indica Vanderplank (2000). No dia seguinte, realizou-se a polinização controlada uma hora após a antese para evitar polinizações em flores sem curvatura no estigma por não estarem ainda receptivas (SOUZA et al., 2004). As anteras dos botões em antese de cada espécie foram coletadas separadamente. Após a polinização, as flores foram novamente protegidas até 24 h. O cruzamento foi identificado com etiqueta junto à flor polinizada contendo os seguintes dados: a espécie doadora de pólen, a espécie receptora de pólen e data da hibridação. Após cinco dias, foi observada a permanência ou abortamento do botão floral e de frutos em início de desenvolvimento. Os frutos foram envolvidos por redes de nylon para evitar danos e perdas. Parte das sementes obtidas dos frutos colhidos foi semeada em bandejas de isopor de 128 células e utilizando-se substrato orgânico ou areia, em casa de vegetação. A outra parte vêm sendo mantida em refrigeração, aproximadamente a 10°C. Todas as sementes representantes de um cruzamento foram consideradas sua progênie. Os genótipos representantes da progênie F₁ foram codificados apropriadamente, com a sigla UESC-HD13. Após a germinação, as plantas híbridas foram transplantadas para vasos contendo 43L de solo com cerca de 30 a 40 dias de vida.

3.2.3. ANÁLISE DO CARIÓTIPO

Apices jovens de raízes foram obtidos de estacas dos genitores P. foetida var. foetida (\mathcal{S}) x P. palmeri var. sublanceolata (\mathcal{S}) e híbridos ornamentais de plantas já adultas e transplantadas para vasos contendo 43L de solo. As amostras foram obtidas de estacas de cinco genótipos de cada genitor e de estacas de 10 híbridos diferentes. As amostras foram processadas de acordo com Souza et al. (2003) com modificações. As pontas de raízes foram lavadas em água destilada e pré-tratadas com 8-hidroxiquinolina 0,002M em temperatura ambiente (± 25 °C) por 1h, e a ± 4 °C por 21h. Em seguida, as pontas de raízes foram lavadas duas vezes em água destilada, por 5min cada, fixadas em Carnoy (etanol - ácido acético glacial 3:1) (JOHANSEN, 1940) por 3h em temperatura ambiente, e, após uma troca da solução, mantidas no próprio fixador a -20°C por pelo menos 24h. Depois de lavadas, as pontas de raízes foram hidrolisadas em ácido clorídrico a 5N por 25min, em temperatura ambiente, lavadas novamente e transferidas para o Reativo de Schiff por 1h em ambiente escuro. Para retirada do excesso de coloração do citoplasma, as pontas de raízes foram imersas em água sulfurada (90μL de K₂S₂O₅ 1% + 2,5μL H₂O + 75μL HCl 1N; GUERRA; SOUZA, 2002) por 15min. As amostras foram contra-coradas com carmim 2% e as lâminas foram preparadas pelo método de esmagamento com auxílio de agulhas. A transformação em permanentes foi realizada imergindo as lâminas em ácido acético glacial 20%, até a liberação da lamínula, em etanol 80% e 100% por 10seg cada, e secas à temperatura ambiente. Lâminas e lamínulas foram montadas em meio Neomount[®]. As metáfases foram observadas em campo claro com microscópio de luz Olympus CX41 e fotografadas com máquina digital Olympus C-7070, 7.1 MP acoplada ao microscópio.

A determinação do número cromossômico foi obtida pela análise de cinco metáfases em células íntegras, por táxon. As mensurações foram realizadas com auxílio do programa Adobe Photoshop CS (versão 8.0.1). Foram mensurados o comprimento do braço curto (BC), braço longo (BL) e satélites (SAT). A partir desses dados, foram obtidos os parâmetros citogenéticos que permitiram a identificação e caracterização dos cromossomos: *i*) relação entre braços (r = braço longo/braço curto); *ii*) comprimento total do cromossomo (CT = BL + BC + SAT); *iii*) comprimento do lote haplóide (CLH = somatório dos comprimentos absolutos dos cromossomos metafásicos; LEVAN et al., 1964); *iv*) comprimento médio dos cromossomos (χ = ΣCT/número de cromossomos); *v*) comprimento relativo dos cromossomos

(R = [CT ÷ CLH] x 100); *vi)* índice de assimetria (TF% = somatório dos braços curtos do lote haplóide ÷ CLH; HUZIWARA, 1962); *vii)* fórmula cariotípica do número somático. Na mensuração dos cromossomos com satélites, o comprimento destes não foi adicionado ao comprimento do braço cromossômico correspondente, mas sim ao comprimento total do cromossomo (CUCO et al., 2005). Os homólogos foram distinguidos com base na posição do centrômero, tamanho absoluto de cada cromossomo e relação de braços.

Os cariótipos foram arranjados de acordo com o comprimento dos cromossomos, em ordem decrescente, e com a posição do centrômero, de acordo com a nomenclatura de Guerra (1986b), levando-se em conta a razão entre braços: metacêntrico, 1,00 - 1,49; submetacêntrico, 1,50 - 2,99; acrocêntrico, 3,00 - ∞; telocêntrico, ∞. Os satélites foram classificados segundo Battaglia (1955). Os ideogramas foram confeccionados com base nas médias simples das mensurações cromossômicas realizadas nas cinco metáfases, usando-se o software Microsoft® Office PowerPoint ® 2003 (Versão 7).

Para a avaliação de variações cariotípicas intra e interespecíficas, utilizou-se o delineamento inteiramente ao acaso (DIC). O esquema do DIC para os genitores se constituiu de cinco tratamentos (genótipos parentais diferentes), com duas repetições (clones) de cada tratamento. Para a progênie F₁ o esquema do DIC se constituiu em 10 tratamentos (plantas híbridas diferentes) com duas repetições (clones) de cada tratamento. Os dados foram submetidos à ANOVA e teste de Tukey (P<0,05) utilizando-se o programa computacional GENES (CRUZ, 2006).

3.3. RESULTADOS

Os procedimentos adotados na caracterização do número cromossômico permitiram identificar a formação de dois grupos distintos, um grupo com 2n = 22 e outro grupo com 2n = 20 cromossomos (Figura 3.2). No grupo com 2n = 22 encontram-se os genitores P. foetida

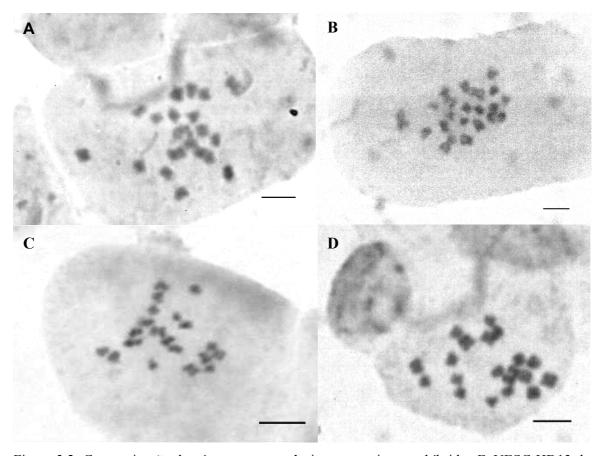


Figura 3.2. Caracterização do número cromossômico em genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora*. (A) *P. foetida* var. *foetida*; (B) *P. palmeri* var. *sublanceolata*; (C) Indivíduo UESC-HD13 representando o grupo de híbridos com 2n = 22 cromossomos; (D) Indivíduo UESC-HD13 representando o grupo de híbridos com 2n = 20 cromossomos. (Barra = 5 μm).

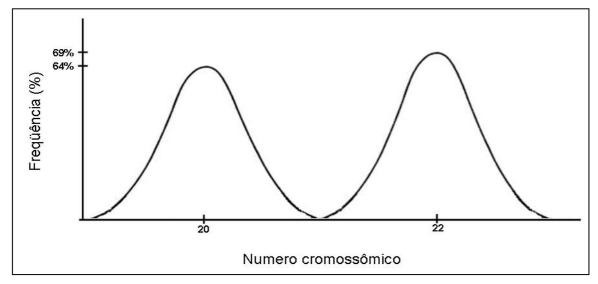


Figura 3.3. Amostra bimodal dos híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora* indicando a existência de dois grupos, com valores centrados em dois pontos diferentes do eixo de valores.

var. foetida (Figura 3.2.A) e *P. palmeri* var. sublanceolata (Figura 3.2.B) e alguns indivíduos da progênie F_1 com pétalas rosadas (Figura 3.2.C). Os demais indivíduos da progênie F_1 analisados foram incluídos no segundo grupo observado, com 2n = 20, com pétalas brancas (Figura 3.2.D). As metáfases com números inferiores ao valor modal de 2n = 22 (69%) e 2n = 20 (64%) (Figura 3.3) não foram analisadas por serem consideradas incompletas. Nos híbridos com 2n = 20 (2n = 22 - 2) ocorreu a eliminação de dois cromossomos, já que não foi observado heteromorfismo cromossômico.

Os cromossomos de todos os táxons apresentaram tamanho inferior a $2\mu m$ de comprimento, enquanto o último par apresentou tamanho próximo ou inferior a $1\mu m$ (Tabela 3.1; Figura 3.4). Os valores médios do comprimento absoluto dos cromossomos nas plantas híbridas foram intermediários aos valores dos genitores P. foetida var. foetida e P. palmeri var. sublanceolata. Os valores médios dos cromossomos nos híbridos com 2n = 22 e 2n = 20 variaram entre 1,44 e 1,55 μ m (par 1) e 0,82 e 1,11 μ m (pares 11 e 10), respectivamente. Comparando-se os valores absolutos dos comprimentos cromossômicos, foi observada uma variação de 28,1% entre o primeiro e último par cromossômico nos híbridos 2n = 20, inferior à diferença encontrada em híbridos com 2n = 22 cromossomos (59,67%). O genitor feminino P. palmeri var. sublanceolata apresentou os maiores comprimentos cromossômicos, com valor médio entre 1,83 μ m (par 1) e 1,18 μ m (par 11) e com pouca variação entre o maior e menor par cromossômico (34,97%), enquanto o genitor masculino P. foetida var. foetida apresentou maior variação entre os pares cromossômicos (48,50%), com comprimentos de 1,81 μ m a 0,73 μ m para os pares 1 e 11, respectivamente.

A análise de variância mostrou haver diferença significativa (P<0,05) entre os comprimentos cromossômicos nos híbridos e nos genitores (Tabela 3.2) e entre cada par cromossômico entre os táxons (Tabela 3.3), não havendo diferença significativa (P<0,05) entre os cariótipos para táxons. A variação do comprimento cromossômico entre o primeiro e o segundo par de homólogos foi de 6,34% em P. palmeri var. sublanceolata, 17,86% em P. foetida var. foetida, 4,35% no híbrido com 2n = 22, e 1,35% nos híbridos 2n = 20. Não houve diferença significativa (P<0,05) no comprimento cromossômico entre o primeiro e segundo par, excetuando-se em P. foetida var. foetida. A comparação de médias pelo teste de Tukey (P<0,05) demonstrou haver diferença entre os cariótipos analisados (3.1). Não houve diferença significativa (P<0,05) entre pares satelitados de P. palmeri e híbrido (QM = 0,0465) e entre P. foetida e híbrido (QM = 0,02766).

Os táxons apresentaram cariótipos simétricos, com cromossomos de tamanhos próximos e centrômeros medianos e submedianos, e um par de cromossomos satelitados,

Tabela 3.1. Morfometria cromossômica dos genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora*, evidenciando o comprimento médio do braço longo (BL), braço curto (BC), satélite (SAT), comprimento total do cromossomo* (CT), e razão entre os braços (r) e classificação (CLASS) dos cromossomos segundo o posicionamento do centrômero, em metacêntrico (M) e submetacêntrico

							(Continua)
Tówong	!		Comprimer	Comprimento dos cromossomos (µm) (média ± desvio padrão)*	os (μ m) (média \pm	desvio padrão)*	
I avolis		1	2	3	4	5	9
P. palmeri	var BL	0.99 ± 0.017	0.95 ± 0.010	0.87 ± 0.026	0.79 ± 0.016	0.76 ± 0.017	0.73 ± 0.016
sublanceolata	BC	$0,79 \pm 0,011$	0.71 ± 0.003	$0,65 \pm 0,021$	0.69 ± 0.007	0.65 ± 0.014	0.63 ± 0.012
	SAT	•	•	•	$0,07 \pm 0,164$	•	
	CT	$1,83$ Aa $\pm 0,043$	$1,71 \text{Aa} \pm 0,012$	$1,55 Ba \pm 0,047$	$1,52Ba \pm 0,006$	$1,40BCa \pm 0,004$	$1,35$ CDa $\pm 0,024$
	Ţ	1,26	1,34	1,32	1,14	1,175	1,59
	CLASS	\mathbb{Z}	\mathbb{Z}	M	M	M	M
P. foetida var. foetida	ida BL	0.93 ± 0.039	0.80 ± 0.108	0.70 ± 0.006	$0,65 \pm 0,021$	$0,60 \pm 0,031$	0.64 ± 0.021
	BC	0.88 ± 0.065	0.59 ± 0.112	$0,66 \pm 0,031$	0.51 ± 0.014	0.48 ± 0.042	0.34 ± 0.024
	SAT		0.08 ± 0.191			•	•
	CT	$1,81 \text{Aa} \pm 0,099$	$1,49$ Bb $\pm 0,018$	$1,36Cb \pm 0,032$	$1,16\mathrm{Dc} \pm 0,018$	$1,08DEc \pm 0,043$	0.98 EFc ± 0.030
	ı	1,06	1,36	1,06	1,27	1,23	1,88
	CLASS	M	M	M	M	M	SM
UESC-HD13 $(2n)$	= BL	0.85 ± 0.087	0.75 ± 0.045	0.85 ± 0.044	0.67 ± 0.039	$0,69 \pm 0,038$	0.76 ± 0.019
22)	BC	$0,61 \pm 0,100$	0.64 ± 0.098	$0,47 \pm 0,034$	0.63 ± 0.045	0.53 ± 0.027	$0,42 \pm 0,011$
	SAT		0.13 ± 0.189				•
	CT	$1,44Ab \pm 0,105$	$1,38ABc \pm 0,138$	$1,30ABCb \pm 0,072 \ 1,28ABCb \pm 0,077$	$1,28ABCb \pm 0,077$	$1,22BCDb \pm 0,047$	$1,18$ CDEb $\pm 0,027$
	ı	1,38	1,17	1,81	1,08	1,29	1,78
	CLASS	\mathbb{N}	M	SM	M	M	SM
UESC-HD13 $(2n)$	Ш	0.81 ± 0.016	0.82 ± 0.051	0.84 ± 0.034	0.77 ± 0.064	$0,76 \pm 0,061$	0.74 ± 0.030
20)	BC	$0,74 \pm 0,021$	0.71 ± 0.047	$0,65 \pm 0,040$	$0,65 \pm 0,056$	$0,60 \pm 0,041$	0.58 ± 0.025
	CT	$1,55Ab \pm 0,025$	$1,53 \text{Ab} \pm 0,022$	$1,50ABa \pm 0,011$	$1,42BCa \pm 0,086$	$1,37CDa \pm 0,058$	$1,33$ CDEa $\pm 0,037$
	L	1,11	1,15	1,28	1,19	1,26	1,28
	CLASS	\boxtimes	\mathbb{Z}	\boxtimes	M	\mathbb{Z}	\mathbb{M}
* 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	-1	1-411	(1	111		J.F - 2	1- 4- 4- 1- T-1

* Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas (dentro de espécie) e letras minúsculas (entre espécies) não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

(Conclusão) Tabela 3.1. Morfometria cromossômica dos genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora*, evidenciando o comprimento médio do braço longo (BL), braço curto (BC), satélite (SAT), comprimento total do cromossomo* (CT), e razão entre os braços (r) e classificação (CLASS) dos cromossomos segundo o posicionamento do centrômero, em metacêntrico (M) e submetacêntrico

		Can solve of the cro	Comprimento dos cromossomos (IIII) (média + desvio nadrão)*	is + desuin nadrão)*	
Táxons				iia – acsvio paaiao)	
TAXOLIS	7	~	6	10	11
P. palmeri var BL	0.72 ± 0.017	0.80 ± 0.016	0.79 ± 0.020	$0,66 \pm 0,018$	0.61 ± 0.024
sublanceolata BC	0.61 ± 0.017	$0,48 \pm 0,020$	$0,46 \pm 0,010$	0.55 ± 0.018	0.57 ± 0.009
SAT	•	•	1	•	ı
CT	1,31CDEa \pm 0,03	$1,26\text{CDEFa} \pm 0,011$	$1,24DEFa \pm 0,018$	$1,19EFa \pm 0,025$	$1,18$ Fa $\pm 0,033$
₩	1,83	1,66	1,71	1,21	1,08
CLASS	M	SM	SM	M	M
P. foetida var. foetida BL	0.53 ± 0.026	0.50 ± 0.022	0.51 ± 0.046	$0,46 \pm 0,046$	0.38 ± 0.027
BC	$0,43 \pm 0,027$	$0,43 \pm 0,032$	$0,40 \pm 0,031$	$0,39 \pm 0,040$	0.34 ± 0.041
SAT	•		ı		
CT	$0.96 \text{Fc} \pm 0.028$	0.94 FGb ± 0.029	$0.91FGb \pm 0.037$	$0.86Gb \pm 0.080$	$0,73Hb \pm 0,065$
₩	1,22	1,17	1,27	1,19	1,11
CLASS	M	M	M	M	M
SC-HD13 $(2n =$	$0,69 \pm 0,045$	0.53 ± 0.052	0.51 ± 0.039	0.45 ± 0.031	$0,43 \pm 0,050$
22) BC	$0,36 \pm 0,061$	$0,43 \pm 0,030$	0.41 ± 0.068	$0,35 \pm 0,017$	$0,32 \pm 0,033$
SAT	•			•	•
CT	$1,08DEFb \pm 0,096$	$1,01\text{EFGb} \pm 0,051$	0.96 FGHb ± 0.092	0.86 GHb ± 0.04	$0,82Hb \pm 0,073$
ı	1,92	1,24	1,24	1,27	1,31
CLASS	SM	M	M	M	M
UESC-HD13 $(2n = BL)$	$0,70 \pm 0,033$	0.68 ± 0.026	0.68 ± 0.025	0.75 ± 0.037	,
20) BC	0.59 ± 0.036	0.58 ± 0.042	0.53 ± 0.018	$0,36 \pm 0,028$	•
CT	$1,30DEFa \pm 0,042$	$1,26EFa \pm 0,030$	$1,22\mathrm{Fa}\pm0,037$	$1,11$ Ga $\pm 0,049$	ı
ı	1,17	1,18	1,28	2,09	
CLASS	M	M	M	SM	·
* M(Air 2015 a 2015 a 2015 a 2015 A *		: (_::	.:-,	:	1. 4. 4. 4. T1.

* Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas (dentro de espécie) e letras minúsculas (entre espécies) não diferem entre si pelo teste de Tukey

48 Figura 3.4. Ideogramas de genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de Passiflora. A) P. palmeri var. sublanceolata; B) P. foetida var. foetida; C) Híbrido com 2n = 22; D) Hibrido com 2n = 20, evidenciando o comprimento total (CT) e o comprimento relativo (R) de cada cromossomo (μ m).

Tabela 3.2. Resumo da ANOVA para a característica comprimento dos cromossomos em genitores e dois grupos de híbridos F_1 UESC-HD13 (2n = 22 e 2n = 20) de *Passiflora*

Fontes de variação	GL		QM		CV(%)
,	Tratamentos	Erro	Tratamentos	Erro	
P. foetida var. foetida	10	44	0,5055*	0,0025	4,47
P. palmeri var. sublanceolata	10	44	0,2423*	0,0051	5,06
UESC-HD13 ($2n = 22$)	10	44	0,2184*	0,0072	7,42
UESC-HD13 ($2n = 20$)	9	40	0,1016*	0,0020	3,25

^{*}Significativo pelo teste F (P<0,05).

Tabela 3.3. Resumo da ANOVA para o comprimento de cada par cromossômico entre os genitores e dois grupos de híbridos F_1 UESC-HD13 (2n = 22 e 2n = 20) de *Passiflora*

(Continua) QM dos Pares Cromossômicos FV 1 3 4 5 7 8 6 3 0.179* 0.094* 0.069* 0,121* 0.106* 0,144* 0,144* 0.139* Táxon 0,0075 0,0041 Erro 16 0,005 0,002 0,002 0,001 0,0030 0,003 CV% 5,20 4,90 3,68 4,74 3,02 4,94 3,77 4,70

Tabela 3.3. Resumo da ANOVA para o comprimento de cada par cromossômico entre os genitores e dois grupos de híbridos F_1 UESC-HD13 (2n=22 e 2n=20) de *Passiflora*

			(Conclusão)	
FV	CI	QM	dos Pares Cromossôm	nicos
	GL -	9	10	11
Táxon	3	0,140*	0,153*	1,15*
Erro	16	0,004	0,006	
CV%		6,07	6,87	12,29

^{*}Significativo pelo teste F (P<0,05).

^{*}Significativo pelo teste F (P<0,05).

excetuando-se nos híbridos com 2n = 20. Os cromossomos foram classificados em metacêntricos e submetacêntricos (Tabela 3.1; Figura 3.4). Os cromossomos submetacêntricos variaram de um a três pares, sendo os pares 8 e 9 de *P. palmeri* e par 6 em *P. foetida*. Nos híbridos com 2n = 22, três pares de cromossomos foram submetacêntricos, 3, 6 e 7, e nos híbridos com 2n = 20, apenas o par 10.

Os cariótipos evidenciaram variação nos genitores e híbridos em relação ao par cromossômico portador da constrição secundária. Os satélites foram observados nos braços curtos do par 4 em P. palmeri var. sublanceolata, no par 2 em P. foetida var. foetida, e nos híbridos com 2n = 22 cromossomos (Tabela 3.1). Estes satélites puderam ser classificados como microssatélites, uma vez que apresentam pequenas dimensões e com diâmetros inferiores ou iguais ao diâmetro do cromossomo portador. Não foi observada a presença de satélites nos cromossomos dos híbridos com 2n = 20.

Os pares portadores de satélites nos genitores, ambos metacêntricos, apresentaram tamanhos muito próximos, 1,52 μ m em *P. palmeri* var. *sublanceolata* (par 4) e 1,4 μ m em *P. foetida* var. *foetida* (par 2). No híbrido com 2n = 22, o par 2 satelitado mediu 1,38 μ m, não sendo possível identificar a sua origem em relação aos genitores. O tamanho do par de cromossomos satelitados do híbrido variou 6,71% quando comparado ao par satelitado do genitor masculino, e 8,55% quando comparado ao feminino.

A análise cariomorfológica dos cromossomos revelou diferenças entre genitores e híbridos para as fórmulas cariotípicas e CLH. Os cariótipos dos híbridos e genitores apresentaram índice de assimetria inferior a 47 %. Foi observado que o híbrido com 2n = 20 tem o cariótipo mais assimétrico (46,3 %) (Tabela 3.4).

Foram observadas algumas similaridades entre os cariótipos dos genitores e dos híbridos. O tamanho cromossômico foi muito similar entre os pares 3 e 8 do híbrido com 2n = 22 e de P. palmeri var. sublanceolata. O sexto $(0.988\mu\text{m})$ e sétimo $(1.088\mu\text{m})$ pares de P. foetida e do híbrido com 2n = 22, e dos pares 9 e 6 de P. palmeri e híbrido com 2n = 22 também apresentaram comprimentos próximos (Tabela 3.1).

Tabela 3.4. Fórmulas cariotípicas, comprimento médio dos cromossomos (χ), posição dos microssatélites (SAT; braço e cromossomo), comprimento do lote haplóide (CLH) e índice de assimetria cromossômica (TF%) em genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora*

Espécies	Fórmula cariotípica	χ (μm)	SAT	CLH	TF%
P. palmeri var. sublanceolata	18m + 4sm	1,42	BC/4	15,53	43,98
P. foetida var. foetida	20m +2sm	1,12	BC/2	12,33	44,61
UESC-HD13 $(2n = 22)$ UESC-HD13 $(2n = 20)$	16m + 6sm $18m + 2sm$	1,13 1,36	BC/2	12,59 13,64	41,46 46,33

^{*}BC: braço curto; m, metacêntrico; sm, submetacêntrico.

3.4. DISCUSSÃO

Simples estudos do número cromossômico vêm auxiliando na identificação do grau de relação entre as espécies (LEVIN, 2002). Em *Passiflora* o conhecimento fica restrito a cerca de 30% do total de espécies conhecidas (SOARES-SCOTT et al., 2005; SOUZA et al., 2008). Os genitores *P. foetida* var. *foetida* e *P. palmeri* var. *sublanceolata* apresentaram um número cromossômico incomum (2n = 22) em relação à maioria das passifloras já relatadas (BOWDEN, 1945; STOREY 1950; BEAL, 1969; 1973a; 1973b; RAVEN, 1975; MORAWETZ, 1986; SNOW; MACDOUGAL 1993; MELO et al. 2001; MELO; GUERRA, 2003; SOUZA et al., 2003), com números que variam entre 2n = 12, 18, 20 e 24 para a maioria das espécies. Apesar das variações cromossômicas, é provável que as espécies representantes do grupo 2n = 22 sejam aneuplóides derivados do número cromossômico secundário de passifloras 2n = 24 (HANSEN et al., 2006).

Há controvérsias quanto ao número cromossômico de P. foetida L. na literatura, com relatos de 2n = 18 ((HEITZ, 1927; JANAKI AMMAL; DARLINGTON, 1945), 2n = 20 (NISHIYAMA; KONDO, 1942; STOREY, 1950; GUERRA, 1986a; MELO et al., 2001) e 2n = 22 (BOWDEN, 1945; HARVEY, 1966) cromossomos. O único representante de suas 22 variedades com número cromossômico caracterizado é P. foetida L. var. gossypiifolia (Desv.)

Masters (SNOW; MACDOUGAL, 1993), com 2n = 18 ou 2n = 20. Essa variedade é representante da América Central e possui flores brancas e corona variando do rosa ao branco (VANDERPLANK, 2000).

Segundo Guerra (1988), um dos principais problemas para a citotaxonomia são as contagens cromossômicas errôneas citadas na literatura, muitas vezes decorrentes do pequeno tamanho dos cromossomos de plantas, ou decorrentes de identificações botânicas incorretas, e que podem trazer sérios problemas para a interpretação dos dados. Melo et al. (2001) acreditam que P. foetida apresenta constrições secundárias proximais em prófase e prémetáfase que, se confundidas com dois cromossomos, conduzem a erros de interpretação. Entretanto, segundo Storey (1950), o número cromossômico de 2n = 20 possivelmente surgiu por aneuploidia (tetrassomia; 2n + 2), a partir de plantas com 18 cromossomos, o que contradiz a suposição de Hansen et al. (2006) de que o grupo com 2n = 22 (nulissomia; 2n - 2) tenha sido originado do grupo com 2n = 24. De uma forma ou de outra, acredita-se que a variação intraespecífica encontrada em P. foetida tenha se originado de aneuploidias durante o processo evolucionário da espécie. Em P. palmeri var. sublanceolata a mensuração do número cromossômico 2n = 22 é inédita.

Semelhantes às espécies silvestres, há um conhecimento incipiente a cerca da citogenética dos híbridos atualmente desenvolvidos. Estes estudos consideram que a maioria dos híbridos obtidos, mesmo aqueles que não foram caracterizados, foi originada de progenitores de 2n = 18, uma vez que os híbridos já caracterizados envolvem espécies de interesse agronômico (SOARES-SCOTT et al., 2003; 2005), como em *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* O. Deg. x *P. setacea* D.C., *P. racemosa* Brot. x *P. coccinea* Aubl. e *P. alata* Dryander x *P. caerulea* L., e apesar do grande número de híbridos ornamentais registrados (VANDERPLANK et al., 2003), é praticamente inexistente o conhecimento acerca do seu número cromossômico.

No processo de hibridação interespecífica, é comum ocorrer eliminações cromossômicas, como observado em híbridos interespecíficos de gramíneas como em *Hordeum vulgare* L. x *H. bulbosum* L. e *Avena sativa* L. x *A. sterilis* L. (GIACOMELLI et al., 2000) e outros híbridos relatados (ADAMOWSKI et al., 1998; PETERS et al., 1999; PAGLIARINI; SUAKI, 2003), podendo ser seletiva parcial ou individual, como são observados em híbridos de *Hordeum, Avena, Brassica, Triticum, Zea e Pennisetum* (SHARMA; GILL, 1983; SUNDBERG; GLIMELIUS, 1991; GERMAND et al., 2005; TECHIO et al., 2005; 2006; DAVID et al., 2007). A nova constituição genômica produzida

pelo processo de hibridação pode gerar conflitos intergenômicos, conduzindo a rearranjos genéticos (RIDDLE; BIRCHLER, 2003), como eliminações cromossômicas individuais.

Muito embora a perda de cromossomos seja freqüentemente relacionada a erros meióticos, podem ocorrer em diferentes fases do ciclo de vida do híbrido, como resultado de perda cromossômica ou de falta de disjunção das cromátides durante a primeira divisão mitótica do zigoto, podendo ser um processo de duração variável (LINDE-LAURSEN; BOTHMER, 1993). Algumas hipóteses sobre o processo de eliminação cromossômica podem ser levantadas, como a inativação dos cromossomos por nucleases, degradação da cromatina, supressão da função do centrômero nos cromossomos eliminados e assincronia nas fases do ciclo celular (ADAMOWSKI et al., 1998; SINGH, 2002), incluindo-se também a influência dos fatores ambientais (LINDE-LAURSEN; BOTHMER, 1999). Em híbridos de *H. bulbosum* x *H. vulgare*, por exemplo, os cromossomos foram eliminados poucos dias após a fertilização sugerindo a influência da temperatura na velocidade da eliminação cromossômica, indicando que as condições ambientais podem influenciar na estabilidade do híbrido (PICKERING, 1985; LINDE-LAURSEN; VON BOTHMER, 1999).

Apesar da compatibilidade genômica entre os genitores e necessária para o sucesso na obtenção de híbridos interespecíficos (OHRI, 1998) foram observadas eliminações cromossômicas nos indivíduos analisados da progênie F₁ UESC-HD13. Levin (2002) cita os processos de fissão e fusão cromossômica como possíveis responsáveis pala variação e decréscimo do número cromossômico. Segundo o autor, estes processos podem promover quebras cromossômicas que podem inativar cromossomos e diminuir o número cromossômico de uma espécie. Os processos de fissão e fusão cromossômicas ficam visíveis no cariótipo das espécies, formando número irregular de braços curtos e longos em relação ao original (LEVIN, 2002), que não foram observados nos híbridos UESC-HD13. Dessa maneira, provavelmente, este processo não foi o responsável pela eliminação cromossômica observada.

Reduções no número cromossômico devido a translocações foram relatadas nos híbridos produzidos entre as espécies de Asteraceae, *Chaenactis glabriuscula* D.C., *C. stevioides* Hook. & Arn. e *C. fremontii* Gray. Os genitores utilizados nos cruzamentos possuíam n = 6, enquanto os híbridos produzidos dos cruzamentos *C. glabriuscula x C. stevioides* e *C. glabriuscula x C. fremontii* apresentaram n = 5 cromossomos (LEVIN, 2002). Translocações encontram-se também envolvidas na redução do número cromossômico de híbridos F_1 de *Clarckia* Pursh (LEVIN, 2002). Os cariótipos dos híbridos F_1 UESC-HD13 com 2n = 20 e 2n = 22 não apresentaram marcadores evidentes em relação à cariomorfologia

dos pares submetacêntricos, e, portanto, não se pode inferir que as dissimilaridades observadas ocorreram devido a processos que envolvem alterações estruturais.

A eliminação cromossômica não foi descrita em outros estudos citogenéticos de híbridos de passifloras (CUCO et al., 2005). Entretanto, considerando-se que os genitores são filogeneticamente próximos, agrupados no mesmo subgênero Dysosmia (KILLIP, 1938), a eliminação cromossômica seletiva nos híbridos UESC-HD13 ocorreu, provavelmente, devido às relações de parentesco, uma vez que os genitores compartilhariam do mesmo controle genético para eliminação de cromossomos. Ambos genitores P. palmeri var. sublanceolata e P. foetida var. foetida e híbridos da progênie F₁ UESC-HD13 apresentaram irregularidades meióticas, inclusive assincronia no processo de divisão celular (ABREU et al., 2007a; 2007b). Segundo Abreu et al. (2006) a eliminação cromossômica pode ocorrer em razão a problemas de proporções dos genomas nos híbridos e de controle da expressão gênica. Gildenhuys & Brix (1961; 1964) observou que o hexaplóide de capim-elefante (Pennisetum purpureum Schum) com milheto (P. glaucum (L.) Brown), induzido pelo tratamento do híbrido triplóide com colchicina, demonstrou instabilidade no número cromossômico somático, com 36 a 49 cromossomos. A duplicação cromossômica induzida pela colchicina neste híbrido triplóide podem ter ocasionado a eliminação cromossômica e as alterações no controle genético. Embora ainda existam dúvidas sobre como explicar a eliminação cromossômica, os autores concluíram que a variação do número cromossômico foi controlada geneticamente (GILDENHUYS; BRIX, 1961, 1964). Aparentemente, pode-se supor que o controle para eliminação cromossômica nos híbridos estudados foi nuclear.

As alterações cromossômicas estruturais e numéricas são os mecanismos citogenéticos mais comuns na evolução das plantas e responsáveis pela ampla variabilidade cariotípica (LEVIN, 2002), podendo ser identificadas em segregações nas progênies pelas análises de seus cariótipos (SYBENGA, 1992). A identificação dos tipos de alterações cromossômicas envolvidas nos processos evolutivos dos genitores e formação dos híbridos possibilita, segundo Sybenga (1992), o entendimento das variações morfológicas observadas. Em híbridos interespecíficos de uva, Vitis rotundifolia Michx x V. vinifera L. a eliminação cromossômica foi possivelmente a origem das variações morfológicas observadas (XU; LU, 2004). O genitor feminino Vitis rotundifolia apresentou número cromossômico de 2n = 40, enquanto que no genitor masculino V. vinifera foi observado 2n = 38. Entretanto, a maioria desses híbridos, com algumas exceções, apresentou células aneuplóides, com 2n = 39, atribuindo-se à alteração numérica a responsabilidade pelas alterações morfológicas observadas (XU; LU, 2004). Em híbridos do gênero Hordeum é muito comum a eliminação

de cromossomos. Em estudos envolvendo os híbridos $Hordeum\ lechleri$ (Steud.) Schenck $x\ H$. $vulgare\ L$. observou-se híbridos com 2n=26 cromossomos, e perda de um cromossomo de H. lechleri nos híbridos com 2n=25 (LINDE-LAURSEN; BOTHMER, 1993). Estes híbridos aneuplóides (2n-1) apresentaram variações morfológicas em suas espículas, acreditando-se no fato de que a eliminação cromossômica observada seria a responsável pela variação fenotípica (LINDE-LAURSEN; BOTHMER, 1993).

As conseqüências fenotípicas das eliminações derivam de um efeito de dose atribuída ao número de genes e localização do lócus (BUENO et al., 2001). Nos híbridos F₁ de UESC-HD13 algumas variações morfológicas puderam ser observadas. A cor das pétalas e sépalas variou do branco ao rosa, com filamentos da corona em vários tons de roxo, geralmente, escuros na base e mais claro no ápice, e a cor das folhas variou em tons mais claros ou mais escuros de verde-musgo e as extremidade as pétalas que variaram de ovais a pontiagudas nas extremidades (SANTOS et al., 2007). Nos híbridos o diâmetro da flor variou de 82,11 a 45,79mm, o comprimento das pétalas variou de 41,40 a 21,80mm, a largura das pétalas variou de 11,90 a 5,36mm, o comprimento das sépalas variou de 36,24 a 17,86mm, o comprimento da sépala 12,24 a 5,46mm, o comprimento foliar variou de 145,74 a 81,91mm e largura foliar variou de 110,43 a 63,84mm (SANTOS et al., 2007).

Tratando-se de indivíduos provenientes de espécies alógamas é comum ocorrer tais variações morfológicas, podendo cada indivíduo ser considerado um híbrido singular. Entretanto, foi observado que a maioria dos indivíduos de flores brancas apresentou 2n = 20, enquanto que indivíduos com flores rosa variegadas apresentaram 2n = 22. Seria provável que a eliminação cromossômica fosse a responsável pela variação morfológica se considerássemos que os caracteres de herança não sofressem controle poligênico. Em cebola, por exemplo, a coloração dos bulbos é devido a herança poligênica dos genes Ii, Cc e Rr complementares (PIKE, 1986; CARDOSO et al., 1995). Considerando tais fatos, acredita-se que eventos de eliminação cromossômica, somados à herança e controle poligênico, contribuíram para as diferenças morfológicas dos híbridos UESC-HD13 para variação no tamanho, cor e forma das flores e folhas (SANTOS et al., 2007). Estudos de herança genética envolvendo caracteres morfológicos e testes com retrocruzamentos, dialelos e produção de novas progênies de híbridos poderiam elucidar ou confirmar a ação de herança poligênica, como foi comprovado em tomate e cebola (CARDOSO et al., 1995; COSTA et al., 1999).

Apesar da inexistência de dados de morfometria cromossômica para variedades de *P. foetida* var. *foetida* e *P. palmeri* var. *sublanceolata* na literatura, pode-se dizer que o padrão morfológico cariotípico das espécies e híbridos analisados foi o mesmo observado para outras

espécies, como para P. malacophylla Masters, P. morifolia Masters, P. incarnata L., P. amethystina Mikan, P. edulis Sims. f. flavicarpa O. Deg. e híbridos sexuados de P. edulis f. flavicarpa x P. setacea D.C.(SOARES-SCOTT, 1998; MELO; GUERRA, 2001; SOUZA et al., 2003; CUCO et al., 2005; SOARES-SCOTT et al., 2005; SOUZA et al., 2008). A análise dos valores de relação entre os braços (r), comprimento do lote haplóide (CLH), comprimento médio dos cromossomos (χ) e índice de simetria cariotípica (TF%), assim como a presença de satélites (SAT) visíveis no cariograma (Figura 2) e ideograma (Figura 3), revelou características comuns ao gênero Passiflora, como cariótipo padrão de cromossomos com centrômeros medianos e submedianos e variação intra e interespecífica quanto à presença e posicionamento de satélites (SOARES-SCOTT, 1998; MELO; GUERRA, 2001; SOUZA et al., 2003; VIEIRA et al., 2004; CUCO et al., 2005; SOARES-SCOTT et al., 2005; SOUZA et al., 2008). Acredita-se que os cariótipos dentro de um mesmo subgênero ou secção são similares (SOUZA et al., 2008), como pôde ser observado no subgênero Granadilla por Mayeda (1997) com poucas diferenças entre as espécies analisadas. O mesmo ocorreu entre os cromossomos dos genitores, incluídos no subgênero Dysosmia (KILLIP, 1938) e na progênie híbrida ESC-HD13.

As variações no comprimento dos cromossomos analisados mostraram-se gradativas, com apenas um par de cromossomos satelitados também citados por Melo et al. (2001), como em *P. edmundoi* Sacco e *P malacophylla* Masters (SOUZA et al, 2003). Em contraposição a outros estudos realizados (MAYEDA, 1997; SOUZA et al., 2003), os pares 1 e 2 não apresentaram variações contrastantes quanto aos comprimentos cromossômicos, como foi observado em outras espécies, *P. alata* Dryander, *P. gilbertii* N.E. Br., *P. galbana* Masters e *P. quadrangularis* L. (MAYEDA, 1997; SOUZA et al, 2003). Assim, pode-se dizer que este estudo contradiz a hipótese de que a presença de dois pares cromossômicos de comprimentos superiores e de dois satélites seria uma característica do gênero *Passiflora* (MAYEDA, 1997). As variações interespecíficas encontradas entre cromossomos satelitados nos genitores *P. palmeri* var. *sublanceolata* e *P. foetida* var. *foetida*, pares 4 e 2, respectivamente, foram similares às variações encontradas nas espécies *P. mucronata*, *P. galbana*, *P. alata* e *P. quadrangularis* (SOUZA et al., 2003) pertencentes ao mesmo subgênero.

Para a identificação do processo responsável por esta variação, estudos complementares de citogenética molecular, principalmente, serão importantes para melhor elucidar as relações genéticas entre os genitores. Sabe-se que as variações cariotípicas resultam de rearranjos estruturais (LEVIN, 2002; SOUZA et al., 2003), considerados como os principais fatores dos diferentes padrões cromossômicos encontrados entre as espécies, com

um percentual adicional sendo acrescentado à ploidia (SYBENGA, 1992; LEVIN, 2002) e à pressão ambiental (SOUZA et al., 2003). Dentre estes rearranjos, a translocação recíproca e inversões pericêntricas são comuns em híbridos, podendo ou não estar relacionadas com o tamanho e número de cromossomos, sejam reduções ou adições cromossômicas, e com a variação na localização de pares satelitados e submetacêntricos (LEVIN, 2002). Em duas variedades de maracujazeiro, *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* O. Deg. e *P. edulis* Sims. f. *edulis*, por exemplo, as inversões pericêntricas foram apontadas como o provável agente da diferenciação no posicionamento do centrômero observado no cromossomo 8, já que não houve variação entre os comprimentos do lote haplóide (MAYEDA, 1997).

Apesar de não ser conclusivo, pode-se supor que translocações recíprocas somadas às inversões pericêntricas poderiam ser as responsáveis pela variação de número e localização ocorrida entre os pares submetacêntricos e satelitados (LEVIN, 2002). Como já observado, os cromossomos submetacêntricos variaram de um a três pares. A pequena variação observada entre os pares de homólogos submetacêntricos nos híbridos e genitores permitiu inferir que o sexto par do híbrido com 2n = 22 seja derivado de P. palmeri, enquanto que o sétimo par deste híbrido poderia ter sido originado de P. foetida. A variação no tamanho e razão entre os braços pode ter ocorrido por processos de translocações e inversões (LEVIN, 2002), já que pequenas variações nos comprimentos dos mesmos foram identificadas. Todos os híbridos F_1 UESC-HD13 apresentaram um cromossomo em comum, o par 10 dos híbridos com 2n = 20 e o par 3 dos híbridos com 2n = 22.

Devido à prevalência de pares metacêntricos e ausência de grandes diferenças entre pares cromossômicos, os índices de assimetria dos táxons do subgênero *Dysosmia* e híbridos analisados demonstraram índices em torno de 45%. Entre os genitores do subgênero *Dysosmia* analisados, o cariótipo de *P. foetida* var. *foetida* foi o mais assimétrico, o que pode ser explicado pelos eventos de aneuploidias anteriormente relatados (SOARES-SCOTT et al., 2005).

3.5. CONCLUSÕES

Este trabalho contribuiu para o conhecimento citogenético do subgênero Dysosmia, com determinações do número cromossômico inéditas para duas espécies Passiflora palmeri var. sublanceolata e P. foetida var. foetida. O subgênero foi caracterizado por cariótipos simétricos, com cromossomos metacêntricos e submetacêntricos e um par de cromossomos satelitados. Os representantes deste subgênero apresentaram cromossomos pequenos, com comprimentos médios inferiores a 2 µm e com variação gradual no comprimento dos mesmos. Os genitores podem ser utilizados em processos de obtenção dos híbridos por apresentarem afinidades genômicas, identificadas pelo número cromossômico e cariomorfologia encontrados nos híbridos F₁ analisados. Quanto à natureza cariotípica dos híbridos, foi possível sugerir a origem de alguns cromossomos desses híbridos. A identificação do número cromossômico nos híbridos evidenciou aneuploidia em alguns indivíduos da progênie. A deleção de dois cromossomos ocorreu provavelmente por mecanismos nucleares em comum nos genitores e permitiu a divisão da progênie em dois grupos com número cromossômico distintos. Os indivíduos da progênie F₁ dos híbridos UESC-HD13 foram morfologicamente distinguíveis, principalmente pela coloração de suas pétalas, e tais características foram associadas ao número cromossômico.

3.6. AGRADECIMENTOS

O autor agradece à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela bolsa de estudos do primeiro autor e apoio financeiro e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) pelo apoio financeiro à pesquisa.

3.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, J.C.; DAVIDE, L.C.; PEREIRA, A.V.; BARBOSA, S. Mixoploidia em híbridos de capimelefante x milheto tratados com agentes antimitóticos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** v. 41, n.11, p. 1629-1635. 2006.

ABREU, P.P.; SOUZA, M. M.; LESSA, V.F.; SANTOS, E. A.; ALMEIDA, A.A.F.; SILVA, D. C.; VIANA, A. P. Comportamento meiótico e cariotipagem de genitores e híbrido interespecífico de *Passiflora* UESC-HD13 com potencial ornamental. In: I WORKSHOP SOBRE PESQUISAS COM PASSIFLORAS NA UESC. Ilhéus, BA. **Resumos** do I Workshop sobre Pesquisas com Passifloras na UESC. BA: UESC, v. 01, p. 65-65. 2007a.

ABREU, P.P.; SOUZA, M.M.; LESSA, V.F.; SANTOS, E.A.; FREITAS, J.C.O.; ALMEIDA, A.A.F; SILVA, D.C.; VIANA, A.P. Estudo do comportamento meiótico e pós-meiótico nos genitores e no híbrido interespecífico UESC-HD13 de *Passiflora*. In: 58° CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA. São Paulo, SP. **Resumos** do 58° Congresso Nacional de Botânica. São Paulo: SBB – Sociedade Brasileira de Botânica, CD ROM. 2007b.

ADAMOWSKI, E.D.; PAGLIARINI, M.S.; BATISTA, L.A.R. Chromosome elimination in *Paspalum subciliatum* (Notata group). **Sexual Plant Reproduction**, v.11, p. 272-276. 1998.

BAPTISTA-GIACOMELLI, F.R.; PAGLIARINI, M.S.; ALMEIDA, J.L. Elimination of micronuclei from microspore in a Brazilian oat (*Avena sativa* L.) variety. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 2, p. 681-684, 2000.

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.

BATTAGLIA, E. Chromosome morphology and terminology. Caryologia, v.8, p. 179-187. 1955.

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

BEAL, P.R.. Citology of native Australian and several exotic *Passiflora* species. 2. Chromosome morphology. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 30, n.1, p. 17-18. 1973a.

BEAL, P.R. Cytology of the native Australian and several exotic *Passiflora* species. 3. Morphology of satellited chromosomes. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 30, p. 19-24. 1973b.

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.

BUENO.L.C.S.; MENDES, A.N.G.; CARVALHO, S.P. Melhoramento Genético De Plantas: Princípios e Fundamentos. Lavras: Editora UFLA. 282 p. 2001.

CARDOSO, A.I.I.; DELLA VECCHIA, P.T.; FARIA, L.P. Herança de coloração de bulbos em cebola (*Allium cepa*L.) com resistência a *Colletrotrichum goeosporoides*. **Scientia Agrícola**, v. 52, n. 2, p. 384-386. 1995.

COSTA, N.R.; MALUF, W.R. GOMES, L.A.A. Estudo da herança e descrição de um mutante para coloração de frutos no tomateiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v.23, n. 3, p. 578-588. 1999.

CUCO, S.M.; VIEIRA, M.L.C.; MONDIN, M.; AGUIAR-PERECIN, M.L.R. Comparative karyotype analysis of three *Passiflora* L. species and cytogenetic characterization of somatic hybrids. **Caryologia**, v. 58, p. 220-228. 2005.

CRUZ, C.D. **Programa GENES** – estatística experimental e matrizes. Editora UFV, Viçosa. 2006.

DAVIDE, L.C.; TECHIO, V.H.; NUNES, J.D.; PEREIRA, A.V. Variação cromossômica numérica em *Pennisetum.*. Ciência e Agrotecnologia, v.31, p. 61-74. 2007.

FEUILLET C., FRANK A., KUGLER E., LAURENS C., MACDOUGAL J., SKIMINA T., VANDERPLANK J. Notes on the *Passiflora* Cultivars List. *Passiflora* Cultivars Registration Committee. **Passiflora:** v. 10, n. 3/4, p. 22-39. 2000.

GERMAND, D.; RUTTEN, T.; VARSHNEY, A.; RUBTSOVA, M.; PRODANOVIC, S.; BRÜß, C.; KUMLEHN, J.; MATZK, F.; HOUBEN, A. Uniparental Chromosome Elimination at Mitosis and Interphase in Wheat and Pearl Millet Crosses Involves Micronucleus Formation, Progressive Heterochromatinization, and DNA Fragmentation. **The Plant Cell**, v.17, n. 9, p. 2431-2438. 2005.

GIACOMELLI, F.R.B.; PAGLIARINI, M.S.; ALMEIDA, J.L. Elimination of micronuclei from microspores in a Brazilian oat (*Avena sativa* L.) variety. **Genetics and Molecular Biology**, v.23, p. 681-684. 2000.

GILDENHUYS, P.; BRIX, K. Genetic control of aneuploidy in *Pennisetum*. **Heredity**, v.16, p. 358–363. 1961.

GILDENHUYS, P.; BRIX, K. Genetically controlled variability of chromosome number in *Pennisetum*. **Heredity**, v. 19, p. 533-542. 1964.

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

GUERRA, M.S. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan et al. **Revista Brasileira de Genética**, v. 9, p. 741-743. 1986b.

GUERRA, M. Introdução à citogenética Geral. Rio de Janeiro. Editora Guanabara. 1988.

GUERRA, M.; SOUSA, M.J. **Como observar cromossomos** – Um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Editora FUPEC. Ribeirão Preto. 131 p. 2002.

HANSEN, A.K.; GILBERT, L.E.; SIMPSON, B.B.; DOWNIE, S.R.; CERVI, A.C.; JANSEN, R.K. Phylogenetic Relationships and Chromosome Number Evolution in *Passiflora*. **Systematic Botany** v. 31, n. 1, p. 138–150. 2006.

HARVEY, M.J. IOPB chromosome number reports VIII. Taxon, v.15, p. 155-163. 1966.

HEITZ, E. Pflanzliche Chromosomen-Zahlen, ed. G. Tischler. **Tabulae Biologicae**, v. 4, p. 1-83. 1927.

HUZIWARA, Y. Karyotype analysis in some genera of Compositae. VIII. Further studies on the chromosome of Aster. **American Journal of Botany**, v.49, p. 116-119. 1962.

JANAKI AMMAL, E.K.; DARLINGTON, C.D. Chromosome Atlas of cultivated plants. London: George Allen and Unwin, 397 p. 1945.

JOHANSEN, G.A. **Plant Microtechnique.** Bombay: Tata MacGraw-Hill Book Company, p. 25-48. 1940.

KILLIP, E. P. The American species of Passifloraceae. **Publications of the Field Museum of Natural History, Botanical Series**, v. 19, p. 1–613; 1938.

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

LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDBERG, A.A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas,** v. 52, p. 1-20. 1964.

LEVIN, D.A. **The Role of Chromosomal Change in Plant Evolution**. Oxford, UK: Oxford University Press. 230p. 2002.

LINDE-LAURSEN, I.; BOTHMER, R.V. Aberrant meiotic divisions in a *Hordeum lechleri* x *H. uulgare* hybrid. **Hereditas**, v. 118, p. 145-153. 1993.

LINDE-LAURSEN, I.; BOTHMER, R.V. Orderly arrangement of the chromosomes within barley genomes of chromosome-eliminating *Hordeum lechleri* x barley hybrids. **Genome,** v. 42, n. 2, p. 225-236. 1999.

MAYEDA, L.Y. **Estudos Citogenéticos em Dez Táxons do Gênero** *Passiflora* L. Piracicaba, SP. Dissertação (Mestrado em Agromomia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP. 89p. 1997.

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 rDNA sites in *Passiflora* L. with species with distinct base chromosome numbers. **Annals of Botany**, v.92, p. 309-316. 2003.

MORAWETZ, W. Remarks on karyological differentiation patterns in tropical woody plants. **Plant Systematics and Evolution,** v. 152, p. 49–100. 1986.

NISHIYAMA I.; KONDO, N. Report of the Kihara Institute for Biological Research, v. 1, p. 29. 1942.

OHRI, D. Genome size variation and plant systematics. **Annals of Botany,** v. 82 p. 75-83. (Suppl. A). 1998.

PAGLIARINI, M.S.; SUAKI, R.M. Chromosome transfer and chromosome elimination in *Avena sativa*. **Nucleus**, v. 46, p.104-107. 2003.

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.** Embrapa Cerrados, Planaltina, p. 457-464. 2005.

PETERS, J.A.; BOBROWSKI, V.L.; ROSINHA, G.M.S. Produção de haplóides e duplo-haplóides. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. Cultura de tecidos e ransformação genética de plantas. Brasília: Embrapa-CNPH, v. 2, p.569-611. 1999.

PIKE, L.M. Onion Breeding. In: BASSET, M. **Breeding Crops.** Westport: AVI Publishing, p. 357-394. 1986.

PICKERING, R.A. Partial control of chromosome elimination by temperature in immature embryos of *Hordeum vulgare* L. x *H. bulbosum* L. **Euphytica**, v. 34, n. 3, p. 869-874. 1985.

RAVEN, P.H. The bases of angiosperm phylogeny: cytology. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.62, p. 724–764. 1975.

RIDDLE, N.C.; BIRCHLER, J.A. Effects of reunited diverged regulatory hierarchies in allopolyploids and species hybrids. **Trends in Genetics**, v. 19, p. 597-600. 2003.

SANTOS, E.A.; SOUZA, M.M.; ALMEIDA, A.A.F.; ABREU, P.P.; LAWINSCKY, P.R.; SOUZA, P.S.C.; ARAUJO, I.S.; FREITAS, J.C.O.; VIANA, A.P. Caracterização morfológica de híbrido interespecífico F1 UESC-HD13 de *Passiflora*. In: I WORKSHOP SOBRE PESQUISAS COM PASSIFLORAS NA UESC. Ilhéus, BA. **Resumos** do I Workshop sobre Pesquisas com Passifloras na UESC. Ilhéus, BA: UESC, v. 01, p. 73-73. 2007.

SHARMA, H.C.; GILL, B.S. New hybrids between *Agropyron* and wheat. II. Production, morphology and cytogenetic analysis of F_1 hybrids and back cross derivatives. **Theoretical and Applied Genetics**, v.66, p.111-121. 1983.

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.

SINGH, R.J. Plant cytogenetics. 2. Ed. Boca Raton: CRC press, 463 p. 2002.

SNOW, N.; MACDOUGAL, J.M. New chromosome reports in *Passiflora* (Passifloraceae). **Systematic Botany,** v. 18, p. 261-273. 1993.

SOARES-SCOTT, M.D. Caracterização citogenética de algumas espécies e híbridos interespecíficos de *Passiflora*. Campinas, SP.Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas Área de Biologia Celular), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. 89p.1998.

SOARES-SCOTT, M.D.; MELETTI, L.M.M.; RECCO-PIMENTEL, S.M. Meiotic behaviour and pollen fertility in sexual and somatic hybrids of *Passiflora* species. **Caryologia**, v. 56, n. 1, p. 129-138. 2003.

SOARES-SCOTT, M.D.; MELETTI, L.M.; BERNACCI, L.C.; PASSOS, I R.S. Citogenética clássica e molecular em passifloras. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 213-240. 2005.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; SILVA, L.C.; REIS, D.S.S.; SUDRÉ, C.P. Karyotype of six *Passiflora* species collected in the state of Rio de Janeiro. **Cytologia**, v. 68, p. 165-171. 2003.

SOUZA, M.M.; PALOMINO, G.; PEREIRA, T.N.S.; PEREIRA, M.G.; VIANA, A.P. Flow cytometric analysis of genome size variation in some *Passiflora* species. **Hereditas**, v. 141, p. 31-38. 2004.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; VIEIRA, M.L.C. Cytogenetic Studies in Some Species of *Passiflora* L. (Passifloraceae): A Review Emphasizing Brazilian Species. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, p. 247-258. 2008.

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

SUNDBERG, E.; GLIMELIUS, K. Effects of parental ploidy and genetic divergence on chromosome elimination and chloroplast segregation in somatic hybrids within Brassicaceae. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 83, n. 1, p. 81-88. 1991.

SYBENGA, J. Cytogenetics in plant breeding. Monographs on Theoretical and Applied Genetics. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Alemanha/USA, 469 p. 1992.

VANDERPLANK, J. Passion flowers. 3^a ed., Cambridge: The MIT Press. 224 p. 2000.

VANDERPLANK, J.; BLANCO, E.G.; FEUILLET, C.; FRANK, A.; KING, L.; KUGLER, E.; LAURENS, C.; MACDOUGAL, J.; SKIMINA, T. The International *Passiflora* Register 2003, *Passiflora* Society International, p. 1-36. 2003.

VIEIRA, M.L.C.; BARBOSA, L.V.; MAYEDA, L.Y. Citogenética dos Maracujazeiros. In: LIMA, A.A.; CUNHA, M.A.P. (Ed). **Maracujá: produção e qualidade na Passicultura**. 1ª ed. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p. 47-65. 2004.

ULMER, T.; MACDOUGAL, J.M. *Passiflora* - **Passionflowers of the world.** Portland: Timber Press, 430p. 2004.

TECHIO, V.H.; DAVIDE, L.C.; PEREIRA, A.V. Genomic analysis in *Pennisetum purpureum* x *P. glaucum* hybrids. **Caryologia**, v.58, p. 28-33. 2005.

TECHIO, V.H.; DAVIDE, L.C.; PEREIRA, A.V. Meiosis in elephant Grass (*Pennisetum purpureum*), pearl millet (*Pennisetum glaucum*) (Poaceae, Poales) and their interspecific hybrids. **Genetics and Molecular Biology,** v. 29, n. 2, p. 353-362. 2006.

XU, X.; LU, J. Cytogenetic study of interspecific hybrids between *Viris rotundifolia* and *Vitis vinifera*. In: REYNOLDS, A.G.; BOWEN, P. (Ed.). XXVI International Horticultural Congress: Viticulture - Living with Limitations. Toronto, Canadá. **ISHS Acta Horticulturae**, v. 640, p. 269-273. 2004.

Avaliação da Capacidade Reprodutiva nos Genitores *Passiflora foetida* var. foetida x *Passiflora palmeri* var. sublanceolata e Híbridos interespecíficos F₁ Ornamentais

RESUMO

Foram realizadas análises de comportamento meiótico e pós-meiótico, e de corabilidade e viabilidade gamética em híbridos interespecíficos obtidos do cruzamento P. foetida var. foetida & x P. palmeri var. sublanceolata \, e respectivos genitores. As análises de comportamento meiótico evidenciaram a formação de bivalentes em genitores (n = 11) e nos híbridos (n = 11 e n = 10), em mais de 90% das células analisadas, com poucas associações de multivalentes. O índice de recombinação variou de 22,5% em P. palmeri var. sublanceolata, 23,3% em P. foetida var. foetida, e 21,3% nos híbridos com n = 10 e 23,9% nos híbridos com n = 11. Nos genitores e híbridos, houve baixo percentual de células com univalentes no diplóteno (prófase I), os quais persistiram até metáfase e anáfase II. O percentual médio de células em metáfase I com segregação irregular foi maior em P. foetida var. foetida, 6,73%. Para as demais irregularidades observadas P. palmeri var. sublanceolata apresentou o maior percentual. Constatou-se a presença de pontes na anáfase I, desorientação das fibras do fuso na metáfase, anáfase e telófase II, assincronia de divisão meiótica na metáfase e anáfase II, e células polinucleadas em telófases I e II. Os táxons analisados apresentaram alto índice meiótico, superior a 90%. O maior percentual de produtos pós-meióticos anômalos foi evidenciado em P. palmeri var. sublanceolata, com 7,28%. A formação de tríades, políades, díades e mônades foram observadas. Os testes histoquímicos demonstraram índices de corabilidade e viabilidade polínica elevados, com índices médios superiores a 78% em híbridos e no genitor masculino, o que está relacionado aos menores valores de irregularidades encontrados nestes táxons. No genitor feminino apenas 28,19% dos grãos de pólen coraram e mantiveram-se íntegros. O pareamento regular dos genitores, a formação de multivalentes e os padrões de viabilidade permitem indicar os genitores para programas de melhoramento genético.

Palavras-chave: Híbridos ornamentais, comportamento meiótico, corabilidade do grão de pólen, viabilidade polínica.

4.1. INTRODUÇÃO

As passifloras são mundialmente conhecidas por seu valor ornamental atribuído, principalmente, às suas exóticas flores de coloração e tamanho variados, com número abundante de flores e florescimento mais de uma vez ao ano (VANDERPLANK, 2000; ULMER; MACDOUGAL, 2004). O valor ornamental de algumas espécies é inerente apenas em função da sua folhagem de ampla variedade de formatos, tamanhos e tonalidades de verde dentro do gênero (SOUZA; PEREIRA, 2003). As passifloras vêm sendo utilizadas na ornamentação de casas de vegetação e jardins europeus desde sua introdução no 'Velho Mundo', por volta do séc. XVII (ULMER; MACDOUGAL, 2004; PEIXOTO, 2005) e ficou restrita ao uso de espécies silvestres por quase 200 anos, como *P. caerulea* L. e *P. incarnata* L. (PEIXOTO, 2005). O cultivo ornamental de híbridos foi viabilizado somente no séc. XIX, em 1819, com a obtenção de *P. × violacea* Milne, primeiro híbrido interespecífico de *Passiflora* relatado.

Desde então, diversos híbridos vêm sendo produzidos para tal finalidade, destacandose em países da Europa e nos Estados Unidos (FEUILLET et al., 2000; KING, 2000; VANDERPLANK, 2000; 2002; VANDERPLANK et al., 2003; ULMER; MACDOUGAL, 2004; KING, 2007). Já no Brasil, principal centro de diversidade do gênero, o potencial ornamental destas espécies é quase inexplorado (ELLISON, 1999; PEIXOTO, 2005), apesar das condições endafoclimáticas e do grande número de espécies (PIRES, 2007).

A maioria dos híbridos interespecíficos de *Passiflora* relatados na literatura apresenta problemas de macho-esterelidade, baixa viabilidade polínica ou dificuldade em florescer (OTONI et al., 1995; MELETTI; BRUCKNER, 2001; SOARES-SCOTT et al., 2003). A análise do comportamento meiótico auxilia no esclarecimento destas questões, principalmente na avaliação do sucesso do cruzamento entre espécies distintas. Considerando que a meiose se constitui na base citológica da transmissão das características hereditárias e fonte de ampliação da variabilidade genética, análises meióticas fornecem informações importantes sobre o efeito do pareamento dos cromossomos presentes no híbrido, na recombinação

cromossômica e no grau de irregularidades meióticas e viabilidade gamética esperada (SOUZA et al, 2003a), uma vez que a estabilidade do genoma é assegurada pelo pareamento e segregação normal dos cromossomos para pólos opostos (SHAN et. al, 2007). A perfeita segregação dos cromossomos durante a meiose é essencial para assegurar uma divisão celular normal, garantindo a formação de gametas viáveis e, conseqüentemente, a sobrevivência da espécie ou do híbrido. A caracterização do pareamento cromossômico e de recombinação, e da viabilidade gamética é uma das etapas fundamentais no compreendimento da estabilidade genética dos híbridos produzido.

Algumas alterações meióticas têm sido freqüentemente descritas para espécies (SOUZA et. al, 2003a; SOARES-SCOTT et al., 2003; 2005) e híbridos somáticos (BARBOSA; VIEIRA, 1997; SOARES-SCOTT et al., 2003; 2005) e sexuados (SOARES-SCOTT et al., 2003; 2005) de *Passiflora*, como a segregação irregular dos cromossomos, pontes cromossômicas, ocorrências de univalentes e formação em multivalentes, anormalidades na orientação do fuso e assincronismo. As alterações ocorridas no decorrer do processo meiótico freqüentemente acarretam na formação de produtos pós-meióticos anormais, como mônades, díades, tríades e políades, já relatadas em espécies de passifloras (SOARES-SCOTT et al., 2003; SOUZA et. al, 2003a; SOARES-SCOTT et al., 2005). Estas anormalidades meióticas implicam na formação de gametas aneuplóides e na formação de grãos ésteres e inviáveis (SOUZA et al., 2003a). Logo, a viabilidade gamética está diretamente relacionada ao curso harmonioso da meiose.

De acordo com Kelly et al. (2002) a viabilidade dos grãos de pólen pode ser medida de várias maneiras, sendo comum o método de coloração e contagem direta. Uma grande variedade de corantes nucleares e vitais tem sido usada para testar a corabilidade ou a viabilidade do pólen. Os mais comumente utilizados são o corante de Alexander, Diacetato de Fluoresceína, azul de anilina em lactofenol e sais do tetrazólio (RODRIGUEZ-RIANO; DAFNI, 2000; KELLY et al., 2002; SOUZA et al., 2004). A taxa de viabilidade polínica é um fator importante no melhoramento, conservação e cultivo de plantas, pois em espécies alógamas, o fluxo gênico por meio do grão de pólen aumenta a possibilidade de formação de diferentes combinações entre alelos, e, em última análise, a ampliação da variabilidade genética (SOUZA et al., 2002).

Considerando o potencial ornamental das passifloras silvestres no uso de programas de melhoramento, procedeu-se à análise comparativa (LEFRANÇOIS et al., 1993) do comportamento meiótico dos genitores *P. foetida* var. *foetida* L. e *P. palmeri* Rose var. *sublanceolata* Killip e de sua progênie híbrida F₁ UESC-HD13 com potencial ornamental

visando à decoração de interiores. A progênie F_1 UESC-HD13 foi resultado do cruzamento sexuado entre P. foetida var. foetida (\lozenge) x P. palmeri var. sublanceolata (\lozenge).

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1. MATERIAL VEGETAL

Foram utilizadas as espécies *Passiflora foetida* var. *foetida* L. proveniente da UENF-Campos de Goytacazes (RJ), e *P. palmeri* Rose var. *sublanceolata* Killip doada pela EMBRAPA Cerrados – Planaltina (DF), que vêm sendo mantidas no Banco Ativo de Germoplasma (BAG - Passifloras) da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), 39°13'59'' de longitude oeste e 14°45'15'' de latitude sul, Ilhéus, Bahia, Brasil. Foram analisados os híbridos interespecíficos resultantes do cruzamento entre *P. foetida* var. *foetida* $^{\circ}$ x *P. palmeri* var. *sublanceolata* $^{\circ}$. A espécie *P. foetida* var. *foetida* foi selecionada como fonte de germoplasma nesse programa de melhoramento genético para obtenção de plantas ornamentais por apresentar pequeno porte, flores pequenas de pétalas brancas e corona branco-lilás, sendo adequada para ornamentação de interiores. A utilização de *P. palmeri* var. *sublanceolata* deve-se à beleza das flores de pétalas rosas e corona branca, e folhagem delicada, com cor verde vivaz.

4.2.2. HIBRIDAÇÕES INTERESPECÍFICAS

Para a obtenção do híbrido interespecífico, cinco genótipos do genitor feminino *P. palmeri* var. *sublanceolata* (planta receptora de pólen) foram fertilizados utilizando-se um '*bulk*' de pólen de cinco genótipos de *P. foetida* var. *foetida*. Para o controle da polinização,

os botões florais em pré-antese dos genitores foram selecionados e protegidos com saco de papel, evitando a visita de polinizadores ou a fecundação por grãos de pólen carregados pelo vento, conforme indica Vanderplank (2000). No dia seguinte, realizou-se a polinização controlada uma hora após a antese para evitar polinizações em flores sem curvatura no estigma por não estarem ainda receptivas (SOUZA et al., 2004). As anteras dos botões em antese de cada espécie foram coletadas separadamente. Após a polinização, as flores foram novamente protegidas até 24 h. O cruzamento foi identificado com etiqueta junto à flor polinizada contendo os seguintes dados: a espécie doadora de pólen, a espécie receptora de pólen e data da hibridação. Após cinco dias, foi observada a permanência ou abortamento do botão floral e de frutos em início de desenvolvimento. Os frutos foram envolvidos por redes de nylon para evitar danos e perdas. Parte das sementes obtidas dos frutos colhidos foi semeada em bandejas de isopor de 128 células e utilizando-se substrato orgânico ou areia, em casa de vegetação. A outra parte vêm sendo mantida em refrigeração, aproximadamente a 10°C. Todas as sementes representantes de um cruzamento foram consideradas sua progênie. Os genótipos representantes da progênie F₁ foram codificados apropriadamente, com a sigla UESC-HD13. Após a germinação, as plantas híbridas foram transplantadas para vasos contendo 43L de solo com cerca de 30 a 40 dias de vida.

4.2.3. COMPORTAMENTO MEIÓTICO E PÓS-MEIÓTICO

Para as análises de comportamento meiótico, foram coletados inteiramente ao acaso botões florais em diferentes estádios de desenvolvimento de diferentes genótipos dos genitores *P. foetida* var. *foetida* (♂) x *P. palmeri* var. *sublanceolata* (♀) e híbridos ornamentais de plantas já adultas e transplantadas para vasos contendo 43L de solo. Os botões florais foram fixados em Carnoy I (etanol-ácido acético glacial 3:1; JOHANSEN, 1940), por 2 a 3h em temperatura ambiente, realizando-se três trocas durante esse período, e mantidos a -20°C no próprio fixador por no mínimo 24h antes das análises. Lâminas temporárias foram preparadas pela técnica de coloração e esmagamento (GUERRA, 1999; SOUZA et al. 2003a) com carmim acético 1%. As fases meióticas foram analisadas em campo claro com microscópio de luz Olympus CX41, sendo observadas pelo menos 150 células de cada fase

meiótica, considerando-se o delineamento inteiramente ao acaso. A freqüência e tipos de quiasmas foram observados em 106 células por genótipo e os dados obtidos foram utilizados para o cálculo do índice de recombinação (IR = $[\sum n^{\circ}$ total de quiasmas ÷ n° de células analisadas] + valor de n), de acordo com Darlington (1958). Para análise da freqüência de quiasmas, foram considerados grupos com 2n = 20 e 2n = 22 cromossomos dentro da progênie F_1 . Os bivalentes uniram-se por um ou dois quiasmas, sendo consideradas associações em bastão (rod) com um quiasma e associações em anel (ring) com dois quiasmas (SENDA et al., 2005).

Os produtos pós meióticos: mônades, díades, tríades, tétrades e políades, foram registrados para o cálculo do índice meiótico (LOVE, 1951), onde % IM = (nº de tétrades normais x100)/nº de células contadas), realizando-se a contagem dos produtos pós-meióticos em doze lâminas (repetições) por espécie e híbridos analisados, sendo amostradas ao acaso uma antera de botões florais diferentes por repetição. Analisaram-se seis genótipos diferentes das espécies genitoras e progênie F₁.

Para o registro fotográfico das irregularidades meióticas, lâminas temporárias foram coradas com o fluorocromo DAPI (4'-6'diamidino-2-fenilindol). Anteras de botões das espécies *P. palmeri* var. *sublanceolata, P. foetida* var. *foetida* e híbridos UESC-HD13 foram fixados em "Farmer". Para preparação das lâminas, uma antera foi retirada de cada botão, transferida para uma lâmina e macerada com auxílio de agulhas em uma gota de ácido acético a 45%. A preparação secou ao ar livre. Para fixação das células à lâmina, adicionou-se uma gota do fixador à lâmina, que rapidamente foi aquecida com o auxilio da lamparina. A lâmina permaneceu três dias protegida da poeira e contaminação em caixa escura. Em sala escura, adicionou-se ao material citológico 2μL de DAPI (2μg/mL; GUERRA, 1999), 1μL de meio de montagem (glicerol/McIlvaine/MgCl₂) e 1μL de Vectashield[®], cobrindo-se o material com uma lamínula. Após 24h, as lâminas foram observadas em microscópio de epifluorescência Leica DMRA2 em filtro A (excitação BP 340-380 ultravioleta, espelho dicromático RKP 400 e filtro de emissão LP 425 azul) e fotografadas com auxílio da máquina digital Olympus C-7070, 7.1 MP.

4.2.4. CORABILIDADE E VIABILIDADE POLÍNICA

Grãos de pólen (GP) de flores recém abertas foram coletados e três testes foram realizados: i) Teste de viabilidade polínica com corante vital Diacetato de Fluoresceína (DFA) (HESLOP-HARRISON; HESLOP-HARRISON, 1970), para atividade da esterase e integridade da plasmalema; os GP foram classificados em viáveis e inviáveis, sendo considerados viáveis os GP de coloração esverdeada fluorescente; ii) Teste de corabilidade do GP com solução de Alexander (ALEXANDER, 1969), para reatividade de parede/citoplasma (azul/vermelho); os GP foram classificados em viáveis, cujos citoplasmas tenham corado e mantido-se íntegros, e em inviáveis, sendo classificados em T1 (ausência de citoplasma), T2 (citoplasma contraído) e T3 (citoplasma pulverizado) (SOUZA et al., 2004; ABREU et al., 2007); iii) Teste histoquímico com Lugol (JOHANSEN, 1940), utilizado apenas para indicar a presença de amido, sendo considerados amiláceos os GP de coloração marrom ou azul escuro (DAFNI, 1992). Para DFA foi acrescentado ao corante 1 μL de vectashield®, e logo após as lâminas foram mantidas em câmara úmida por 5min. As amostras foram observadas ao microscópio de epifluorescência Leica DMRA2 em filtro I3 (excitação BP 450-490 azul, espelho dicromático RKP 510 e filtro de emissão LP 515 verde) e fotografadas com auxílio da máquina digital Olympus C-7070, 7.1 MP. Para as soluções de Alexander e Lugol, os GP foram depositados em uma gota do corante, entre lâmina e lamínula e observados após 2min em microscópio de campo claro.

Foi analisada, ao acaso, uma antera de cada flor, em quatro flores diferentes por planta, totalizando-se quatro lâminas (repetições). Foram amostrados GP de cinco genótipos diferentes, dos genitores e progênie F_1 , e mil GP foram contados por lâmina, totalizando 20 mil GP por genótipo e por teste, exceto para o teste com lugol. Cinqüenta GP viáveis e inviáveis por genótipo foram mensurados com auxílio de ocular micrométrica (1/100 = 0.01 mm) em objetiva de 40x. Foram realizadas 5 repetições e GP danificados não foram considerados.

4.2.5. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Dados referentes à frequência de quiasmas terminais (QT), intersticiais (QI) e totais (QTT), de índice meiótico (IM), viabilidade polínica e comprimento do grão de pólen (GP) foram submetidos à análise de variância (ANOVA), considerando-se delineamento inteiramente ao acaso. Para cada táxon, a comparação entre as médias do nº QT, QI e QTT, de viabilidade polínica e comprimento do GP foi realizada pelo teste de Tukey (P<0,05). Foi analisada a correlação de Pearson e regressão entre irregularidades meióticas e viabilidade polínica. As análises foram realizadas com auxílio do programa computacional GENES (CRUZ, 2006).

4.3. RESULTADOS

4.3.1. MEIOSE E PÓS-MEIOSE

Nos genitores P. palmeri Rose var. sublanceolata Killip (Figura 4.1.A) e P. foetida var. foetida L. (Figura 4.1.B) as análises em diplóteno e, ou diacinese, demonstraram o pareamento em bivalentes, n=11 bivalentes (II), na maioria das células analisadas. A progênie F_1 obtida do cruzamento entre P. foetida var. foetida \mathcal{T} x P. palmeri var. sublanceolata \mathcal{T} foi dividida em dois grupos cromossômicos, um grupo com n=11, sendo observadas configurações de pareamento com 11 II e com 10 II + 2 I (univalentes) (Figura 4.1.C), e outro grupo com n=10, sendo observadas configurações de pareamento com 10 II e 9 II + 2 I (Figura 4.1.D). Apesar da presença de algumas configurações cromossômicas irregulares observadas, como de univalentes e multivalentes (8 II + 1 IV ou 9 II + 1 IV) em diplóteno e diacinese, pareamento regular, em bivalentes, foi observado em cerca de 90% das células analisadas (dados não tabelados) nos genitores e híbridos.

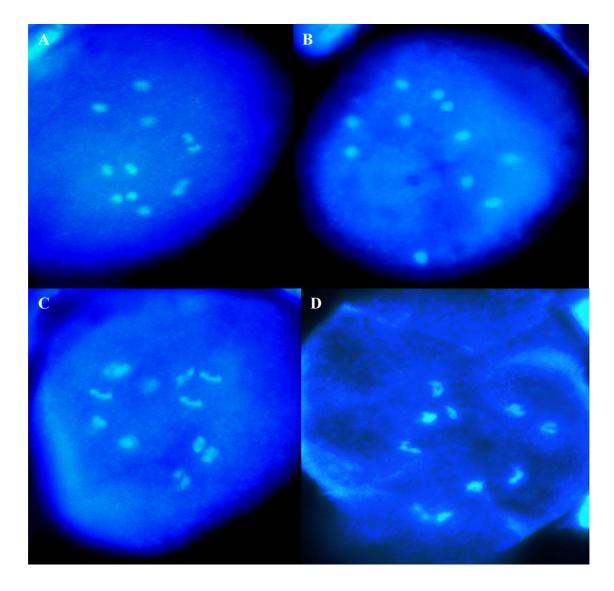


Figura 4.1. Comportamento meiótico em genitores *Passiflora foetida* var. *foetida* (\circlearrowleft) x *P. palmeri* var. *sublanceolata* (\updownarrow) e híbridos F_1 UESC-HD13 corados com DAPI. A) Diplóteno em *P. palmeri* var. *sublanceolata*, n=11; B) Diplóteno em *P. foetida* var. *foetida*, n=11; C) Diacinese em híbridos F_1 UESC-HD13 com n=11, demonstrando 10II e 2I (seta); D) Diacinese em híbridos F_1 UESC-HD13 com n=10, demonstrando 9II e 2I (seta).

Houve diferença significativa (P<0,05) entre os táxons para freqüência de quiasmas terminais, intersticiais e totais e para o IR entre os genitores P. foetida var. foetida x P. palmeri var. sublanceolata e híbridos F_1 UESC-HD13 com n = 11 e com n = 10 (Tabela 4.1), com predominância de QT em P. foetida var. foetida e de QI nos híbridos com n = 11. As médias dos números de QT, QI e QTT diferiram entre si, sendo o IR o mais indicado para diferenciação entre os táxons pelo teste de Tukey (P<0,05) (Tabela 4.1).

Tabela 4.1. Resumo da ANOVA para as características quiasmas terminais (QT), quiasmas intersticiais (QI), quiasmas totais (QTT) e índice de recombinação (IR) em genitores e dois grupos de híbridos F_1 UESC-HD13 (n = 11 e n = 10) de Passiflora

Fontes de Variação	GL		QN	М	
,		QT	QI	QTT	IR
Táxons	3	62,84*	52,54*	57,69*	137,01*
Erro	420	6,71	3,59	2,07	2,07
CV (%)		46,55	29,36	11,97	6,32

^{*} Significativo pelo teste F (P<0,05).

A freqüência média de quiasmas totais (QTT) nas células analisadas de *P. palmeri* var. *sublanceolata* foi de 11,5, destes 4,5 foram quiasmas terminais (QT) e 7,0 quiasmas intersticiais (QI). Em *P. foetida* var. *foetida* a freqüência média de QTT foi de 12,3, destes 6,4 foram QT e 6,0 QI. Os resultados tabelados sugerem que a freqüência de quiasmas nos híbridos foi influenciada pelos genótipos dos genitores, demonstrando haver grande afinidade genômica entre os mesmos. Os valores médios dos índices de recombinação (IR) nos genitores foram intermediários aos dos híbridos (Tabela 4.1).

Tabela 4.2. Valores médios do número de quiasmas terminais (QT), intersticiais (QI) e totais (QTT), e índice de recombinação (IR) em genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora*

Táxons	QT	QI	QTT	IR
P. foetida var. foetida	6,4 a	6,0 b	12,3 b	23,3 b
P. palmeri var. sublanceolata	4,5 c	7,0 a	11,5 c	22,5 c
UESC-HD13 ($n = 10$)	5,5 b	5,7 b	11,4 c	21,3 d
UESC-HD13 $(n = 11)$	5,8 b	7,1 a	12,9 a	23,9 a

^{*}Médias seguidas pelas mesmas letras dentro de colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

As análises de comportamento meiótico permitiram observar estádios normais e irregulares em células dos genitores e na progênie F₁ UESC-HD13. As irregularidades se estenderam desde o diplóteno até a formação de tétrades (Tabela 4.3, 4.4; Figura 4.1, 4.2, 4.3, 4.4). Os tipos e freqüências de irregularidades meióticas são apresentados nas Tabelas 4.3 e 4.4. O percentual de irregularidades meióticas foram mais elevados na meiose II. Na meiose I, a progênie F₁ de UESC-HD13 apresentou a menor freqüência de irregularidades (22,68%) e, entre os genitores, *P. palmeri* var. *sublanceolata* apresentou os maiores percentuais de irregularidades (35,53%). *P. foetida* var. *foetida* apresentou um percentual de 28,49% de irregularidades (Tabela 4.3). Na meiose II, a progênie F₁ de UESC-HD13 apresentou a maior freqüência de irregularidades (46,31%) (Tabela 4.4).

Tabela 4.3. Valores percentuais médios de células observadas em cada fase da meiose I em genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora*

			ME	IOSE I		
			Irr	egular (%)		
	Regular	Se	gregação Irre	gular		Nº de
Táxons	(%)	Prófase I	Metáfase I	Anáfase I	Pontes	Núcleos*
P. foetida var. foetida	71,51	3,89	6,73	6,17	10,94	0,76
P. palmeri var.	64,47	3,54	3,88	3,69	22,37	2,05
UESC-HD13	77,32	1,87	3,42	3,53	12,54	1,32

^{*}N° de núcleos irregulares: células polinucleadas e com micronúcleos.

9/

Tabela 4.4. Valores percentuais médios de células observadas em cada fase da meiose II em genitores e híbridos F1 UESC-HD13 de Passiflora

					MI	MEIOSE II				
					ī	Irregular (%)				
	Regular	Se	Segregação Irregular	ınlar		DF	DFF**	Télofase II		N° de
Táxons	(%)	Prófase II	Prófase II Metáfase II	Anáfase II	Pontes	Metáfase II	Anáfase II Pontes Metáfase II Anáfase II	irregular	Assincronia Núcleos*	Núcleos*
P. foetida var. foetida	46.56	0.28	69.0	0.35	0.59	6.03	10.09	19.87	4.85	10.69
P. palmeri var. sublanceolata	47.91	0.34	0.57	0.38	0.29	5.02	7.6	18.9	15.97	3.02
UESC-HD13	53.69	60.0	0.12	0.13	1.44	4.92	7.9	21.31	5.92	4.48
*Nº de mínlens irramilares: nálulas molimincleadas e nom minromínclens **DEE: desorientanão des fibras dos fusos	es. célules r	, sebeelougilor	ojuoroja moo e	JAOS **DEE.	desorientes	30 des fibres de	South sc			

*N° de núcleos irregulares: células polinucleadas e com micronúcleos. **DFF: desorientação das fibras dos fusos.

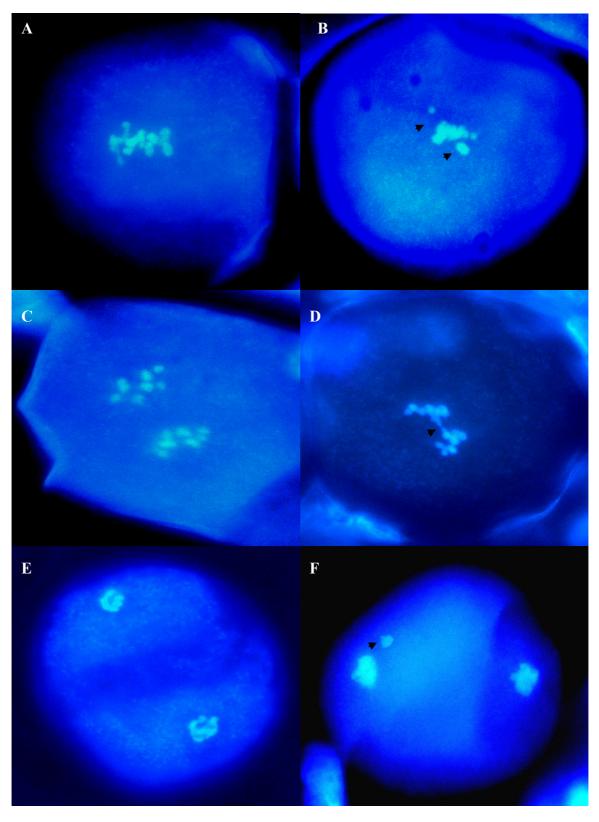


Figura 4.2. Comportamento meiótico em genitores *Passiflora foetida* var. *foetida* (♂) x *P. palmeri* var. *sublanceolata* (♀) e híbridos F₁ UESC-HD13 corados com DAPI. A) Metáfase I regular em *P. foetida* var. *foetida*; B) Segregação Irregular (seta) em metáfase I de *P. palmeri* var. *sublanceolata*; C) Anáfase I regular em híbrido; D) Pontes cromossômicas (seta) em anáfase I de *P. palmeri* var. *sublanceolata*; E) Telófase I regular em híbrido; F) Telófase I com micronúcleo nos híbridos F₁ UESC-HD13.

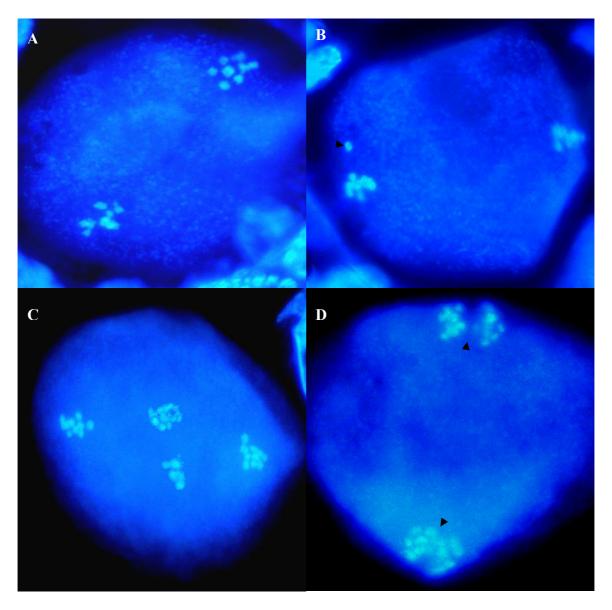


Figura 4.3. Comportamento meiótico em genitores *Passiflora foetida* var. *foetida* (♂) x *P. palmeri* var. *sublanceolata* (♀) e híbridos F₁ UESC-HD13 corados com DAPI.

A) Metáfase II regular em *P. foetida* var. *foetida*; B) Segregação irregular (seta) em metáfase II nos híbridos F₁ UESC-HD13;C) Anáfase II regular nos híbridos F₁ UESC-HD13; D) Assincronia em meiose II com um pólo em metáfase e o outro em anáfase nos híbridos F₁ UESC-HD13.

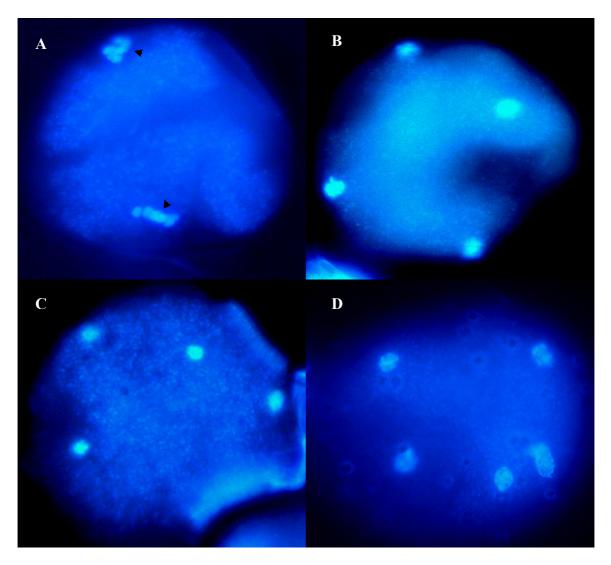


Figura 4.4. Comportamento meiótico em genitores *Passiflora foetida* var. *foetida* (♂) x *P. palmeri* var. *sublanceolata* (♀) e híbridos F₁ UESC-HD13 corados com DAPI.

A) Anafase II com desorientação das fibras do fuso (Fuso tripolar) II de *P. foetida* var. *foetida*; B) Telófase II regular em híbrido F₁ UESC-HD13; C) Teléfase II formada por fuso transverso em *P. foetida* var. *foetida*; Telófase II regular em híbrido; D) Telófase II polinuclear (5 núcleos) em *P. palmeri* var. *sublanceolata*.

A segregação irregular foi observada em meiose I (Figura 4.2.B) e II (Figura 4.3.B). Os maiores percentuais de segregação irregular em meiose I foram observados na metáfase para ambos os genitores *P. foetida* var. *foetida* (6,73 %) e *P. palmeri* var. *sublanceolata* (3,88%) (Tabela 4.3). Na meiose II o percentual de segregação irregular foi menor quando comparado à meiose I. Os maiores percentuais de segregação irregular em meiose II foram observados na metáfase II, em 0,69% das células de *P. foetida* var. *foetida*, e 0,57 % das células em *P. palmeri* var. *sublanceolata*, e na anáfase II no híbrido, em 0,13% das células analisadas (Tabela 4.4).

As pontes cromossômicas (Figura 4.2.D) em anáfase foram mais elevadas na meiose I, quando comparadas à meiose II (Tabela 4.3; 4.4). Apresentaram maiores valores percentuais na meiose I no genitor *P. palmeri* var. *sublanceolata* (22,37%), enquanto que na meiose II o percentual nessa espécie foi de 0,29%. *P. foetida* var. *foetida* apresentou os menores percentuais de irregularidades, 10,94% e 0,59% nas meiose I e II, respectivamente. Nos híbridos F₁ UESC-HD13 os percentuais foram de 12,54% na meiose I e de 1,44% na meiose II.

Telófases com número irregular de núcleos (polinucleadas e com micronúcleos) foram observadas com os maiores percentuais na meiose II. Na meiose I o maior valor percentual Telófases com número irregular de núcleos (Figura 4.2.F) foi observado em *P. palmeri* var. *sublanceolata* (2,05%) e o menor em *P. foetida* var. *foetida* (0,76%). Na meiose II, *P. foetida* var. *foetida* apresentou a maior freqüência (10,69%) de células na telófase com número irregular de núcleos (polinucleadas) e micronúcleos (Figura 4.4.D), enquanto que nos híbridos UESC-HD13 e em *P. palmeri* var. *sublanceolata* a freqüência foi inferior a 4,48%.

As células apresentaram fusos transversos (cromossomos posicionados na placa equatorial em forma de 'T') e fusos tripolares (forma de 'V') decorrentes das desorientações das fibras do fuso observadas em células na metáfase II (Figura 4.4.A) e anáfase II. As desorientações das fibras do fuso levaram à formação de telófase II com posição irregular de núcleos. Esta irregularidade, incluindo seus efeitos em células em telófase II, foi a de maior freqüência na meiose II, presente em mais de 30% das células. *P. foetida* var. *foetida* apresentou o maior percentual de células com desorientação das fibras dos fusos (16,12%) e de células na telófase II com posição irregular de núcleos (19,87%) (Tabela 4.4; Figura 4.4.C). A desorientação das fibras do fuso foi a irregularidade que mais contribuiu para a formação de produtos pós-meióticos irregulares.

A assincronia na divisão celular foi observada em todas as fases da meiose II, entre as etapas de prófase/metáfase, metáfase/anáfase (Figura 4.3.D), anáfase/telófase. Em *P. palmeri*

var. *sublanceolata* foi observada a maior freqüência de núcleos em assincronia (15,97%), enquanto que em *P. foetida* var. *foetida* foram observadas apenas 4,85% das células com esta irregularidade (Tabela 4.4).

A formação de micronúcleos foi incluída na freqüência de números irregulares de núcleos em meiose I e II (Tabela 4.3; 4.4). Foram observados até dois micronúcleos em telófase I e até três micronúcleos em telófase II. Foram consideradas polinucleadas as células que apresentaram núcleos de tamanhos similares. Foram observados até quatro núcleos de tamanhos similares em telófase I e até seis núcleos de tamanhos similares em telófase II. Nas meioses I e II, os híbridos apresentaram-se como o táxon mais estável, com menor freqüência de células apresentando irregularidades meióticas. De um modo geral, *P. palmeri* var. *sublanceolata* apresentou um maior percentual de anormalidades meióticas quando comparado aos híbridos F₁ e à *P. foetida* var. *foetida*.

A análise de variância demonstrou haver diferença significativa (P<0,05) para as médias de IM% entre genitores e híbridos (Tabela 4.5). Observou-se um alto percentual de

Tabela 4.5. Resumo da ANOVA para a característica índice meiótico em genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora*

Fontes de Variação	GL	QM
P. foetida var. foetida	5	2,25
Erro	6	1,97
CV (%)		1,42
P. palmeri var. sublanceolata	5	230,89
Erro	6	72,71
CV (%)		9,44
UESC-HD13	5	17,62
Erro	6	17,19
CV (%)		4,39
Entre táxons	3	220,56*
Erro	33	54,70
CV (%)		7,83

^{*}Significativo pelo teste F (P<0,05).

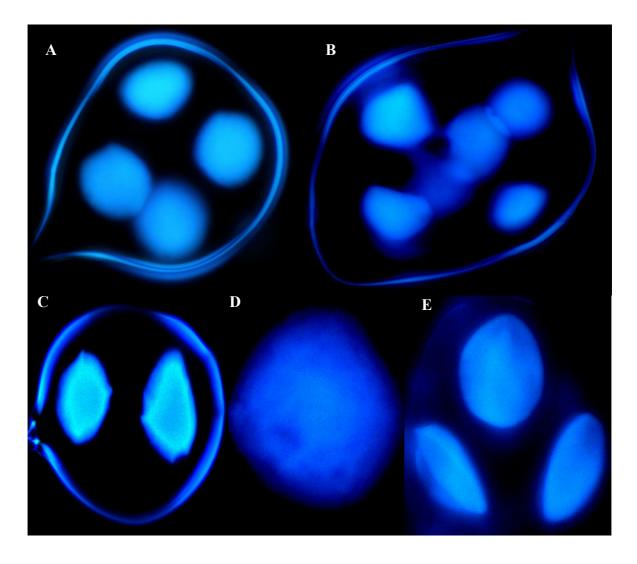


Figura 4.5. Comportamento pós-meiótico em genitores *Passiflora foetida* var. *foetida* (♂) x *P. palmeri* var. *sublanceolata* (♀) e híbridos F₁ UESC-HD13 corados com DAPI. A) T) Tétrade regular em híbridos F₁ UESC-HD13; B) Políade em *P. palmeri* var. *sublanceolata*; C) Díade em *P. foetida* var. *foetida*; D) Mônade em *P. palmeri* var. *sublanceolata*; E) Tríade em híbridos F₁ UESC-HD13.

células pós-meióticas normais (Figura 4.5.A). A freqüência de políades (Figura 4.5.B), díades (Figura 4.5.C) e mônades (Figura 4.5.D) não totalizou 2% das células analisadas. A freqüência de tríades (Figura 4.5.E) foi maior, com valores percentuais médios de 7,28% em *P. palmeri* var. *sublanceolata*, 1,30% em *P. foetida* var. *foetida* e 5,04% em híbridos. A baixa freqüência dos produtos pós-meióticos irregulares resultou em elevado IM%, com valores médios percentuais de 92,72 em *P. palmeri* var. *sublanceolata*, 98,70 em *P. foetida var. foetida* e 94,96 em híbridos UESC-HD13.

4.3.2. CORABILIDADE, VIABILIDADE E TAMANHO DO PÓLEN

Os grãos de pólen dos genitores e híbridos F₁ reagiram positivamente aos três testes aplicados (Figura 4.6). A análise de variância revelou que houve diferença significativa (P<0,05) dentro e entre os táxons, para as características viabilidade do pólen, para corabilidade do pólen, e para os diferentes tipos de inviabilidade, vazio (T1), contraído (T2) e pulverizado (T3) (Tabela 4.6). Observou-se diferenças significativas (P<0,05) entre as médias dos genitores e híbridos (Tabelas 4.7 e 4.8). Os valores de viabilidade polínica, utilizando o corante vital DFA, foram baixos nos três táxons, com percentuais médios que variaram de 5,7% à 38,0% (Tabela 4.8).

O pólen dos híbridos e respectivos genitores apresentou reação positiva ao Lugol, corando o citoplasma em tons amarronzados, confirmando a presença de amido como substância de reserva (Figura 4.6).

Com o teste utilizando solução de Alexander, *P. palmeri* var. *sublanceolata* apresentou os mais baixos índices de corabilidade, menos que 30% dos GP apresentaram parede e citoplasma íntegros (Tabela 4.7), enquanto que em *P. foetida* var. *foetida* e nos híbridos F₁ o percentual médio de corabilidade do pólen ficou acima de 70%. Com a solução de Alexander, três tipos de GP inviáveis foram observados. O maior percentual de GP T1 (vazios) foi observado em *P. palmeri* var. *sublanceolata* (45,21%) e de GP T2 (citoplasma contraídos) foi observado nos híbridos (15,78%). *P. foetida* var. *foetida* demonstrou menores percentuais de GP inviáveis. Os GP inviáveis T3, que apresentam citoplasma fragmentado, totalmente incomum às outras espécies de *Passiflora* até então estudadas, foram observados

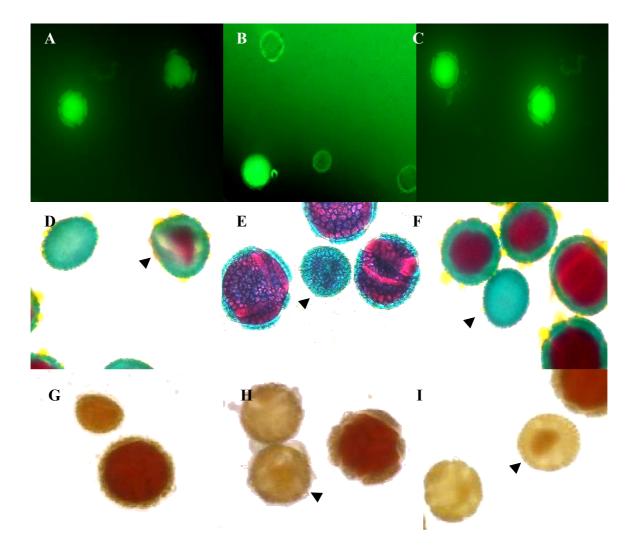


Figura 4.6. Testes com Diacetato de Fluoresceína (DFA), solução de Alexander e lugol em genitores *P. foetida* var. *foetida* (A, D, G) e *P. palmeri* var. *sublanceolata* (B, E, H) e híbridos F₁ UESC-HD13 (C, F, I). A-C) Teste com DFA evidenciando GP verdes fluorescentes viáveis e não fluorescentes inviáveis; D-F) Teste com solução de Alexander, com setas indicando GP não íntegros, com GP inviável contraído (T2) (Figura D), GP inviável pulverizado (T3) (Figura E) e GP inviável vazio (T1) (Figura F); G-I) Teste com lugol, demonstrando reação positiva (coloração alaranjada) ao amido e negativa em GP não íntegros (seta) com GP inviável vazio (T1) e GP inviável contraído (T2).

Tabela 4.6. Resumo da ANOVA para as características corabilidade e viabilidade dos grãos de pólen (GP) em genitores e híbridos F₁ de *Passiflora*: GP viáveis e GP inviáveis do Tipo 1 (vazio), Tipo 2 (contraído) e Tipo 3 (Pulverizado) com solução de Alexander e Diacetato de Fluoresceína

Fontes de variação	GL				QM		
		Diacetato de	Diacetato de Fluoresceína		Solução d	Solução de Alexander	
		GP viável	GP inviável	GP viável	GP inviável T1	GP inviável T2	GP inviável T3
P. foetida var. foetida	4	55818,05*	23272,20*	389,07	252,30	48,44	1
Erro	15	12621,11	189316,75	229,64	163,71	31,13	
CV (%)		27,59	18,64	1,56	6,78	11,15	
P. palmeri var. sublanceolata	4	110,12	440,50	220447,57*	51877,48*	27171,80*	13769,07
Erro	15	545,16	8177,50	8360,01	11682,48	8314,26	4576,10
CV (%)		40,96	2,47	30,50	23,91	51,17	76,95
UESC-HD13	4	46918,30*	36223,30	93203,17*	20556,42*	29876,87*	
Erro	15	13619,80	12599,80	1552,41	2727,10	2297,61	
CV (%)		31,94	18,11	5,59	38,20	31,38	
Entre táxons	2	189811,21*	379622,42	608642,15*	248817,95*	44736,53*	
Erro	12	7679,28	92151,47	24071,48	6057,17	4532,05	
CV (%)		31,13	12,19	23,73	38,29	59,21	1
(C) (A) (L)							

*Significativo pelo teste F (P<0,05).

Tabela 4.7. Valores percentuais médios, mínimos (Mín) e máximos (Máx) de grãos de pólen (GP) viáveis e inviáveis T₁ (vazio), T₂ (contraído) e T₃ (pulverizado) em genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora* obtidos por meio de teste com solução de Alexander

			Solução	Solução de Alexander (%)	(%)			
Táxons	∆ dD	GP Viável	GP Invi	GP Inviável T1	GP Inv.	GP Inviável T2	GP Inviável T3	ável T3
	Média \pm sd	Mín - Máx	$M\acute{e}dia \pm sd$ $M\acute{n}$ - $M\acute{a}x$	Mín - Máx	Média \pm sd	Mín - Máx	$M\acute{e}dia \pm sd$	Mín - Máx
P. foetida var. foetida	$97,38$ a \pm 0,99	96,12 - 98,50	$97,38\mathbf{a} \pm 0,99 96,12 - 98,50 2,10\mathbf{b} \pm 0,79 0,97 - 3,15 0,52\mathbf{b} \pm 0,35$	0,97 - 3,15	$0,52\mathbf{b} \pm 0,35$	0,07 - 0,95	NO	ON
P. palmeri var. sublanceolata	$28,19$ b $\pm 22,10$	4,67 - 59,95	$28,19$ b $\pm 22,10$ 4,67 - 59,95 $45,21$ a $\pm 11,39$ $25,30$ - $52,87$ $17,82$ c $\pm 8,24$ $8,82$ - $28,90$ $8,79$ d $\pm 5,87$ $1,82$ - $15,95$	25,30 - 52,87	$17,82c \pm 8,24$	8,82 - 28,90	$8,79$ d $\pm 5,87$	1,82 - 15,95
UESC-HD13	$70,55$ a \pm 15,26	54,10 - 91,70	$70.55\mathbf{a} \pm 15.26 \ 54.10 - 91.70 \ 13.68\mathbf{c} \pm 7.17 \ 4.35 - 22.62 \ 15.77\mathbf{b} \pm 8.24 \ 3.90 - 23.27$	4,35 - 22,62	$15,77$ b \pm 8,24	3,90 - 23,27	*0Z	NO

*NO, não observado. Médias seguidas pela mesma letra (dentro de linhas) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

apenas em *P. palmeri* var. *sublanceolata* As baixas taxas de corabilidade do pólen observadas em *P. palmeri* var. *sublanceolata* foram confirmadas nas análises com DFA (Tabela 4.8), que comprovou o maior valor médio percentual de GP inviáveis em *P. palmeri* var. *sublanceolata* (94,30%) e de GP viáveis em *P. foetida* var. *foetida* (49,70%).

Tabela 4.8. Valores percentuais médios, mínimos (Mín) e máximos (Máx) de grãos de pólen (GP) viáveis e inviáveis em genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora* obtidos por meio de teste com Diacetato de Fluoresceína (DFA)

		Diacetato de	Fluoresceina (%)	
Táxons	GP	Viável	GP Ir	nviável
	Média ± dp	Mín - Máx	Média ± dp	Mín - Máx
P. foetida var. foetida	$40,70$ b \pm 11,81	29,05 - 58,90	$59,30$ a \pm 11,81	41,10 - 70,95
P. palmeri var. sublanceolata	$5,70\mathbf{b} \pm 0,52$	5,10 - 6,50	$94,30$ a $\pm 0,52$	93,50 - 94,90
UESC-HD13	$38,03$ b $\pm 9,52$	24,35 - 47,95	$61,97a \pm 9,52$	52,05 - 75,65

^{*}Médias seguidas pela mesma letra (dentro de linhas) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Verificou-se haver diferenças significativas (P<0,05) dentro e entre táxons, para as características comprimento de GP viáveis e inviáveis (Tabela 4.9). Observou-se diferenças significativas (P<0,05) entre as médias dos genitores e híbridos (Tabela 4.10). O comprimento dos GP viáveis e inviáveis variou entre as espécies, mostrando-se superior nos híbridos F₁ (Tabela 4.9). O comprimento médio dos GP viáveis foi superior a 70μm nos três táxons, com o comprimento máximo de 97,5μm na progênie do híbrido UESC-HD13.

Os GP inviáveis T2 apresentaram menor comprimento nos genitores *P. foetida* var. *foetida* (57,5µm) e *P. palmeri* var. *sublanceolata* (47,5µm), quando comparado aos demais tipos de GP inviáveis, enquanto nos híbridos a maioria dos GP inviáveis T1 apresentou menores comprimentos, sendo mais freqüentes aqueles com 65,0µm (Figura 4.7).

Tabela 4.9. Resumo da ANOVA para a característica comprimento dos grãos de pólen (GP) viáveis e Inviáveis (IN) Tipo 1 (vazio), Tipo 2 (contraído) e Tipo 3 (Pulverizado) em genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora*

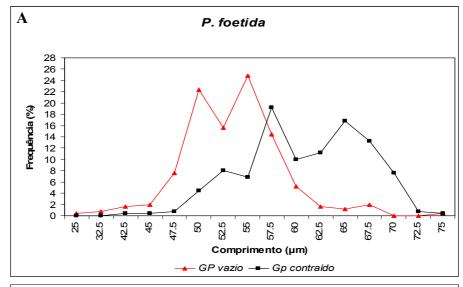
Fontes de Variação	GL	(QM – Comprim	ento dos GP	
	-	GP viável	GP IN T1	GP IN T2	GP IN T3
P. foetida var. foetida	4	26,73*	17,69*	72,45*	-
Erro	245	2,39	4,52	4,75	-
CV (%)		4,96	9,95	8,94	-
P. palmeri var. sublanceolata	4	1267,98*	32,00*	11,57	39,59*
Erro	245	4,27	3,82	5,41	6,22
CV (%)		7,18	9,16	10,84	11,26
UESC-HD13	4	287,31*	144,15*	128,35*	-
Erro	245	5,64	5,46	3,80	-
CV (%)		7,79	9,21	7,41	-
Entre táxons	2	7,65	26,99*	29,59*	-
Erro	12	10,68	1,29	1,41	-
CV (%)		10,85	5,01	4,98	-

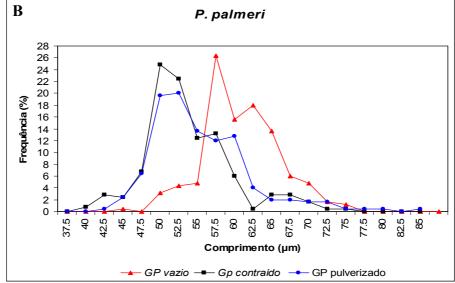
^{*}Significativo pelo teste F (P<0,05).

Tabela 4.10. Valores médios, mínimos (Mín) e máximos (Máx) dos comprimentos (μm) de grãos de pólen (GP) viáveis e inviáveis T1 (vazio), T2 (contraído) e T3 (pulverizado), em genitores e híbridos F₁ de *Passiflora*

	Comprimento		TÁXONS	
Características	s GP -	P. foetida	P. palmeri	Híbrido F ₁
GP Viáveis	Mín - Máx	65 – 90	50 - 95	57,50 - 97,50
	Média	$77,96$ a $\pm 4,16$	$71,88$ a \pm 12,37	$76,17$ a $\pm 7,96$
GP Inviáveis				
T1	Mín - Máx	25 – 75	37,5 - 67,5	35 - 80
	Média	$53,41$ c $\pm 5,43$	$53,33$ b $\pm 5,16$	$63,43$ b $\pm 6,92$
T2	Mín - Máx	42,5 - 75	40 - 75	50 - 87,50
	Média	$60,94$ b $\pm 6,03$	$53,66$ b $\pm 5,86$	$65,74$ b $\pm 6,01$
T3	Mín - Máx	NO**	42,5 - 85	NO
	Média	NO	$55,37$ b $\pm 6,49$	NO

^{*} Médias seguidas por letras diferentes (dentro de colunas) diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). **NO, não observado.





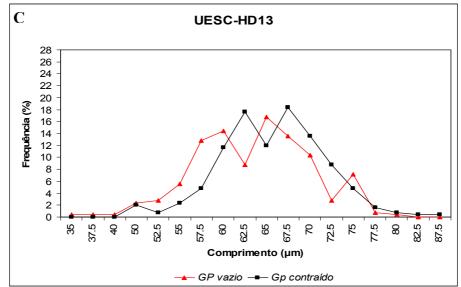


Figura 4.7. Frequência de Grãos de Pólen (GP) inviáveis T1 (vazio), T2 (contraído) e T3 (pulverizado) em genitores e híbrido F₁. A) *Passiflora foetida* var. *foetida*; B) *P. palmeri* var. *sublanceolata*; C) Híbrido UESC-HD13.

4.4. DISCUSSÃO

A meiose é caracterizada como um evento de grande estabilidade evolutiva (PAGLIARINI, 2000), para o qual o controle genético é hierárquico e independente em cada etapa do processo de divisão (PAGLIARINI, 2000; CAETANO-PEREIRA; PAGLIARINI, 2001). No entanto, mutações induzidas ou naturais nestes genes podem alterar o curso regular da meiose, resultando em produtos meióticos irregulares (PAGLIARINI, 2000; CAETANO-PEREIRA; PAGLIARINI, 2001). Os genes mutantes que agem durante a pré-meiose, meiose e pós-meiose foram descritos para *Arabidopsis*, *Zea mays* L., *Glycine max* (L.) Merr., híbridos de *Brachiaria* (PALMER et. al, 1992; PAGLIARINI, 2000; CAETANO-PEREIRA; PAGLIARINI, 2001; MENDES-BONATO et.al, 2006), dentre outros. O controle genético da meiose é evidenciado pela ação de muitos genes conhecidos para algumas culturas, como os genes *divergent apindle* (*dv*) e *plural abnormalities of meiosis* (*pamA344*) em milho (CAETANO-PEREIRA et al., 1998), os genes *asynapsis* (*as*) e *desynapsis* (*ds*) em soja (BIONE et al., 2002a), e os genes *synaptic* (*syn1*) e *aspartokinase* (*ask1*) em *Arabidopsis* (BAI et al., 1999; YANG et al., 1999).

Os híbridos interespecíficos por apresentarem em seu núcleo diferentes genomas, mesmo sendo genomas similares, apresentam ciclos celulares ímpares podendo não ocorrer sincronia entre os genomas durante o ciclo de divisão celular, e, por isso, conduzir a anormalidades meióticas, afetando diretamente o potencial reprodutivo da planta (LOPES, 2006). Devido o controle genético que ocorre durante a androsporogênese, este processo celular é suscetível a mutações naturais. Assim, em cada etapa da pré-meiose, meiose e pósmeiose, formas recessivas de genes podem ocorrer (LOPES, 2006), conferindo efeito anômalo aos genes. Os mutantes meióticos são, principalmente, identificados por meio de anormalidades meióticas, por evidências genéticas e pelos percentuais de germinação de pólen e de óvulos abortados, e, em geral, mutantes meióticos apresentam herança monogênica e são identificados na geração segregante (SINGH, 2002).

Em passifloráceas, o comportamento meiótico foi caracterizado inicialmente por Storey (1950) e Beal (1969a, 1969b), seguido por diversos estudos em espécies silvestres (OLIVEIRA, 1996; SOUZA et al., 2003a; SOARES-SCOTT et al., 2003) e híbridos sexuados (SOARES-SCOTT et al., 2003) e somáticos (BARBOSA; VIEIRA, 1997; BARBOSA, 1998; SOARES-SCOTT et al., 2003). Na progênie F₁ UESC-HD13 foram analisados híbridos com

números gaméticos distintos, n = 10 ou n = 11 cromossomos. Análises meióticas precedentes a este estudo indicaram o pareamento normal de 10 II em P. foetida L. e P. foetida var. fluminensis Roem. (BEAL, 1969a). Entretanto, a caracterização do genitor masculino P. foetida var. foetida L. com n = 11 pode ser referendada por estudos de Bowden (1945) e Storey (1950).

Em espécies com genomas similares, o pareamento cromossômico é completo ou quase completo em seus híbridos (RISSO-PASCOTTO et al., 2005), como observado nos híbridos F_1 de *Passiflora* desse estudo. Em híbridos interespecíficos de *Triticum*, por exemplo, as espécies silvestres *T. monococcum* L e *T. urartu* Thüm. ex Gandilyan possuem genomas A e exibem sete bivalentes em seus híbridos, havendo, portanto, pareamento completo (PAIVA, 2006). A configuração de pareamento em bivalentes observada nos grupos de híbridos n = 10 e n = 11 reflete haver homologia entre os genomas dos genitores, confirmando a existência de similaridades estruturais e genômicas entre eles (RILEY, 1966; TECHIO; DAVIDE, 2007).

O conhecimento da similaridade dos genomas é importante para estimar a freqüência de recombinação que pode ocorrer entre os híbridos interespecíficos e inferir sobre relação de parentesco filogenético entre espécies genitoras e suas relações genômicas (KING et al., 1999), fornecendo informações necessárias para programas de introgressão de genes de interesse (GALÉ; MILLER, 1987; SINGH, 2002). Dessa maneira, a habilidade de hibridar é demonstrada pela afinidade entre os genomas genitores (MAC CONNEL; KAMEMOTO, 1993; CHRISTOPHER et al., 1995), e a homologia/homeologia cromossômica torna-se necessária para a seleção de genótipos hábeis ao cruzamento interespecífico (OHRI, 1998). Pode-se tomar como exemplo as espécies genitoras do híbrido *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* O. Deg. x *P. setacea* D.C. que apresentaram a maioria das células com bivalentes indicando a existência da homologia cromossômica entre os genitores (SOARES-SCOTT et al., 2003).

A estabilidade genética observada nos híbridos e genitores é estabelecida pela formação de quiasmas e manutenção dos bivalentes, necessária para a segregação regular dos cromossomos (SYBENGA, 1992). A formação e freqüência de quiasmas estão sujeitos ao controle poligênico (REES; THOMPSON, 1956, 1958; REES, 1961; BAKER et al., 1976; PAGLIARINI, 1980), de dominância completa (PAGLIARINI et al., 1986), principalmente de genes sinápticos (BIONE et al, 2002b) e de genes que codificam as proteínas requeridas à quebra do DNA, reparo e recombinação das bases (ROEDER, 1997; CARYL et al., 2003).

Elevado grau de pareamento entre os cromossomos garante que o conjunto de ambos os genitores pode ser permutado (KING et al., 1999). A freqüência de quiasmas tem sido

utilizada como indicador de parentesco entre as espécies e do grau de recombinação genética em uma população (STEBINS, 1958; PAGLIARINI; POZZOBON, 2004). A média do número de quiasmas totais nas células indicou a existência de pelo menos um quiasma por bivalente, o que assegura a ampliação da variabilidade genética nas espécies genitoras, confirmada por Souza et al. (2003a). Os quiasmas intersticiais são indicadores de recombinação, enquanto que os terminais asseguram a perfeita disjunção e segregação dos cromossomos homólogos, possuindo pouco efeito na taxa de recombinação (LOPES, 2006). Os resultados desse estudo confirmaram a predominância de quiasmas intersticiais, que puderam ser observados em outras espécies de *Passiflora* silvestres como *P. alata* Dryander, *P. amethystina* Mikan, *P. capsularis* L. e *P. cincinnata* Mast. (SOUZA et al., 2003b).

A variação observada na freqüência de quiasmas está relacionada à capacidade de combinação entre espécies, como observado em linhagens de *Zea mays* L. (PAGLIARINI et al., 1986; PAGLIARINI, 2000). Como resultado de agrupamento de dois genomas distintos, os híbridos possuem uma gama de possibilidades de combinações alélicas em relação aos genomas dos genitores. Logo, é esperado para progênie F₁ o estabelecimento de maior número de combinações alélicas, e com o avanço da produção de novas progênies, uma redução. Em híbridos interespecíficos de *Capsicum*, por exemplo, a freqüência de quiasmas na progênie F₂ foi inferior à observada pela progênie F₁, resultado direto do processo evolutivo que diminuiu a homologia entre os cromossomos dentro desta progênie (SHAW, 1972; RAO et al., 1992). A formação de multivalentes em F₁ e a predominância de univalentes na progênie F₂ de *Capsicum* (RAO et al., 1992) é uma evidência direta dessa hipótese nessa espécie.

Apesar de baixa, a freqüência de multivalentes sugere pequenas introgressões cromossômicas de uma espécie para outra, como observados nos híbridos de *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* O. Deg. x *P. setacea* D.C. (SOARES-SCOTT et al., 2003). Aliado a estes fatos, os resultados referentes à freqüência de quiasmas e índice de recombinação sugerem que houve recombinação dos cromossomos das espécies genitoras nos híbridos, principalmente naqueles que apresentaram o mesmo número cromossômico que seus genitores, atestando que alelos de interesse podem ser incorporados.

De acordo com alguns autores, há uma relação positiva entre a eliminação de cromossomos e a distância genética entre as espécies, formando híbridos F₁ interespecíficos usualmente estéreis, com ausência de pareamento e de sincronia no ciclo celular (PAGLIARINI; POZZOBON, 2004). Embora os genitores da progênie de híbridos F₁ UESC-HD13 sejam filogeneticamente próximos e agrupados no mesmo subgênero *Dysosmia*

(KILLIP, 1938), foi observada eliminação cromossômica em parte dos indivíduos desta progênie. Deleção cromossômica é um fenômeno comum entre híbridos interespecíficos, podendo ser total ou parcial de um dos genomas genitores como consequência da condição híbrida, ou seja, ocorre um desajuste entre os genomas de espécies diferentes (LEVIN, 2002). Dessa maneira, a eliminação cromossômica pode ocorrer devido às relações de parentesco, uma vez que os genitores compartilhariam do mesmo controle genético para eliminação de cromossomos (ABREU et al., 2006).

As aneuploidias são freqüentemente decorrentes de erros meióticos como resultado de não-disjunção cromossômica durante a primeira e, ou segunda, divisões meióticas (SINGH, 2002). Processos de não-disjunção e segregação irregular comuns aos táxons analisados podem estar relacionados ao processo de aneuploidia observadas em parte da progênie F₁ dos híbridos UESC-HD13. Outros mecanismos de eliminação cromossômica já foram descritos para outras espécies, como a formação de micronúcleos, segregação irregular de homólogos ou cromátides-irmãs em metáfases e anáfases, supressão da função do centrômero nos cromossomos, assincronia nas fases do ciclo celular (ADAMOWSKI et al., 1998; SINGH, 2002) e translocações cromossômicas (LEVIN, 2002), estando também sujeito a influência dos fatores ambientais (LINDE-LAURSEN; VON BOTHMER, 1999). Segundo Adamowski et al. (1998), o processo regular da androsporogênese até a diacinese, com formação de bivalentes, é comum em táxons com ocorrência de aneuploidias.

Genes envolvidos na transmissão de sinais para a formação das fibras dos fusos são igualmente importantes para o curso harmonioso da meiose (CAETANO-PEREIRA; PAGLIARINI, 2001), orientando corretamente os cromossomos na placa metafásica e conduzindo à perfeita segregação para os pólos. Durante a pré-metáfase os microtúbulos se organizam em planos bipolares, emitindo sinais genéticos para a formação do aparato das fibras dos fusos. Mutações nesses genes causam falhas na formação das fibras e prejudicam a disjunção cromossômica (PALMER et al.; 1992; CAETANO-PEREIRA; PAGLIARINI, 2001). Alterações ambientais também podem influenciar na expressão de genes durante a meiose (SOUZA et al., 2003a). A ação conjunta de genes *dv* na orientação anormal dos fusos meióticos em *Zea mays* L. (CAETANO-PEREIRA; PAGLIARINI, 2001; SHAMINA et al., 2000) e em híbridos interespecíficos de *Brachiaria* (MENDES-BONATO et al., 2006), além de mutantes sinápticos e de disjunção e segregação cromossômica, suportam a hipótese da ação destes genes como possível causa destas irregularidades.

Anormalidades envolvendo as fibras do fuso podem resultar ainda em grãos de pólen reduzidos em tamanho (SOUZA et al., 2003b), tendo influência direta na viabilidade polínica.

Pode-se dizer ainda, que a não orientação dos bivalentes conduzem à formação de micronúcleos (LOVE, 1951), citocinese incompleta e formação de políades, tríades e mônades. A ação de genes *dv* promove a divergência das fibras dos fusos nos pólos celulares em meiose II (CAETANO-PEREIRA; PAGLIARINI, 2001).

A segregação irregular dos cromossomos homólogos para os pólos é um evento comum observado em passifloras silvestres (STOREY, 1950; OLIVEIRA, 1996; SOARES-SCOTT et al., 2003; SOUZA et al., 2003b; 2004) e híbridos sexuados (SOARES-SCOTT et al., 2003) e somáticos (BARBOSA; VIEIRA, 1997; BARBOSA, 1998; SOARES-SCOTT et al., 2003), que induz à perda de material genético e origina gametas aneuplóides. As espécies silvestres e híbridos interespecíficos analisados neste estudo demonstraram a presença de tal irregularidade em ambos ciclos meióticos. As causas dessas anomalias irregulares podem ser diversas, estando diretamente relacionadas aos quiasmas e complexo sinaptonêmico (CS), e consequente presença de univalentes, formados nos estágios finais da prófase I. A formação de univalentes sugere a ação de genes de controle sob o CS, os genes mutantes as (assinápticos) e ds (dessinápticos) comuns em plantas (BIONE et al., 2002b) e que anulam ou reduzem o pareamento cromossômico (BIONE et al., 2002b, 2002c). De acordo com Peirson et al. (1997), em mutantes assinápticos os univalentes são incapazes de agrupar-se no plano metafásico, encontrando-se dispostos ao acaso no citoplasma. Mutantes dessinápticos estão relacionados à segregação irregular observadas em anáfase II, onde univalentes conseguem manter a coesão entre as cromátides até o momento da disjunção (BIONE et al., 2002a).

O assincronismo observado em meiose II, onde se tem dois grupos cromossômicos em diferentes fases meióticas pode ter sido causado por despolimerização das fibras do fuso nos pólos das células, como sugere Souza et al. (2003a) em *P. edmundoi* Sacco. A ação de genes mutantes *ask*1-1, por sua vez, podem também causar a produção de tétrades com número e tamanho variável de micrósporos, devido conteúdos diferentes de DNA (YANG et al., 1999). Acredita-se no fato de que genes *ASK1* controlam a separação dos homólogos em *Arabidopsis* pela degradação ou remoção de proteínas específicas requeridas pelo complexo sinaptonêmico.

A formação de pontes cromossômicas, por sua vez, foi a irregularidade mais comum da MI nos genitores e na progênie de híbridos, e já foi relatada para espécies silvestres e híbridos somáticos de passifloras, como em *P. amethystina* Mikan e *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* O. Deg. + *P. amethystina* (BARBOSA; VIEIRA, 1997). Uma possível causa desta irregularidade nos híbridos e espécies silvestres pode ser atribuída a translocações e inversões paracêntricas que não envolvem quebras na região centromérica e causam redução da

fertilidade (LEVIN, 2002). Geralmente, inversões cromossômicas que envolvem o centrômero (inversões pericêntricas) não originam irregularidades meióticas (LEVIN, 2002). Como já observados em estudos meióticos de híbridos triplóides entre capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum, 2n = 2x = 28) e milheto (*P. glaucum* (L.) Brown, 2n = 2x = 14) (SETHI et al., 1970; PAIVA, 2006), a ocorrência de pontes cromossômicas é atribuída, principalmente, às inversões paracêntricas (SYBENGA, 1992). Assim, no caso dos híbridos analisados e genitores silvestres, provavelmente, as pontes estão associadas ao ciclo quebrafusão-ponte e a inversões paracêntricas. Segundo Levin (2002) a formação de pontes e a segregação irregular podem incidir sobre a fertilidade dos híbridos com uma relação inversamente proporcional (LEVIN, 2002). Processos como translocações recíprocas e inversões paracêntricas podem originar pontes em anáfase e interferir sobre a segregação cromossômica, além de reduzir a fertilidade em híbridos de espécies com o mesmo número cromossômico (LEVIN, 2002).

Os estudos de comportamento meiótico em *Passiflora* têm evidenciado altos índices meióticos, indicativo de estabilidade meiótica, mesmo com a ocorrência de irregularidades (STOREY, 1950; OLIVEIRA, 1996; BARBOSA; VIEIRA, 1997; BARBOSA, 1998; SOARES-SCOTT et al., 2003; SOUZA et al., 2003a), como foi observado neste este estudo. A segregação irregular em metáfase e anáfase, anormalidades na orientação do fuso e assincronismo são anormalidades encontradas nas passifloras e híbridos, e que formam produtos também anormais, como díades, tríades e políades, microgametas, e células aneuplóides e poliplóides (BARBOSA; VIEIRA, 1997; SOARES-SCOTT et al., 2003; SOUZA et al., 2003a). Aliadas a estas irregularidades meióticas, o fracasso ou falhas da citocinese podem resultar em produtos pós meióticos com dois, três, cinco e seis células (PAGLIARINI, 2000). Dois genes, identificados em *Zea mays* L., podem perturbar a citocinese, o gene *va* (variable sterile) e *el* (enlogate) (BEADLE, 1932; RHOADES; DEMPSEY, 1966). A formação de mônades neste estudo pode ser um resultado da ausência de citocinese no final da meiose II, e as falhas na citocinese associadas às irregularidades meióticas podem ter formado as díades, tríades e políades observadas.

No geral, as taxas de irregularidades meióticas foram inferiores ao número de células normais observadas, o que indicou ter havido pontos restritos de *chekpoint* ou eventos de reconstituição celular, durante a meiose I. Mecanismos similares foram observados em espécies silvestres de *Passiflora* (SOUZA et al., 2003a, 2003b). Love (1951) afirma que o IM% é um índice de regularidade do comportamento meiótico e que plantas com índice meiótico em torno de 90% a 100% podem ser consideradas citologicamente estáveis, assim, o

elevado IM% permitiu considerar os táxons analisados neste estudo como organismos estáveis citologicamente. Os híbridos de *P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* O. Deg. x *P. setacea* D.C. também mostraram-se estáveis, apesar das irregularidades observadas (SOARES-SCOTT et al., 2003).

O padrão de tamanho GP observado nas espécies em estudo foi semelhante ao estudado por Souza et al. (2004). Excetuando-se *P. palmeri* Rose var. *sublanceolata* Killip, GP tipo T1 (vazio) apresentou maiores índices e menores comprimentos que GP tipo T2 (contraído), sugerindo que GP vazios possam ter sido originados por anomalias na segregação cromossômica na microsporogênese e que irregularidades durante a fase pós-meiótica estariam envolvidas na inviabilidade polínica observada em GP contraídos (SOUZA et al., 2004). Assim como GP T2 (contraídos), acredita-se que os GP T3 (pulverizados) foram originados durante a microgametogênese (pós-meiose), sugerindo a ação de fatores genéticos pós-meióticos e possíveis fatores abióticos. Além de estudos realizados com espécies silvestres de *Passiflora* por Souza et al. (2004), estudos em híbridos somáticos interespecíficos realizados por Barbosa e Vieira (1997) e híbridos somáticos estudados por Storey (1950) confirmam essa hipótese. Os estudos realizados em *P. alata* Dryander x *P. caerulea* L., *P. racemosa* Brot. x *P. coccinea* Aubl. e *P. maliformis* L. x *P. caerulea* indicaram que a completa esterilidade observada nos híbridos ocorreu devido às irregularidades meióticas (STOREY, 1950).

Assim como relatado por Barbosa e Vieira (1997) para híbridos somáticos de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* O. Deg. + *P. amethystina* Mikan, e respectivos genitores, um baixo percentual de irregularidades foi observado nos táxons analisados. Nesses híbridos somáticos, a relação entre a viabilidade polínica e anormalidades meióticas foi alta e negativa. Nos híbridos UESC-HD13 o padrão foi o mesmo. A meiose I mostrou ter maior interferência na viabilidade gamética (BARBOSA; VIEIRA, 1997). Em híbridos F₁ de *Heilanthus* observou-se que a fertilidade diminuiu com o aumento do número de translocações (LEVIN, 2002). Em passifloras a relação entre o percentual de irregularidades meióticas foi inversamente proporcional à viabilidade polínica em meiose I. A interferência da meiose II sob a viabilidade foi menor, assim como para os híbridos *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* + *P. amethystina* (BARBOSA; VIEIRA, 1997). Assim, anomalias ocorridas durante o primeiro ciclo de divisão meiótica, associada a fatores ambientais (LALONDE et al., 1997; SOUZA et al., 2002), seriam as principais responsáveis pela inviabilidade gamética observada em *P. palmeri* Rose var. *sublanceolata* Killip, o que destaca o potencial dessa espécie como genitor feminino em cruzamentos interespecíficos de passifloras. A influência das irregularidades da

meiose II sobre a viabilidade polínica foi menor, que caracteriza a menor frequência de GP contraídos.

As instabilidades cromossômicas podem produzir gametas com número cromossômico variável, com adição ou redução do número cromossômico, formando gametas com tamanhos diferentes e estéreis, mas muitas vezes funcionais. Os GP viáveis apresentaram comprimentos que variaram cerca de 50 a 97µm entre as espécies, comprimentos superiores a outros estudos realizados (SOUZA et al., 2004). Devido a essa ampla variação, e aos fatores genéticos envolvidos na meiose e viabilidade, a freqüência de GP viáveis em *P. palmeri* Rose var. *sublanceolata* Killip e híbridos foi irregular.

Os GP de pólen dos genótipos de *Passiflora* reagiram positivamente ao Lugol, confirmando sua característica amilácea, como relatada anteriormente por Souza et al. (2004). Os híbridos apresentaram o mesmo padrão amiláceo de ambos os genitores, típicos de plantas entomófilas (DAFNI, 1992; SOUZA et al., 2004). A presença de GP amiláceo é uma conseqüência direta da evolução, pois é metabolicamente mais acessível para o desenvolvimento do tubo polínico, proporcionando ocorrência de fertilização (SOUZA et al., 2004).

4.5. CONCLUSÕES

O grau de homologia entre as espécies genitoras pôde ser estabelecido, não somente pela análise do pareamento cromossômico, mas também pela estimativa e análise das anormalidades meióticas nos híbridos. As espécies envolvidas no cruzamento comportaram-se de maneira similar durante o processo meiótico. O elevado grau de pareamento cromossômico e formação de quiasmas observado nos grupos de híbridos n=10 e n=11, permitiu reconhecer o grau de relação genética entre os genitores P. palmeri var. sublanceolata e P. foetida var. foetida. A inviabilidade gamética foi relacionada a erros meióticos, que produzem gametas anormais e não funcionais, como em P. palmeri var. sublanceolata onde a meiose irregular conduziu a uma queda na viabilidade polínica. Sugere-se que as alterações na segregação cromossômica durante a meiose I foram as principais responsáveis pelas taxas de viabilidade polínica nas espécies de Passiflora analisadas, já que houve maior porcentagem de pólen T1. A viabilidade polínica em P. foetida var. foetida destaca o seu potencial na utilização como genitor masculino em programas de melhoramento, assim como a espécie P.

palmeri var. sublanceolata para a sua utilização em programas de melhoramento como genitor feminino. O híbrido UESC-HD13 pode ser considerado citologicamente estável e viável. A formação de alguns multivalentes indica que houve recombinação dos cromossomos dos genitores nos híbridos e que alelos de interesse puderam ser incorporados na progênie F₁. Os dados referentes ao processo meiótico e viabilidade polínica permitiram indicar o uso dos genótipos analisados em programas de melhoramento para a produção de híbridos que visem a introgressão de genes de caracteres desejáveis ao mercado de plantas ornamentais.

4.6. AGRADECIMENTOS

O autor agradece à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela bolsa de estudos do primeiro autor e apoio financeiro e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) pelo apoio financeiro à pesquisa.

4.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, J.C.; DAVIDE, L.C.; PEREIRA, A.V.; BARBOSA, S. Mixoploidia em híbridos de capimelefante x milheto tratados com agentes antimitóticos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** v. 41, n. 11, p. 1629-1635. 2006.

ABREU, P.P.; SOUZA, M.M.; LESSA, V.F.; SANTOS, E.A.; ALMEIDA, A.F.; SILVA, D.C.; VIANA, A.P.. Comportamento pós-meiótico e viabilidade polínica em genitores e híbrido interespecífico de Passiflora UESC-HD13 de potencial ornamental. In: I WORKSHOP SOBRE PESQUISAS COM PASSIFLORAS NA UESC. Ilhéus - BA. **Resumos** do I Workshop sobre Pesquisas com Passifloras na UESC. Ilhéus - BA: UESC, v. 1, p. 66-66. 2007.

ADAMOWSKI, E.D.; PAGLIARINI, M.S.; BATISTA, L.A.R. Chromosome elimination in *Paspalum subciliatum* (Notata group). **Sexual Plant Reproduction**, v. 11, p. 272-276. 1998.

ALEXANDER, M.P. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. **Stain Technology**, Baltimore, v. 44, n. 3, p. 117-122, 1969.

BAI, X.; PEIRSON, B.N.; XUE, C.; MAKAROFF, C.A. Isolation and characterization of *SYN1*, a *RAD21*-like gene essential for meiosis in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v.11, p. 417-430. 1999.

BAKER, B.S.; CARPENTER, A.T.C.; ESPOSITO, M.S.; ESPÓSITO R.E.; SANDLER, L. The genetic control of meiosis. **Annual Review of Genetics**, v. 10, p. 53–134. 1976.

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.

BARBOSA, L.V. Citologia de híbridos somáticos de *Passiflora* obtidos por fusão de protoplasto. Piracicaba, SP. Tese (Doutorado) — Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, São Paulo, 127p. 1998.

BEADLE, G.W. The relation of crossing over to chromosome association in *Zea-Euchlaena* hybrids. **Genetics**, v. 17, p. 401-501. 1932.

BEAL, P.R. Citology 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 Australia. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 26, n. 1, p. 73-81. 1969b.

BIONE, N.C.P.; PAGLIARINI, M.S.; ALMEIDA, L.A. A new distinctive male-sterile desynaptic mutant in soybean (*Glycine max*). **Hereditas**, v. 136, p. 97-103. 2002a.

BIONE, N.C.P.; PAGLIARINI, M.S.; ALMEIDA, L.A. An asynaptic mutation in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) Associeted with total absence of sister Chromatid Cohesiveness. **Cytologia**, v. 67, p. 177-183. 2002b.

BIONE, N.C.P.; PAGLIARINI, M.S.; ALMEIDA, L.A.; SEIFERT, A.L. An *ms2* male-sterile, female-fertile soybean sharing phenotypic expression with other ms mutants. **Plant Breeding**, v. 12, p. 307-313. 2002c.

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.

CARYL, A.P.; JONES, G.H.; FRANKLIN, F.C.H. Dissecting plant meiosis using *Arabidopsis thaliana* mutants. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, n. 380, p. 25-38. 2003.

CAETANO-PEREIRA, C.M.; DEFANI-SCOARIZE, M.A.; PAGLIARINI, M.S.; BRASIL, E.M. Syncytes, abnormal cytokinesis and spindle irregularities in maize microsporogenesis. **Maydica**, v. 43, p. 235-242. 1998.

CAETANO-PEREIRA, C.M.; PAGLIARINI, M.S. A new meiotic abnormality in *Zea mays*: multiple spindles associated with abnormal cytokinesis in both divisions. **Genome**, v. 44, p. 865-871. 2001.

CHRISTOPHER, J.; MINI, L.S.; OMANAKUMARI, N. Hybridization studies in *Coix* species I. Cytomorphological studies of *Coix* Taxon (2n = 32), *C. gigantean* Koenig ex Roxb. (2n = 12) and the F1 Hybrid. **Cytologia**, v. 60, p. 249-256. 1995.

CRUZ, C. D. Programa Genes, estatística experimental e matrizes. Viçosa: Editora UFV. 2006.

DAFNI, A. **Pollination ecology – a practical approach**. New York: Oxford University Press, 250p. 1992.

DARLINGTON, C.D. **Evolution of genetic systems**. Cambridge, Eng.; Cambridge University Press, (1939). 149p. 2^a ed. rev. Edingburgh: Oliver and Boyd, 265p. 1958.

ELLISON, D. Passiflora in Austrália. Passiflora, v. 9, n. 3, p. 21-23. 1999.

FEUILLET, C.; FRANK, A.; KUGLER, E.; LAURENS, C.; MACDOUGAL, J.; SKIMINA, T.; VANDERPLANK, J. Notes on the *Passiflora* Cultivars List. *Passiflora* Cultivars Registration Committee. *Passiflora*, v. 10, n. 3/4, p. 22-39. 2000.

GALÉ, M.D.; MILLER, T.E. The introduction of alien genetic variation into wheat. In: LUPTON, F. G. H. (Ed.). **Wheat breeding: its scientific basis.** London: Chapman & Hall, p. 173-210. 1987.

GERRA, M. **Técnicas de coloração convencional e Bandeamento cromossômico. Um guia de técnicas em citogenética vegetal.** I Simpósio Latino Americano de Citogenética e Evolução Vegetal. Recife, PE. p. 23-40. 1999.

HESLOP-HARRISON, J.; HESLOP-HARRISON, Y. Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence; intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate. **Stain Technology**, v. 45, p. 115-120, 1970.

JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. MaGraw-Hill Book Company, Inc., New York, 523p. 1940.

KELLY, J.K.; RASCH, A.; KALISZ, S. A method to estimate pollen viability from pollen size variation. **American Journal of Botany**, v. 89, n. 6, p. 1021-1023. 2002.

KILLIP, E.P. The American species of Passifloraceae. **Publications of the Field Museum of Natural History, Botanical Series**, v. 19, p. 1–613, 1938.

KING, I.P.; MORGAN, W.E.; HARPER, J.A.; THOMAS, H.M. Introgression mapping in the grasses. II. Meiotic analysis of the *Lolium perenne/Festuca pratensis* triploid hybrid. **Heredity**, v. 82, p. 107–112.1999

KING, L.A. The *Passiflora* Hybrid *P.* 'Excel': *P. edulis* x *P. caerulea.*, *Passiflora*, v. 10, n. 2, p. 16-18. 2000.

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

LALONDE, S.; BEEBE, D.; SAINI, H.S. Early sings of disruption of wheat anther development associated with induction of male sterility by meiotic stage water deficit. **Sexual Plant**. **Reproduction**, v. 10, p. 40-48. 1997.

LEFRANÇOIS, C., CHUPEAU, J.P.; BOURGIN, J.P. Sexual and somatic hybridization in the genus *Lycopersicon*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 86, p. 533–546. 1993.

LEVIN, D.A. The role of chromosomal change in plant evolution. Oxford, University Press, p. 23-44, 2002.

LINDE-LAURSEN, I.; BOTHMER, R.V. Aberrant meiotic divisions in a *Hordeum lechleri* x *H. uulgare* hybrid. **Hereditas,** v.118, p. 145-153. 1993.

LINDE-LAURSEN, I.; BOTHMER, R.V. Orderly arrangement of the chromosomes within barley genomes of chromosome-eliminating *Hordeum lechleri* x barley hybrids. **Genome, v.** 42, n. 2, p. 225-236. 1999.

LOPES, E.F. Avaliação do comportamento meiótico de milho-pipoca (*Zea mays* L.) durante o processo de endogamia. Maringá. Dissertação (Mestrado) — Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil, 30 p. 2006.

LOVE, R.M. Varietal differences in meiotic chromosomes behavior of Brazilian Wheats. **Agronomy Journal**, v. 43, p.72-76. 1951.

MCCONELL, J.; KAMEMOTO, H. Morphology and meiotic behavior of three *Dendrobium amphidiploids* and their diploid counterparts. **HortScience**, v. 28, p. 935-937. 1993.

MELETTI, L.M.M.; BRUCKNER, C.H. Melhoramento genético. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M.C. (Ed.). **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado.** Porto Alegre: Cinco Continentes, p. 345-385. 2001.

MENDES-BONATO, A.B.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Abnormal spindle orientation during microsporogenesis in an interspecific *Brachiaria* (Gramineae) hybrid. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, p. 122–125. 2006.

OLIVEIRA, A.M.A. **Reprodução e citogenética de espécies de** *Passiflora.* São José do Rio Preto. Tese (Doutorado)- Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 134p. 1996.

OHRI, D. Genome size variation and plant systematics. **Annals of Botany,** v. 82 (Suppl. A), p. 75–83. 1998

OTONI, W.C.; BLACKHALL, N.W.; D'UTRA VAZ, F.B.; CASALI, V.W.; POWER, J.B.; DAVEY M.R. Somatic hybridization of the *Passiflora* species, P. *edulis f. flavicarpa* Degener, and *P. incarnata* L. **Journal of Experimental Botany**, v. 46, n. 288, p. 777-785. 1995.

PAGLIARINI, M.S. Controle genético da frequência de quiasmas em milho (*Zea mays L.*). Piracicaba, SP. Dissertação (Mestrado) — Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz /USP, Piracicaba, São Paulo, Brasil, 113 p. 1980

PAGLIARINI, M.S., MIRANDA-FILHO, J.B.; AGUIAR-PERECIN, M.L.R. Correlação entre frequência de quiasmas e capacidade de combinação em linhagens autofecundadas de milho (*Zea mays*). In: XV CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO. Brasília, DF. **Anais** do XV Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Brasília, DF: EMBRAPA-DDT, v. 15, p. 183-188. 1986.

PAGLIARINI, M.S. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 4, p.997-1002, 2000.

PAGLIARINI, M.S.; POZZOBON, M. T. Meiose em Vegetais: Um enfoque para a caracterização de germoplasma. In: II Curso de Citogenética Aplicada a Recursos Genéticos Vegetais. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, CERNAGEN-DF. **Documentos** 154. ISSN 0102-0110, 2004.

PAIVA, E.A.A. **Meiose em híbridos hexaplóides de capim-elefante e milheto**. Lavras. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, Minas Gerais. 53p. 2006.

PALMER, R.G.; ALBERTSEN, M.C.; HORNER, H.T.; SKORUPSKA, H. Male sterility in soybean na maize: Developmental comparisons. **The nucleus**, v. 35, n. 1, p. 1-18. 1992.

PEIRSON, B.N.; BOWLING, S.E.; MAKAROFF, C.A.A defect in synapsis causes male sterility in a transposon-cotaining soybean population. **Journal of Heredity**, v. 91, p. 135-209. 1997.

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**, Embrapa Cerrados, Planaltina, p. 457-464. 2005.

PIRES, M.V. Perspectivas econômicas de passifloras ornamentais na Bahia. In: I WORKSHOP SOBRE PESQUISAS COM PASSIFLORAS NA UESC. Ilhéus, BA. **Resumos** do I Workshop sobre Pesquisas com Passifloras na UESC. Ilhéus, BA: UESC, v. 1, p. 51-52. 2007.

RAO, N.B.; SRI VALLI, T.; LAKSHMI, N. Cytogenetics studies on the interespecific hybrid *C. baccatum* L. x *C. frutescens* L. and its progeny. **Euphytica**, v. 59, p. 135-140. 1992.

REES, H. Genotypic control of chromosome form and behaviour. **Botanical Review**, v. 27, p. 288-318. 1961.

RESS, H.; THOMPSON, J.B. Genotypic control of chromosome behaviour in rye; III. Chiasma frequency in homozygotes and heterozygotes. **Heredity**, v. 10, p. 409-424. 1956.

RESS, H.; THOMPSON, J.B. Genotypic control of chromossome behaviour in rye. **Heredity**, v. 12, p. 101-111. 1958.

RILEY, R. The secondary pairing of bivalents with genetically similar chromosomes. **Nature**, v. 185, n. 4715, p. 751-752. 1966.

RISSO-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M.C.; VALLE, C.B. Miotic behavior in interespecific hybrids between *Brachiaria ruziziensis* and *Brachiaria brizantha* (Poaceae). **Euphytica**, v. 145, n.1-2, p. 155- 159. 2005.

RHOADES, M.M.; DEMPSEY, E. Induction of chromosome doubling at meiosis by the elongate gene in maize. **Genetics**, v. 54, p. 505-522. 1966.

RODRIGUEZ-RIANO, T.; DAFNI, A. A new procedure to asses pollen viability. **Sex Plant Reprod**, v.12, p. 241-244. 2000.

ROEDER, G.S. Meiotic chromosomes: it takes two to tango. **Genes & Development,** v. 11, p. 2600-2621. 1997.

SETHI, G.S.; KALIA, H.R.; GHAI, B.S. Cytogenetical studies of three interespecific hybrids between *Pennisetum typhoides* Stapf and Hubb. and *P. purpureum* Schumach. **Cytologia,** v. 35, n. 1, p. 96-101. 1970.

SENDA, T.; HIRAOKA, Y.; TOMINAGA, T. Cytological affinities and interfertilities between *Lolium temulentum* and *L. persicum* (Poaceae) accessions. **Hereditas**, v.142, p. 45-50. 2005.

SHAMINA, N.; DOROGOVA, N.; TRUNOVA, S. Radial spindle and the phenotype of the maize meiotic mutant, dv. Cell Biology International, v. 24, p. 729-736. 2000.

SHAN, F.; YAN, G.; PLUMMER, J.A. Meiotic chromosome behaviour and *Boronia* (Rutaceae) genome reorganisation. **Australian Journal of Botany,** v. 51, p. 599-607. 2007.

SHAW, D.D. Genetic and Encironmental Components of Chiasma Control. II. The response to selection in *Schistocerca*. **Chromosoma**, v. 37, p. 297-308. 1972.

SINGH, R.J. Plant cytogenetics. 2^a. Ed. Boca Raton: CRC press, 463 p. 2002.

SOARES-SCOTT, M D.; MELETTI, L.M.; RECCO-PIMENTEL, S.M. Meiotic behaviour and pollen fertility in sexual and somatic hybrids of *Passiflora* species. **Caryologia**, v. 56, n. 1, p. 129-138. 2003.

SOARES-SCOTT, M.D.; MELETTI, L.M.M.; BERNACCI, L.C., SILVA, I.R. Citogenética clássica e molecular em passifloras. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds.) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 212 -240. 2005.

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

SOUZA M.M.; PEREIRA, T.N.S. Passifloras como plantas ornamentais. In: XIV CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS. Lavras, MG. **Resumos** do XIV Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais UFL, Lavras, MG: p. 24. 2003.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; VIANA, A.P.; PEREIRA, M.G.; BERNACCI, L.C.; SUDRÉ, C.P.; SILVA, L.C. Meiotic irregularities and pollen viability in *Passiflora edmundoi* Sacco (Passifloraceae). **Caryologia**, v. 56, p. 161-169. 2003a.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; VIANA, A.P.; SILVA, L.C.; SUDRE, C.P. Comportamento meiótico em espécies de *Passiflora*: associação cromossômica, frequência de quiasmas e segregação irregular. In: 6° SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO. Campos dos Goytacazes-RJ. **Resumos** do 6° Simpósio Brasileiro sobre a Cultura do Maracujazeiro. Livro Eletrônico, CD Rom. Campos dos Goytacazes, RJ: UENF. p. 23-23. 2003b.

SOUZA, M.M., PEREIRA, T.N., VIANA, A.P., SILVA, L.C., SUDRÉ, C.P. Pollen viability and fertility in wild and cultivated *Passiflora* species (Passifloraceae). **Beiträge zur Biologie der Pflanzen**, v.73, p. 1-18. 2004.

STEBBINS, G.L. Longevity, habitat, release of genetic variability in the higher plants. **Cold Spring Symposium Quantitative Biology,** v. 23, p. 365-387. 1958.

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

SYBENGA, J. Cytogenetics in plant breeding. Berlin: Springer-Verlag, 469 p. 1992.

TECHIO, V.H.; DAVIDE, L.C. Análise genômica em cromossomos de plantas com base no pareamento meiótico. **Biotemas**, v. 20, n. 4, p. 7-18. 2007.

ULMER, T.; MACDOUGAL, J.M. *Passiflora* - Passionflowers of the world. Timber Press, Portland, 430 p. 2004.

VANDERPLANK, J. Passion flowers, 3a ed., The MIT Press, Cambridge, 224 p. 2000.

VANDERPLANK, J. More wonderful cultivars, *Passiflora*, v. 12, n.1, pp-, 2002.

VANDERPLANK, J.; BLANCO, E.G.; FEUILLET, C.; FRANK, A.; KING, L.; KUGLER, E.; LAURENS, C.; MACDOUGAL, J.M.; SKIMINA, T. The International *Passiflora* Registrer 2003. *Passiflora* Society International, p. 1-36, 2003.

YANG, M.; HU, Y.; LODHI, M.; MCCOMBIE, W.R.; MA, H. The *Arabidopsis SKP1-LIKE1* gene is essential for male meiosis and may control homologue separation. **The Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, p.11416–11421, 1999.

Androsporogênese e Androgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera nos genitores *Passiflora foetida* var. *foetida* x *P. palmeri* var. *sublanceolata* e híbridos F₁ ornamentais

RESUMO

Estudos da gametogênese masculina envolvendo a associação dos diferentes estádios de divisão meiótica (androsporogênese) e pós-meiótica (androgametogênese) tem se tornado frequente, fornecendo subsídios para pesquisas com cultura de anteras. O estudo foi conduzido com o objetivo de estudar a relação entre os tamanhos do botão floral e da antera em relação aos estádios da androsporogênese e androgametogênese em espécies silvestres de passifloras de potencial ornamental e híbridos F1 interespecíficos, além de caracterizar os diferentes estádios da androgametogênese, a fim de gerar informações que possam auxiliar programas de melhoramento genético. Verificaram sobreposições entre os tamanhos dos botões e anteras e os estágios de metáfase e anáfase I, telófase I, metáfase e anáfase II, e telófase II. As análises permitiram apenas a diferenciação em quatro classes diferentes, prófase I, meiócitos com células nos estádios de metáfase I a telófase II, tétrade, andrósporos e andrófitos I. Botões e anteras foram indicativos para monitorar os estádios da androgametogênese. Para a caracterização do desenvolvimento dos gametófitos (GP) a variável fundamental foi distância do núcleo a parede da célula. Foram encontradas sobreposições entre estas variáveis de tamanho do botão e da antera, comprimento e largura da célula, demonstrando não haver associação entre os estádios de desenvolvimento do gametófito, com índices inferiores a 0,52%, pelo índice de correlação de Pearson. A ocorrência de andrófitos binucleados de tamanhos simétricos e com um ou dois micronúcleos foram consideradas anomalias devido à baixa frequência (inferior a 7,5%). Os táxons foram caracterizados por apresentar andrófitos I até o momento da antese, com frequência superior a 90% nas anteras. Não houve associação entre as diferentes secções da antera e estádios de desenvolvimento da androgametogênese, ocorrendo sobreposições entre estas variáveis.

Palavras-chave: Androgênese, híbridos interespecíficos, andrósporos, andrófitos.

5.1. INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* L. tem aproximadamente 520 espécies atualmente conhecidas (CERVI, 2005), com mais de 200 espécies originárias do Brasil (SEMIR; BROWN, 1975; LOPES, 1994; SILVA; SÃO JOSÉ, 1994; BERNACCI et al., 2003; VIANA et al., 2003). As passifloras são mundialmente conhecidas por seu valor agronômico e ornamental (HANSEN et al., 2006), com cerca de 685 híbridos ornamentais registrados (VANDERPLANK et al., 2003; KING, 2007). São escassos os estudos relacionados ao desenvolvimento dos gametas em espécies de passifloras, com apenas 1% das espécies caracterizadas (GARCÍA et al., 2002), entre elas *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* O. Deg., *P. caerulea* L., *P. mooreana* Hook, *P. foetida* L., *P. chrysophylla* Chod., *P. misera* HBK. e *P. suberosa* L. (GARCÍA et al., 2002; SOUZA et al., 2002). Não há relatos de estudos similares em híbridos de passifloras.

Tentativas freqüentes de monitorar o processo de divisão meiótica para associar o tamanho do botão floral e da antera aos estádios meióticas e pós-meióticas têm sido realizadas por vários autores (SOUZA et al., 2002; LAUXEN et al., 2003; PICOLI et al., 2003; RODRIGUES et al., 2007). Fator importante para o sucesso de pesquisas que envolvem a técnica de cultura de anteras é conhecer o estádio ideal de desenvolvimento das anteras a serem cultivadas, de maneira que este estádio contenha os andrósporos ou andrófitos I e II em uma fase de desenvolvimento de melhor resposta androgenética, que, geralmente, são os andrósporos recém liberados da tétrade meiótica (KALTCHUK-SANTOS; BODANESE-ZANETTIN, 2002). Grando & Moraes Fernandes (1993) sugerem que o potencial embriogênico dos gametófitos pode ser determinado tanto no período da meiose como no período da pré-mitose nos andrósporos, pois nestes dois momentos esta célula ainda teria metabolicamente características esporofíticas, o que permite a diferenciação do gametófito em embrião e posterior formação de uma planta.

O curso normal da androgametogênese, para a maioria das angiospermas, finaliza na formação de andrófitos binucleados, formados por uma célula vegetativa e uma célula generativa. Segundo Kaltchuk-Santos & Bodanese-Zanettini (2002), o andrósporos, após sua

liberação da tétrade, possui um citoplasma rico em ribossomos e com numerosos pequenos vacúolos (SANGWAN; CAMEFORT, 1982). Estas células são caracterizadas, basicamente, por possuir apenas um núcleo haplóide, no caso de espécies diplóides, não-polarizado (central) e indiferenciado. No curso normal do desenvolvimento dos gametófitos, os andrósporos passam por transformações citoplasmáticas e nucleares induzidas pela transcrição de genes característicos da geração gametofítica e ambiente intralocular. Ocorre a coalescência dos vacúolos resultando na formação de um vacúolo central, evento típico de diferenciação celular, e conseqüente polarização do núcleo (posicionamento lateral). E, paralelamente, o material genético desse núcleo haplóide é duplicado e tem-se então um núcleo totalmente homozigoto para todos os alelos. Esses eventos caracterizam a tomada da rota gametofítica, ou seja, o andrósporo vai virar andrófito. O andrófito I é então caracterizado por uma célula uninucleada, vacuolizada e, portanto, polarizada (RODRIGUES, 2004).

A migração do núcleo constitui uma etapa chave da androgametogênese, uma vez que, em seguida se dá a primeira divisão mitótica assimétrica, onde as cromátides separam-se equitativamente em dois novos núcleos haplóides (RODRIGUES, 2004), com distribuição desigual do citoplasma nas células-filhas, células vegetativa e generativa, estruturalmente e funcionalmente diferentes, mas com o mesmo conteúdo genético (KALTCHUK-SANTOS; BODANESE-ZANETTINI, 2002). Nesse momento, se tem o andrófito II (binucleado e bicelular). Há espécies ainda em que o andrófito apresenta a segunda mitose antes da emissão do tubo polínico, formando andrófitos tricelulares (RODRIGUES, 2004). A segunda mitose do pólen envolve apenas o núcleo generativo, dando origem às células espermáticas de morfologia similar que serão as responsáveis pela fecundação do saco embrionário, enquanto que a célula vegetativa permanece quiescente, não sofrendo segunda divisão mitótica (KALTCHUK-SANTOS; BODANESE-ZANETTINI, 2002), e responsável pela formação do xenófito (endosperma). A definição e conhecimento de tais processos são de consenso geral para a manipulação destas células em programas de cultura de anteras que ânsiam a ontogênese de plantas.

Esse estudo foi realizado visando associar o tamanho do botão floral e da antera com a androsporogênese e androgametogênese, para direcionar a coleta dos botões florais no estudo da formação e desenvolvimento do gametófito masculino, bem como caracterizar a androgênese em híbridos F₁ UESC-HD13 com potencial ornamental e genitores *P. foetida* var. *foetida* L. e *P. palmeri* Rose var. *sublanceolata* Killip, a fim de gerar informações que possam auxiliar programas de melhoramento genético. A progênie F₁ UESC-HD13 foi

resultado do cruzamento sexuado entre P. foetida var. foetida (\circlearrowleft) x P. palmeri var. sublanceolata (\circlearrowleft).

5.2. MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1. MATERIAL VEGETAL

Foram utilizadas as espécies *Passiflora foetida* var. *foetida* L. proveniente da UENF-Campos de Goytacazes (RJ), e *P. palmeri* Rose var. *sublanceolata* Killip doada pela EMBRAPA Cerrados – Planaltina (DF), que vêm sendo mantidas no Banco Ativo de Germoplasma (BAG - Passifloras) da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), 39°13'59'' de longitude oeste e 14°45'15'' de latitude sul, Ilhéus, Bahia, Brasil. Foram analisados os híbridos interespecíficos resultantes do cruzamento entre *P. foetida* var. *foetida* $^{\circ}$ x *P. palmeri* var. *sublanceolata* $^{\circ}$. A espécie *P. foetida* var. *foetida* foi selecionada como fonte de germoplasma nesse programa de melhoramento genético para obtenção de plantas ornamentais por apresentar pequeno porte, flores pequenas de pétalas brancas e corona branco-lilás, sendo adequada para ornamentação de interiores. A utilização de *P. palmeri* var. *sublanceolata* deve-se à beleza das flores de pétalas rosas e corona branca, e folhagem delicada, com cor verde vivaz.

5.2.2. HIBRIDAÇÕES INTERESPECÍFICAS

Para a obtenção do híbrido interespecífico, cinco genótipos do genitor feminino *P. palmeri* var. *sublanceolata* (planta receptora de pólen) foram fertilizados utilizando-se um 'bulk' de pólen de cinco genótipos de *P. foetida* var. *foetida*. Para o controle da polinização, os botões florais em pré-antese dos genitores foram selecionados e protegidos com saco de

papel, evitando a visita de polinizadores ou a fecundação por grãos de pólen carregados pelo vento, conforme indica Vanderplank (2000). No dia seguinte, realizou-se a polinização controlada uma hora após a antese para evitar polinizações em flores sem curvatura no estigma por não estarem ainda receptivas (SOUZA et al., 2004). As anteras dos botões em antese de cada espécie foram coletadas separadamente. Após a polinização, as flores foram novamente protegidas até 24 h. O cruzamento foi identificado com etiqueta junto à flor polinizada contendo os seguintes dados: a espécie doadora de pólen, a espécie receptora de pólen e data da hibridação. Após cinco dias, foi observada a permanência ou abortamento do botão floral e de frutos em início de desenvolvimento. Os frutos foram envolvidos por redes de nylon para evitar danos e perdas. Parte das sementes obtidas dos frutos colhidos foi semeada em bandejas de isopor de 128 células e utilizando-se substrato orgânico ou areia, em casa de vegetação. A outra parte das sementes obtidas vêm sendo mantida em refrigeração, aproximadamente a 10°C. Todas as sementes representantes de um cruzamento foram consideradas sua progênie. Os genótipos representantes da progênie F₁ foram codificados apropriadamente, com a sigla UESC-HD13. Após a germinação, as plantas híbridas foram transplantadas para vasos contendo 43L de solo com cerca de 30 a 40 dias de vida.

5.2.3. MENSURAÇÃO DO TAMANHO DO BOTÃO FLORAL E DA ANTERA ASSOCIADOS AOS ESTÁDIOS DA ANDROSPOROGÊNESE E ANDROGAMETOGÊNESE

Botões florais de diferentes tamanhos foram coletados ao acaso e fixados em Carnoy I (etanol - ácido acético glacial 3:1; JOHANSEN, 1940), por 2 a 3h em temperatura ambiente, realizando-se três trocas durante esse período, e mantidos a -20°C no próprio fixador por no mínimo 24h. No momento do preparo da lâmina, os comprimentos dos botões com brácteas e das anteras a serem maceradas foram mensurados com auxílio de paquímetro digital Mitutoyo. Uma antera foi retirada de cada botão, transferida para uma lâmina e mantida em ácido acético 45% por 5min. O ácido foi retirado com papel de filtro e as células foram coradas com uma gota de carmim acético 1% (SOUZA et al. 2003). A antera foi macerada com auxílio de agulhas e as análises das fases meióticas foram realizadas em campo claro

com microscópio de luz Olympus CX41. Foram analisados 80 botões florais, com 10 repetições de cada fase meiótica. A freqüência de células com dois e três núcleos foi obtida da análise em quatro botões florais diferentes e 100 células por táxon. As análises foram realizadas em campo claro com microscópio de luz Olympus CX41.

5.2.4. OBSERVAÇÃO DA POSIÇÃO NUCLEAR DURANTE A ANDROGAMETOGÊNESE ASSOCIADA AOS TAMANHOS DO BOTÃO FLORAL E DA ANTERA

Para a caracterização da posição do núcleo durante o desenvolvimento do grão de pólen (GP), foram analisados botões florais fixados (procedimento do item 5.2.2) medindo de 5,15 a 36,40mm, em fases de andrósporos e andrófitos. No preparo da lâmina foram obtidos os dados de comprimento do botão e da antera para associação com a posição nuclear. As anteras foram transferidas para lâmina e mantidas em ácido acético 45% por 5min., excisadas em carmim acético 1%, de acordo com a técnica de coloração e esmagamento (SOUZA et al. 2003), e seladas com esmalte incolor. Medidas do comprimento (CG; eixo polar) e largura (LG; eixo equatorial) do gametófito, e da distância do núcleo à parede desta célula (DN) foram obtidas com auxílio de ocular micrométrica (mm), observados em objetiva de 40x. As análises foram realizadas em campo claro com microscópio de luz Olympus CX41 e fotografadas com máquina digital Olympus C-7070, 7.1 MP acoplada ao microscópio. Foram analisados 50 botões florais por táxon, observando-se uma antera por botão. Em cada lâmina, 15 células foram mensuradas, totalizando 750 células por táxon.

5.2.5. OBSERVAÇÃO DA POSIÇÃO NUCLEAR DURANTE A ANDROGAMETOGÊNESE ASSOCIADA A DIFERENTES SECÇÕES DA ANTERA

Botões que apresentaram nas análises anteriores maiores dissimilaridades entre as posições nucleares foram selecionadas para as análises de correlação entre as secções da antera e a posição nuclear em GP. Cada uma das tecas da antera foi separada e seccionada em quatro partes equivalentes (Figura 5.1). Para cada táxon, foram analisados quatro botões florais em androgametogênese. Foram analisadas 15 células por secção da antera, totalizando 120 células por antera, e 480 células por táxon. As lâminas foram preparadas pela técnica de coloração e esmagamento (SOUZA et al. 2003) e seladas com esmalte incolor. Foram tomadas medidas do comprimento (CG), largura (LG) e distância do núcleo à parede do gametófito (DN) das células associadas a cada secção da teca. As análises foram realizadas em campo claro com microscópio de luz Olympus CX41, com auxílio de ocular micrométrica (mm) sob objetiva de 40x (Figura 5.1).

5.2.6. ANÁLISE ESTATISTICA

Os dados referentes ao comprimento dos botões e das anteras, relativos a cada estádio da androsporogênese e androgametogênese foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey (P P<0,05), utilizando-se o delineamento inteiramente ao acaso. Análises de correlações de Pearson também foram efetuadas. As análises foram realizadas com o programa GENES versão 2006.4.1 (CRUZ, 2006).

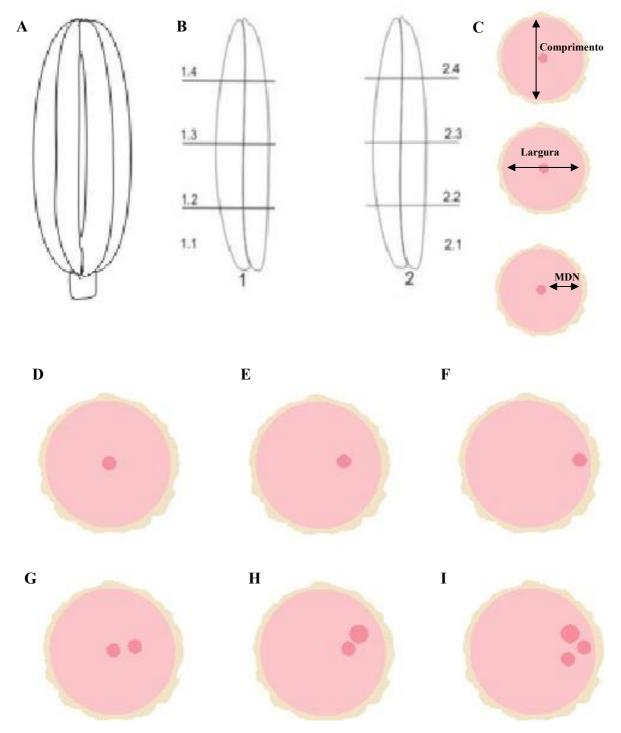


Figura 5.1. Metodologia aplicada no estudo de correlação do tamanho do botão e antera, posição nuclear e lóculo da antera, durante desenvolvimento do GP. (A-B) Comprimento da antera e análise das tecas da antera, seccionadas em quatro partes equivalentes; (C) Medidas de comprimento, largura e maior distância do núcleo (MDN) para inferir o estágio de desenvolvimento do GP; (D-F) Desenvolvimento regular do GP; (D) GP em estágio inicial de desenvolvimento com núcleo situado na região mediana; (E) GP em estágio intermediário de desenvolvimento com núcleo situado na região submediana; (F) GP em estágio final de desenvolvimento com núcleo situado próximo á parede do GP; (G-I) Desenvolvimento irregular do GP; (G) GP dois núcleos de mesmo tamanho; (H) GP com um micronúcleo; (I). GP com dois micronúcleos.

5.3. RESULTADOS

5.3.1. RELAÇÃO ENTRE O TAMANHO DO BOTÃO FLORAL E DA ANTERA E OS ESTÁGIOS DA ANDROSPOROGÊNESE

Os comprimentos dos botões variaram entre 4,12 a 35,26mm em *P. palmeri* Rose var. *sublanceolata* Killip, 0,74 a 13,22mm em *P. foetida* var. *foetida* L., e 1,01 a 28,06mm nos híbridos UESC-HD13. Os comprimentos das anteras variaram entre 1,61 a 9,58mm em *P. palmeri* var. *sublanceolata*, 0,65 a 4,18mm em *P. foetida* var. *foetida*, e 0,48 a 8,16mm nos híbridos UESC-HD13 (Tabela 5.1). A análise de variância demonstrou haver diferença significativa (P<0,05) entre os estádios de desenvolvimento e as variáveis de comprimento do botão e antera (Tabela 5.2). As médias do tamanho de botão e antera diferiram pelo teste de Tukey (P<0,05) (Figura 5.2 - 5.4), sendo, entretanto, mais indicativo o uso do tamanho de antera para diferenciação entre a androsporogênese e androgametogênese.

O teste de Tukey (P<0,05) permitiu inferir cinco classes de comprimento para o desenvolvimento do gameta masculino: *i)* Prófase I; *ii)* Meiócitos (metáfase I a telófase II); *iii)* Tétrades; *iv)* Andrósporos; *v)* Andrófitos I. Para os estádios de androsporogênese, meiose I e II e tétrades, foram observados valores próximos no comprimento do botão e antera. Sobreposições de tamanhos entre os estádios metáfase/anáfase II, telófase I, metáfase/anáfase II, telófase II foram observados em *P. palmeri* var. *sublanceolata* (Figura 5.3), com valores médios de 5,99 (mín.) e 6,99mm (máx.) (Tabela 5.1).

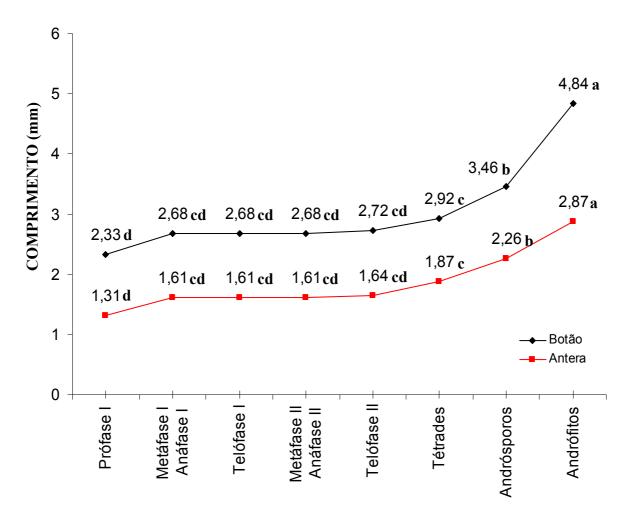
O genitor masculino *P. foetida* var. *foetida* e híbridos seguiram o mesmo padrão, apresentando valores gradativos nas classes de comprimento. Sobreposições no comprimento médio dos botões florais entre os estádios de metáfase/anáfase I, telófase I, metáfase/anáfase II e telófase II desses táxons também foram observadas, com valores médios de 2,68 a 2,73mm em *P. foetida* (Figura 5.2) e de 5,97 a 5,98mm nos híbridos UESC-HD13 (Figura 5.4).

Tabela 5.1. Estágios do desenvolvimento dos microgametófitos em genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora* associado aos valores máximos e mínimos, médias e desvio padrão (dp) dos comprimentos de botão e antera, em mm

								(Continua)
Fetámios		P. foetida	P. foetida var. foetida		P.F	P. palmeri var. sublanceolata	blanceolata	
Latagios	Comprime	Comprimento do botão	Comprime	Comprimento da antera	Comprimento do botão	to do botão	Comprimen	Comprimento da antera
	Máx - Mín	Média ± dp	Máx - Mín	Máx - Mín Média ± dp	Máx - Mín	Máx - Mín Média ± dp	Máx - Mín	Média ± dp
Prófase I	0,74 - 2,90	$2,33 \pm 0,34$	$0,65 - 1,78 1,31 \pm 0,23$	$1,31 \pm 0,23$	4,12 - 8,08	$5,45 \pm 0,91$	1,61 - 5,71	$2,89 \pm 0,72$
Metáfase I/Anáfase I	2,39 - 2,94	$2,68 \pm 0,19$	$1,43 - 1,75$ $1,61 \pm 0,11$	$1,61 \pm 0,11$	4,72 - 6,70	$5,99 \pm 0,64$	2,77 - 3,40	$3,04 \pm 0,18$
Telófase I	2,39 - 2,94	$2,68 \pm 0,19$	$1,43 - 1,75$ $1,61 \pm 0,11$	$1,61 \pm 0,11$	6,21-9,58	$6,99 \pm 0,97$	2,23 - 5,42	$3,50 \pm 0,76$
Metáfase II/Anáfase II	2,39 - 2,94	$2,68 \pm 0,19$	1,43 - 1,75	$1,43 - 1,75 1,61 \pm 0,11$	6,01 - 8,55	$6,96 \pm 0,78$	3,32 - 4,58	$3,53 \pm 0,50$
Telófase II	2,23 - 3,14	$2,73 \pm 0,28$	1,53 - 1,81	$1,64 \pm 0,10$	4,01 - 8,52	$6,04 \pm 1,19$	2,03 - 4,64	$3,25 \pm 0,74$
Tétrades	2,21 - 3,96	$2,92 \pm 0,29$	1,47 - 2,82	$1,87 \pm 0,20$	4,08 -10,04	$6,43 \pm 0,95$	2,08 - 5,35	$3,71 \pm 0,58$
Andrósporos	2,73 - 5,04	$3,46 \pm 0,43$	1,46 - 2,98	$2,26 \pm 0,32$	5,44 -19,87	$10,48 \pm 3,1$	3,52 - 9,13	$5,85 \pm 0,95$
Andrófitos	3,02 - 13,22	4,84 ± 1,77	1,73 - 4,18	$2,87 \pm 0,52$	7,82 -35,26	$21,57 \pm 8,7$	5,03 - 9,58	$7,56 \pm 1,09$

Tabela 5.1. Estágios do desenvolvimento dos microgametófitos em genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora* associado aos valores máximos e mínimos, médias e desvio padrão (dp) dos comprimentos de botão e antera, em mm

				(Conclusão)
Fstáoios		UESC-HD13	D13	
	Comprimento do botão	o do botão	Comprimento da antera	da antera
	Máx - Mín	Média ± dp	Máx - Mín	$M\acute{e}dia \pm dp$
Prófase I	1,01 - 8,31	$3,96 \pm 1,58$	0,48 - 3,37	$1,85 \pm 0,76$
Metáfase I/Anáfase I	4,51 - 7,54	$5,97 \pm 1,02$	2,56 - 3,37	$2,93 \pm 0,25$
Telófase I	4,51 - 7,54	$5,97 \pm 1,03$	2,56 - 3,37	$2,93 \pm 0,25$
Metáfase II/Anáfase II	4,07 - 7,54	$5,98 \pm 1,10$	2,56 - 3,59	$3,03 \pm 0,33$
Telófase II	4,07 - 7,54	$5,98 \pm 1,10$	2,56 - 3,59	$3,03 \pm 0,33$
Tétrades	5,07 - 8,50	$6,13 \pm 0,92$	2,71 - 3,98	$3,41 \pm 0,32$
Andrósporos	5,03 - 10,39	$8,02 \pm 1,50$	3,17 - 5,01	$4,26 \pm 0,48$
Andrófitos	5,69 - 28,06	$11,84 \pm 5,11$	4,01 - 8,16	$5,88 \pm 1,13$



ESTÁDIOS DE DESENVOLVIMENTO

Figura 5.2. Média dos valores de botão floral e antera em função da androgênese do gameta masculino de *P. foetida* var. *foetida* (*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, P<0,05).

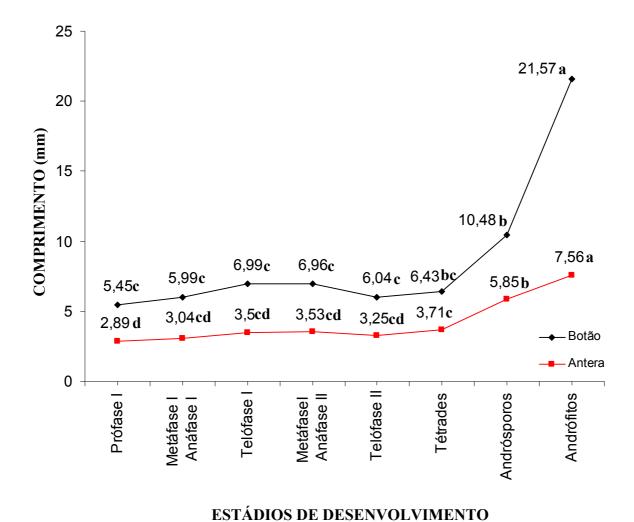
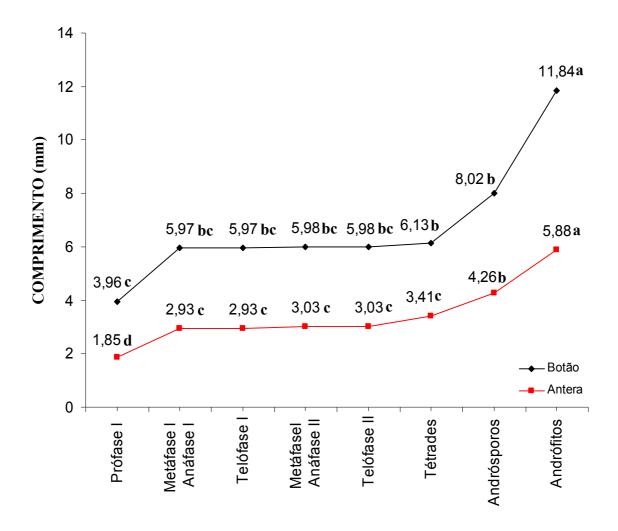


Figura 5.3. Média dos valores de botão floral e antera em função da androgênese do gameta masculino de *P. palmeri* var. *sublanceolata* (*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, P<0,05).



ESTÁDIOS DE DESENVOLVIMENTO

Figura 5.4. Média dos valores de botão floral e antera em função androgênese do gameta masculino do híbrido F₁ UESC-HD13 (*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, P<0,05).

Tabela 5.2. Resumo da ANOVA dos estádios de desenvolvimento do grão de pólen dos genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora* associado aos valores máximos e mínimos e médios dos comprimentos de botão e antera, em mm

				Q1	M		
Fontes de Variação	GL	P foetida v	ar. foetida	P. palm subland		UESC-	-HD13
	Botão Antera		Botão	Antera	Botão	Antera	
Estádios	7	373,0189*	85,8287*	739,8290*	76,8593*	434,7877*	92,9186*
Erro	72	0,7196	0,1068	11,1490	0,7496	8,7089	0,6390
CV		27,43	17,32	38,1	19,95	42,36	22,88

^{*}Significativo pelo teste F (P<0,05).

O comprimento da antera sofreu variações similares durante o desenvolvimento do GP (Tabela 5.1). O genitor feminino *P. palmeri* var. *sublanceolata* apresentou maior variação quando comparados ao genitor masculino *P. foetida* var. *foetida* e híbridos, que apresentaram tamanhos gradativos. Sobreposições no comprimento médio das anteras em *P. palmeri* var. *sublanceolata* foi observada entre os valores 3,04 a 3,53mm de comprimento nos estádios de metáfase/anáfase I, telófase I, metáfase/anáfase II e telófase II. Nos híbridos UESC-HD13, sobreposições no comprimento médio das anteras ocorreu desde os estádios de metáfase/anáfase I até telófase II. Em *P. foetida* var. *foetida* a variação no comprimento das anteras entre estádios da meiose I e II foi muito pequena, com valores entre 1,61mm em metáfase/anáfase I e 1,64mm em telófase II.

As relações entre o tamanho do botão floral e antera e os estádios de desenvolvimento dos gametófitos obtidos para os híbridos UESC-HD13, *P. palmeri* var. *sublanceolata* e *P. foetida* var. *foetida* indicaram ausência de sincronismo nos estádios de divisão celular da androsporogênese nos indivíduos, determinando a presença de diferentes fases meióticas dentro de um mesmo comprimento de botão e antera. Em contraposição, os valores médios obtidos para tamanho do botão e antera foram indicativos de diferenciação dos estádios pertencentes a androgametogênese (andrósporos e andrófitos) nos três táxons.

As espécies genitoras e híbridos apresentaram correlação significativa (P<0,05) (Tabela 5.3) entre o comprimento de botão e de antera, com índices de 0,87% a 88% de probabilidade.

Tabela 5.3. Análise de Correlações de Pearson entre as variáveis comprimento do botão (CB) e comprimento da antera (CA) em genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora*

Espécies	Observações	COV(x,y)	Correlação de Pearson
P foetida var. foetida		7,73	0,87*
P. palmeri var. sublanceolata	80	9,06	0,88*
UESC-HD13		7,08	0,87*

^{*} Significativo pelo teste T (P<0,05).

Os gametófitos foram caracterizados como uninucleados, com freqüência de células superior a 90% nos táxons (Tabela 5.4). Foram considerados irregulares os gametófitos com dois núcleos simétricos (Figura 5.5D) e aqueles com um ou dois micronúcleos (Figura 5.5E-F). A freqüência destas irregularidades foi inferior a 8% (Tabela 5.4) nos táxons, com maior freqüência em *P. palmeri* var. *sublanceolata*.

Tabela 5.4. Frequência (%) do número de núcleos observados em células de andrósporos e andrófitos em genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora*

Táxons	Número de	Núm	eros de núcleo	s (%)
Taxons	observações	1	2	3
P. foetida var. foetida		95,0	5,0	0
P. palmeri var. sublanceolata	400	91,5	7,5	1,0
UESC-HD13		97,0	3,0	0

5.3.2. RELAÇÃO DO TAMANHO DO BOTÃO FLORAL E DA ANTERA E A POSIÇÃO NUCLEAR DURANTE A ANDROGAMETOGÊNESE

Os valores médios do comprimento de botão (CB) e da antera (CA), comprimento (CG) e largura (LG) do gametófitos e da distância do núcleo (DN) à parede encontram-se

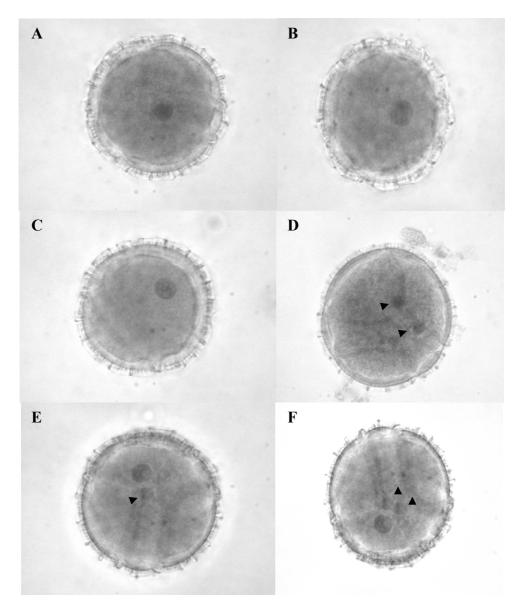


Figura 5.5. Desenvolvimento regular e irregular dos gametófitos em genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora*. (A) Andrósporos em *P. foetida* var. *foetida*; (B) Andrófito I com núcleo na posição submediana em *P. palmeri* var. *sublanceolata*; (C) Andrófito I com núcleo próximo à parede nos híbridos UESC-HD13; (D) Andrófito com núcleos de mesmo tamanho (seta) nos híbridos UESC-HD13; (E) Andrófito com um micronúcleo (seta) em *P. foetida* var. *foetida*; (F) Andrófito com dois micronúcleos (seta) em *P. palmeri* var. *sublanceola*.

apresentados na Tabela 5.5. A análise de variância demonstrou haver diferença significativa (P<0,05) entre os estádios de desenvolvimento e as variáveis de comprimento do botão e antera, do comprimento e da largura do gametófito, e da distância de núcleo à parede desta célula (Tabela 5.6). As médias destas variáveis diferiram pelo teste de Tukey (P<0,05) nos táxons analisados (Tabela 5.5). As espécies genitoras e híbridos não apresentaram associação significativa (P<0,05), pela análise de Correlação de Pearson, entre as variáveis. Os índices foram inferiores a 0,52% pela análise de correlação de Pearson.

A partir do tamanho médio dos gametófitos dos genitores e híbridos (Tabela 5.5) inferiu-se a posição mediana de cada gametófito e o valor médio para cada estádio de desenvolvimento (Figura 5.6). A posição do núcleo em relação à parede nos andrófitos variou entre 37,21μm em híbridos F₁ UESC-HD13 e 29,48μm em *P. foetida* var. *foetida*. A migração e, conseqüente, formação dos andrófitos foi caracterizada por valores.

Tabela 5.5. Valores médios, máximos e mínimos do comprimento do botão (CB) e da antera (CA) (mm), largura (LG) e comprimento (CG) do gametófito (μm) e da distância do núcleo (DN) à parede do gametófito (μm) em genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora*

Variáveis	P. foetide	a var. foetida	1	lmeri var. anceolata	UESC	C-HD13
	Mín - Máx	Média ± dp	Mín - Máx	Média \pm dp	Mín - Máx	Média \pm dp
СВ	5,15 - 13,56	$9,4c \pm 2,38$	6,37 - 36,40	$14,55$ b $\pm 6,61$	6,39 - 28,16	$19,44$ b $\pm 3,95$
CA	3,01 - 4,16	$4,9\mathbf{d} \pm 0,35$	4,49 - 8,75	$6,42\mathbf{c} \pm 1,21$	3,87 - 9,21	$6,61$ c $\pm 1,15$
CG	67,5 - 90	$79,39$ a $\pm 5,8$	25 - 87,5	$58,28$ a \pm 11,53	67,5 - 92,5	$79,05\mathbf{a} \pm 6,17$
LG	65 - 87,5	$78,92$ a $\pm 5,88$	25 - 67,5	$57,47$ a \pm 11,44	52,5 - 92,5	$78,52$ a $\pm 6,49$
DN	0 - 42,5	$19,95$ b $\pm 13,1$	0 - 37,5	$13,44$ b $\pm 10,51$	0 - 42,5	$18,57$ b $\pm 13,2$

^{*} Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem entre si significativamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 5.6. Resumo da ANOVA do comprimento do botão (CB) e da antera (CA) (mm), largura (LG) e comprimento (CG) do gametófito (μm) e da distância do núcleo (DN) à parede do gametófito (μm) em genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora*

FV	GL		P. foeti	da var.	foetida	_	palmeri blanceo		Ul	ESC-HI	D 13
1 1	Tratamento	Erro	QN	Л	CV%	Q1	M	CV%	Q	M	CV/9/-
	Tratamento	EHO	TRAT.	ERRO	C V 70	TRAT.	ERRO	C V 70	TRAT.	ERRO	C V 70
CB			46,32*	3,59	4,86	55,16*	4,26	11,23	37,04*	5,68	6,81
CA			39,85*	6,81	5,23	29,87*	4,58	10,06	35,64	4,97	6,72
CG	49	700	44,55*	2,64	5,13	239,45	5,99	10,49	35,43*	4,04	6,36
LG			47,34*	2,61	5,12	235,05	5,95	10,61	38,75*	4,50	6,76
MD			89,95	22,94	61,75	69,21*	14,20	70,08	68,18*	25,07	67,42

^{*} Significativo pelo teste F (P<0,05).

Houve sobreposições nos comprimentos de botão e antera nos táxons analisados, não permitindo associações às outras variáveis (comprimento, largura e distância do núcleo à parede do gametófito). *P. palmeri* var. *sublanceolata* apresentou os menores valores de comprimento, largura e distância do núcleo à parede do gametófito. *P. foetida* var. *foetida* e híbridos UESC-HD13 apresentaram valores médios similares de comprimento e largura, em torno de 79μm, e distância do núcleo à parede do gametófito, variando de 19 e 18μm, respectivamente (Tabela 5.5).

A técnica aplicada com carmim 1% para identificar e caracterizar o desenvolvimento dos gametófitos nas espécies genitoras e híbridos F₁ UESC-HD13 permitiu caracterizá-los como células uninucleadas (Figura 5.5). Com base nas análises de comprimento e largura do gametófito e da distância do núcleo à parede desta célula estabeleceu o que seria o ponto central de cada grão (Tabela 5.7). Os gametófitos foram dividido em três classes de acordo com a posição nuclear, em mediano (Figura 5.5A), submediano (Figura 5.5B) e final (Figura 5.5C). Os andrósporos são assim caracterizados por apresentar núcleos com distância média à parede da célula em 29,48μm em *P. foetida* var. *foetida*, de 36,37μm em *P. palmeri* var. *sublanceolata* e de 37,21μm nos híbridos F₁ UESC-HD13. Os andrófitos I apresentaram uma distância média que variou, entre as classes submediana e final, entre 29,67 a 10,48μm em *P. foetida* var. *foetida*, entre 31,46 a 13,75μm em *P. palmeri* var. *sublanceolata* e entre 32,44 a 12,93μm nos híbridos F₁ UESC-HD13. Não foi observada a ocorrência de andrófitos II.

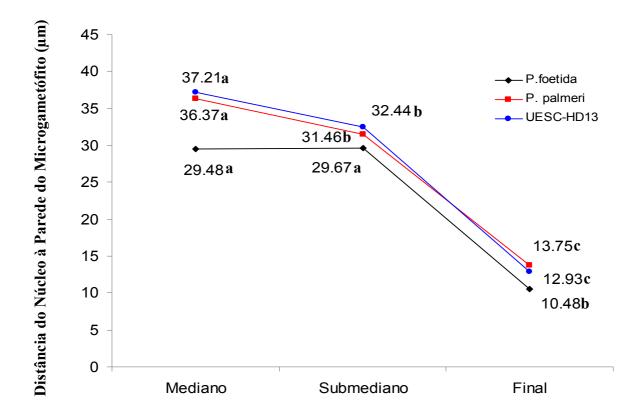


Figura 5.6. Posição nuclear dos gametófitos em genitores e híbridos F_1 UESC-HD13 de *Passiflora* associada a distância média do núcleo a parede do GP (*Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 5.7. Valores médios das variáveis comprimento (CG) largura (LG) e distância do núcleo (DN) à parede do gametófito em relação à posição do núcleo (μm) em genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora*

Posição do	P. foe	etida var.	foetida		palmeri ıblanceol		U	JESC-HD	013
núcleo	CG	LG	DN	CG	LG	DN	CG	LG	DN
Mediana	67,26 a	77,22 b	78,93 a	36,37 a	74,31 a	29,48 a	80,73 a	81,34 a	37,21 a
Submediana	64,87 b	80,31 a	78,61 a	30,00 b	76,63 a	29,67 a	77,92 b	76,79 b	32,44 b
Final	64,21 b	76,25 b	74,72 b	13,75 c	62,36 b	10,48 b	74,33 c	71,45 c	12,93 c

^{*} Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem entre si significativamente pelo teste de Tukey (P<0.05).

A relação de comprimento e largura do gametófito foi maior nos híbridos e em *P. foetida* var. *foetida* (Tabela 5.7). Os valores médios de comprimento sofreram sobreposições entre as posições medianas e final em *P. palmeri* var. *sublanceolata* e entre as posições submediana e final em *P. foetida* var. *foetida*. Os valores médios de largura mostrou-se similar em *P. foetida* var. *foetida* e sobrepôs em *P. palmeri* var. *sublanceolata* entre as posições mediana e submediana. Nos híbridos UESC- HD13 não houve sobreposição dos valores de comprimento e largura. A relação dos estágios de desenvolvimento do GP e a distância do núcleo à parede do gametófito foi similar entre o genitor feminino *P. palmeri* var. *sublanceolata* e os híbridos.

5.3.3. RELAÇÃO DA POSIÇÃO NUCLEAR DURANTE A ANDROGAMETOGÊNESE ASSOCIADA A DIFERENTES SECÇÕES DA ANTERA

Não houve relação entre os estágios de desenvolvimento do GP e as secções das anteras (lóculos 1, 2, 3 e 4). Foram observadas sobreposições entre os lóculos nos valores médios de comprimento e largura e distância do núcleo à parede do gametófito nos três táxons analisados (Tabela 5.8). Logo, não houve distinção no desenvolvimento do GP entre as diferentes secções da antera nos táxons.

Tabela 5.8. Associação das secções da antera (lóculos 1, 2, 3 e 4) e as variáveis de comprimento (CG), largura (LG), e distância do núcleo (DN) à parede do gametófito (μm) em genitores e híbridos F₁ UESC-HD13 de *Passiflora*

Secções da	Variávais	P. foetida	P. foetida var. foetida	P. palmeri va	P. palmeri var. sublanceolata	UESC	UESC-HD13
Antera	, ai ia veis	Mín-Máx	Média±dp	Mín-Máx	Média±dp	Mín-Máx	Média±dp
Lóculo 1	SO	72,5 - 100	$83,97 \pm 6,24$	50 - 87,5	$63,55 \pm 10,23$	62,5 - 97,5	$82,67 \pm 6,97$
	ΓG	72,5 - 100	$84,15 \pm 6,41$	50 - 90	$63,82 \pm 10,28$	96 - 09	$81,41 \pm 6,64$
	DN	0 - 45	$18,53 \pm 11,96$	0 - 27,5	$14,03 \pm 8,76$	0 - 42,5	$19,26 \pm 12,29$
Lóculo 2	90	72,5 - 105	86.18 ± 10.06	37,5 - 90	$63,56 \pm 10,10$	62,5 - 95	$80,02 \pm 6,92$
	ΓG	72,5 - 12,5	$86,03 \pm 9,77$	37,5 - 87,5	$62,98 \pm 9,99$	62,5 - 92,5	$79,4 \pm 7,1$
	DN	0 - 20	$21,69 \pm 13,68$	0 - 37,5	$15,96 \pm 8,53$	0 - 40	19.5 ± 12.16
Lóculo 3	ĐO	75,5 - 110	$90,02 \pm 7,92$	50 - 87,5	$63,47 \pm 8,99$	67,5 - 97,5	$78,33 \pm 6,47$
	ΓG	75 - 107,5	$89,62 \pm 7,58$	47,5 - 85	$63,72 \pm 8,70$	55 - 95	$78,23 \pm 6,79$
	DN	0 - 45	$18,59 \pm 11,42$	0 - 30	$14,52 \pm 8,18$	0 - 42,5	$20,63 \pm 12,29$
Lóculo 4	Ð	75 - 105	$91,83 \pm 6,73$	50 - 90	$62,85 \pm 8,79$	65 - 92,5	$79,9 \pm 6,77$
	ΓG	75 - 105	$91,30 \pm 6,44$	50 - 85	$62,50 \pm 8,47$	55 - 95	$79,75 \pm 7,1$
	DN	0 - 50	$20,33 \pm 13,65$	0 - 40	$13,26 \pm 9,70$	0 - 42,5	$19,54 \pm 13,4$

A análise de variância demonstrou não haver diferença significativa (P<0,05) entre os lóculos e as variáveis de comprimento, largura e a maior distância do núcleo à parede do gametófito. Não houve correlação significativa (P<0,05) pelo teste T entre o posicionamento do lóculo e a maior distância do núcleo à parede do GP em *P. palmeri* var. *sublanceolata*, *P. foetida* var. *foetida* e híbridos UESC-HD13, com índices inferiores a 0,09%.

5.4. DISCUSSÃO

A busca pela relação entre o tamanho da antera e botão floral e os estágios da androsporogênese e androgametogênese do grão de pólen tem sido relatada para várias espécies, já que a relação propicia subsídios para estudos de androsporogênese e cultura de anteras *in vitro* (WILLCOX et al., 1990). Existe uma carência desses estudos em passifloras, sendo conhecido apenas os estudos realizados por Souza et al (2002) em maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* O. Deg.). A identificação do estágio meiótico com base apenas no tamanho do botão e antera não foi possível em nenhum dos táxons analisados, assim como observado por Souza et al (2002).

A ausência de sincronismo nos estágios da androsporogênese e os comprimentos de botão e antera encontrada nos híbridos e espécies genitoras foram relatados em outros gêneros, como *Capsicum*, *Glycine* e *Coffea* (ANDRADE et al., 1996; LAUXEN et al., 2003; PICOLI et al., 2003). Em *Capsicum*, por exemplo, as sobreposições ocorreram em ambos os ciclos meióticos em três classes de botão analisados, com diferenciação nos estágios de androgametogênese entre as últimas classes de tamanho e morfologia do botão (PICOLI et al., 2003). Os valores de tamanho do botão e antera observados nos táxons podem ser usados apenas para a discriminação dos estágios da androgametogênese, andrósporos e andrófitos, como observado em *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* O. Deg (SOUZA et al., 2002) e cultivares de *Coffea arabica* L. (ANDRADE et al., 1996).

A assincronia nos estágios de divisão celular observados nos táxons analisados sugere a ocorrência de diversos fatores, como possíveis alterações de fatores como temperatura, luz e condições de estresses à planta (LTIFI; WENZEL, 1994; LUZ et al., 1995; PICOLI et al., 2003). As condições de manejo das plantas podem alterar o processo da meiose, considerando

que possíveis situações de estresse podem influenciar (PICOLI et al., 2003). Vagera (1990) acredita que os desvios das relações entre os estágios meióticos e tamanhos e morfologia do botão floral ocorrem em plantas doadoras de pólen de *Capsicum* sob condições de cultivo em casa de vegetação. Nessas plantas sob cultivo protegido, um dos agentes responsáveis pela assincronia foi a temperatura (KRISTIANSEN; ANDERSEN, 1993). As espécies genitoras de *Passiflora* analisadas encontraram-se sob cultivo protegido em condição de viveiro, podendo haver uma possível correlação entre a condição de cultivo e assincronia nos estágios de divisão e tamanho do botão floral.

Assincronias nos estágios inicial, médio e final da androgametogênese e os tamanhos de botão e antera também foram confirmados por outros autores (SUNDERLAND, 1974; YIN et al., 1982; YE et al., 1994; LAUXEN et al., 2003; PICOLI et al., 2003). Diferentemente de outras culturas, onde os estágios da androgametogênese estão relacionados com a divisão mitótica do núcleo em células generativa e vegetativas e a migração aos pólos celulares (KALTCHUK-SANTOS; BODANESE-ZANETTINI, 2002; LAUXEN et al., 2003), os andrófitos das espécies genitoras do subgênero Dysosmia e dos híbridos F₁ UESC-HD13 foram caracterizados por apresentar apenas um núcleo. A técnica utilizada com carmim acético 1% permitiu visualizar apenas um núcleo na maioria das células analisadas, fato que se contrapõe aos estudos realizados por Souza & Pereira (2000) e García et al. (2002). Estes autores estudaram o desenvolvimento de microsporângios fixados com o auxílio da microscopia eletrônica. Por esta técnica, observou-se a presença de andrófitos maduros binucleados nas espécies analisadas: P. edulis f. flavicarpa, P. caerulea L., P. mooreana Hook. (subgênero Passiflora), P. foetida L., P. chrysophylla Chod. (subgênero Dysosmia), P. misera HBK. e P. suberosa L. (subgênero Decaloba) (SOUZA; PEREIRA, 2000; GARCÍA et al., 2002).

Devido a baixa freqüência de pólens binucleados simétricos nos táxons, caracterizou os estágios do desenvolvimento do gametófito com base no comprimento, na largura e na distância do núcleo à parede desta célula. Os gametófitos binucleados simétricos foram associados a um comportamento irregular, juntamente com aqueles com um ou dois micronúcleos. Segundo Kaltchuk-Santos & Bodanese-Zanettini (2002) o pólen binucleado simétrico é formado após uma divisão equacional, cujo resultado são duas células idênticas do tipo vegetativo. Sua origem deve-se, basicamente, a não formação do vacúolo ou modificação no eixo de divisão da célula (KALTCHUK-SANTOS; BODANESE-ZANETTINI, 2002). Presume-se que o potencial androgenético deste tipo de pólen deve-se à manutenção de determinantes esporofíticos (mRNA e ribossomos) em seu citoplasma (KALTCHUK-

SANTOS; BODANESE-ZANETTINI, 2002). Desta forma, o pólen resultante de divisão simétrica poderia ser definido como uma estrutura embriogênica induzida (ZHAO et al., 1996).

Semelhantes aos resultados encontrados nos táxons analisados, em estudos com Phaseolus vulgaris L. foram considerados atípicos os andrófitos que apresentavam dois núcleos simétricos e aqueles que apresentaram dois a três nucléolos de diâmetros iguais ou diferentes (RODRIGUES et al., 2007), entre outros tipos atípicos. Nesses estudos, em um mesmo botão foram observados estágios unicelulares e bicelulares. As alterações encontradas foram resultantes, possivelmente, de falhas da meiose e até mesmo de ocasionais duplicações cromossômicas, indicando certo grau de instabilidade na meiose da cultivar analisada (RODRIGUES et al., 2007). A formação de micronúcleos ou nucléolos de diferentes tamanhos nos andrófitos das espécies genitoras e híbridos (Figura 5.6) estaria, dessa maneira, associada à condução irregular da meiose. Foram observadas processos de não disjunção cromossômica e segregação irregular aos pólos das células durante os estágios de metáfase e anáfase da meiose I e II de ambas espécies genitoras, P. palmeri var. sublanceolata e P. foetida var. foetida, e híbridos UESC-HD13 (ABREU et al., 2007). Eventos de não disjunção e segregação irregular nos táxons analisados podem estar associadas à presença de genes mutantes, relatados anteriormente para outras culturas (PALMER et. al, 1992; PAGLIARINI, 2000; CAETANO-PEREIRA; PAGLIARINI, 2001; BIONE et al., 2002; MENDES-BONATO et al., 2006).

A presença dos andrófitos binucleados simétricos nos táxons poderia também estar relacionada a fatores externos que promoveriam a divisão mitótica precoce (REYNOLDS, 1997; KALTCHUK-SANTOS; BODANESE-ZANETTINI, 2002). O estresse abiótico, por exemplo, parece ser um dos sinais para iniciar o processo androgenético, uma vez que as proteínas de estresse são detectadas durante a indução da embriogênese haplóide (KALTCHUK-SANTOS; BODANESE-ZANETTINI, 2002). Tais proteínas seriam responsáveis pela reprogramação da célula e pela proteção à condição estressante promovendo a formação de dois núcleos (KIVIHARJU; PEHU, 1998). Em Glycine max (L.) Merr., andrófitos binucleados são considerados, por Kaltchuk-Santos et al. (1997) e Liu & Zhao (1986), como uma rota androgênica importante, bem como andrófitos bicelulares simétricos, como citado por Wilson et al. (1978) e Maheshwari et al. (1982). Nessa cultura, nos botões florais sujeitos à baixa temperatura ocorre um aumento no número de andrósporos que se dividem em duas células iguais (BOUHARMONT, 1977; WILSON et al., 1978). Kaltchuk-Santos et al. (1993) observaram em G. max uma baixa frequência de andrófitos

binucleados atípicos sugerindo, ainda, que esses grãos poderiam surgir a partir da primeira mitose simétrica em pólens tipo P (HEBERLE-BORS; REINERT, 1979).

Em estudos com *Hordeum vulgare* cv. Akka a ocorrência de andrófitos dimórficos (anômalos) foi associada a localização na porção basal da antera (DALE, 1975). Nesse estudo, procurou-se associar os lóculos da antera, ao longo do comprimento dos microsporângios, e os estágios de migração do núcleo à parede dos gametófitos. Não se observou correlação entre as diferentes secções da antera aos estágios de desenvolvimento no GP dos táxons de passifloras analisados. Em grão de pólen do clone CP76 de *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae), assim como nos táxons de passifloras analisados em grãos normais e anômalos, os grãos anômalos foram presente em todo o microsporângio (OLIVEIRA et al., 2001).

5.5. CONCLUSÕES

Nas espécies *P. palmeri* var. *sublanceolata* e *P. foetida* var. *foetida*, ambos do subgênero *Dysosmia*, e híbridos F₁ UESC-HD13, as fases meióticas da androsporogênese e fases da androgametogênese não puderam ser associadas aos tamanhos de botão e antera. Para futuros trabalhos com cultura de anteras 'in vitro' indica-se a coleta de botões florais a partir 5,44 mm em *P. palmeri* var. *sublanceolata*, 2,73 mm em *P. foetida* var. *foetida* e 5,03 mm nos híbridos UESC-HD13, observando-se que o tamanho dos botões florais e anteras não são critérios indicativos de boa fase androgenética. Entretanto, estas espécies e híbridos podem ser utilizados em pesquisas de cultura de anteras em que é necessária a manipulação da célula gamética uninucleada em programas e melhoramento.

Os GP das espécies e híbridos até o momento da antese foram caracterizados como uninucleados. A presença de células com dois núcleos foi considerada uma anomalia; uma divisão celular precoce devido a fatores genéticos ou abióticos. A presença de micronúcleos foi associada à segregação irregular e não disjunção cromossômica, eventos irregulares observados durante o processo meiótico em outros estudos.

5.6. AGRADECIMENTOS

O autor agradece à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela bolsa de estudos do primeiro autor e apoio financeiro e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) pelo apoio financeiro à pesquisa.

5.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, P.P.; SOUZA, M.M.; LESSA, V.F.; SANTOS, E.A.; ALMEIDA, A.A.F.; SILVA, D.C.; VIANA, A.P. Comportamento meiótico e cariotipagem de genitores e híbrido interespecífico de *Passiflora* UESC-HD13 com potencial ornamental. In: I WORKSHOP SOBRE PESQUISAS COM PASSIFLORAS NA UESC, 2007, Ilhéus, BA. **Resumos** do I Workshop sobre Pesquisas com Passifloras na UESC. Ilhéus, BA: UESC, 2007. v. 01. p. 65-65. 2007.

ANDRADE, L.M.C.O.; DAVIDE, L.C.; PASQUAL, M. Relação entre a microsporogênese e o tamanho do botão floral e de anteras em café (*Coffea arabica* L.). In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 42. Caxambu, MG. **Programa e Resumos** do Congresso Nacional de Genética. Caxambu: SBG. p.138 1996.

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.

BIONE, N.C.P.; PAGLIARINI, M.S.; ALMEIDA, L.A. New asynaptic mutation in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) Associeted with total absence of sister Chromatid Cohesiveness. **Cytologia**, v.67, p. 177-183. 2002.

BOUHARMONT, J. Cytology of microspores and calli after anther culture in *Hordeum vulgare*. **Caryologia**, v. 30, p. 351-360. 1977.

CAETANO-PEREIRA, C.M.; PAGLIARINI, M.S. A new meiotic abnormality in *Zea mays*: multiple spindles associated with abnormal cytokinesis in both divisions. **Genome**, v. 44, p. 865-871. 2001.

CERVI, A.C. Espécies de Passiflora 1. (Passifloraceae) publicadas e descritas nos últimos 55 anos (1950 –2005) na América do Sul e principais publicações brasileiras. **Estudos de Biologia**, v. 27, n. 61, p. 19-24. 2005.

CRUZ, C. D. Programa Genes, estatística experimental e matrizes. Viçosa: Editora UFV. 2006.

DALE, P.J. Pollen dimorphism and anther culture in barley. Planta, v. 127, p.213-220. 1975.

GARCÍA, M.T.A.; GALATI, B.G.; ANTON, A.M. Microsporogenesis, microgametogenesis and pollen morphology of *Passiflora* spp. (Passifloraceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 139, p. 383–394. 2002.

GRANDO, M.F.; MORAES FERNANDES, M.I.B. Proposta de um modelo para explicar a embriogênese do grão de pólen *in vitro*. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL. Brasília, DF. **Anais** do Encontro Brasileiro de Biotecnologia Vegetal. Brasília: Redbio, 1, resumo 69, p.1-1. 1993.

HANSEN, A.K.; GILBERT, L.E.; SIMPSON, B.B.; DOWNIE, S.R.; CERVI, A.C.; JANSEN, R.K. Phylogenetic Relationships and Chromosome Number Evolution in *Passiflora*. **Systematic Botany**, v. 31, n. 1, p. 138-150. 2006.

HEBERLE-BORS, E.; REINERT, J. Androgenesis in isolated pollen cultures of *Nicotiana tabacum*: dependence upon pollen development. **Protoplasma**, v.99, p. 237-245. 1979.

JOHANSEN, G.A. **Plant Microtechnique.** Bombay: Tata MacGraw-Hill Book Company, 25-48p. 1940.

KALTCHUK-SANTOS, E.; BODANESE-ZANETTINI, M.H.; MUNDSTOCK, E. Pollen dimorphism in soybean. **Protoplasma**, v. 174, p.74-78. 1993.

KALTCHUK-SANTOS, E.; MARIATH, J.E.; MUNDSTOCK, E.; HU, C.; ZANETTINI, M.H.B. Cytological analysis of early microspore divisions and embryo formation in cultured soybean anthers. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 49, p.107-115. 1997.

KALTCHUK-SANTOS, E.; BODANESE-ZANETTIN, M.H. Androgênese: uma rota alternativa no desenvolvimento do pólen. **Ciência Rural**, v.32, n. 1, p. 165-173. 2002.

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

KIVIHARJU, E.; PEHU, E. The effect of cold and heat pretreatments on anther culture response of *Avena sativa* and *A.sterilis*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 54, p. 97-104. 1998.

KRISTIANSEN, K.; ANDERSEN, S.B. Effects of donor plant temperature, photoperiod, and age on anther culture response of *Capsicum annuum* L. **Euphytica**, v. 67, p. 105-109. 1993.

LAUXEN, M.S.; KALTCHUK-SANTOS, E.; HU, C.; CALLEGARI-JACQUES, S.M.; BODANESE-ZANETTINI1, M.H. Association between floral bud size and developmental stage in soybean microspores. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.46, n.4, p. 515-520. 2003.

LITIFI, A.; WENZEL, G. Anther culture of hot and sweet pepper (*Capsicum annuum* L.): influence of genotype and plant growth temperature. **Capsicum and Eggplant Newsletter**, [S.l.], v.13, p.74-77. 1994.

LIU, D.P.; ZHAO, G.L. Callus formation from pollen culture in vitro of soybean. **Soybean Science,** v. 5, p. 17-20. 1986.

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

LUZ, J.M.Q.; SILVA, R.; DAVIDE, L.C.; PINTO, J.E.B.P. Relação entre os estádios de desenvolvimento dos micrósporos e as características morfológicas do botão floral em pimentão (*Capsicum annuum* L.). **Ciência Rural**, v.25, p.385-388. 1995.

MAHESHWARI, S.C., RASHID, A.; TYAGI, A.K. Haploid from pollen grains - retrospect and prospect. **American Journal of Botany**, v. 69, p. 865-879. 1982.

MENDES-BONATO, A.B.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Abnormal spindle orientation during microsporogenesis in an interspecific *Brachiaria* (Gramineae) hybrid. **Genetics and Molecular Biology**, v.29, p. 122-125. 2006.

OLIVEIRA, J.M.S.; MARIATH, J.E.A.; BUENO, D.M. Grãos de pólen anômalos no clone CP76 de *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n.4, p. 425-433. 2001.

PAGLIARINI, M.S. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. **Genetics and Molecular Biology,** v.23, n. 4, p. 997–1002. 2000.

PALMER, R.G.; ALBERTSEN, M.C.; HORNER, H.T.; SKORUPSKA, H. Male sterility in soybean na maize: Developmental comparisons. **The nucleus**, v.35, n. 1, p. 1-18. 1992.

PICOLI, E.A.; CARVALHO, C.R.; FARI, M.; OTONI, W.C. Associação de fases meióticas e estádios dos micrósporos com características morfológicas de botões florais de pimentão. **Ciência e Agrotecnologia,** v. 27, n.3, p. 708-713. 2003.

REYNOLDS, T.L. Pollen Embryogenesis. Plant Molecular Biology, v. 33, p.1-10. 1997.

RODRIGUES, L.R. **Eventos Embriogênicos emTecidos Estaminais de** *Glycine max* **(L.) Merrill.** Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) – Instituto de Biociências. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 315 p. 2004.

RODRIGUES, L.R.; BEAUVALET, C.S.; OLIVEIRA, J.M.S.; MARIATH, J.E.A. Etapas da Androsporogênese e da Androgametogênese de *Phaseolus vulgaris* L. de Acordo com o Tamanho do Botão Floral. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 777-779. (Supl. 1). 2007.

SANGWAN, R.S.; CAMEFORT, H. Microsporogenesis in *Datura metel* L. **Cytol. Biol. Végét. Bot.**, v.5, p.265-282. 1982.

SAX, K.; EDMONDS, H.W. Development of male gametophyte in *Tradescantia*. **Botanical Gazette**, v.95, p.156-163. 1933.

SEMIR, J.; BROWN, K.S.JR. Maracujá: a flor da paixão, **Revista Geográfica Universal**, v. 2, p. 40-47. 1975.

SILVA A.C., SÃO JOSÉ A.R. Classificação botânica do maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.), **Maracujá, Produção e mercado.** UESB, Vitória da Conquista, p. 1-5. 1994.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S. Development of pollen grain in yellow passion-fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*; Passifloraceae). **Genetics and Molecular Biology,** v. 23, n.2, p. 469-473. 2000.

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 Agrotecnica**, v.26, n. 6, p.1209-1217. 2002.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; VIANA, A.P.; PEREIRA, M.G.; BERNACCI, L.C.; SUDRÉ, C.P.; SILVA, L.C. Meiotic irregularities and pollen viability in *Passiflora edmundoi* Sacco (Passifloraceae). **Caryologia**, v. 56, p. 161-169. 2003.

SUNDERLAND, N. Anther culture as a means of haploid production. In: Kasha, K. J. H. (Ed.). **Haploids in higher plants**. **Advances and potential.** University of Guelph, Guelph. p. 91-122. 1974.

VAGERA, J. Pepper (*Capsicum* spp.): in vitro induction of haploids. In: BAJAJ, Y. P. S. **Biotechnology in Agriculture and Forestry**. [S.l.], v. 12, p. 375-392. 1990.

VANDERPLANK, J.; BLANCO, E.G.; FEUILLET, C.; FRANK, A.; KING, L.; KUGLER, E.; LAURENS, C.; MACDOUGAL, J.; SKIMINA, T. The International *Passiflora* Registrer 2003, *Passiflora* Society International, p. 1-36. 2003.

VIANA A.P., PEREIRA T.N.S., PEREIRA M.G., SOUZA M.M., MALDONADO J.F.M., AMARAL, A.T.JR. Genetic diversity among yellow passion fruit commercial genotypes and among *Passiflora* species using RAPD. **Revista Braileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 489-493. 2003.

WILLCOX, M.C.; REED, S.M.; BURNS, J.A.; WYNNE, J.C. Microsporogenesis in peanut (*Arachis hypogaea*). **American Journal of Botany**, v.77, n.10, p. 1257-1259. 1990.

WILSON, H.M., MIX, G.; FOROUHGI-WEHR, B. Early microspore divisions and subsequent formation of microspore calluses at high frequency in anthers of *Hordeum vulgare*. **Journal of Experimental Botany**, v. 29, p.227-238. 1978.

YE, X.G.; FU, Y.Q.; WANG, L.Z. Study on several problems of soybean anther culture. **Soybean Sciences**, v.13, p. 193-199. 1994.

YIN, G.C.; ZHU, Z.Y.; XU, Z.; CHEN, L.; LI, X.Z.; BI, F.Y. Studies on induction of pollen plant and their androgenesis in *Glycine max* (L.) Merr. **Soybean Sciences**., v.1, p. 69-76. 1982.

ZHAO, J.P.; SIMMONDS, D.H.; NEWCOMB, W. Induction of embryogenesis with colchicine instead of heat in microspores of *Brassica napus* L. ev. Topas. **Planta**, v. 198, p. 433-439. 1996.

Efeitos do Sombreamento nas Características Fotossintéticas nos Híbridos Interespecíficos F₁ Ornamentais entre *Passiflora foetida* var. *foetida* x *Passiflora palmeri* var. *sublanceolata*

RESUMO

O conhecimento dos efeitos do sombreamento sobre as características fotossintéticas de passifloras híbridas ornamentais é importante para se determinar níveis ótimos de irradiância para o cultivo destas plantas na ornamentação de interiores, assim como para subsidiar estudos sobre o crescimento e desenvolvimento de plantas. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de três níveis de sombreamento sobre as características fotossintéticas de dois híbridos F₁ de passifloras ornamentais (UESC-HD13-141 e UESC-HD13-133) entre Passiflora foetida var. foetida x Passiflora palmeri var. sublanceolata previamente selecionados por sua beleza intrínseca. Níveis mais elevados de sombreamento sob os híbridos resultou em decréscimos menos acentuados na taxa fotossintética (A), na condutância estomática (g_s) e na transpiração (E) foliar, indicando a adaptação de ambos os híbridos a ambientes sombreados. A razão C_i/C_a apresentou valores inferiores nos híbridos condicionados ao nível de 75% de sombreamento. Os valores médios de F_v/F_m em ambos os híbridos foram similares e ficaram compreendidos entre 0,75 e 0,85, que é indicativo da eficiente conversão da energia luminosa em nível de PS2. Os valores médios de F_0 nos híbridos foram superiores a 200 e foram indicativos da energia de dissipação (fluorescência) no complexo antena Os parâmetros derivados das curvas de saturação de luz e as elevadas taxas de A, g_s e E de ambos os híbridos nos tratamentos de 75% se sombreamento demonstra a capacidade de aclimatação dessa espécie a ambientes com baixa RFA. Os híbridos apresentam características de plantas tolerantes à sombra podendo, desta maneira, serem utilizadas para a ornamentação de interiores, em locais com pouca iluminação natural.

Palavras-chave: Radiação fotossinteticamente ativa, taxa fotossintética líquida, condutância estomática, transpiração foliar, emissão de fluorescência.

6.1. INTRODUÇÃO

Entre os diversos componentes do ambiente, a luz é primordial para o crescimento e desenvolvimento das plantas, não só por fornecer energia para a fotossíntese, mas, também, por fornecer sinais que regulam seu desenvolvimento por meio de receptores de luz sensíveis a diferentes intensidades, qualidade espectral e estado de polarização (ZANELLA et al., 2006). Dessa maneira, modificações nos níveis de irradiância aos quais uma espécie está adaptada e em crescimento podem condicionar diferentes respostas fisiológicas em suas características bioquímicas, anatômicas e de crescimento (ATROCH et al., 2001). Diversos estudos têm evidenciado a plasticidade fisiológica de algumas espécies vegetais em relação à radiação fotossinteticamente ativa (RFA) disponível por meio de avaliações de crescimento inicial em relação aos diferentes níveis de sombreamento (ALMEIDA et al., 2005).

Em qualquer ambiente, natural ou artificial, o RFA varia temporal e espacialmente, induzindo as plantas a desenvolverem mecanismos de aclimatação e plasticidade à variação destes regimes de luz (ZHANG; CHEN, 2003). Os baixos níveis de irradiância ocasionam estresses nas plantas, gerados pela diminuição da taxa de assimilação de CO₂, decréscimo na produção de carboidratos e diminuição no crescimento e desenvolvimento destas plantas (LAMBERS et al., 1998). Entretanto, as plantas desenvolveram várias estratégias para enfrentar tais estresses. Adaptações na morfologia, anatomia e fisiologia das plantas submetidas as condições de sol e sombra têm sido relatadas na literatura (ZANELLA et al., 2006).

O crescimento e a adaptação da planta a diferentes condições de ambiente estão relacionados com a sua eficiência fotossintética, sendo associados, entre outros fatores, aos teores de clorofila foliar (ALMEIDA et al., 2005) e a atividade da Rubisco (TAIZ; ZEIGER, 2004). Diversos fatores externos e internos afetam a biossíntese de clorofilas, por isso, os seus teores foliares podem variar de maneira significativa. Entre estes fatores, a luz é essencial a sua síntese (WHATLEY; WHATLEY, 1982). A clorofila está sendo constantemente sintetizada e destruída (foto-oxidação) em presença de luz, porém, sob intensidades de

radiações luminosas mais elevadas ocorre maior degradação, e o equilíbrio é estabelecido a uma concentração mais baixa. Neste sentido, folhas de sombra possuem concentração maior de clorofila b do que as folhas de sol (KRAMER; KOZLOWSKI, 1979). O sucesso na adaptação de uma espécie em ambientes com baixa ou alta irradiância pode ser baseado em quanto é eficaz e na rapidez com que os padrões de alocação e comportamento fisiológico são ajustados em ordem, para maximizar a aquisição de recursos em um ambiente (DIAS-FILHO, 1997). As folhas desenvolvidas sob baixa irradiância devem ser capazes de capturar a luz disponível no ambiente em que se desenvolvem e convertê-la em energia química com a maior eficiência possível (PIRES, 2008).

As principais variáveis observadas nas medições da fluorescência da clorofila a são: fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m), fluorescência variável (F_v), rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m), taxa relativa de transporte de elétrons (ETR), *quenching* fotoquímico (qP) e *quenching* não-fotoquímico (qN). O F_0 representa a emissão de fluorescência das moléculas de clorofilas a excitadas no centro de reação abertos e do complexo coletor de luz do PS2 (MATHIS; PAILLOTIN, 1981; KRAUSE; WEISS, 1991). O F_m indica a completa redução da quinona A (Qa) a partir da incidência de um pulso de luz no centro de reação Qa, gerando fluorescência máxima (SILVA et al., 2001; 2006).

O sombreamento artificial proporcionado pelo uso de telas pretas de polipropileno reduz a luminosidade no interior dos ambientes protegidos e atenua as altas temperaturas. Essa técnica promove a diminuição da radiação solar e consequentemente reduz a fotossíntese, além de proporcionar um aumento da radiação na faixa do infravermelho, que chegaria em excesso até as plantas. Alem disso, alguns tipos de sombreamento podem reduzir a taxa de renovação do ar do ambiente protegido, diminuindo o efeito da redução da temperatura interna (MATALLANA-GONZALEZ; MONTERO-CAMACHO, 1993).

Híbridos de passifloras vêm sendo utilizados para ornamentação desde o séc. XIX em cercas, muros e pérgulas (VANDERPLANK, 2000; PEIXOTO, 2005) sendo conhecido atualmente cerca de 685 híbridos de passifloras registrados (VANDERPLANK et al., 2003, KING, 2007) e são amplamente cultivados nos países da Europa e no EUA. No Brasil o cultivo de *Passiflora* ornamental é praticamente inexistente (PEIXOTO, 2005) devido principalmente a um fator cultural ou inexistência de programas específicos para obtenção e divulgação deste potencial. Estes híbridos são possivelmente cultivados em vasos e em ambientes protegidos, como o híbrido *P*. 'Jara' (PEIXOTO, 2005). Entretanto, estudos a cerca do comportamento fisiológico de passifloras ornamentais tropicais adaptadas a ambientes de interiores são escassos. Dessa maneira, visando o conhecimento na relação dos ambientes

sombreados e sua influência no cultivo de híbridos F₁ de passifloras ornamentais, este estudo teve como objetivo principal avaliar os efeitos de três níveis de sombreamento sobre as características fotossintéticas de dois híbridos de *Passiflora foetida* var. *foetida* x *Passiflora palmeri* var. *sublanceolata*, previamente selecionados por sua beleza intrínseca.

62. MATERIAIS E MÉTODOS

6.2.1. MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CULTIVO

Foram utilizadas como material de estudo clones de dois híbridos ornamentais, UESC-HD13-141 e UESC-HD13-133, resultantes do cruzamento entre *P. foetida* var. *foetida* L.♂ x *P. palmeri* var. *sublanceolata* Killip ♀, previamente selecionados por sua beleza intrínseca. Os clones foram obtidos de plantas mantidas em sombreamento artificial no Campus da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), localizado no município de Ilhéus, BA, 39°13′59′′ de longitude oeste e 14°45′15′′ de latitude sul. Os clones foram cultivados em vasos de cerâmica e cimento com capacidade de 43L, contendo como substrato solo, matéria orgânica e areia lavada na proporção de 3:1:1, com bambus como suportes para as plantas. A adubação foi realizada a cada 90 dias com 3,9g de uréia, 34,3g de fosfato monoamônico (MAP) e 15g de cloreto de potássio. A cada 15 dias aplicou-se uma solução de micronutrientes e uréia (23,3 g/L). Para controle de nematóide aplicou-se 30g de Furadan® por vaso. Foram realizadas aplicações de Sevin® 480 SC para o controle da lagarta *Agraulis vanillae vanillae*.

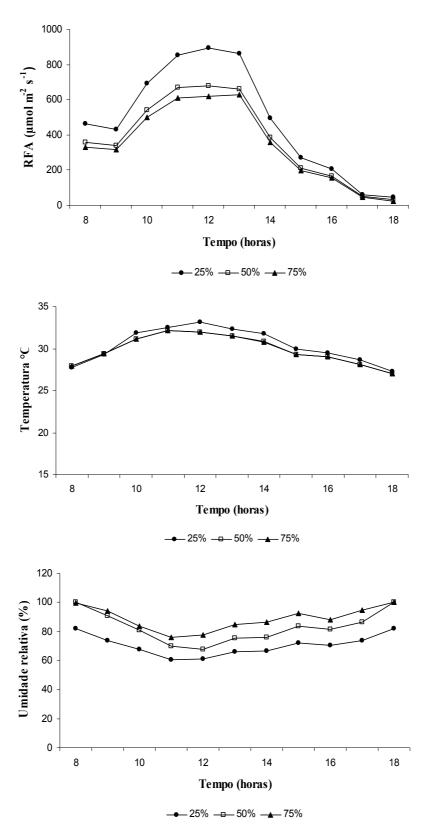


Figura 6.1. Curso diurno da radiação fotossinteticamente ativa (RFA), temperatura e umidade relativa do ar, em cada ambiente sombreado, medidos ao nível da extremidade superior das plantas entre 8 e 18h.

O experimento foi conduzido, no período de novembro de 2007 a maio de 2008. O sombreamento artificial foi obtido com telas plásticas pretas do tipo 'sombrite' fixadas em armações de madeira com dimensões de 5x5x2m³ para cada nível de luz, sob condições de campo. Estas estruturas propiciaram a incidência de 25, 50 e 75% de sombreamento. Os valores da radiação fotossinteticamente ativa (RFA), temperatura e umidade relativa do ar foram medidos ao nível da extremidade superior das plantas e obtidos com um sensor de radiação luminosa S-LIA-M003 acoplado a uma estação climatológica Hobo Micro Station Data Logger (Onset, EUA) (Figura 6.1). Os dados correspondentes às variáveis climáticas de radiação global, temperatura média, umidade relativa do ar (UR) e precipitação, referentes ao período do experimento, foram fornecidos pela Estação Micrometeorológica da UESC localizada próxima às instalações do experimento (Tabela 6.1).

Tabela 6.1. Variáveis climáticas referentes ao período experimental (novembro de 2007 à maio de 2008)

Mês/Ano	Radiação Global (W/m²)	Temp. Média (°C)	UR (%)	Precipitação Pluviométrica (mm)
Novembro/2007	188.764,3	23,7	84,8	401,8
Dezembro/2007	246.965,4	23,5	87,8	251,8
Janeiro/2008	353.862,4	26,3	80,9	200,2
Fevereiro/2008	949.3967,0	24,5	88,0	690,2
Março/2008	1042.5366,0	23,4	89,4	424,6
Abril/2008	1100.0933,8	23,6	94,6	1168,8
Maio/2008	980.6659,0	23,4	88,9	65

6.2.2. HIBRIDAÇÕES INTERESPECÍFICAS

Para a obtenção do híbrido interespecífico, cinco genótipos do genitor feminino *P. palmeri* var. *sublanceolata* (planta receptora de pólen) foram fertilizados utilizando-se um

'bulk' de pólen de cinco genótipos de P. foetida var. foetida. Para o controle da polinização, os botões florais em pré-antese dos genitores foram selecionados e protegidos com saco de papel, evitando a visita de polinizadores ou a fecundação por grãos de pólen carregados pelo vento, conforme indica Vanderplank (2000). No dia seguinte, realizou-se a polinização controlada uma hora após a antese para evitar polinizações em flores sem curvatura no estigma por não estarem ainda receptivas (SOUZA et al., 2004). As anteras dos botões em antese de cada espécie foram coletadas separadamente. Após a polinização, as flores foram novamente protegidas até 24 h. O cruzamento foi identificado com etiqueta junto à flor polinizada contendo os seguintes dados: a espécie doadora de pólen, a espécie receptora de pólen e data da hibridação. Após cinco dias, foi observada a permanência ou abortamento do botão floral e de frutos em início de desenvolvimento. Os frutos foram envolvidos por redes de nylon para evitar danos e perdas. Parte das sementes obtidas dos frutos colhidos foi semeada em bandejas de isopor de 128 células e utilizando-se substrato orgânico ou areia, em casa de vegetação. A outra parte das sementes obtidas vêm sendo mantida em refrigeração, aproximadamente a 10°C. Todas as sementes representantes de um cruzamento foram consideradas sua progênie. Os genótipos representantes da progênie F1 foram codificados apropriadamente, com a sigla UESC-HD13. Após a germinação, as plantas híbridas foram transplantadas para vasos contendo 43L de solo com cerca de 30 a 40 dias de vida.

6.2.3. TROCAS GASOSAS FOLIARES

As medições de trocas gasosas foliares foram realizadas aos 170 dias após a exposição dos clones ao sombreamento, entre 8 e 12h, em folhas maduras, utilizando-se um sistema portátil para medições de fotossíntese LI-6400 (Li-Cor, EUA), equipado com uma fonte de luz artificial 6400-02B RedBlue. As curvas de saturação de luz foram obtidas para os clones dos dois híbridos em estudo (UESC-HD13-141 e UESC-HD13-133) cultivados nos três níveis de sombreamento (25, 50 e 75%), em sete níveis de radiação fotossinteticamente ativa (RFA) (0, 25, 50, 100, 300, 600 e 800μmol fótons m⁻²s⁻¹), iniciando-se a seqüência do valor superior para o inferior. O fluxo de CO₂ foi ajustado, mantendo-se uma concentração de 380μmol mol⁻¹ no interior da câmara. As taxas de fotossíntese líquida (*A*) e de transpiração (*E*) por unidade

de área foliar e a condutância estomática ao vapor de água (g_s) foram estimadas a partir dos valores da variação de CO_2 e da umidade no interior da câmara, determinados pelo analisador de gases por infravermelho do referido aparelho. A razão entre as concentrações interna e atmosférica de CO_2 (C_i/C_a) também foi calculada. Ajustes para as curvas de saturação de luz foram realizados mediante um modelo de regressão não-linear para equações exponenciais. Para a construção das curvas de resposta da taxa fotossintética líquida (A) à radiação fotossinteticamente ativa (RFA), foi usada a seguinte equação: $A = A_{max}$ ($1 - \exp(-\alpha RFA/A_{max})$) $- R_d$, onde A_{max} é a taxa fotossintética máxima em irradiância de saturação, α a eficiência quântica aparente e R_d a taxa respiratória na ausência de luz. R_d corresponde à leitura realizada quando RFA = 0µmol fótons m⁻² s⁻¹. (IQBAL et al., 1997): A partir dos valores ajustados, foi calculada a irradiância de compensação (Γ_{RFA}), pela equação $\Gamma_{RFA} = R_d/\alpha$.

6.2.4. EMISSÃO DE FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA

A cinética de indução da fluorescência da clorofila foi acompanhada simultaneamente com as medições de trocas gasosas foliares, utilizando-se o sistema portátil de medição de fotossíntese Li-Cor LI-6400 com câmara foliar modelo LI-6400-40. Antes das medições de fluorescência, colocou-se um clipe na folha para que a mesma permanecesse no escuro por um período de 30 minutos e os centros de reações dos fotossistemas 1 (PS1) e 2 (PS2) da fase fotoquímica da fotossíntese adquirissem a condição de oxidados. Durante as medições de fluorescência foram obtidas automaticamente a fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m) e o rendimento quântico máximo do PS2 (F_v/F_m), considerados como indicadores mais precisos dos efeitos de estresses ambiente sobre a fotossíntese (BALL et al., 1994; LICHTENTHALER et al., 1996; MAXWELL; JOHNSON, 2000).

6.2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado em fatorial 3¹ x 2⁴, correspondente aos três níveis de sombreamento (25, 50 e 75%) e aos dois híbridos (UESC-HD13-141 e UESC-HD13-133), respectivamente, com quatro repetições (clones) para cada híbrido. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os valores médios comparados pelo teste de Tukey (P < 0,05), utilizando o programa GENES Versão 2006.4.1 (CRUZ, 2004).

6.3. RESULTADOS

Os valores médios para as curvas de resposta da fotossíntese líquida (A) à radiação fotossinteticamente ativa (RFA) dos híbridos UESC-HD13-141 e UESC-HD13-133 aos três níveis de irradiância estão apresentadas na Figura 6.2. A Tabela 6.2 apresenta as variáveis derivadas das curvas de saturação de luz ($A_{\rm max}$, $R_{\rm d}$, $\Gamma_{\rm RFA}$ e α) para ambos os híbridos. Não houve diferença significativa (P< 0,05) para os valores de $A_{\rm máx}$ nos níveis de sombreamento 25 e 50% para o híbrido UESC-HD13-141. Em contrapartida, não se verificou diferença significativa (P<0,05) entre os valores de $A_{\rm máx}$ nos níveis de sombreamento 25 e 75% no híbrido UESC-HD13-133. O mesmo foi entre os níveis de sombreamento e as variáveis $R_{\rm d}$ e α . Não houve diferença significativa (P< 0,05) entre as variáveis fotossintéticas para os dois genótipos de híbridos interespecíficos F_1 ornamentais submetidos aos três níveis de sombreamento.

O híbrido interespecíficos F_1 UESC-HD13-141 apresentou valor máximo de $A_{\rm max}$ no tratamento com 50% enquanto que o valor máximo para o híbrido UESC-HD13-133 foi observado no sombreamento de 75%. Os valores máximos de $R_{\rm d}$ e $\Gamma_{\rm RFA}$, em ambos os híbridos interespecíficos F_1 , foram encontrados sob 50% de sombreamento. Baixos valores de $A_{\rm max}$ e $R_{\rm d}$ foram observados no híbrido UESC-HD13-133, quando comparados ao híbrido UESC-HD13-141 (Tabela 6.2).

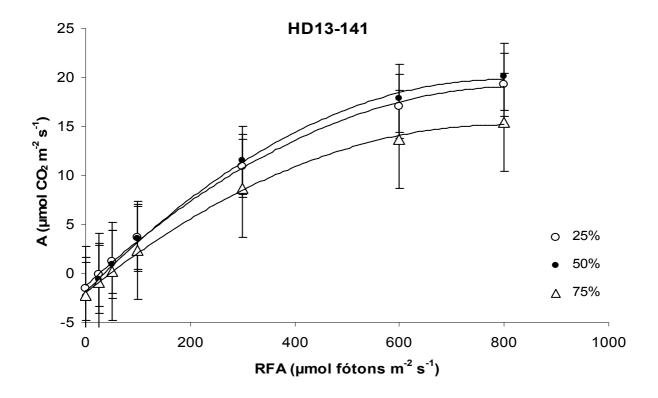
Tabela 6.2. Valores médios das variáveis fotossintéticas derivadas das curvas de saturação de luz para os híbridos interespecíficos F₁ ornamentais de passifloras, UESC-HD13-141 e UESC-HD13-133, cultivadas em três níveis de sombreamento, aos 170 dias após a aplicação dos tratamentos

Híbrido	Tratamento	A _{max} *	R_{d}	Γ_{RFA}	α	
		μmol m ⁻² s ⁻¹		μmol μmol ⁻¹		
HD13-141	25%	$24,41 \pm 5,72 \text{ a}$	$1,55 \pm 0,59$ b	$26,37 \pm 8,78 \mathbf{b}$	0.06 ± 0.004 a	
	50%	$25,44 \pm 4,82$ a	$2,20 \pm 1,45 $ a	$31,55 \pm 16,44$ a	$0.07 \pm 0.02 \; \mathbf{a}$	
	75%	$20.08 \pm 2,57$ b	$2.16 \pm 0,68$ a	$28,40 \pm 6,00 \ \mathbf{b}$	0.08 ± 0.02 a	
CV (%)		16,78	20,81	24,56	11,09	
HD13-133	25%	$18,91 \pm 3,10 \text{ a}$	$1,64 \pm 0,84$ a	$27,37 \pm 9,16$ c	0.06 ± 0.02 a	
	50%	$12,62 \pm 2,83$ b	$1,72 \pm 0,26$ a	$33,12 \pm 9,34$ a	0.05 ± 0.01 a	
	75%	$19.23 \pm 4,18 \; \mathbf{a}$	1.62 ± 0.29 a	$30,18 \pm 13,48 \ \mathbf{b}$	0.06 ± 0.02 a	
CV (%)		20,37	36,84	31,33	26,17	

^{*} A_{max} = taxa fotossintética máxima em irradiância de saturação, R_{d} = taxa respiratória na ausência de luz, Γ_{RFA} = irradiância de compensação e α = eficiência quântica aparente. *Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Houve diferença significativa (P<0,05) para as variáveis A, g_s , E e C_i/C_a entre níveis de sombreamento. Por outro lado, não se observou diferenças significativas (P<0,05) entre os genótipos. O teste de Tukey demonstrou haver diferença significativa (P<0,05) entre os parâmetros referidos. Os maiores valores de A para os híbridos UESC-HD13-141 e UESC-HD13-133 foram de 20,06 e 15,22 μ mol CO₂ m⁻²s⁻¹ nos níveis de 50% e 75% de sombreamento, respectivamente (Tabela 6.3). Tais valores caracterizam ambos híbridos como espécies tolerantes ao sombreamento.

Ocorreu aumento de g_s e E paralelamente com o incremento do nível de sombreamento, atingindo valores máximos nos níveis de 75% (Tabela 6.3), cujos valores superiores de E foram observados para o híbrido UESC-HD13-133. Em geral, ambos híbridos apresentaram valores de C_i/C_a mais elevados no nível de 75% de



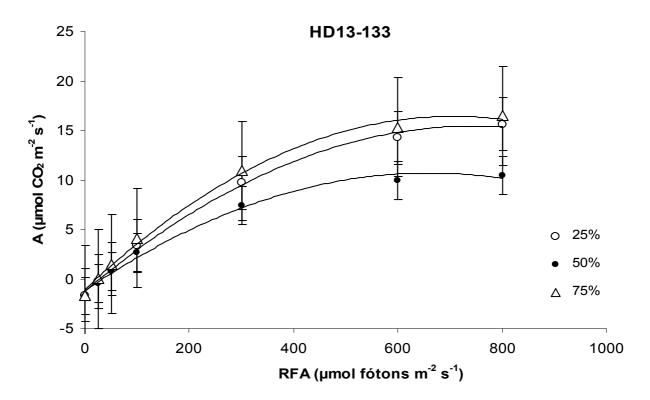


Figura 6.2. Curvas de resposta da taxa fotossintética líquida (*A*; μmol CO₂ m⁻² s⁻¹) à radiação fotossinteticamente ativa (RFA; μmol fótons m⁻² s⁻¹) em híbridos interespecíficos F₁ ornamentais de passifloras, UESC-HD13-141 e UESC-HD13-133, cultivadas em diferentes níveis de sombreamento, aos 170 dias após a aplicação dos tratamentos.

sombreamento, ao passo que os valores mínimos foram observados no nível de 25% para UESC-HD13-141 ($C_i/C_a = 0.79$) e no nível de 50% para UESC-HD13-133 ($C_i/C_a = 0.71$).

Tabela 6.3. Valores médios da taxa fotossintética líquida (*A*), condutância estomática (*g*_s), taxa transpiratória foliar (*E*) e razão entre a concentração intercelular e ambiente de CO₂ (*C*_i/*C*_a) em híbridos interespecíficos F₁ ornamentais de passifloras, UESC-HD13-141 e UESC-HD13-133, cultivados em três níveis de sombreamento, aos 170 dias após a aplicação dos tratamentos, em RFA≥600μmol fótons m⁻² s⁻¹

Híbrido	Tratamento.	A	$g_{ m s}$	E	C_i/C_a
		μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹	mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹	mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹	· Cp Ca
HD13-141	25%	$19,26 \pm 0,74$ a*	0.18 ± 0.03 b	$2.68 \pm 0.13 \ \mathbf{b}$	$0,79 \pm 0,19$ b
	50%	$20,06 \pm 0,39 $ a	$0,21 \pm 0,06$ b	$2,83 \pm 0,24$ a	0.81 ± 0.18 b
	75%	$15,37 \pm 0,72 \mathbf{b}$	0.35 ± 0.18 a	$2,85 \pm 0,60 \text{ a}$	$1,02 \pm 0,81$ a
CV (%)		27,28	42,13	34,31	56,92
HD13-133	25%	$14,62 \pm 0,54$ a	0.15 ± 0.09 b	$2,30 \pm 0,14 \mathbf{b}$	$0.78 \pm 0.29 \; \mathbf{a}$
	50%	$9,78 \pm 0,47$ b	$0,09 \pm 0,01$ c	$1,49 \pm 0,09$ c	$0,71 \pm 0,32$ a
	75%	15, 22 ± 0.74 a	$0.32 \pm 0.05 \text{ a}$	$3,58 \pm 0,68$ a	0.88 ± 0.12 a
CV (%)		24,57	34,36	30,11	23,06

^{*}Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Os valores de $F_{\rm v}/F_{\rm m}$ não apresentaram diferenças significativas em relação aos níveis de sombreamento em ambos híbridos, com valores mais elevados nos híbridos sob 75% de sombreamento (Figura 6.3A). Os valores médios de $F_{\rm v}/F_{\rm m}$ para o híbrido UESC-HD13-141 foram de 0,79 em 25%, 0,80 em 50% e 0,82 em 75% de sombreamento, ao passo que para o híbrido UESC-HD13-133 foram de 0,80 em 25 e 50% e 0,82 em 75% de sombreamento. Como observou ambos os valores foram muito similares e ficaram compreendidos entre 0,75 e 0,85. Em contrapartida, houve diferença intergenotípica para os valores de F_0 e F_m (P<0,05) entre os níveis de sombreamento (Figura 6.3B). Os valores médios de F_0 para o híbrido UESC-HD13-141 foram de 254,8 em 25%, 223,6 em 50% e 228 em 75% de sombreamento, enquanto que para o híbrido UESC-HD13-133 os valores variaram de 252,3 em 25%, 265 em

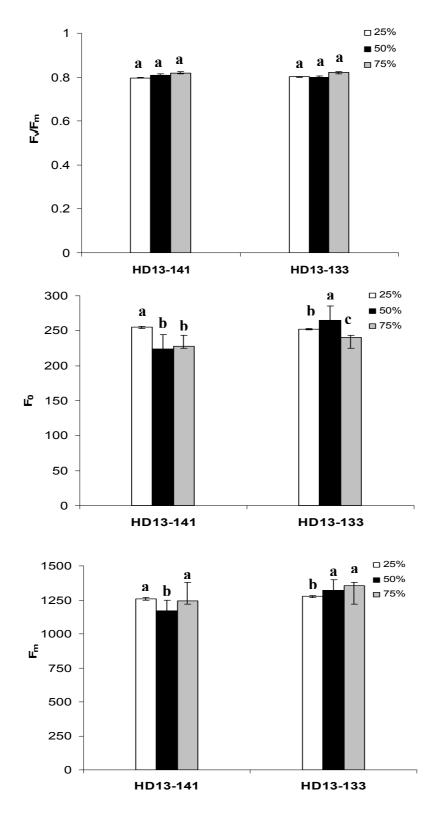


Figura 6.3. Variáveis de emissão de fluorescência da clorofila rendimento quântico máximo do PS2 (F_v/F_m) , fluorescência inicial (F_0) e fluorescência máxima (F_m) em híbridos interespecíficos F_1 ornamentais de passifloras, UESC-HD13-141 e UESC-HD13-133, cultivadas em diferentes níveis de sombreamento, aos 170 dias após a aplicação dos tratamentos. Valores médios de três repetições. *Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0.05).

50% e de 240,8 em 75% de sombreamento. Os valores de F_m variaram de 1258 em 25%, 1170 em 50% e 1243 em 75% de sombreamento para o híbridos UESC-HD13-141, enquanto que para o híbrido UESC-HD13-133 observou-se os valores médios de 1275 em 25%, 1322 em 50% e 1355 em 75% de sombreamento (Figura 6.3.C).

6.4. DISCUSSÃO

O comportamento fisiológico de passifloras ornamentais adaptadas a ambientes de interiores foi estudado recentemente por Pires (2008), visando conhecer a relação dos ambientes sombreados e sua influência no cultivo e nas características fotossintéticas de passifloras ornamentais. No geral, o conhecimento dos efeitos do sombreamento sobre a fisiologia das passifloras têm se restringido às espécies de potencial agronômico e seu efeito sobre a produtividade nessas espécies. Não têm-se conhecimento desses estudos para híbridos de *Passiflora* potencialmente ornamentais.

Os híbridos F_1 UESC-HD13 puderam ser caracterizados como plantas adaptadas a sombra, referendados pelo valor máximo da fotossíntese líquida (A) no nível mais sombreado (75%), que indica que menores quantidades de RFA são requeridas por esses híbridos para alcançar o $A_{máx}$ (TAIZ; ZEIGER, 2004). Valores mais elevados de A_{max} e R_d para o híbrido UESC-HD13-141 observado em nível de 50% de sombreamento são indicativos da plasticidade fisiológica deste híbrido a adaptar-se em ambientes com menor intensidade de luz (PIRES, 2008).

A fotossíntese de plantas de ambientes sombreados requer a maximização da quantidade de energia que lhe é disponibilizada com pequenas perdas de carbono (CO_2) pela respiração (ZHANG, et al., 2003; TAIZ; ZEIGER, 2004). Por isso, algumas plantas de sombra apresentam adaptações no aparato fotossintético, alterando a razão PS1/PS2 ou mudando as antenas de captação de luz associadas aos fotossistemas, visando manter um equilíbrio no fluxo de energia por meio desses dois fotossistemas. Já em outras plantas de sombra, em vez de alterar a razão entre os fotossistemas, estas adicionam mais clorofila ao complexo de antenas do PS2 (TAIZ; ZEIGER, 2004). Os valores reduzidos de Γ_{RFA} e de R_d são relatados por alguns autores como resposta aos processos de aclimatação ao ambiente

sombreado (MORAIS et al., 2003). Este padrão foi observado por Pires (2008) nas espécies de *Passiflora* estudadas, *P. palmeri* Rose var. *sublanceolata* Killip., *P. suberosa* L. e *P. morifolia* Mast., assim como nos híbridos UESC-HD13-141 e UESC-HD13-133 analisados no presente estudo.

Alterações na condutância estomática (g_s) observadas em ambos os híbridos estão relacionadas com variações de RFA. Os estômatos se abrem em resposta ao aumento da intensidade de luz (BURROWS; MILTHORPE, 1985) como controle da perda de água e da assimilação de CO₂ pelas plantas para a manutenção da taxa fotossintética (TAIZ; ZEIGER, 2004). A diminuição de g_s pode restringir a taxa de fixação de CO₂, com a consequente diminuição da concentração de CO₂ nas cavidades subestomáticas e nos espaços intercelulares (JEKINS; WOOLHOUSE, 1981), levando a um decréscimo nos valores de A. Em estudos realizados com espécies silvestres de *Passiflora*, Pires (2008) evidenciou a fotoinibição em P. palmeri var. sublanceolata, genitor feminino dos híbridos UESC-HD13-141 e 133. Esta espécie foi caracterizada por Pires (2008) como uma planta adaptada ao sombreamento. Como pode ser observado nos híbridos, valores elevados de g_s foi associada a altos valores de A, observada também por Morais et al. (2003) em cafeeiros que apresentaram decréscimos rápidos de A sob radiação solar intensa e temperatura elevada, principalmente em decorrência do fechamento dos estômatos.

Em plantas mais sombreadas, espera-se um menor valor de g_s e reduzidas quantidades de estômatos, havendo uma relação muito estreita no controle E. Alterações nos valores de E ocasionam variações em diversos processos fisiológicos, como a temperatura e potencial hídrico foliar (FARQUHAR; SHARKEY, 1982; FARQUHAR; WONG, 1984). As elevadas temperaturas as quais as plantas encontraram-se expostas nos meses de aclimatação podem estar diretamente relacionadas às elevadas taxas de transpiração encontradas nos ambientes com 75% de sombreamento.

A razão C_i/C_a , em condições favoráveis, tende a permanecer constante para um grande número de espécies (FARQUHAR; SHARKEY, 1982; FARQUHAR; WONG, 1984). Os valores de C_i/C_a variam de acordo ao hábitat e possuem um tendência de apresentar valores inferiores em espécies menos sombreadas. Pires (2008) observou menores valores de C_i/C_a em P. suberosa, considerada planta adaptada ao sol, e maiores valores nas espécies caracterizadas como tolerantes a sombra, P. morifolia e P. palmeri var. sublanceolata. Este mesmo padrão foi observado para ambos híbridos F_1 UESC-HD13.

As medidas de trocas gasosas foliares são importantes para determinar as taxas fotossintéticas, mas não são eficientes para avaliar os efeitos deletérios nos cloroplastos,

ocasionados pelas diversas formas de estresse abiótico. Uma alternativa seria a avaliação da eficiência fotoquímica da fotossíntese, obtida por meio das diversas variáveis da fluorescência da clorofila *a*. O rendimento da fluorescência da clorofila revela o nível de excitação de energia no sistema de pigmentos que dirige a fotossíntese e fornece subsídios para estimar a inibição ou o dano no processo de transferência de elétrons do fotossistema 2 (PS2) (BOLHÀR-NORDENKAMPF et al., 1989).

De um modo geral, os valores de F_m no híbrido UESC-HD13-133 foram relativamente superiores com o decréscimo da irradiância, mostrando-se superiores no nível de 75% de sombra. Valores inferiores observados no nível menos sombreado (25%) deste híbrido caracteriza deficiências de fotorredução da *Qa*, que podem estar associadas à inativação de PS2 nas membranas tilacoidais, afetando diretamente o fluxo de elétrons entre os fotossistemas (BULKHOV at al., 1999). Maiores variações de F_m para o híbrido UESC-HD13-141, não obedeceram um padrão comum, sugerindo maior susceptibilidade desse híbrido à variação da irradiância. Além disso, diferenças nos valores de F_m entre os híbridos podem demonstrar variações nas propriedades dos aceptores de elétrons de PS2, causadas por mudanças conformacionais induzidas pelo estresse no principal constituinte do complexo protéico, a proteína D₁, que forma o PS2 (BULKHOV at al., 1999).

O valor fluorescência inicial (F₀) apresentou valores elevados nos híbridos UESC-HD13-141 e UESC-HD13-133 cultivados no nível de 25% de sombra, o que indica uma possível deficiência no aceptor *Qa*. Segundo Hipkins & Baker (1986) a fluorescência inicial (F₀) é independente e uma referência para a determinação das outras variáveis da fluorescência, e seus valores podem aumentar caso o centros de reação do PS2 esteja comprometido ou se a transferência da energia de excitação do complexo antena para os centros de reação esteja prejudicada (BOLHÀR-NORDENKAMPF et al, 1989). Pode ainda ser alterado por estresses que causam alterações estruturais nos pigmentos fotossintéticos do PS2 (ADAMS; PERKINS, 1993) e por temperaturas supra-ótimas que incrementam drasticamente os valores de F₀ (BJÖRKMAN; DEMMING, 1987). Na indução do sinal, o F₀ é somente observado, quando antes da iluminação, o aceptor *Qa* estiver completamente oxidado (centro de reação aberto) (KRAUSE, WEISS, 1991). Dessa forma, o F₀ e F_m corroboram com a relação entre uma possível deficiência no aceptor *Qa* e níveis mais elevados de irradiância (CONROY et al, 1986).

Sob condição de baixa irradiância, elevados rendimentos quânticos (quantidade molar de O_2 liberado ou CO_2 fixado por cada mol de fótons absorvidos pelo aparelho fotossintético, ou $F_v/F_m = (F_m-F_0)/F_m$), cerca de 97% da energia dos fótons absorvidos, são usados no

processo fotoquímico (produzir ATP e NADPH+H⁺), 2,5% são transformados em calor e 0,5% são reemitidos como fluorescência (BOLHÀR-NORDENKAMPF; ÖQUIST, 1993). Entretanto, se os centros de reação estiverem fechados, 95 a 97% da energia absorvida podem ser dissipada na forma de calor e 2,5 a 5,0% na forma de fluorescência (BOLHÀR-NORDENKAMPF; ÖQUIST, 1993).

Quando uma planta está com seu aparelho fotossintético intacto, a razão F_{ν}/F_m deve variar entre 0,75 e 0,85 (BOLHÀR-NORDENKAMPF et al., 1989), enquanto que a redução de F_{ν}/F_m reflete a presença de dano fotoinibitório nos centros de reação do PSII, em resposta a algum estresse abiótico (BJÖRKMAN; DEMMING, 1987; LICHTENTHALER et al., 1992; BALL et al., 1994; MAXWELL; JOHNSON, 2000, PIRES, 2008). A manutenção de taxas fotossintéticas mais elevadas tem um custo energético superior, sendo vantajosa somente sob condições de alta irradiância (MOONEY; GULMON, 1979), onde a quantidade de Rubisco e de centro de reação de PS2 aumentam com a expansão do complexo coletor de luz de PS2 (HIKOSAKA; TERASHIMA, 1995). Os valores de F_{ν}/F_m observados nos híbridos, assim como espécies silvestres de passifloras ornamentais em estudos realizados por Pires (2008), evidencia que houve uma conversão eficiente da energia de radiação luminosa em nível de PS2 na produção de ATP e NADPH+H⁺, com valores inferiores relacionados ao aumento de RFA disponível. Os valores de F_{ν}/F_m apresentaram-se mais altos no nível de 75% de sombreamento, o que vem a ratificar a adaptação dos híbridos UESC-HD13- 141 e UESC-HD13-133 aos níveis de sombra.

6.5. CONCLUSÕES

As variáveis derivadas das curvas de saturação de luz e as elevadas taxas de A, g_s e E dos híbridos UESC-HD13-141 e UESC-HD13-133 no tratamento de 50% e 75% de sombra, respectivamente, demonstraram a capacidade de aclimatação destes híbridos a ambientes de irradiância moderada e baixa irradiância. Os híbridos avaliados apresentaram respostas à variação de irradiância típicas de plantas tolerantes à sombra. Este estudo pioneiro do efeito do sombreamento nas características fotossintéticas de passifloras híbridas fornecem

informações valiosas para subsidiar o cultivo dos híbridos ornamentais de passifloras em ornamentação de interiores.

6.6. AGRADECIMENTOS

O autor agradece à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela bolsa de estudos do primeiro autor e apoio financeiro e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) pelo apoio financeiro à pesquisa.

6.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, G.T.; PERKINS, T.D. Assessing cold tolerance in *Picea* using chlorophyll fluorescence. **Environmental and Experimental Botany**, v. 33, p.377-382. 1993.

ALMEIDA, S.M.Z.; SOARES, A.M.; CASTRO, E.M.; VIEIRA, C.V.; GAJEGO, E.B. Alterações morfológicas e alocação de biomassa em plantas jovens de espécies florestais sob diferentes condições de sombreamento. **Ciência Rural,** v. 35, n. 1, p. 62-68. 2005.

ATROCH, E.M.A.C.; SOARES, A.M.; ALVARENGA, A.A.; CASTRO, E.M. Crescimento, teor de clorofilas, distribuição de biomassa e características anatômicas de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. Submetidas a diferentes condições de sombreamento. **Ciência e Agrotecnologia**, v.25, n.4, p.853-862. 2001.

BALL, M.C.; BUTTERWORTH, J.A.; RODEN, J.S.; CHRISTIAN, R.; EGERTON, J.G. Applications of chlorophyll fluorescence to forest ecology. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 22, p.311-319. 1994.

BJÖRKMAN, O.; DEMMING, B. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 k among vascular plants of diverse origins. **Planta**, v.170, p.61-66. 1987.

BOLHÀR-NORDENKAMPF, H.R.; LONG, S.P.; BAKER, N.R.; ÖQUIST, G.; SCHREIDER, U.; LECHNER E.G. Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrument. **Functional Ecology**, v.3, p.497-514. 1989.

BOLHÀR-NORDENKAMPF, H.R.; OQUIST, G. In: **Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual.** (eds.) HALL, D.O.; SCURLOCK, J.M.O.; BOLHÀR-NORDENKAMPF, H.R.; LEEGOOD, R.C.; LONG, S.P. Chapman & Hall, London, 193p. 1993.

BULKHOV, N.; WIESE, C.; NEIMANIS, S.; HEBER, U. Heat sensitivity of chloroplasts and leaves: Leakage of protons from thylakoids and reversible activation of cyclic eletron transport. **Photosynthesis Research**, v.59, p.81-93. 1999.

BURROWS, F.J.; MILTHORPE, F.L. Stomatal conductance in the control of gas exchange. In: KO-ZLOWSKI, T.T. (ed). **Water deficits and plant growth**. New York, Academic Press, v. 4, p. 103-152. 1985

CONROY, J.P.; SMILLIE, R.M.; KUPPERS, M.; BEVEGE, D.I.; BARLOW, E.W. Plant Physiology. p. 81: 423. 1986.

CRUZ, C. D. Programa Genes, estatística experimental e matrizes. Viçosa: Editora UFV. 2006.

DIAS-FILHO, M.B. Physiological response of *Solanum crinitum* Lam. to contrasting light environments. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.32, n.8, p.789-796. 1997.

FARQUHAR, G.D.; SHARKEY, T.D. Stomatal condutance and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 33, p. 317-345. 1982.

FARQUHAR, G.D., WONG, S.C. An empirical model of stomatal conductance. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v. 11, n. 3, p. 191-210. 1984.

FREITAS, R.B.; OLIVIERA, L.E.D.; DELÚ FILHO, N.; SOARES, A.M. Influência de diferentes níveis de sombreamento no comportamento fisiológico de cultivares de café (*Coffea arabica* L.). **Ciência Agrotecnica,**v..27, n.4, p.804-810. 2003.

HIKOSAKA, K.; TERASHIMA, I. A model of the acclimation of photosynthesis in the leaves of C₃ plants to sun and shade with respect to nitrogen use. **Plant, Cell & Environment**, v.18, p. 605-618. 1995

HIPKINS, M.F.; BAKER, N.R. **Photosynthesis-energy transduction: a pratical approuch**. Press, Oxford, 51p. 1986.

JENKINS, G. I.; WOOLHOUSE, H.W. Photosynthetic Electron Transport During Senescence of the Primary Leaves of *Phaseolus vulgaris* L.: II. THE ACTIVITY OF PHOTOSYSTEMS ONE AND

TWO, AND A NOTE ON THE SITE OF REDUCTION OF FERRICYANIDE. **Journal of Experimental Botany**, v.32, p. 989-997. 1981

KING, L.A. Newly-Registered Cultivars. *Passiflora*, v.7, n.2. 2007 (in press).

KRAMER, T.; KOSLOWSKI, T. **Physiology of woody plants**. New York, Academic Press, 811p. 1979.

KRAUSE, G.H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. **Annual Review Plant Physiology. Plant Molecular Biology**, v.42, p.313-349. 1991.

KRAUSE, G.H.; SANTARIUS, K.A. Relative thermostability of the chloroplast envelope. **Planta**. v.127, p. 285-299. 1975

KOZLOWSKI, T.; KRAMER, P.J.; PALLARDY, S.G. The physiological ecology of woody plants. London: Academic Press, 657 p. 1991.

LAMBERS, H.; CHAPIN, F.S.; PONS, T.L. **Plant Physiological Ecology**. Springer-Verlag, New York. 356p. 1998.

LICHTENTHALER, H.K.; BURKART, S.; SCHLINDER, C.; STOBER, F. Changes in photosynthetic pigments and in vivo chlorophyll fluorescence parameters under photoinhibitory growth conditions. **Photosynthetica**, v. 27: 343 -353. 1992.

LICHTENTHALER, H.K.; GITELSON, A.A.; LANG, M. Non-destructive determination of chlorophyll content of leaves of a green and an aurea mutant of tabacco by reflectance measurements. **Journal of Plant Physiology**, v. 148, p.483-493. 1996.

MATALLANA GONZALES, A. MONTERO CAMACHO, J.I. Invernaderos: Diseño, construcción y ambientación. Madrid: Mundi-Prensa, 159p. 1993.

MATHIS, P.; PAILLOTIN, G. In: HATCH, M.D.; BOARDMAN, N.K. (eds.) **The biochemistry of plants**. Academic Press, New York, 97p. 1981.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G.N. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 659-668. 2000.

MORAIS. H.; MARUR, C.J.; CARAMORI, P.H.; RIBEIRO, A.M.A.; GOMES, J. C. Características fisiológicas e de crescimento de cafeeiro sombreado com guandu e cultivado a pleno sol. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 38, n. 10, p. 1131-1137. 2003.

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**, Embrapa Cerrados, Planaltina, p. 457-464. 2005.

PIRES, M.V. **Respostas Morfo-Fisiológicas de Espécies Ornamentais de** *Passiflora* **ao Sombreamento**. Ilhéus, Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, BA. 2008.

SILVA, S.; SOARES, A. M.; OLIVEIRA, L. E. M.; MAGALHÃES, P. C. Respostas fisiológicas de gramíneas promissoras para revegetação ciliar de reservatórios hidrelétricos submetidas à deficiência hídrica. **Ciência Agrotécnica**, v.25, n.1, p.124-133. 2001.

SILVA, M.M.P.; VASQUEZ, H. M.; BRESSAN-SMITH, R.; SILVA, F.C.; ERDESDOBLER, E.D'A.; ANDRADE JR., P.S.C. Eficiência fotoquímica de gramíneas forrageiras tropicais submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v..35, n.1, p.67-74. 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 690p. 2004.

ULMER, T.; MACDOUGAL, J.M. *Passiflora* - **Passionflowers of the world.** Portland: Timber Press, 430p. 2004.

VANDERPLANK, J. Passion flowers. 3^a ed., Cambridge: The MIT Press. 224p. 2000.

VANDERPLANK J., BLANCO E.G., FEUILLET C., FRANK A., KING L., KUGLER E., LAURENS C., MACDOUGAL J., SKIMINA T. The International *Passiflora Register* 2003, **Passiflora Society International**, p.1-36. 2003.

ZANELLA, F.; SONCELA, R.; LIMA, A.L.S. Formação de Mudas de Maracujazeiro Amarelo sob Níveis de Sombreamento dm JI-Paraná/Ro. **Ciência Agrotecnica**, v. 30, n. 5, p. 880-884. 2006.

ZHANG. S.; CHEN, K.M.L. Response of photosynthetic plasticity of Paeonia suffruticosa to changed light environments. **Environmental and Experimental Botany**, v.49, p. 121-133. 2003.

WHATLEY, F.H.; WHATLEY, F.R. **A Luz e a vida das plantas**. São Paulo: EPU-EDUSP, 101 pp. (Temas de Biologia, 30). 1982.

7. CONCLUSÕES GERAIS

Este trabalho contribuiu para o conhecimento das variáveis citogenéticas, embriológicas e fotossintéticas dos genitores Passiflora foetida var. foetida x Passiflora palmeri var. sublanceolata, incluídos no subgênero Dysosmia, e híbridos F₁ ornamentais, com determinações do número cromossômico inéditas para duas variedades Passiflora palmeri var. sublanceolata e P. foetida var. foetida. O subgênero foi caracterizado por cariótipos simétricos, com cromossomos metacêntricos e submetacêntricos e um par de cromossomos satelitados, com 2n = 22. O elevado grau de pareamento cromossômico e formação de quiasmas observado nos grupos de híbridos n = 10 e n = 11, permitiu reconhecer o grau de relação genética entre os genitores P. palmeri var. sublanceolata e P. foetida var. foetida. A formação de grãos de pólens inviáveis foi correlacionada a erros meióticos. Os dados referentes ao comportamento cariolólogico, processo meiótico e viabilidade polínica, e caracterização do desenvolvimento do grão de pólen permitem indicar o uso dos genótipos analisados em processos de obtenção de híbridos ornamentais e em programas de melhoramento por meio da manipulação de cultura de anteras. Paralelamente, os híbridos foram caracterizados como plantas adaptadas a baixas intensidades de luz. As respostas das características fotossintéticas ao sombreamento forneceram informações valiosas para subsidiar o cultivo dos híbridos ornamentais de passifloras para a ornamentação de interiores sob condições artificiais.

8. REFERÊNCIAS

ABRAMS, M.D.; MOSTOLLER, S.A. Gas exchange, leaf structure and nitrogen in contrasting successional tree species growing in open and understory sites during a drought. **Tree Physiology**, v. 15, n. 6, p. 361-370. 1995.

ABREU, P.P.; SOUZA, M.M.; LESSA, V.F.; SANTOS, E.A.; FREITAS, J.C.O.; ALMEIDA, A-A.F.; SILVA, D.C.; VIANA, A.P. Tamanho do botão floral e da antera associados à microsporogênese e microgametogênese e viabilidade polínica em genitores e híbridos interespecífico UESC-HD13 de Passiflora. In: 58° CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA. São Paulo, SP. **Resumos** do 58° Congresso Nacional de Botânica. São Paulo: SBB- Sociedade Brasileira de Botânica. 2007a.

ABREU, P.P.; SOUZA, M.M.; LESSA, V.F.; SANTOS, E. A.; ALMEIDA, A-A.F.; SILVA, D.C.; VIANA, A.P. Comportamento pós-meiótico e viabilidade polínica em genitores e híbrido interespecífico de Passiflora UESC-HD13 de potencial ornamental. In: I WORKSHOP SOBRE PESQUISAS COM PASSIFLORAS NA UESC, Ilhéus, BA. **Resumos** do I Workshop sobre Pesquisas com Passifloras na UESC. Ilhéus, BA: UESC, v. 01. p. 66-66. 2007b.

ALERIC, K.M.; KIRKMAN,L.K. Growth and photosynthetic responses of the federally endangered shrub, *Lindera melissifolia* (Lauraceae), to varied light environmentsAmerican. **Journal of Botany.** v. 92, p. 682-689. 2005.

ALEXANDER, M.P. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. **Stain Technology**, v. 44, n. 3, p. 117-122. 1969.

ALMEIDA, L.P. Germinação, crescimento inicial e anatomia foliar de plantas jovens de *Cryptocarya aschersoniana* Mez. sob diferentes níveis de radiação. Lavras, MG. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal – Curso de Agronomia/Fisiologia Vegetal), Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 96p. 2001.

ALMEIDA, S.M.Z.; SOARES, A.M.; CASTRO, E.M.; VIEIRA, C.V.; GAJEGO, E.B. Alterações morfológicas e alocação de biomassa em plantas jovens de espécies florestais sob diferentes condições de sombreamento. **Ciência Rural**, v. 35, n. 1, p. 62-68. 2005.

ALVARENGA, A.A., et al. Desenvolvimento de mudas de *Guarea [Guarea guidonea* (L.) Sleumer]. **Revista Daphine,** v.8, n.3, p.22-26. 1998.

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

- ASHTON, P. M. S.; BERLYN, G. P. A comparison of leaf physiology and anatomy of *Quercus* (Section *Erythrobalanus* Fagaceae) species in different light environments. **American Journal of Botany**, v. 81, n. 5, p. 589-597. 1994.
- 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.
- BARBOSA, L.V. Citologia de híbridos somáticos de *Passiflora* obtidos por fusão de protoplasto. Piracicaba, SP. Tese (Doutorado) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, São Paulo, 127p. 1998.
- BARROSO, G.M. Passifloraceae. p. 194-197 In: **Sistemática de Angiospermas do Brasil.** Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos/ São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, v. 1, 255 p. 1978.
- BEAL, P.R. Citology 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 Australia. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 26, n. 1, p. 73-81. 1969b.
- BEAL, P.R.. Citology of native Australian and several exotic *Passiflora* species. 2. Chromosome morphology. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 30, n.1, p. 17-18. 1973a.
- BEAL, P.R. Cytology of the native Australian and several exotic Passiflora species. 3. Morphology of satellited chromosomes. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 30, p. 19-24. 1973b.
- BECKETT, K.A. A hybrid passion flower. **Journal of the Royal Horticultural Society,** v. 85, n. 4, p. 184-186. 1960.
- BELO, G.O.; FONSECA, J.W.S.; VIANA, A.J.C.; NASCIMENTO, R. R.; ROZA, F.A.; SOUZA, M.M. Análise da viabilidade de grãos de pólen de *Passiflora morifolia* através de testes histoquímicos. In: VIII SIMPÓSIO DE BIOLOGIA DO SUL DA BAHIA (SIMBIO). Ilhéus, BA. **Resumos** do VIII Simpósio de Biologia do Sul da Bahia (SIMBIO). Revista Eletrônica-CD ROM. Ilhéus-BA: UESC-Empresa Júnior. 2005a.
- BELO, G.O.; SOUZA, M.M.; FONSECA, J.W.S.; ROZA, F.A.; VIANA, A.J.C.; CRUZ, T.V.; SOPRANI JUNIOR, G.G.; SILVEIRA, A.; PEREIRA, N.E. Germinação in vitro e viabilidade polínica em *Passiflora suberosa* para sua utilização como genitor em produção de híbrido ornamental. In: 45° CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 15° CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 2° CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS. Fortaleza, CE. **Suplemento da Revista Horticultura Brasileira**. Fortaleza, CE: Expressão Gráfica, v. 23. p. 550-550. 2005b.

BELO, G.O.; FONSECA, J.W.S.; ROZA, F.A.; VIANA, A.J.C.; SOUZA, M.M. Viabilidade polínica por meio de testes histoquímicos em flores de maracujá. In: XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, Cabo Frio-RJ. **Palestras e Resumos** do XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura. SP: SBF. 2006.

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

BJÖRKMAN, O. Responses to different quantum flux densities. In: LANGE, O.L.; NOBEL, P.L.; OSMOND, C.B.; ZIEGLER, H. (eds.). **Physiological plant ecology. I. Responses to the physical environment. Encyclopedia of Plant Physiology.** New York: Spinger- Verlag, p. 652. 1981.

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.

BOARDMAN, N.K. Comparative phothosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology,** v. 28, p. 355-377. 1977.

BRAND, M.H. Shade influences plant growth, leaf color and chlorophyll content of *Kalmia latifolia* L. cultivars. **Hort Science**, v.32, n.2, p.206-208. 1997.

BRUCKNER, C H.; OTONI, W.C.H. Hibridação em maracujá. In: BORÉM, A. (Ed). **Hibridação artificial de plantas**. Viçosa: UFV, p. 379-399. 1999.

CAVICHIOLI, J.C.; RUGGIERO, C.; VOLPE, C.A.; PAULO, E.M.; FAGUNDES, J.L.; KASAI, F.S. Florescimento e frutificação do maracujazeiro-amarelo submetido à iluminação artificial, irrigação e sombreamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.28, n.1, p.92-96. 2006.

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

CERVI, A.C. Espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) publicadas e descritas nos últimos 55 anos (1950–2005) na América do Sul e principais publicações brasileiras. **Estudos de Biologia**, v. 27, n.61, p. 19-24. 2005.

CHAPPELLE, E.W.; KIM, M.S. Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): an algorithm for a remote estimation of the concentractions of clorophyll A, chorophyll B, and carotenoids in soybean leaves. **Remote Sensing of Environment**, v. 39, p. 239-247. 1992.

COSTA, L.C.B.; ALMEIDA, A-A.F.; VALLE, R.R. Crescimento, teor de clorofila e estrutura anatômica em plântulas de *Theobroma cacao* submetidas a diferentes irradiâncias e doses de nitrogênio. **Agrotrópica, v.** 10, n. 1, p. 21-30. 1998.

COSTA, L.C.B.; ALMEIDA, A-A. F.; VALLE, R.R. Gas exchange, nitrate assimilation and drymatter accumulation of *Theobroma cacao* seedlings submitted to different irradiances and nitrogen levels. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 76, n. 2, p. 224-230. 2001.

CUCO, S.M.; VIEIRA, M.L.C.; MONDIN, M.; AGUIAR-PERECIN, M.L.R. Comparative karyotype analysis of three *Passiflora* L. species and cytogenetic characterization of somatic hybrids. **Caryologia**, v. 58, p. 220-228. 2005.

DAFNI, A. Pollination Ecology: A Practical Aproach. Oxford: IRL, 250p. 1992.

DIAS-FILHO, M.B. Physiological response of *Solanum crinitum* Lam. to contrasting light environments. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.8, p.789-796. 1997.

DORNELAS, M.C.; TAVARES, F.C.A.; OLIVEIRA, J.C.; VIEIRA, M.L.C. Plant regeneration from protoplast fusion in *Passiflora* spp. **Plant Cell Reports**, v.15, p. 106–110. 1995.

EHLERINGER, J.R.; COOK, C.S.; Carbon and Oxygen isotope ratios of ecosystem respiration measured along an Oregon conifer transect: Preliminary observation based on small flask sampling. **Tree Physiology**, v. 18, p. 513-519. 1998.

ELLISON, D. Passiflora in Austrália. *Passiflora*, v. 9, n. 3, p. 21-23. 1999.

ELLSWORTH, D.S.; REICH, P.B. Leaf mass per area, nitrogen content and photosynthetic carbon gain in *Acer saccharum* seedlings in contrasting forest light environments. **Functional Ecology**, v.6, n.4, p.423-435. 1992.

ENGEL, V.L. Influência do sombreamento sobre o crescimento de mudas de essências nativas, concentração de clorofila nas folhas e aspectos de anatomia. Piracicaba, SP. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 202 p. 1989.

FANTI, S.C.; PEREZ, S.C.J.G.A. Efeitos do estresse hídrico e do envelhecimento precoce na viabilidade de sementes osmocondicionadas de sementes de paineira (*Chorisia speciosa*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.537-544, 2003.

FERRAZ, K. K. F.; SILVA, D. M. Avaliação ecofisiológica do crescimento inicial de espécies florestais usadas na recuperação de áreas degradadas: II. *Calliandra calothyrsus* Meisn. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISIOLOGIA VEGETAL. **Anais** do Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal. Ilhéus: SBFV, p.8. 2001. CD-ROM.

FERREIRA, F.R. Germoplasma de *Passiflora* no Brasil. In: SÃO JOSÉ, A.R. (Ed.) **Maracujá: produção e mercado**. Vitória da Conquista, BA: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB, p. 24-26. 1994.

FEUILLET, C.; FRANK, A.; KUGLER, E.; LAURENS, C.; MACDOUGAL, J.; SKIMINA, T.;VANDERPLANK, J. Notes on the *Passiflora* Cultivars List, *Passiflora* Cultivars Registration Committee, **Passiflora**, v. 10, n. 3/4, p. 22-39. 2000.

FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J. M. Checklist of recognized species names of passion flowers. **Passiflora**, v.12, n. 2, p. 41-43. 2003.

FEUILLET, C. Passifloraceae (Passion Flower Family). p. 286-287. In. SMITH, N.; MORI, S.A.; HENDERSON, A.; STEVENSON, D.W.; HEALD, S.V. (Eds.) Flowering Plants of the Neotropics. Princeton - Oxford: Princeton University Press & New York Botanical Garden, 594 p. 2004.

FONSECA, J.W.S.; BELO, G.O.; ROZA, F.A.; VIANA, A.J.C.; CRUZ, T.V.; SOPRANI JUNIOR, G.G.; SOUZA, M.M. Avaliação de polinização in vivo, viabilidade polínica e receptividade do estigma em *Passiflora morifolia* para sua utilização como genitor em produção de híbrido ornamental. In: 45° CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 15° CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 2° CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS. Fortaleza, CE. **Suplemento da revista Horticultura Brasileira**. Fortaleza, CE: Expressão Gráfica, v. 23. p. 550-550. 2005.

FONSECA, J.W.S.; BELO, G.O.; VIANA, A J.C.; ROZA, F.A.; FREITAS, J.C.O.; SOUZA, M.M. Avaliação da viabilidade polínica, receptividade do estigma e germinação in vitro em *Passiflora micropetala* para sua utilização como genitor em hibridação interespecífica. In: XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, Cabo Frio, RJ. **Palestras e Resumos** do XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura. SP: SBF. 2006.

FONTES, R.V.; SILVA, D.M. Avaliação ecofisiológica do crescimento inicial de *Piptadenia adiantoide* (Spreng.) Macbr., espécie florestal usada na recuperação de áreas degradas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISIOLOGIA. **Anais** do Congresso Brasileiro de Fisiologia. Ilhéus, BA: SBFV, p.8. 2001. CD-ROM

GRIME, J.P. Evidence for the existence of three primary srategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. **The American Naturalist**, v. 982, n. 3, p. 1169-1194. 1977.

GROSSER, J.W.; GMITTER, F.G.JR. Protoplast fusion and citrus improvement. **Plant Breeding Reviews**, v.8, p. 339-374. 1990.

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

HANSEN, A.K.; GILBERT, L.E.; SIMPSON, B.B.; DOWNIE, S.R.; CERVI, A.C.; JANSEN, R.K. Phylogenetic Relationships and Chromosome Number Evolution in *Passiflora*. **Systematic Botany**, v. 31, n. 1, p. 138–150. 2006.

HARVEY, M.J. IOPB chromosome number reports VIII. Taxon, v.15, p. 155-163. 1966.

HEITZ, E. Pflanzliche Chromosomen-Zahlen, ed. G. Tischler. **Tabulae Biologicae**, v. 4, p. 1-83. 1927.

HOLMES, P.M.; COWLING, R.M. Effects of shade on seedling growth, morphology and leaf photosynthesis in six subtropical thicket species from the eastern Cape, South Africa. **Forest Ecology and Management**, v. 61, p. 199-220. 1993.

IES. Lighting handbook: nonvisual effects of radiant energy on plants. In: ____. **Lighting handbook**. New York, p.19-20-19-31. 1981.

JANAKI AMMAL, E.K.; DARLINGTON, C.D. Chromosome Atlas of cultivated plants. London: George Allen and Unwin. 397 p. 1945.

JONES, R.H.; MCLEOD, K.W. Growth and photosynthetic responses to a range of light environments in chinese tollow tree and carolina ash seedlings. **Forest science**, v.36, n.4, p. 851-862. 1990.

JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.; FALEIRO, F.G.; PEIXOTO, J.R.; BERNACCI, L.C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds.), **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético, Embrapa Cerrados**. Planaltina, p. 80-108. 2005.

KILLIP, E.P. The American species of Passifloraceae. **Publications of the Field Museum of Natural History, Botanical Series**, v. 19, p. 1–613. 1938.

KING, L.A. The *Passiflora* Hybrid *P.* 'Excel': *P. edulis* x *P. caerulea*. **Passiflora**, v. 10, n. 2, p. 16 -18. 2000.

KING, L.A. Newly-Registered Cultivars. Passiflora, v. 17, n. 2. 2007 (in press).

KRAMER, P.J.; KOSLOWSKI,T. Physiology of woods plants. New York: Academic, 811 p.1979.

LARCHER, W. Ecofisiologia vegetal. São Carlos: Rima, 531p. 2000.

LEE, D.W.; OBERBAUER, S.F.; JOHNSON, P.; KRISHNAPILAY, B.; MANSOR, M.; MOHAMAD, H.; YAP, S.K. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two Southeast Asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. **American Journal of Botany,** v. 87, n. 4, p. 447-455. 2000.

LESSA, V.F.; VIANA, A.J.C.; BELO, G.O.; FONSECA, J.W.S.; SOUZA, M.M. Análise de viabilidade polínica em passifloras silvestres. In: I WORKSHOP SOBRE PESQUISAS COM PASSIFLORAS NA UESC, Ilhéus, BA. **Resumos** do I Workshop sobre Pesquisas com Passifloras na UESC. Ilhéus, BA: UESC, v. 01. p. 69-69. 2007.

LLOYD, J.; FARQUHAR, G.D. Discrimination during CO₂ assimilation by the terrestrial biosphere. *Oecologia*, v.99, p.201-215. 1994.

LOPES, S.C. Citogenética do maracujazeiro - *Passiflora* spp. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.). **Maracujá produção** e **mercado.** Vitória da Conquista: DFZ/ UESB, 255 p. 1994.

LOVE, R.M. Varietal differences in meiotic chromosomes behavior of Brazilian Wheats. **Agronomy Journal**, v. 43, p.72-76. 1951.

MAHAEWARAN, G.; PERRYMAN, T.; WILLIAMS, E.G. Use of an interspecific hybrids in identifying a new allelic specifity generated at the self-incopatibility locus after inbreeding in *Lycopersicon peruvianum*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 50, p. 391-398. 1986.

MARTIN, F.W.; NAKASONE, H.Y. The edible species of *Passiflora*. **Economic Botany,** n. 24, p. 333-43. 1970.

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

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

MAYEDA, L.Y. **Estudos Citogenéticos em Dez Táxons do Gênero** *Passiflora* L. Piracicaba, SP. Dissertação (Mestrado em Agromomia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 89p. 1997.

MEINKE, H.; KARNATZ, A. Influence of air and soil temperatures on grafted and self-rooted *Passiflora* hybrids. **Scientia Horticulturae**, v.43, p. 237-246. 1990.

MELETTI, L.M.M.; SOARES-SCOTT, M.D.; PINTO-MAGLIO, C.A.F.; MARTINS, F.P. Caracterização de Germoplasma de Maracujazeiro (*Passiflora* spp). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 14, n. 2, p. 157-16. 1992.

MELETTI, L.M.M. **Maracujá: produção e comercialização em São Paulo**. Campinas: Instituto Agronômico, 26 p. (Boletim Técnico, 158). 1996.

MELETTI L.M.M., SANTOS R.R., MINAMI, K. Breeding of yellow passion-fruit: development of the cultivar Composto IAC-27. **Scientia Agrícola**, v.56, n. 3, p.491-498. 2000.

MELO, N.F., CERVI, A.C., GUERRA, M. Karyology and cytotaxonomy of the genus *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 226, p. 69-8. 2001.

MELO, N.F., GUERRA, M. Variability of the 5S and rDNA sites in *Passiflora* L. with species with distinct base chromosome numbers. **Annals of Botany**, v.92, p. 309-316. 2003.

MENZEL, C.M.; SIMPSON, D.R.; DOWLING, A.J. Water relations in passionfruit: Effect of moisture stress on growth, flowering and nutrient uptake. **Scientia Horticulturae**, v. 29, n. 3, p. 239-249. 1986.

MENZEL, C.M.; SIMPSON, D.R.; WINKS, C.M. Effect of temperature on growth, flowering and nutrient uptake of theree passion fruit cultivars under low irradiance. **Scientia Horticulturae**, v. 31, p. 259-268. 1987.

MENZEL, C.M.; SIMPSON, D.R. Effect of continous shading on growth, flowering and nutrient uptake of passion fruit. **Scientia Horticulturae**, v.35, p.77-88. 1988.

MENZEL, C. M.; SIMPSON, D. R. Passionfruit. In: SCHAFFER, B.; ANDERSEN, P. C. (Ed.). **Handbook of environmental physiology crops**: volume II: sub-tropical and tropical crops. Boca Raton: CRC Press, p. 225-241. 1994.

MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A.; BAUMGRATZ, J.F.A. *Passiflora* L. subgênero Decaloba (DC.) Rchb. (Passifloraceae) na região sudeste do Brasil. **Rodriguésia**, v. 55, n. 85, p.17-54. 2004.

MORAES NETO, S.P.; GONÇALVES, J.L.M.; TAKAKI, M.; CENCI, S.; GONÇALVES, J.C. Crescimento de mudas de algumas espécies arbóreas que ocorrem na mata atlântica, em função do nível de luminosidade. **Revista Árvore**, v. 24, n.1, p. 35-45. 2000.

MORAWETZ W. Remarks on karyological differentiation patterns in tropical woody plants. **Plant Systematics and Evolution**, v. 152, p. 49–100. 1986.

MUSCHNER, V.C.; LORENZ, A.P.; CERVI, A.C.; BONATTO, S.L., SOUZA-CHIES,T.T.;, SALZANO, F.M.; FREITAS, L.B. A first molecular phylogenetic analysis of *Passiflora* (Passifloraceae). **American Journal of Botany,** v. 90, n. 8, p. 1229-1238. 2003.

NISHIYAMA I.; KONDO, N. Report of the Kihara Institute for Biological Research, v. 1, p. 29. 1942.

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

OHRI, D. Genome size variation and plant systematics. **Annals of Botany,** v. 82, p. 75-83. (Suppl. A). 1998.

OLIVEIRA, A.M.A.; COLEMAN, J.R. Estudos citogenéticos em espécies de *Passiflora* (Passifloraceae). **Revista Brasileira de Genética**, v. 19, p. 134. (Suplemento). 1996.

OLIVEIRA, M.DO.S.; PADILHA, M.M.M.; KALUME, M.A.A. Viabilidade de pólen in vivo e *in vitro* em genótipos de açaizeiro. **Acta Botânica Brasilica**, v.15. n.1, p. 27-33. 2001.

OTONI, W.C.; BLACKHALL, N.W.; DUTRA VAZ, F.B.; CASALI, V.W.; POWER, J. B.; DAVEY, M.R. Somatic hybridization of the *Passiflora* species, *P. edulis f. flavicarpa* Degener and *P. incarnata* L. **Journal of Experimental Botany,** v. 46, p. 777-785. 1995.

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

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.** Embrapa Cerrados, Planaltina, p. 457-464. 2005.

PHILIPS. Artificial lighting in horticulture. In: .Philips lighting. Netherlands, 40p. 1989.

PIRES, M.V. **Respostas Morfo-Fisiológicas de Espécies Ornamentais de** *Passiflora* **do Sombreamento**. Ilhéus, Dissertação (Mestardo em Produção Vegetal), Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2008.

PIZA JUNIOR, C.T. Cultura do maracujá. Campinas: Secretaria da Agricultura e Abastecimento, 71p. 1993.

POPE, W.T. The edible passion fruit in Hawaii. Agricultural Experiment Station, **Technical Bulletin**, v. 74, p. 1-22. 1935.

PORRA, R.J.; THOMPSON, W.A.; KRIDEMANN, P.E. Determination of accurate extincion coefficients and simultaneous equations for assaying a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chorophylls standards by atomic absorption spectroscopy. **Biochimic et Biophysica Acta**, v. 975, p. 384-394. 1989.

PRESTES, A.M.; GOULART, L.R. Transferência de resistência a doenças de espécies silvestres para espécies cultivadas. In: LUZ, W.C. (Ed.). Revisão Anual de Patologia de Plantas (RAPP), Passo Fundo. **Revisão Anual de Patologia de Plantas (RAPP),** v. 3: 315-363. 1995.

RAVEN, P.H. The bases of angiosperm phylogeny: cytology. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.62, p. 724–764. 1975.

ROCHA, M.M. Seleção de linhagens experimentais de soja para adaptabilidade e estabilidade fenotípica. Piracicaba, SP. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba. 174p. 2002.

ROZA, F.A.; SOPRANI JUNIOR, G.G.; VIANA, A.J.C.; CRUZ, T.V.; FONSECA, J.W.S.; BELO, G.O.; SOUZA, M.M. Estudo de parâmetros da fenologia floral em espécies silvestres de *Passiflora* como subsídio para programas de hibridação. In: XI SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UESC. Ilhéus, BA. **Anais** do XI Seminário de Iniciação Científica da UESC - CD Rom. Ilhéus : UESC-Empresa Júnior de Informática, p. 84-86, 2005.

RUAS, C.F. **Evolução cariotípica no gênero** *Mikania* **Willd (Compositae)**. Piracicaba, SP. Dissertação (Mestrado)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 137p. 1989.

RUBERTÉ-TORRES, R.; MARTIN, F.W. First-generation hybrids of edible passion fruit species, **Euphytica**, v.23, p. 61-70, 1974.

RUGGIERO, C; SÃO JOSE, A.R; VOLPE, C.A; OLIVEIRA, J.C; DURIGAN, J.F; BAUMGARTNER, J.G; SILVA, J.R.; NAKAMURA, K.I.; FERREIRA, M.E.; KAVATI, R.; PEREIRA, V.P. **Maracujá para exportação:** aspectos técnicos da produção. Brasília: MAARA/SDR-FRUPEX, Embrapa-SPI, 64p. (Publicações Técnicas Frupex, 19). 1996.

RUSHING, F. Tough plants for southern gardens: low care, no care, tried and true winners. Cool Springs Press, Nashvill. 2003.

SCALON, S.P.Q.; MUSSURY, R.M.; RIGONI, M.R.; VERALDO, F. Crescimento inicial de mudas de espécies florestais nativas sob diferentes níveis de sombreamento. **Revista Árvore,** v. 26, n. 1, p. 1-5. 2002.

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

SIQUEIRA, W.J.; FONSECA, M.I.S.; SONDHAL, M.R. Regeneração de plantas híbridas entre *Lycopersicon esculentum* e *L. peruvianum* a partir de calos com dois anos de cultura *in vitro*. **Bragantia**, v. 47, n. 1, p. 1-8. 1988.

SNOW, N.; MACDOUGAL J.M. New chromosome reports in *Passiflora* (Passifloraceae). **Systematic Botany,** v. 18, p. 261-273. 1993.

SOARES-SCOTT, M.D. Caracterização citogenética de algumas espécies e híbridos interespecíficos de *Passiflora*. Campinas, SP, Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas Área de Biologia Celular), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 89p. 1998.

SOARES-SCOTT, M.D.; MELETTI, L.M.M.; ROSA, C.; RECCO-PIMENTEL, S.M. Análise citológica em híbridos interespecíficos de *Passiflora* L. **Genetics and Molecular Biology,** v. 18, p. 427. (Suppl.). 1998.

SOARES-SCOTT, M.D.; MAGOLIN, C.A.; RECCO-PIMENTEL, S.M. Análise citogenética e padronização de métodos de isolamento de DNA genômico de espécies e híbridos de *Passilflora* L. **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, p. 381. (Suppl.). 1999.

SOARES-SCOTT, M.D.; MELETTI, L.M.M.; RECCO-PIMENTEL, S.M. Meiotic behaviour and pollen fertility in sexual and somatic hybrids of *Passiflora* species. **Caryologia**, v. 56, n. 1, p. 129-138, 2003.

SOARES-SCOTT, M.D.; MELETTI, L.M.; BERNACCI, L.C.; PASSOS, I R.S. Citogenética clássica e molecular em passifloras. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Eds.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 213-240. 2005.

SOUZA, M.M. Estudos genômico e reprodutivo em espécies de *Passiflora*. Campos dos Goytacazes, RJ. Tese (Doutorado em Produção Vegetal), Universidade Estadual do Norte Fluminense-UENF, Fundação Estadual Norte Fluminense. Campos dos Goytacazes, RJ, 180p. 2002.

SOUZA M.M., PEREIRA T.N.S. Passifloras como plantas ornamentais. In: XIV CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS. Lavras, MG. **Resumos** do XIV Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais. UFL, Lavras, MG, p.24. 2003.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; SILVA, L.C.; REIS, D.S.S.; SUDRÉ, C.P. Karyotype of six *Passiflora* species collected in the state of Rio de Janeiro. **Cytologia**, v. 68, p. 165-171. 2003a.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; VIANA, A.P.; PEREIRA, M.G.; BERNACCI, L.C.; SUDRÉ, C.P.; SILVA, L.C. Meiotic irregularities and pollen viability in *Passiflora edmundoi* Sacco (Passifloraceae). **Caryologia**, v. 56, p. 161-169. 2003b.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; VIANA, A.P.; SILVA, L.C.; SUDRE, C.P. Viabilidade polínica e fertilidade em espécies de *Passiflora* (Passifloraceae). In: 6° SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO. Campos dos Goytacazes, RJ. **Livro Eletrônico de Resumos** do 6° Simpósio Brasileiro sobre a Cultura do Maracujazeiro. CD-ROM. Campos dos Goytacazes, RJ: UENF, p. 98-98. 2003c.

SOUZA, M.M.; SOPRANI JUNIOR, G.G.; VIANA, A.J.C.; ROZA, F.A.; BELO, G.O.; FONSECA, J.W.S.; CRUZ, T.V. Fenologia floral em *Passiflora palmeri*. In: 45° CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 15° CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 2° CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, Fortaleza, CE. **Suplemento** da Revista Horticultura Brasileira. CE: Expressão Gráfica, v. 23, p. 550-550. 2005a.

SOUZA, M.M.; BELO, G.O.; FONSECA, J.W.S.; VIANA, A.J.C.; CRUZ, T.V.; SOPRANI JUNIOR, G.G.; ROZA, F.A.; SILVEIRA, A.; PEREIRA, N.E. Viabilidade polínica e receptividade do estigma em *Passiflora suberosa* por meio de testes histoquímicos como subsídio para hibridação interespecífica. In: 3° CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS

Gramado, RS. **Livro Eletrônico de Resumos** do 3º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. RS - CD ROM. 2005b.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N. S.; VIEIRA, M.L.C. Cytogenetic Studies in Some Species of *Passiflora* L. (Passifloraceae): A Review Emphasizing Brazilian Species. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, p. 247-258. 2008.

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

STRAUSS-DEBENEDETTI, S.; BAZZAZ, F.A. Plasticity acclimation to light in tropical Moraceae of different successional positions. **Oecologia**, v. 87, n. 3, p. 377-387. 1991.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 3. ed.Porto Alegre: Artmed, 690 p. 2004.

TILLETT, S.S. Passionis passifloris II. Terminologia. Herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, Maracay. **Ernstia**, v. 48, p. 1-40. 1988.

TORRES, R.R., MARTIN, F.W. First regeneration hybrids of edible passion fruit species. **Euphytica**, v.23, p.61-70. 1974.

TURNER, D.W.; MENZEL, C.M.; SIMPSON, D.R. Short term drying of half the root system reduces growth but not water status or photosynthesis in leaves of passionfruit (*Passiflora* sp.). **Scientia Horticulturae**, v. 65, n. 1, p. 25-36. 1996.

ULMER, T.; MACDOUGAL, J.M. *Passiflora* - **Passionflowers of the world.** Portland: Timber Press, 430p. 2004.

UTSUNOMIYA, N. Effect of temperature on shoot growth, flowering and frit growth of purple passionfruit (*Passiflora edulis* Sims var. *edulis*). **Scientia Horticulturae**, v. 52, n. 1-2, p. 63-68. 1992.

VANDERPLANK, J. Passion flowers, 3^a ed., The MIT Press, Cambridge, 224 p. 2000.

VANDERPLANK, R J.R. More wonderful cultivars. *Passiflora*, v. 12, n. 1, pp.-. 2002.

VANDERPLANK, J.; BLANCO, E.G.; FEUILLET, C.; FRANK, A.; KING, L.; KUGLER, E.; LAURENS, C.; MACDOUGAL, J.M.; SKIMINA, T. The International Passiflora Registrer 2003, *Passiflora* Society International, p. 1-36. 2003.

VANDERPLANK, J. **The Beautiful World of** *Passiflora.* Passion flower seed co. & National Collection of *Passiflora*, Inglaterra. Disponível online em http://www.passiflora-uk.co.uk/. Acessado em abril 2006.

VASCONCELLOS, M.A.S.; DUARTE FILHO, J. Ecofisiologia do maracujazeiro. **Informe Agropecuário**, v. 21, n. 206, p. 25-28. 2000.

VASCONCELLOS, M.A.S.; SILVA, A.C.; SILVA, A.C.; REIS, F.O. Ecofisiologia do maracujazeiro e implicações na exploração diversificada. In: FALEIRO F.G., JUNQUEIRA N.T.V., BRAGA M.F. (Eds.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Embrapa Cerrados, Planaltina, p. 457-464. 2005.

VECCHIA, M. **Il genere** *Passiflora*. Colezione di *Passiflora*. Disponível online em http://www.passiflora.it/ilgenerepassiflora.html. Acessado em março de 2008.

VIANA, A.J.C.; BELO, G.O.; FONSECA, J.W.S.; CRUZ, T.V.; ROZA, F.A.; SOPRANI JUNIOR, G.G.; SOUZA, M.M. Viabilidade polínica por meio de testes histoquímicos utilizando lugol e solução de Alexander em Passiflora coriacea. In: 56° CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA. Curitiba, PR. **Anais** do 56° Congresso Nacional de Botânica. SP: Sociedade Botânica do Brasil, CD ROM. 2005.

VIANA, A.J.C.; FONSECA, J.W.S.; BELO, G.O.; ROZA, F.A.; SOUZA, M.M. Receptividade do estigma e viabilidade polínica do maracujá da Bahia. In: XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. Cabo Frio, RJ. **Palestras e Resumos** do XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura. SP: SBF. 2006a.

VIANA, A.J.C.; BELO, G.O.; FONSECA, J.W.S.; ROZA, F.A.; SOUZA, M.M. Viabilidade polínica, receptividade do estigma e polinização *in vivo* em *Passiflora bahiensis* relacionado com o tempo de abertura da flor. In: XII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UESC. Ilhéus, BA. **Anais** do XII Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Santa Cruz. Ilhéus, BA: UESC-Empresa Júnior de Informática, p. 226-227. 2006b.

VIEIRA, M.L.C.; BARBOSA, L.V.; AND MAYEDA, L.Y. Citogenética dos maracujazeiros (*Passiflora* spp). In: LIMA, A.A.; CUNHA, M.A.P. (Eds.) **Produção e qualidade na Passicultura**. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, p. 45–65. 2004.

WATSON, D.P.; BOWERS, F.A.I. Long days produce flowers on passion fruit. **Hawaii Farm Science**, v.14, n.2, p.3-5. 1965.

WATSON, L.; DALLWITZ, M.J., 1992. **The Families of Flowering Plants**: Descriptions, Illustrations, Identificationn, Information Retrieval. Disponível online em http://delta-intkey.com. Acessado em julho de 2008.

WHATLEY, F.H.; WHATLEY, F.R. A luz e a vida das plantas: temas de biologia. São Paulo: EDUSP, v.30, 101p. 1982.

WONG, S.C.; COWAN, I.R.; FARQUHAR, G.D. Stomatal conductance correlates with photossynthetic capacity. **Nature**, v. 282, p. 424-426. 1979.

ZANELLA, F.; SONCELA, R.; LIMA, A.L.S. Formação de Mudas de Maracujazeiro Amarelo sob Níveis de Sombreamento em JI-Paraná/RO. **Ciência Agrotecnica**, v. 30, n. 5, p. 880-884. 2006.

ZHANG. S.; CHEN, K.M.L. Response of photosynthetic plasticity of *Paeonia suffruticosa* to changed light environments. **Environmental and Experimental Botany**, v.49, p. 121-133. 2003.

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

<u>Baixar</u>	livros	de	Adm	<u>inis</u>	tra	ção

Baixar livros de Agronomia

Baixar livros de Arquitetura

Baixar livros de Artes

Baixar livros de Astronomia

Baixar livros de Biologia Geral

Baixar livros de Ciência da Computação

Baixar livros de Ciência da Informação

Baixar livros de Ciência Política

Baixar livros de Ciências da Saúde

Baixar livros de Comunicação

Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE

Baixar livros de Defesa civil

Baixar livros de Direito

Baixar livros de Direitos humanos

Baixar livros de Economia

Baixar livros de Economia Doméstica

Baixar livros de Educação

Baixar livros de Educação - Trânsito

Baixar livros de Educação Física

Baixar livros de Engenharia Aeroespacial

Baixar livros de Farmácia

Baixar livros de Filosofia

Baixar livros de Física

Baixar livros de Geociências

Baixar livros de Geografia

Baixar livros de História

Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura

Baixar livros de Literatura de Cordel

Baixar livros de Literatura Infantil

Baixar livros de Matemática

Baixar livros de Medicina

Baixar livros de Medicina Veterinária

Baixar livros de Meio Ambiente

Baixar livros de Meteorologia

Baixar Monografias e TCC

Baixar livros Multidisciplinar

Baixar livros de Música

Baixar livros de Psicologia

Baixar livros de Química

Baixar livros de Saúde Coletiva

Baixar livros de Serviço Social

Baixar livros de Sociologia

Baixar livros de Teologia

Baixar livros de Trabalho

Baixar livros de Turismo