

FENOLOGIA REPRODUTIVA, GERMINAÇÃO DE SEMENTES E  
MORFOLOGIA POLÍNICA EM *Passiflora* spp.

**SÉRGIO ALESSANDRO MACHADO SOUZA**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
MARÇO - 2012

FENOLOGIA REPRODUTIVA, GERMINAÇÃO DE SEMENTES E  
MORFOLOGIA POLÍNICA EM *Passiflora* spp.

**SÉRGIO ALESSANDRO MACHADO SOUZA**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como parte das exigências para obtenção do  
título de Doutor em Genética e Melhoramento  
de Plantas.

Orientadora: Profa. Telma Nair Santana Pereira

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
MARÇO - 2012

FENOLOGIA REPRODUTIVA, GERMINAÇÃO DE SEMENTES E  
MORFOLOGIA POLÍNICA EM *Passiflora* spp.

**SÉRGIO ALESSANDRO MACHADO SOUZA**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como parte das exigências para obtenção do  
título de Doutor em Genética e Melhoramento  
de Plantas.

Aprovada em 6 de março de 2012.

Comissão Examinadora:

---

Prof. Wagner Campos Otoni (D.Sc., Genética e Melhoramento) – UFV

---

Prof. Messias Gonzaga Pereira (Ph.D., Plant Breeding) – UENF

---

Prof. Alexandre Pio Viana (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF

---

Prof<sup>a</sup>. Telma Nair Santana Pereira (Ph.D., Plant Breeding) – UENF  
(Orientadora)

À minha mãe Juraci, que nunca negou esforços para que todos os meus anseios pudessem ser alcançados.

Ao meu pai Izidoro e às minhas irmãs Catiúscia e Juliana, que sempre me apoiam nesta caminhada.

A Kellen Coutinho Martins, uma pessoa muito especial, compreensiva e dedicada, que tive a sorte de encontrar.

**Dedico**

## **AGRADECIMENTO**

A DEUS.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela oportunidade da realização do curso.

À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), pela bolsa concedida.

À professora Telma Nair Santana Pereira, pela dedicação e orientação neste trabalho.

Ao Professor Messias Gonzaga Pereira, pela co-orientação neste estudo.

Ao Professor Alexandre Pio Viana, pelas sugestões na realização deste trabalho.

Ao Professor Wagner Campos Otoni, por aceitar o convite de participar da banca.

Às colegas de laboratório Amanda, Hellen, Hérika, Lyzia e Monique.

A Hérika Chagas Madureira, por ter me conduzido até Viçosa para a entrega da tese.

Aos colegas da UENF Cintia, Deisy e Marcos.

A Welligton Sérgio da Silva Idalino, pelo auxílio nos trabalhos de campo

A Daniel, funcionário da secretaria do programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	x
1.INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1. A família <i>Passifloraceae</i> .....	4
2.2. O gênero <i>Passiflora</i> .....	6
2.3. Melhoramento genético do maracujazeiro-azedo .....	8
2.4.Espécies silvestres e o melhoramento do maracujazeiro azedo. ....	11
2.5. Conservação de germoplasma de <i>Passiflora</i> .....	12
2.6. Atividades de pré-melhoramento .....	15
2.7. Caracterização e avaliação da variabilidade em <i>Passiflora</i> .....	16
2.8. Caracterização fenológica das espécies.....	17
2.9. Caracterização palinológica .....	18
2.9.1. Metodologias usadas nos estudos da morfologia do pólen .....	21
2.9.2 Palinologia em <i>Passifloras</i> .....	22
2.10. Quantificação da diversidade genética .....	23
3. TRABALHOS .....	28
3.1. EFEITO DO NITRATO DE POTÁSSIO NA SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA DE SEMENTES DE <i>Passiflora</i> spp.....	28
3.1.1. RESUMO .....	28

3.1.2. ABSTRACT.....	29
3.1.3. INTRODUÇÃO.....	30
3.1.4. MATERIAL E MÉTODOS .....	31
3.1.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	33
3.1.6. CONCLUSÃO .....	45
3.1.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
3.2. DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE ESPÉCIES DE <i>Passiflora</i> L. COM BASE EM CARACTERÍSTICAS DA GERMINAÇÃO E DAS PLÂNTULAS .....	50
3.2.1. RESUMO .....	50
3.2.2. ABSTRACT.....	51
3.2.3. INTRODUÇÃO.....	51
3.2.4. MATERIAL E MÉTODOS .....	53
3.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	56
3.2.6. CONCLUSÃO .....	61
3.2.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
3.3. CARACTERIZAÇÃO DA FENOLOGIA REPRODUTIVA EM ESPÉCIES DE <i>Passiflora</i> L. ....	66
3.3.1. RESUMO .....	66
3.3.2. ABSTRACT.....	67
3.3.3. INTRODUÇÃO.....	68
3.3.4. MATERIAL E MÉTODOS .....	69
3.3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	71
3.3.6. CONCLUSÃO .....	77
3.3.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78
APÊNDICE .....	82
3.4. PALINOLOGIA EM <i>Passiflora</i> spp: CARACTERIZAÇÃO E DIVERSIDADE GENÉTICA.....	115
3.4.1. RESUMO .....	115
3.4.2. ABSTRACT.....	116
3.4.3. INTRODUÇÃO.....	117
3.4.4. MATERIAL E MÉTODOS .....	118
3.4.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	123
3.4.6. CONCLUSÕES.....	140

3.4.7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	141
4. RESUMO E CONCLUSÃO .....	146
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	148

## RESUMO

SOUZA, Sérgio Alessandro Machado; D.S.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; março, 2012; Fenologia reprodutiva, germinação de sementes e morfologia polínica em *Passiflora* spp. Orientadora: Telma Nair Santana Pereira; Conselheiros: Alexandre Pio Viana e Messias Gonzaga Pereira.

Este estudo teve como objetivo principal gerar informações básicas das espécies *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. coriacea*, *P. micropetala*, *P. giberti*, *P. setacea* e *P. capsularis* com o propósito de auxiliar o programa de melhoramento genético da forma cultivada, o maracujazeiro-azedo. O estudo foi dividido em trabalhos que englobam determinadas atividades de pré-melhoramento em *Passiflora*, como, por exemplo, superação da dormência, utilizando nitrato de potássio, estimação da divergência genética com base em dados das plântulas, caracterização da fenologia reprodutiva e estudo da morfologia polínica. As espécies de *Passiflora*, utilizadas no presente estudo, fazem parte da coleção da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). No estudo sobre a superação da dormência, foram utilizados tratamentos com soluções aquosas de nitrato de potássio (0, 10 e 20%), combinadas com duas temperaturas (25 e 35°C) e dois períodos de exposição (24 e 48 horas). Para cada espécie, foram estimados a percentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG). Foi possível verificar que o nitrato de potássio foi eficiente na superação da dormência em espécies de *Passiflora*, com exceção da *P. coriacea*, onde não foram observadas diferenças significativas em

nenhuma das fontes de variação analisadas (concentração, temperatura, período de exposição e suas interações); as espécies *P. foetida* e *P. setacea* foram as que apresentaram os melhores resultados, acelerando o processo germinativo em *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis* e *P. micropetala* e superando a dormência em *P. setacea*, pois, na concentração de 0% de nitrato de potássio combinada com diferentes regimes de temperatura e de tempo, não houve germinação nas sementes dessa espécie. De modo geral, o nitrato de potássio favoreceu o índice de velocidade de germinação e a percentagem germinação de sementes das espécies estudadas. Na estimativa da divergência genética com base em dados das plântulas, foram obtidos os valores referentes as variáveis, primeira contagem, percentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação, e aos 45 dias, avaliaram-se percentagem de sobrevivência, comprimento da parte aérea, comprimento de raiz e número de folhas das plântulas, com base na percentagem de sementes germinadas. As características que mais contribuíram para o estudo da divergência genética foram: percentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação. As espécies *P. setacea* e *P. foetida* ficaram alocadas em um mesmo grupo, e divergente das demais. Na caracterização da fenologia reprodutiva, primeiramente foi estabelecida, com base em imagens digitalizadas de nove fenofases, uma escala para a avaliação do desenvolvimento dos estádios fenológicos reprodutivos do maracujazeiro-azedo; posteriormente, a mesma escala foi utilizada para a caracterização das demais espécies. Foram estimadas a taxa de florescimento, o pico de florescimento e a taxa de frutificação, os dados referentes à temperatura foram correlacionados, via análise de trilha, com os dados fenológicos. Observou-se, pelos dados fenológicos, que o florescimento do maracujazeiro-azedo foi de outubro a março, meses com as maiores temperaturas médias, com pico no mês de janeiro e maior percentagem de frutos maduros no mês de fevereiro. A escala de notas foi eficiente na caracterização do ciclo fenológico reprodutivo das espécies de *Passiflora*. A variável temperatura apresentou alta correlação com o número de flores (0,87), indicando que a temperatura é um agente fundamental no florescimento do maracujazeiro-azedo. Correlação entre variáveis climatológicas foi observada, além de *P. edulis*, nas espécies *P. alata* e *P. micropetala*. As variáveis temperatura e pluviosidade

obtidas no período não apresentaram correlações com as variáveis fenológicas para as demais espécies. O estudo palinológico teve como propósito, estimar a divergência genética das espécies, com base nas características da morfologia polínica. Para tal, grãos de pólen das espécies do subgênero *Decaloba* foram acetolisados, e os das espécies do subgênero *Passiflora* foram tratados com solução de hidróxido de sódio (10%). Após as preparações palinológicas, lâminas foram observadas e os grãos de pólen foram mensurados e caracterizados. O estudo da morfologia polínica permitiu a observação de grãos de pólen com características distintas. As espécies possuem grãos de pólen grandes, isopolares, prolato-esferoidais, 12-colporado (*P. organensis*, *P. micropetala*, *P. coriacea* e *P. capsularis*) e subprolato e 12-colpado (*P. suberosa*); e grãos de pólen grandes, isopolares, oblato-esferoidal (*P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida* e *P. setacea*), sub-oblato (*P. giberti*) e 6-colpo em todas as espécies do subgênero. Pelo método de Ward e de componentes principais, foi possível agrupar as espécies de acordo com os subgêneros, exceto *P. foetida*.

## ABSTRACT

SOUZA, Sérgio Alessandro Machado; D.S.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; March, 2012; Reproductive phenology, seed germination and pollen morphology of *Passiflora* spp. Adviser: Telma Nair Santana Pereira; Committee members: Alexandre Pio Viana and Messias Gonzaga Pereira

Pre-breeding activities are highly important in the characterization and evaluation of germplasm. The plant material can be characterized at the morphological, phenological, agronomic, biochemical, cytogenetic, and chemical level and by molecular properties related to germination. The purpose of this study was to compile basic information on the species *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. coriacea*, *P. micropetala*, *P. giberti*, *P. setacea*, and *P. capsularis*, in support of the breeding program of the cultivated *Passiflora* form, i.e., sour passion fruit. The work was divided into studies that address certain pre-breeding activities for *Passiflora*, e.g., characterize the reproductive phenology, assess dormancy breaking with potassium nitrate, and estimate the genetic diversity based on data of seedlings and of the pollen grain morphology. The *Passiflora* species used in this study are part of the collection of the Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). In the dormence breaking study was tested water solution of potassium nitrate (0, 10, and 20%) combined with two temperature (25°C and 35°C) and two exposição time (24 and 48h). For each specie was estimated the germination percentage and the germination speed

index (GSI). It was demonstrated that potassium nitrate was effective for dormancy breaking in *Passiflora* species, except for *P. coriacea*, where no significant differences in any of the sources of variation analyzed were observed (concentration, temperature, exposição time and their interactions); and that the response of the species *P. foetida* and *P. setacea* to potassium nitrate induced the best results, accelerating the germination process in *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, and *P. micropetala* and breaking dormancy in *P. setacea*, because at a concentration of 0% potassium nitrate in combination with different temperature and time levels, the seeds of this species did not germinate. In general, potassium nitrate favored the germination speed index and the seed germination percentage of the studied species. The estimation of genetic divergence was based on data from seedlings and germination. The characteristics that most contributed to the study of genetic diversity were: germination percentage and germination speed index. The species *P. setacea* and *P. foetida* were allocated in the same group, but different from the others. In the reproductive phenology study, at first, it was done, based on digitalized images of nine phenophases, a scale for the evaluation of phenological stages of reproductive development of sour passion fruit, and later the scale was applied to the other *Passiflora* species for phenological characterization. The phenological data showed flowering of sour passion fruit from October to March, when the average temperatures are higher, with a peak in January and the highest percentage of mature fruits in February. The rating scale was effective in characterizing the reproductive phenological cycle of the *Passiflora* species. Temperature variation was highly correlated with the number of flowers (0.87), indicating that temperature is a key agent of flowering of sour passion fruit. Correlations between climate data were observed, not only for the species *P. edulis*, but also for *P. alata* and *P. micropetala*. No correlation of temperature and rainfall recorded during the period with the phenological variables was detected for the other species. The pollen grain study aimed to estimate the genetic diversity of species, based on the characteristics of pollen morphology; the pollen grains from species of the subgenus *Decaloba* were acetolysed and the pollen grains from species of subgenus *Passiflora* were treated with sodium hydroxide solution (10%). After pollen preparations, the slides were observed and the pollen grains

were measured and characterized. The study of the pollen morphology allowed the identification of pollen grains with different characteristics, i.e, the pollen grains can be large, isopolar, prolate spheroidal, 12-colporate (*P. organensis*, *P. micropetala*, *P. coriacea* and *P. capsularis*); subprolate and 12-colpate (*P. suberosa*); large, isopolar, oblate-spheroidal (*P. edulis*, *P. alata*, *P. setacea*, and *P. foetida*); sub-oblate (*P. giberti*); and 6-colpate in all species of the subgenus. By the method of Ward and principal component analysis, the species could be grouped in subgenera, except for *P. foetida*.

## 1.INTRODUÇÃO

O principal objetivo da conservação dos recursos genéticos relacionados às espécies cultivadas é o resgate e a manutenção da diversidade genética existente para o uso consciente no melhoramento (Breese, 1989). Para se obter novas cultivares, há a necessidade de lançar mão da variabilidade, para que haja ampliação da base genética das cultivares em uso, evitando que as mesmas sejam, uniformemente, suscetíveis a fatores bióticos e abióticos. Nos plantios modernos, com grandes áreas ocupadas da mesma cultura, podem ocorrer perdas devido ao ataque de doenças e pragas, cujas consequências negativas são agravadas pela base genética estreita (Clausen, 1997).

Muitas espécies silvestres, associadas às espécies cultivadas, possuem genes importantes, que são, em sua maior parte, subutilizados (Hajjar e Hodgkin 2007). O longo período necessário entre a realização das primeiras hibridações e a liberação de cultivares com bom desempenho agrônomico e altos rendimentos são as principais razões de sua subutilização (Valls, 2007). Apesar de todo o valor e potencial já demonstrado, os parentes silvestres das espécies cultivadas, geralmente, são considerados pelo melhorista como um último recurso. Poucos melhoristas conhecem bem o material silvestre a ser trabalhado, pois, em muitos casos, há falta de dados relacionados à taxonomia, fenologia, citogenética, germinação e genética (Nass et al., 2001).

O termo pré-melhoramento se refere à transferência de genes ou combinações gênicas de um germoplasma não adaptado para um material elite

ou melhorado (FAO, 1996). Hoje, esse termo refere-se às atividades direcionadas a conhecer o material genético antes de introduzi-lo em um programa de melhoramento (Valls, 2007).

De acordo com Simmonds (1993), materiais não adaptados (espécies silvestres, raças locais e germoplasma exótico) podem ser utilizados em programas de melhoramento via introgressão ou incorporação. Para esse autor, introgressão é a transferência de um ou poucos genes importantes de um germoplasma não adaptado ao material melhorado que não apresenta esse gene em seu genoma; assim, é necessário que esse germoplasma não adaptado seja introduzido e caracterizado. A incorporação refere-se a um programa de longa duração, objetivando desenvolver uma população adaptada localmente, usando germoplasma exótico que irá ampliar a base genética de algum material melhorado (Simmonds, 1993). Assim, para se usar as espécies silvestres, desenvolveram-se programas de valorização do germoplasma, por meio dos quais esses materiais são caracterizados nos mais diferentes níveis (Nass e Paterniani, 2000). Dessa forma, as práticas de caracterização e avaliação do germoplasma são importantes para o uso e conservação dos recursos genéticos. Em termos gerais, a caracterização pode ser morfológica, fenológica, bioquímica, química, molecular e citogenética.

A família *Passifloraceae* é composta por muitas espécies as quais apresentam genes importantes e ausentes na forma cultivada, o maracujá azedo. Assim, o melhorista de maracujazeiro azedo pode lançar mão desse germoplasma, visando ao desenvolvimento de variedades elite. Porém, a transferência de genes de espécies silvestres para a forma cultivada não é simples de ser feita. Conforme Meletti et al. (2005) e Junqueira et al. (2005), algumas espécies silvestres de *Passiflora* têm grande potencial para contribuir com o melhoramento genético do maracujazeiro comercial, porém é necessário realizar estudos nessas espécies, visando a gerar informações úteis para o melhoramento da forma cultivada.

Assim, este trabalho é resultado de vários estudos realizados em espécies de *Passiflora* conservadas na coleção da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Esses estudos tiveram o objetivo principal de gerar informações básicas nas espécies *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. coriacea*, *P. micropetala*, *P. giberti*, *P. setacea* e *P.*

*capsularis*. O trabalho está organizado em quatro capítulos, que englobam estudos em espécies silvestres e cultivadas de *Passiflora*, como, por exemplo, caracterização da fenologia reprodutiva, avaliação da superação da dormência, utilizando nitrato de potássio, estimação da divergência genética com base em dados das plântulas e na morfologia dos grãos de pólen.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. A família *Passifloraceae*

A família *Passifloraceae* é composta por cerca de 530 espécies, tendo como característica morfológica marcante a presença de uma corona de filamentos nas flores, o que, segundo Judd et al., (2002), sustenta a monofilia desse grupo.

As passifloras, em sua maioria, são herbáceas e trepadeiras, com flores cuja beleza desperta curiosidade e encantamento, incluem algumas ervas eretas, plantas lenhosas e, até, arbustivas (Vanderplank, 2000). Em sua maioria, são, essencialmente, tropicais (Ulmer e Macdougall, 2004). As principais características das plantas dessa família são: gavinhas axilares, folhas alternas normalmente simples, coroa de estaminódios, gineceu e androceu com base comum (androgínóforo) e sementes ariladas (Feuillet, 2003). Uma outra característica bastante peculiar é a variabilidade foliar encontrada, que é a maior de todas as angiospermas (Ulmer e Macdougall, 2004)

A raiz das passifloras é do tipo axial (Cunha et al., 2002). O caule possui o hábito trepador, sendo delgados, pouco lenhosos, necessitando de outras plantas como suporte para suprir a necessidade de luz; são eretos, cilíndricos, lisos ou pilosos, angulados, angular-estriados, angular-alado, poucos são descritos como achatados, subangular e estriados (Ulmer e Macdougall, 2004).

Na maioria das espécies, as folhas são simples e alternas (Nunes e

Queiroz, 2006). Poucas espécies possuem folhas compostas como em *P. deidamioides*, *P. cirhiflora*, *P. pedata* e *P. trofoliata*, são elípticas ou orbiculares, inteiras ou lobadas, 2-9 lobos, 3-5 nervuras, margem, geralmente, inteira, base cordada, truncada, arredondada ou cuneada, pecíolo com ou sem glândulas, glândulas peciolares sésseis, estipitadas ou pedunculadas. As nervuras são mais salientes na face abaxial e o pecíolo mede, geralmente, de 1 a 5 cm, dependendo da espécie (Ulmer e Macdougall, 2004).

O pedúnculo, na maioria das espécies, é único, nasce nas axilas das folhas e termina em uma flor, mas podem, ocasionalmente, nascer aos pares sobre ramos axilares curtos. A espécie *P. multiflora* é uma exceção, a qual produz de duas a seis flores em um mesmo pedúnculo (Ulmer e Macdougall, 2004), são, mais ou menos, foliáceos e, geralmente, estão acompanhados de estípulas (Cervi, 1997).

As brácteas, normalmente, estão presentes em número de três, algumas vezes decíduas, podem ser lineares ou setáceas e dispersas ao largo do pedúnculo, ou bem foliáceas de forma ovada, ovado-lanceoladas e situadas perto da base da flor, sésseis e livres. Quanto à margem ou bordo, podem ser inteiras, serreadas, denteadas, em divisões filiformes e terminadas em uma glândula. Sua forma, tamanho e posição no pedúnculo constituem caracteres de grande importância para separar subgêneros, seções e espécies (Cervi, 1997).

As flores são, geralmente, muito vistosas, grandes, cíclicas, diclamídeas, de simetria radial e apresentam-se isoladas ou aos pares, podendo, em algumas espécies, estar reunidas em inflorescências (Vanderplank, 2000). São hermafroditas, com presença de androginóforo, cujo androceu é formado por cinco estames e o gineceu formado por três estiletos e três estigmas, embora, em estudos realizados com *P. Cincinnata*, fossem observadas flores com dois, quatro ou cinco estigmas (Cervi, 1997).

A coroa é considerada a estrutura mais marcante do gênero. Essa é formada por um a cinco verticilos, inserta na base do tubo calicinal e composta por filamentos diversos, de cores vivas e atraentes. Os filamentos, por sua vez, são bandeados com diversas cores no sentido horizontal (Ulmer e Macdougall, 2004).

Seus frutos são caracterizados como bagas, geralmente indeiscentes, exceto em *P. capsularis* e *P. rubra* (cápsula loculicida), globosos ou ovóides,

raramente fusiformes, possuindo, no geral, coloração amarela, existindo frutos de coloração vermelha e roxa (Vanderplank, 2000; Ulmer e Macdougall, 2004). A casca é coriácea, quebradiça e lisa, protegendo o mesocarpo, no interior do qual estão as sementes. Essas são, em sua maioria, comprimidas, reticuladas, pontuadas ou transversalmente alveoladas, envolvidas por um arilo mucilaginoso (Vanderplank, 2000). As sementes são tidas como ortodoxas ou ortodoxas intermediárias, tolerantes à perda de umidade (Nakagawa et al., 1981; Catunda et al., 2003; Osipi e Nakagawa, 2005).

## 2.2. O gênero *Passiflora*

O gênero *Passiflora* L. é composto por, aproximadamente, 530 espécies (Ulmer e MacDougal 2004), e, segundo os mesmos autores, algumas dessas espécies têm frutos comestíveis, enquanto outras são cultivadas como ornamentais por apresentarem flores com características peculiares.

As espécies que compõem o gênero têm hábito arbóreo, arbustivo ou escandente. As flores apresentam as características morfológicas marcantes, como, por exemplo, simetria radial, disco nectarífero na base do hipanto e corona de filamentos distribuídos de uma a seis fileiras. As folhas são, sempre, alternas, geralmente simples e de morfologia bastante variável (Judd et al., 2002; Ulmer e MacDougal, 2004). As flores de espécies do gênero *Passiflora* atraem uma gama de polinizadores: desde abelhas e vespas, borboletas e mariposas, até vertebrados como morcegos e pássaros. As variadas síndromes florais estão presentes nos diversos subgêneros, tendo surgido, portanto, mais de uma vez, no grupo (Muschner, 2005).

As espécies do gênero *Passiflora*, com a contagem cromossômica já realizada, foram divididas em quatro grupos: a)  $2n=2x=12, 24, 36$ ; b)  $2n=2x=24$ ; c)  $2n=2x=18, 72$ ; e d)  $2n=2x=20$  (Melo et al., 2001).

A classificação infragenérica para *Passiflora* tem sofrido várias alterações, em sua composição, quanto a seções e séries botânicas (Killip 1939). Feuillet e MacDougal (2003), baseados em caracteres morfológicos e ecológicos, sugeriram o agrupamento das espécies de *Passiflora*, que compunham, até então, os 23 subgêneros, em, apenas, quatro subgêneros: *Astrophea* (DC.) Mast., *Deidamioides* (Harms) Killip, *Decaloba* (DC.) Rchb. e *Passiflora*. Essa

classificação foi corroborada por outros autores que realizaram trabalhos de sistemática filogenética, utilizando marcadores moleculares e genoma citoplasmático /mitocondrial (Muschner, 2005).

O subgênero *Astrophea* abrange 57 espécies de arbustos e lianas lenhosas, sendo que as espécies que o compõem são as mais diferenciadas morfológicamente, guardando pequena semelhança com as passifloras típicas. A maioria das espécies do grupo ocorre em regiões de baixa altitude, no norte da América do Sul, mas existem registros de ocorrência no Brasil, Andes e América Central, esta última com, apenas, duas espécies, *Passiflora pittieri* e *Passiflora tica* (Ulmer e MacDougal, 2004). Feuillet e MacDougal (2003) organizaram esse subgênero em duas superseções: *Astrophea* e *Pseudosastrophea*.

O subgênero *Deidamioides* é composto por, apenas, 13 espécies. Em 11 destas, as flores se originam, diretamente, das gavinhas, uma característica rara e considerada ancestral para o gênero. *Deidamioides* é subdividido em cinco seções, duas das quais são monoespecíficas. Sua distribuição é sul-americana, localizada no noroeste da América do Sul. Segundo Ulmer e MacDougal (2004), essa região é o centro de diversidade do gênero, pois, lá, são encontradas diversas espécies de *Passiflora*, além das pertencentes ao subgênero *Deidamioides*, de morfologia bastante ancestral.

O subgênero *Decaloba* contém, aproximadamente, 215 espécies distribuídas nas Américas do Sul e do Norte, no sudeste do continente asiático e na Austrália. As espécies de *Decaloba* ocorrem desde o nível do mar até 300 metros de altitude. A maioria tem porte pequeno e hábito escandente, com flores diminutas, geralmente, brancas ou esverdeadas e frutos pequenos (Ulmer e MacDougal, 2004); algumas espécies desse subgênero são autocompatíveis. Conforme a proposição de Feuillet e MacDougal (2003), as espécies do subgênero *Decaloba* estão distribuídas em oito superseções, sendo *Decaloba* a maior delas com 120 espécies.

O maior subgênero é o *Passiflora* com 236 espécies, agrupando, morfológicamente, as espécies, tipicamente, reconhecidas como maracujá, sendo *P. ligularis* e *P. tarminiana* (no hemisfério norte), *P. edulis*, *P. alata* e *P. incarnata* (no hemisfério sul) as espécies, economicamente, mais importantes. A área de distribuição desse subgênero abrange a metade sul dos Estados Unidos, a América Central e a América do Sul, exceto seu extremo sul. Elas são,

amplamente, cultivadas para obtenção de frutos, sucos e extratos para a indústrias alimentícia e farmacêutica (Ortega e Schmidt, 1995).

### **2.3. Melhoramento genético do maracujazeiro-azedo**

O Brasil domina o mercado internacional de maracujá azedo com uma produção anual de 920.158 toneladas, em uma área de 62.423 hectares, evidenciando aumento de mais de 80% da área cultivada nos últimos 10 anos, em quase todo o território nacional (IBGE, 2011).

Os principais estados produtores são: Bahia (461.105 toneladas), Ceará (159.886 toneladas) e Espírito Santo (46.506 toneladas), de acordo com a produção agrícola nacional de 2010. (IBGE 2011).

A passicultura, no Brasil, é ocupada, praticamente, por duas espécies de importância econômica, em função da qualidade dos frutos, sendo elas o maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis* Sims.) e o maracujazeiro doce (*Passiflora alata* Curtis). A primeira ocupa cerca de 95% da área plantada comercialmente, no Brasil (Melletti et al., 2005); devido a essa importância, é essencial ser bem conduzido um programa de melhoramento genético da cultura.

O maracujazeiro é uma planta alógama por excelência, reforçada pela autoincompatibilidade do tipo homomórfica e esporofítica (Bruckner et al., 1995), e, portanto, expressa elevada variabilidade genética. Essa alogamia favorece o emprego de vários métodos de melhoramento no aumento da frequência de alelos favoráveis ou a exploração do vigor híbrido ou da heterose (Bruckner et al., 2005).

Para desenvolver um cultivar de maracujá, é preciso, primeiramente, conhecer, explorar e manusear, convenientemente, a variabilidade genética disponível dentro de um programa de melhoramento bem conduzido, e um pré-requisito é a caracterização do germoplasma (Meletti, 1998).

Vários são os métodos de melhoramento aplicáveis ao maracujazeiro, com o objetivo de aumento da frequência de alelos favoráveis ou da exploração do vigor híbrido (Meletti et al., 2000). É possível obter populações melhoradas para diversos caracteres de interesse e, ainda, manter a variabilidade alélica para os locos de incompatibilidade (Suassuna et al., 2003).

A seleção massal, baseada na observação visual do fenótipo da planta,

permite identificar indivíduos, potencialmente, interessantes para um programa de melhoramento. Ela tem sido bastante utilizada como fonte de genes comercialmente desejáveis, inclusive por alguns produtores, que desenvolvem suas próprias seleções (Oliveira, 1987).

A seleção recorrente pode contribuir, efetivamente, para o desenvolvimento de cultivares, por permitir melhorar, sistematicamente, as fontes de germoplasma a serem usadas em programas de melhoramento (Silva et al., 2009). Seu objetivo é aumentar, contínua e progressivamente, a frequência dos alelos favoráveis, através de ciclos sucessivos de seleção e recombinação dos genótipos superiores, mantendo a variabilidade genética da população.

O uso de progênies de meios-irmãos é comum no melhoramento da cultura, pela facilidade de obtenção dessas populações e pelo fato de se poderem estimar: a variância genética aditiva, a herdabilidade e, conseqüentemente, o progresso esperado com a seleção (Bruckner et al., 2002).

O cultivo comercial do maracujazeiro é bastante recente, apresentando, ainda, grande variabilidade genética natural para as diversas características da planta e do fruto (Bruckner et al., 2002). A produtividade nacional de maracujazeiro azedo é baixa, em torno de 14 toneladas por hectare, devido, principalmente, ao baixo emprego de tecnologia na produção e à carência de populações, geneticamente, melhoradas (Meletti, 1998; IBGE, 2010). Um outro problema da cultura é quanto às oscilações na produtividade que se devem, em grande parte, a problemas de ordem fitossanitária, constituindo, muitas vezes, fator limitante para a expansão da cultura no Brasil. Tal fato pode inviabilizar a atividade pela constante necessidade de renovação dos pomares (Meletti, 1998).

O melhoramento do maracujazeiro tem diversas finalidades, em função do produto a ser considerado (fruto, folhas ou sementes) e da região de cultivo (Meletti et al., 2000). Em geral, o melhoramento está dirigido ao produto mais importante do mercado, o fruto, sendo um dos seus principais objetivos a produção, a qualidade e a resistência a doenças. A seleção de plantas com maior área foliar ou com concentração maior de passiflorina para a indústria farmacêutica, ainda, é incipiente, assim como matéria-prima para extração de compostos químicos de uso medicinal (Bruckner et al., 2002).

Do ponto de vista econômico, é altamente positivo o aumento da qualidade e produtividade do maracujazeiro. Para se ter uma idéia, uma vez

classificado, o fruto de melhor qualidade é remunerado a preços que chegam a ser 150% maiores que os obtidos com a comercialização de frutos de classes inferiores (Meletti et al., 2000). Bruckner et al., (2002) ressaltam que o melhoramento para qualidade do fruto deve direcionar seus objetivos para o mercado ao qual o fruto se destina, seja para o mercado *in natura* ou para a industrialização.

Considera-se que, para o mercado *in natura*, o fruto deve ser grande, para obter boa classificação comercial, ter boa aparência de casca, ser resistente ao transporte e à perda de qualidade durante o processo de armazenamento e comercialização. Se o destino do fruto for a indústria, o mais importante é ter casca fina e cavidade interna, totalmente, preenchida, o que confere maior rendimento em suco, deve, também, apresentar maior teor de acidez, coloração constante e alto teor de sólidos solúveis (Bruckner et al., 2002).

Uma das principais linhas de pesquisa, desenvolvida na cultura do maracujazeiro-azedo, concentra-se na obtenção de cultivares com resistência a doenças, seja incorporando genes de resistência nas atuais cultivares-elite ou no desenvolvimento de novas cultivares. Os patógenos mais visados são aqueles que causam doenças de ocorrência generalizada, algumas de âmbito nacional. Em algumas regiões com histórico de incidência, há patologias limitantes para a cultura, nos casos em que não se conhece controle químico eficiente para elas até o momento, como, no caso, o vírus do endurecimento do fruto, (*woodness*), bacteriose (*Xantomonas axonopodis* pv *passiflorae*) e fusariose (*Fusarium oxysporum*) (Junqueira et al., 2005).

Entre as principais moléstias, o vírus do endurecimento do fruto – PWV (*Passionfruit woodness virus*) é considerado o mais importante. Essa doença reduz, significativamente, a área foliar e a biomassa da planta. Como a produção está diretamente relacionada à quantidade de folhas, os efeitos são nítidos. Quanto mais cedo a planta é infectada, maior o efeito negativo. O PWV causa danos quantitativos e qualitativos à produção, reduzindo o número, o peso e o valor comercial dos frutos. O vírus é, facilmente, transmitido por afídeos, de maneira não persistente (Gloria, 1999; Junqueira et al., 2005).

Faleiro et al. (2004) ressaltam a importância do uso de espécies silvestres em programas de melhoramento genético do maracujazeiro-azedo, onde, em muitos casos, essas espécies apresentam características de interesse que podem

promover ganhos significativos na espécie cultivada.

#### **2.4. Espécies silvestres e o melhoramento do maracujazeiro azedo.**

Para corrigir os fatores limitantes da cultura, como, por exemplo, a baixa produtividade, o melhoramento genético se torna necessário, visando, principalmente, à obtenção de populações, híbridos e/ou cultivares mais produtivas e resistentes a pragas e doenças, onde, na maioria das vezes, essas características de interesse podem estar presentes em espécies silvestres do gênero *Passiflora*, devido, principalmente, à sua grande variabilidade genética (Junqueira et al., 2005). No que diz respeito a doenças e pragas, as espécies silvestres são uma grande alternativa para o melhorista, visando à incorporação ou transferência de genes dessas espécies para a forma cultivada (Hajjar e Hodgkin, 2007). No caso específico do maracujazeiro azedo, há várias espécies silvestres que são mantidas em coleções de germoplasma e que podem ser consideradas fontes de genes para a cultura em si (Junqueira et al., 2005).

Conforme Meletti et al. (2005) e Junqueira et al. (2005), algumas espécies de *Passiflora* silvestres têm grande potencial para contribuir com o melhoramento genético do maracujazeiro comercial, por apresentarem, além da resistência a doenças e a algumas pragas, outras características interessantes, como longevidade, autocompatibilidade, maior adaptação a condições climáticas adversas, período de florescimento ampliado, androginóforo mais curto, que facilita a polinização por insetos menores, e tolerância à seca e a frio.

Em relação à resistência a doença, alguns autores (Fischer, 2003; Meletti e Bruckner, 2001) relataram que *P. caerulea*, *P. nítida*, *P. lurifolia* e alguns acessos de *P. suberosa*, *P. alata*, *P. coccinea*, *P. giberti* e *P. setacea* são resistentes à morte precoce e a outras doenças causadas por patógenos do solo. Segundo Menezes et al. (1994), *P. nitida* possui boa resistência a doenças e tem grande potencial para uso em programas de melhoramento.

*P. suberosa* é uma das espécies de maior variabilidade no gênero, e o interesse por essa espécie tem sido demonstrado por estudos realizados nas áreas farmacêutica, fitopatológica e de cultura de tecidos. Essa espécie foi apontada como fonte de resistência ao vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro (Otoni et al., 1996), além de apresentar resistência ao fungo

*Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, causador da seca vascular (Gardner, 1989), despertando, por sua vez, grande interesse em programas de melhoramento genético.

Considerando a diversidade genética do gênero *Passiflora* e o potencial agrônômico de algumas espécies silvestres, Oliveira e Ruggiero (2005) relatam que é de extrema importância a intensificação dos trabalhos para um melhor conhecimento do germoplasma de maracujazeiros silvestres, tendo como finalidade a produção de frutos, como trepadeira ornamental ou, ainda, como porta-enxerto.

Aliada à necessidade de introdução de novos acessos nos programas de melhoramento, bem como a real possibilidade de que algumas características comercialmente desejáveis sejam encontradas nos acessos conservados nos bancos de germoplasma, torna-se necessário que haja relação mais estreita e contínua entre os trabalhos realizados com melhoramento e recursos genéticos, principalmente de espécies silvestres que apresentam grande variabilidade, para que novos tipos, adequados às necessidades do mercado, sejam desenvolvidos (Nass e Paterniani, 2000)

## **2.5. Conservação de germoplasma de *Passiflora***

No Brasil, devido à grande importância comercial das *Passifloras*, algumas instituições mantêm coleções de germoplasma sendo que, em 2005, havia um acervo de 599 acessos envolvendo 67 espécies. Essas coleções são conservadas em campo, em casa de vegetação ou sob a forma de sementes em câmaras frias e geladeiras (Ferreira, 2005). A propagação das espécies de *Passiflora* pode ser realizada, por meio de enxertia, estaquia, cultura de tecidos, entre outras (Alexandre et al., 2004). Dentre essas, a propagação seminífera é a mais utilizada, pela facilidade e antecipação da formação das mudas (Ferreira, 2000). Por outro lado, a propagação por sementes possui várias desvantagens, pois, na maioria das vezes, há baixa germinação e alta desuniformidade, o que dificulta a formação de mudas de qualidade, sendo esse um dos maiores problemas enfrentados pelos produtores (Souza e Meletti, 1997). Dessa forma, é importante conhecer os aspectos que afetam a germinação das sementes. Dentre esses, destacam-se os de origem genética (variação entre espécies e cultivares),

de pré e pós-colheita (injúrias mecânicas durante a colheita, problemas fitossanitários, variações climáticas, secagem e armazenamento por longos períodos, dentre outros).

O conhecimento das condições ideais para a germinação é de suma importância, pois fatores como estrutura, aeração, capacidade de retenção de água e dormência podem interferir na germinação das sementes (Oliveira Júnior et al., 2010).

Algumas espécies apresentam dormência em suas sementes. Essa dormência consiste em um mecanismo de sobrevivência, pois pode retardar a germinação, evento esse que ocorre, quando as condições para o estabelecimento são limitantes, e não favorecem sua sobrevivência (Wagner Júnior et al., 2007). Do ponto de vista dos mesmos autores, durante o processo de domesticação, em algumas espécies, ocorreu seleção contra a dormência das sementes que, na maioria das espécies cultivadas, apresentam germinação rápida e uniforme.

Pouco se conhece sobre a questão da dormência de sementes em espécies frutíferas tropicais (Barros, 2006), principalmente em *Passiflora*. Ellis et al. (1985) citam que algumas espécies de *Passiflora* apresentam sementes semi-permeáveis, mas contêm inibidores de germinação. Delanoy et al. (2006) observaram que embriões excisados de *Passiflora* spp. germinaram rapidamente, evidenciando a existência de dormência e enfatizando que essa dormência ocorre devido à dureza do tegumento, necessitando de tratamentos específicos para sua superação.

Não se conhece o período de viabilidade das sementes da maioria das espécies de *Passiflora*, principalmente das silvestres, acarretando um problema na manutenção dessas espécies; dessa forma, diferentes métodos de superação da dormência devem ser empregados, visando à melhor utilização das sementes dessas espécies (Wagner Júnior et al., 2007)..

Diferentes tratamentos, com a finalidade de superar a dormência em sementes de espécies de *Passiflora*, são reportados na literatura. Um dos tratamentos adotados para superar a dormência causada pela impermeabilidade do tegumento à água é denominado de escarificação e visa a romper o tegumento. Outro método utilizado é a secagem das sementes realizada diretamente ao sol ou à sombra e não causam a morte do embrião. Também, são

utilizados tratamentos térmicos para a superação de dormência, tendo, sempre, o cuidado de não se elevar, demasiadamente, a temperatura para que não ocorra dano ao embrião (Oliveira Júnior et al., 2010). Almeida (1985) observou, em seus trabalhos, que a secagem, a pleno sol, favoreceu a germinação de sementes de maracujazeiro-azedo.

Inúmeros tratamentos químicos, à base de reguladores de crescimento, são empregados com a finalidade de superar a dormência em sementes de espécies *Passiflora*. Em um experimento com a imersão de sementes de Passifloráceas em giberelina, citocinina e etileno, Ferreira et al. (2001) verificaram que giberelina e citocinina, isoladas ou em mistura, promoveram maior incremento no processo germinativo de *P.alata*, obtendo-se cerca de 85% de germinação.

Melo et al. (2000) obtiveram resultados efetivos na superação da dormência e na emergência das plântulas de *P. nitida* através da imersão em solução de 1.500 e 2.000 mg/L de GA<sub>3</sub>. Ferreira et al. (2001) observaram que sementes de maracujá-doce (*P. alata*) não tiveram a percentagem de germinação alterada em função do tempo de embebição em GA<sub>3</sub>.

Resultados eficientes são apresentados por Souza et al. (2009) e Padúa et al. (2011) em sementes armazenadas por um longo período, ao utilizarem nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>) em experimentos para superar a dormência de sementes de espécies silvestres de *Passiflora*. Esses dados, por sua vez, permitem a obtenção de melhores estimativas sobre a taxa de germinação de sementes conservadas por um longo período.

De acordo com Tonin et al. (2005), inúmeras fontes nitrogenadas, em especial o KNO<sub>3</sub>, são utilizadas para estimular o processo germinativo e podem superar a dormência e promover aumento substancial na velocidade da germinação em algumas espécies.

Com o aumento dos estudos em diferentes linhas de pesquisa com as inúmeras espécies de *Passiflora*, são necessárias informações sobre técnicas de propagação, principalmente devido ao fato de que, na maioria das vezes, a propagação é feita por sementes, e as espécies não apresentam germinação satisfatória (Osipi e Nakagawa, 2005), sendo necessária a adoção de diferentes testes na superação da dormência (Padúa et al., 2011).

## 2.6. Atividades de pré-melhoramento

Durante décadas, as instituições de pesquisa têm avançado na coleta, caracterização, documentação, conservação e intercâmbio dos recursos genéticos de importância para alimentação e agricultura. Com a ampliação dos acervos, faz-se, cada vez mais, necessária a intensificação dos esforços de valorização e uso da variabilidade neles representada.

O termo pré-melhoramento foi, inicialmente, criado para se referir às atividades de transferência de genes e combinações gênicas de germoplasma não adaptado em programas de melhoramento (FAO, 1996). Hoje, esse termo refere-se às atividades realizadas, visando a conhecer o material genético antes de introduzi-lo em um programa de melhoramento (Valls, 2007). Normalmente, ao se iniciar um programa de melhoramento genético de determinada cultura, é necessário conhecer a diversidade genética existente no material. Além disso, é preciso que o pesquisador tenha conhecimento prévio de como é o seu material genético, sendo realizado através de estudos de caracterização e avaliação do germoplasma, e, de um modo geral, essa caracterização pode ser realizada em nível morfológico, agrônômico, bioquímico, citogenético, molecular, fenológico e químico (Valls, 2007).

Goedert (2007) relata que as ações de manejo e conservação em Bancos Ativos de Germoplasmas devem objetivar, dentre outros, o enriquecimento da variabilidade genética disponível das espécies de interesse por meio de ações de coleta, introdução e intercâmbio, além de caracterizar e avaliar o germoplasma em atividades de pré-melhoramento e divulgar esse conhecimento para uso em programas de melhoramento.

Segundo Valls (2007), as etapas de caracterização e avaliação de cada amostra mantida em coleções são: correta identificação botânica, elaboração de cadastro de sub-amostras disponíveis por acesso, caracterização propriamente dita de aspectos morfológicos, fenológicos, que consiste na anotação de caracteres botânicos de alta herdabilidade, facilmente visíveis e mensuráveis, e que se expressem, consistentemente, em todos os ambientes, avaliação preliminar, voltada para dentro da espécie, para busca de caracteres descritivos que conduzam à discriminação entre sub-amostras e também utilizando marcadores moleculares nos estudos de caracterização.

Contudo, as atividades de pré-melhoramento têm sido discutidas e sugeridas para aumentar a eficiência dos programas de melhoramento ou mesmo para resolver problemas decorrentes do estreitamento da base genética de certas culturas (Valls (2007).

## **2.7. Caracterização e avaliação da variabilidade em *Passiflora***

A caracterização refere-se à tomada de dados de características de alta herdabilidade, de fácil mensuração e com baixa interação genótipo x ambiente. Os aspectos morfológicos e fenológicos, também, devem ser observados de forma sistemática nos acessos por meio de descritores, características utilizadas para descrever um acesso. A avaliação, por sua vez, baseia-se em características de baixa herdabilidade. Por isso, para maior confiabilidade dos dados, torna-se necessário o uso de modelos experimentais, que obedeça aos princípios básicos da experimentação (Valls, 2007).

Para promover seu uso, os acessos conservados em Bancos de Germoplasma devem ser bem caracterizados, sem lacunas quanto à efetiva documentação e informação sobre sua origem, características e potencial de uso (Nass et al., 2001). De acordo com os mesmos autores, um descritor confiável deverá permitir a distinção entre acessos de uma mesma cultura, deve ser praticável, útil e não redundante. Além disso, deve ser, ambientalmente, estável, mono ou oligogênico e de fácil manipulação pelo melhorista.

Para o gênero *Passiflora*, não há uma lista de descritores morfológicos definidos pelo *International Plant Genetic Resources Institute* (IPGRI), que tem como um de seus objetivos padronizar as caracterizações das espécies vegetais por meio de listas de descritores, abrangendo as espécies desse grupo. Dessa forma, os estudos de caracterização, nessas espécies, utilizam os descritores comumente descritos na literatura (Araújo, 2007).

A caracterização e avaliação das espécies de maracujazeiro são necessárias para se verificar características importantes como aspectos de frutificação, produtividade e reação da planta a determinados patógenos ou a doenças de causas desconhecidas (Ferreira e Oliveira, 1991). Segundo os mesmos autores, vale salientar que essa caracterização e essa avaliação devem ser realizadas para cada região produtora, pois os problemas diferem, em maior

ou menor importância, de acordo com a mesma, além de a variabilidade dos agentes patogênicos poder ser específica para cada região, além de associar características do fruto, produto esse de maior interesse na cultura do maracujazeiro-azedo.

## **2.8. Caracterização fenológica das espécies**

A fenologia é o estudo da ocorrência de eventos biológicos repetidos e das causas de sua ocorrência em relação às forças seletivas bióticas e abióticas, bem como da sua relação entre as fases caracterizadas por esses eventos, dentro de uma mesma ou de várias espécies (Silva et al., 2007). Dessa forma, os estudos fenológicos contribuem no entendimento do desenvolvimento e da reprodução das espécies vegetais (Talora e Morellato, 2000), pois o período reprodutivo é uma fase de grande importância para a dinâmica das populações e para a própria sobrevivência das espécies (Mantovani et al., 2003).

O registro sistemático da variação das características fenológicas reúne informações sobre o estabelecimento e dinâmica das espécies, período de crescimento vegetativo, reprodutivo (floração e frutificação), alocação de recursos para polinizadores e dispersores e uma melhor compreensão das cadeias alimentares disponíveis para a fauna (Araújo, 2009).

A caracterização fenológica é de fundamental importância, pois tem como finalidade fornecer dados para a conservação e exploração racional, conciliando sustentabilidade com economicidade, lembrando que, em experimentos de hibridação interespecífica, informações referentes ao florescimento são imprescindíveis (Lawinski, 2010).

Alguns autores (Pezzopane et al., 2003; Marques et al., 2011) evidenciam que, ao realizar uma caracterização a nível fenológico de uma determinada espécie, pode-se atribuir notas a diferentes fenofases tanto vegetativas quanto reprodutivas, a fim de promover uma caracterização ampla e eficiente do ciclo fenológico da espécie em estudo.

Estudos relacionados à fenologia de espécies do gênero *Passiflora* são reportados na literatura, como, por exemplo, em *P. edulis* (Silva, 2002), *P. alata* e *P. cincinnata* (Lawinski 2010), mas, devido ao grande número de espécies do gênero, é necessário que esses estudos sejam ampliados.

A maioria das espécies de *Passiflora* floresce, abundantemente, durante vários meses no ano. Os meses entre março e maio correspondem ao período de florescimento para *P. amethystina* e *P. suberosa*, enquanto que para *P. cincinnata* é de março a dezembro (Duarte et al., 2009); para o maracujá-amarelo, foi observada uma duração de nove meses de floração, de setembro a maio (Benevides et al., 2009); em *P. Setacea*, foi observado florescimento durante os meses de setembro a fevereiro, em *P. Recurva*, de agosto a dezembro, em *P. Kermesina*, de fevereiro a novembro (Nunes e Queiroz, 2001).

A caracterização das modificações durante o ciclo fenológico, que ocorrem em diferentes espécies, épocas e locais, é de grande importância, pois esses estudos são essenciais ao definir práticas culturais com o propósito de maximizar a produtividade de uma determinada cultura (Forsthofer et al., 2004), pois as diferentes fenofases de uma espécie são influenciadas por fatores bióticos e abióticos.

## 2.9. Caracterização palinológica

O termo Palinologia foi introduzido por Hyde e Willians em 1945 (Erdtman, 1986) e é definido como a ciência que estuda os grãos de pólen e esporos.

O estudo dos grãos de pólen baseia-se, principalmente, na observação das características morfológicas desde a comparação destas com outros grãos de pólen (Gasparino e Barros, 2006). Sua parede externa, quimicamente muito estável e morfológicamente muito variada, permite uma grande diversidade de estudos taxonômicos, morfológicos e paleobotânicos (Salgado-Labouriau, 1973). Nas angiospermas e gimnospermas, a parede do grão de pólen tem a importante função de proteção do gametófito masculino no seu trajeto entre a antera e o estigma, sendo resistente à perda de água. Outra função da parede do grão de pólen é o reconhecimento do estigma compatível: as células do *tapetum* em desintegração liberam uma classe de compostos que ficam mantidos nos espaços formados pela ornamentação da parte externa da parede de alguns grãos de pólen, chamados de proteínas de “reconhecimento”, as quais possibilitam que o grão de pólen germine, somente, sobre o estigma compatível (Moore e Webb, 1978).

Historicamente, a estrutura da parede celular ou esporoderma dos grãos de

pólen tem várias interpretações (Colinvaux et al., 1999), e a terminologia das subdivisões da exina e intina não é uma unanimidade entre os pesquisadores. Há dois grupos de autores que refletem bem essa divisão dentro da palinologia, Faegri e Iversen (1964) e Erdtman (1971).

A nomenclatura de Erdtman (1971) se baseia na morfologia da exina, dividindo-a em uma parte esculpura, mais externa, a sexina, e em outra, não esculpura, a nexina, ambas subdivididas. Já Faegri e Iversen (1964) se baseiam na afinidade pelos corantes, considerando as camadas que se coram pela fucsina básica, constituintes da ectoexina (mais externa) e as que não (ou pouco) se coram pela fucsina básica, constituindo a endoexina (mais interna).

O ponto mais crítico está na localização da camada basal (*“footlayer”*), que, segundo Erdtman (1971), fica incluída na nexina e, segundo Faegri e Iversen (1964), faz parte da ectoexina. Na microscopia óptica, não se pode distinguir uma camada basal muito fina, ou partida, tornando-se adequada a nomenclatura de Erdtman (1971). Na microscopia eletrônica, cai essa dúvida e distingue-se, perfeitamente, a ectoexina da endoexina.

A exina é composta por esporopolenina (McCormick, 1993), sendo muito resistente (Dajoz, 1991), enquanto a intina é feita de celulose (Moore e Webb, 1978).

Quanto à textura da exina, os grãos de pólen das Angiospermas podem ser divididos em três tipos básicos: tectados (perfurados ou imperfurados, supraornamentados ou não); semitectados (reticulados, estriados) ou intectados. Quanto à ornamentação, a sexina pode ser: psilada (lisa), escabrada (com finas projeções com 1µm), verrugosa (nodosa), baculada (elementos semelhantes a bastões), pilada (elementos semelhantes a pilos), clavada (elementos semelhantes a clavas), gemada (com pilos sésseis), espinhosa, rugulada (elementos esculturais alongados irregularmente distribuídos), estriada a reticulada (Barth e Melhem, 1988).

Como qualquer outra célula, os grãos de pólen se caracterizam por seu tamanho e forma. No entanto, no caso dos polens, existem outras características que os descrevem, como a estrutura e escultura (ornamentação) de sua exina e as aberturas que podem vir a apresentar, das quais se devem observar os tipos (poros, colpos ou colpóros), o número e a disposição na superfície do grão de pólen (Soler e Nolla, 2002).

Em relação ao seu tamanho e forma, os grãos de pólen podem chegar a 200  $\mu\text{m}$  de diâmetro (Raynor et al., 1966), podendo ser não-fixiformes ou fixiformes. No primeiro caso, encontram-se aqueles que não possuem forma definida, enquanto os demais possuem forma polínica definida (Erdtman, 1986).

Um caráter morfológico de grande importância para a identificação do grão de pólen são as aberturas. As aberturas são qualquer orifício mais ou menos distinto que delimita áreas que são ou podem, normalmente, ser ocupadas na liberação do material interno do grão de pólen (Erdtman, 1986). Como uma segunda função, permitem as acomodações de mudanças de volume nos grãos de pólen sujeitos a alterações de umidade. Alguns grãos de pólen têm pseudo-aberturas que parecem funcionar, somente, para adaptações volumétricas (Barth e Melhem, 1988).

Com base na variação da forma, as aberturas podem ser circulares, sendo denominadas poros; alongadas, possuindo comprimento maior que a sua largura, sendo, assim, chamadas de colpos; e podendo ser uma associação de ambos os tipos (cólporo). De acordo com Moore e Webb, (1978), existe o pensamento de que os colpos são mais primitivos do que os poros. Além dessa classificação, os grãos de pólen podem ser agrupados em categorias de acordo com o seu número variável de aberturas, sendo utilizados os prefixos mono-, di-, tri-, tetra-, penta-, hexa- e poli-, tanto para poro e colpo quanto para cólporo.

De acordo com sua posição na exina, as aberturas podem ser classificadas como ectoaberturas, que são as mais superficiais e estão localizadas na camada ectexina/sexina, como endoaberturas quando estão localizadas na camada endexina/nexina e como mesoaberturas quando estão localizadas entre essas duas camadas (Punt et al., 1994). Em alguns casos, as ecto e as endoaberturas são do mesmo tipo (poro ou colpo) e ocorrem no mesmo lugar; em outros casos, elas podem ser de diferentes tipos e ocorrer em posições diferentes (Moore e Webb, 1978).

Para a rotina de identificação do pólen, o número, a forma e estrutura das aberturas são caracteres requeridos, entretanto, no contexto filogenético evolutivo, a posição das aberturas é importante, pois estas não estão localizadas, ao acaso, na superfície do grão de pólen e, frequentemente, têm lugar definido com relação aos polos e ao equador (Melhem, 1978).

O número e a forma das aberturas, além da estrutura da exina, são

estudados para uso em taxonomia de grupos (Canceli et al., 2006). As aberturas são as primeiras características utilizadas para a identificação de qualquer grão de pólen ou esporo fóssil (Moore e Webb, 1978). Além das aberturas, alguns outros importantes caracteres aplicados à morfologia do pólen, visando à sua identificação, são a forma e escultura da parede.

Em *Passiflora*, os estudos de Detcke (2009) reforçam a importância do número e tipo de abertura nos estudos taxonômicos desse grupo, devido principalmente ao grande número de espécies, e chaves classificatórias com base em dados polínicos podem facilitar tais estudos.

### **2.9.1. Metodologias usadas nos estudos da morfologia do pólen**

Nos estudos palinológicos, a principal técnica utilizada é a acetólise de Erdtman 1952 (Hesse e Waha, 1989), que consiste em submeter grãos de pólen à solução de anidrido acético e ácido sulfúrico na proporção de 9:1 (Martins et al., 2002), seguido, se necessário, pela oxidação com dióxido de cloro (Baker, 1954), o que permite a eliminação do conteúdo celular para observação da parede externa do pólen (Martins et al., 2002).

O método da acetólise, no entanto, destrói, completamente, as substâncias não-esporopoleína, e vários estudos sobre a sistemática e filogenia das plantas necessitam de todos os componentes da parede do grão de pólen que não podem ser observadas em amostras acetolisadas (Hesse e Waha, 1989).

Efeitos similares à acetólise são obtidos depois da ebulição em HCl e lavagem com 10% de KOH (Hesse e Waha, 1989). No entanto, segundo Erdtman (1971), essa metodologia não permite a observação de grãos completamente transparentes.

Outro método empregado para o estudo dos grãos de pólen é a da acetólise láctica (ACLAC), desenvolvida por Raynal e Raynal (1971). Essa técnica é utilizada quando os grãos de pólen são muito frágeis e não resistem à acetólise tradicional, consistindo na diminuição de anidrido acético e o acréscimo de ácidoláctico, tornando a mistura acetolítica mais fraca (Gasparino e Barros 2006). O método em questão permite observar, ao microscópio, a saída do conteúdo protoplasmático antes que o grão de pólen se deforme (Moreira et al., 2005) .

Para melhor visualização da forma e do tipo de abertura, os grãos de

pólen podem ser tratados segundo o método de Wodehouse (1935), que, apesar de não eliminar o conteúdo polínico e, portanto, não permitir a visualização detalhada da ornamentação do grão de pólen, permite a confecção de lâminas com durabilidade maior do que as obtidas na acetólise láctica. Este método é de fácil execução e de grande utilidade, principalmente, aos taxonomistas que necessitam de uma visão rápida do grão de pólen (Gasparino e Barros 2006).

No gênero *Passiflora*, as espécies pertencentes ao subgênero *Decaloba* são tolerantes à técnica de acetólise, porém os pólenes dos representantes do subgênero *Passiflora* são extremamente sensíveis e se rompem facilmente, quase que impossibilitando a sua visualização em microscopia óptica (Araujo e Santos, 2004; Dettke, 2009; Evaldt et al., 2011), evidenciando a importância de estudar novas metodologias para superar tal problema.

### **2.9.2 Palinologia em Passifloras**

Inúmeros estudos têm sido realizados nas mais diversas famílias botânicas, tomando por base as características morfológicas dos grãos de pólen, e, segundo Judd et al. (2002), estudos morfopolínicos vêm sendo, cada vez mais, utilizados como dados auxiliares na classificação taxonômica de vários grupos vegetais.

Do ponto de vista palinológico, *Passifloraceae* mostra-se uma família bastante interessante, pois os grãos de pólen apresentam grande variabilidade de características, algumas, ainda, pouco exploradas do ponto de vista sistemático e filogenético (Dettke e Santos, 2009).

Spirlet (1965) trata da utilização taxonômica dos grãos de pólen de *Passifloraceae*, sob microscopia óptica de campo claro, 49 espécies da família, sendo 24 pertencentes à *Passiflora*, com o objetivo de verificar o valor taxonômico das estruturas polínicas, bem como resolver a posição incerta de alguns gêneros e espécies. O resultado é uma gama de características relevantes para o grupo, desde a estrutura da exina (variação no diâmetro dos lúmens, presença de báculas) até a complexa gradação de vários tipos de aberturas, partindo de polens tricolpados até formas bastante complexas com 12 ou mais aberturas e diversos tipos de fusões.

Outros estudos referentes à palinologia de espécies de *Passiflora* são

observados nos trabalhos de Milward-de-Azevedo et al., (2004) ao apresentarem um estudo palinotaxonômico de oito espécies de *Decaloba* ocorrentes na Região Sudeste do Brasil, contribuindo para sua caracterização, circunscrição e delimitação do subgênero.

Araújo e Santos (2004) apresentaram uma descrição da morfologia polínica das espécies de *Passiflora* ocorrentes na Chapada Diamantina, o estudo foi realizado com várias espécies, tanto do subgênero *Decaloba* quanto *Passiflora*, mas os mesmos relatam, em seus dados, certa dificuldade em descrever, corretamente, as espécies *P. edulis* e *P. alata*, principalmente pela grande quantidade de pólen lesionados ou rompidos e por encontrarem um quantidade não significativa de pólen em posição equatorial. Segundo Detcke (2009), encontrar grãos de pólen das espécies pertencentes ao subgênero *Passiflora* em posição equatorial é uma tarefa árdua, pois, devido ao formato polínico característico desse gênero, nas preparações em microscopia óptica, o pólen tende a ficar em posição polar.

Atualmente, vários estudos em *Passiflora* enfatizam mais os tipos de aberturas das espécies já descritas, do que a descrição de novas espécies e entram em determinadas contradições, principalmente em relação ao número, tipo e denominação das aberturas (Detcke, 2009; Detcke e Santos, 2009; Milward-de-Azevedo et al., 2010; Evaldt et al., 2011). É válido ressaltar que, devido à grande quantidade de dados que as caracterizações polínicas fornecem, apenas descrever os dados, como na maioria dos estudos, pode-se estar perdendo informações valiosas, e, possivelmente, submeter esses dados a análises mais elaboradas, seja uma forma de obter resultados mais satisfatórios dessa variabilidade polínica encontrada no gênero *Passiflora*.

## **2.10. Quantificação da diversidade genética**

A divergência genética se caracteriza pelo grau em que uma população se afasta da outra quanto ao conjunto de caracteres que lhe são peculiares (Moreira et al., 1994). Nos programas de melhoramento de plantas, a informação quanto à diversidade e à divergência genética dentro de uma espécie é essencial para o uso racional dos recursos genéticos (Loarce et al., 1996).

Os estudos sobre a diversidade genética nas coleções de germoplasma

podem ser realizados a partir de caracteres morfológicos de natureza qualitativa ou quantitativa (Moreira et al., 1994), fisiológicos, bioquímicos, polimorfismos de DNA, dentre outros.

Existem duas maneiras de se inferir a diversidade genética: de forma quantitativa e de forma preditiva. Entre as de natureza quantitativa, citam-se as análises dialélicas, nas quais são necessários os cruzamentos entre os genitores e sua posterior avaliação. As de natureza preditiva têm por base as diferenças morfológicas, de qualidade nutricional, fisiológica ou molecular, quantificadas em alguma medida de dissimilaridade que possa expressar o grau de diversidade genética entre os genitores (Cruz e Carneiro, 2003).

A determinação da divergência genética, com o uso da análise multivariada, em que diversos caracteres avaliados podem ser utilizados simultaneamente, pode ser bastante vantajosa, podendo-se identificar fontes de variabilidade genética, a importância de cada caráter avaliado em relação à divergência genética, além de permitir aos melhoristas conhecer as combinações com maiores chances de sucesso, antes de se realizarem os cruzamentos (Moura et al., 1999). Além disso, os métodos preditivos de diversidade genética têm sido bastante utilizados, sobretudo devido ao fato de que, ao se basearem em diferenças morfológicas e fisiológicas dos genitores, dispensam a obtenção das combinações híbridas entre eles, o que é vantajoso, especialmente, quando o número de genitores cujas diversidades se deseja conhecer é elevado (Carvalho et al., 2003).

Para Dias et al. (1997), a divergência entre acessos, avaliada por estatística multivariada, pode proporcionar uma descrição sintética da afinidade fenética e genética entre acessos e populações. Assim, a quantificação da dissimilaridade genética é uma das mais importantes estimativas para os melhoristas de plantas, principalmente, quando o objetivo for a obtenção de segregantes transgressivos e populações de ampla variabilidade genética (Benin et al., 2003).

A análise univariada pode identificar a existência de variabilidade entre indivíduos e os diferentes graus de discriminação dos mesmos, considerando cada descritor isoladamente. No entanto, para se fazer uma análise do poder discriminatório dos descritores, torna-se necessário analisar a contribuição dos mesmos de forma conjunta. Isso é possível com o uso de análises multivariadas.

Sendo assim, as análises por componentes principais e variáveis canônicas e os métodos aglomerativos podem ser aplicados, pois os mesmos avaliam os indivíduos em vários aspectos (Cruz et al., 2004).

Na quantificação da divergência genética entre indivíduos, tem sido utilizada a técnica de aglomeração, que é baseada na distância Euclidiana média ou na distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ ), e a técnica de agrupamento tem sido feita pelo método de Tocher (Cruz e Carneiro, 2003).

Entre outras técnicas estatísticas multivariadas, destacam-se a análise de componentes principais e os métodos de agrupamento (Cruz e Carneiro, 2003). A análise de componentes principais consiste em transformar um conjunto original de variáveis em outro conjunto de dimensão equivalente, mas com propriedades importantes, que sejam de interesse em estudos de melhoramento. Além disso, são independentes entre si e estimados com o propósito de reter, em ordem de estimação, o máximo de informação em termos de variação total contida nos dados originais (Cruz e Carneiro, 2003).

A viabilidade de utilização dos componentes principais em estudos de divergência genética depende da possibilidade de resumir o conjunto de variáveis originais em poucos componentes, o que significa ter uma boa aproximação do comportamento dos indivíduos, oriundo de um espaço n-dimensional ( $n$ = número de caracteres estudados), em um espaço bi ou tridimensional (Cruz e Carneiro, 2003).

A análise de agrupamento tem por finalidade reunir acessos, por meio de algum critério, que apresentam similaridade de padrão de comportamento. Os critérios de agrupamento variam de método para método, mas, geralmente, mantêm o princípio de estabelecer grupos em que a homogeneidade é maior que aquela que existe entre grupos. A similaridade, por sua vez, pode ser avaliada por meio de grupos, mutuamente, exclusivos, em que indivíduos de um grupo são, completamente, distintos dos indivíduos de outros grupos; por meio de dendrogramas, em que se têm ramificações de tal forma que o número de acessos em um grupo aumenta, gradativamente, em função do nível ou ponto de referência; e por meio de análise gráfica, em que se avalia a dispersão dos indivíduos em eixos cartesianos (Cruz et al., 2004). Existem diversos métodos de agrupamento, tais como os hierárquicos (vizinho mais próximo, vizinho mais distante, Ward, UPGMA – *Unweighted Paired Group Method Using Averages*,

dentre outros) e os de otimização como o Método Tocher, por exemplo (Cruz et al., 2011).

Em *Passiflora*, dados de estimativas da divergência genética, baseadas em análises multivariadas, estão disponíveis na literatura. Negreiros et al. (2008) avaliaram a diversidade genética entre as 24 populações de maracujazeiro-azedo, discriminando os caracteres mais importantes com base nas características da plântula, utilizando procedimentos multivariados e concluíram que as características que mais contribuíram para a divergência genética foram porcentagem de germinação, número de folhas e índice de velocidade de emergência.

Araújo et al. (2008) avaliaram a divergência genética entre acessos de *P. cincinnata*, por meio de técnicas de análise multivariada, com base em descritores morfoagronômicos. Concluíram que os acessos de *P. cincinnata* apresentaram grande variabilidade e que as características de maior importância para a divergência genética foram: massa total dos frutos, viabilidade de pólen, área foliar, número de glândulas por bráctea, diâmetro das hastes, massa do fruto e da semente, e número de glândulas foliares. Por sua vez, o método de agrupamento, utilizado nesse estudo, não possibilitou correlacionar os acessos com as unidades geoambientais originais de coleta.

A diversidade genética por meio de marcadores genéticos de DNA, tipo RAPD, foi realizada por Viana et al. (2003), que estimaram, também, a divergência genética entre a espécie cultivada *P. edulis* f. *Flavicarpa* e espécies relacionadas no gênero: *P. foetida*, *P. mucronata*, *P. alata*, *P. giberti*, *P. suberosa*, *P. cincinnata*, *P. maliformis*, *P. edulis* e *P. malacophylla*. Esses autores constataram baixa variabilidade entre os genótipos de maracujazeiro amarelo e grande variabilidade entre as espécies estudadas, recomendando o uso dessas espécies em programa de melhoramento, principalmente em hibridações, visando à resistência a doenças da cultura.

A conservação de recursos genéticos de espécies vegetais é um dos temas considerados de grande relevância na atualidade, razão pela qual grande número de estudos tem sido realizado na quantificação da diversidade genética e no entendimento de sua magnitude, natureza e distribuição entre e dentro de populações. O sucesso de qualquer programa de pré-melhoramento ou de conservação é dependente do conhecimento da quantidade de variação presente

na espécie ou no grupo de espécies de interesse (Cruz et al., 2011), principalmente em *Passiflora*, devido à ampla variabilidade encontrada nesse gênero.

### 3. TRABALHOS

#### 3.1. EFEITO DO NITRATO DE POTÁSSIO NA SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA DE SEMENTES DE *Passiflora* spp

##### 3.1.1. RESUMO

Estudos relacionados aos fatores que interferem na viabilidade e no vigor das sementes são importantes em espécies que apresentam dormência, como em *Passiflora*. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do nitrato de potássio ( $\text{KNO}_3$ ) sobre a germinação de sementes de espécies de *Passiflora*, após cinco anos e meio de conservação, sob refrigeração. Foram utilizados tratamentos pré-germinativos com soluções aquosas de nitrato de potássio em sementes de oito espécies de maracujazeiro *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. coriacea*, *P. micropetala* e *P. setacea*. Para cada espécie, foi montado um experimento, conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições de 100 sementes, em um esquema fatorial 3 x 2 x 2, sendo três concentrações de nitrato de potássio, em solução aquosa (0, 10 e 20%), duas temperaturas (25°C e 35°C) e dois períodos de exposição (24 e 48 horas) por espécie. Para cada espécie, foram estimados a percentagem de germinação e o

índice de velocidade de germinação (IVG). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo método de Tukey. O nitrato de potássio foi eficiente na velocidade de germinação e na percentagem de germinação das sementes de espécies de *Passiflora*, utilizadas no presente estudo, que estavam armazenadas por um longo período. Porém, seu efeito foi mais significativo em *P. organensis* e *P. setacea*, o qual atuou, diretamente, na superação da dormência das sementes dessa espécie. Esse composto nitrogenado foi mais expressivo no aumento da percentagem de germinação em *P. foetida*, aumentando-a consideravelmente, conforme o aumento da concentração. Não foi observado nenhum efeito do nitrato de potássio e de suas combinações com diferentes regimes de temperatura e tempo de exposição, sobre a germinação das sementes de *P. coriacea*. Conclui-se, dessa forma, que o nitrato de potássio, de um modo geral, favoreceu o processo germinativo das sementes das espécies utilizadas no presente estudo, fazendo com que essas espécies, mesmo que em baixa percentagem, fossem regeneradas.

### 3.1.2. ABSTRACT

Studies related to the factors that affect seed viability and vigor are important in species with seed dormancy, as in *Passiflora*. The purpose of this study was to evaluate the effect of potassium nitrate ( $\text{KNO}_3$ ) on the germination rate of seeds of *Passiflora* species after five and a half years of conservation under refrigeration. Pre-germination treatments with aqueous solutions of potassium nitrate were applied to seeds of eight *Passiflora* species: *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. coriacea*, *P. micropetala*, and *P. setacea*. An experiment was set up for each species, in a completely randomized 3 x 2 x 2 factorial design, with four replications of 100 seeds, testing three potassium nitrate concentrations in aqueous solution (0, 10 and 20%), at two different temperatures (25 °C and 35 °C) and two exposure periods (24 and 48 hours) per species. For each species, the germination percentage and germination speed index (GSI) were estimated. The data were subjected to analysis of variance and means compared by the Tukey test. Potassium nitrate was effective to increase the GSI

and germination percentage of the seeds of *Passiflora* species used in this study, which had been stored for a long period. However, its effect was most significant for *P. organensis* and *P. setacea*, by directly breaking seed dormancy of these species. The N compound was most efficient in increasing the germination percentage of *P. foetida*, with considerable increases at rising concentrations. No effect of potassium nitrate and its combinations on the germination of *P. coriacea* was recorded at different temperatures and exposure periods. The conclusion was drawn that in general,  $\text{KNO}_3$  favors seed germination of the species used in this study, so that these species, albeit at a low percentage, were partially regenerated.

### 3.1.3. INTRODUÇÃO

As espécies de maracujá pertencem à família *Passifloraceae* que é composta por dezenove gêneros, sendo *Passiflora* o de maior importância (Ulmer e Macdougall, 2004), tanto em relação ao número de espécies (Vitta e Bernacci, 2004) quanto do ponto de vista econômico (Souza e Meletti, 1997).

Com a intensificação da coleta de germoplasma de *Passiflora*, tem-se dado maior atenção aos parentes silvestres do maracujá, possibilitando sua incorporação aos programas de melhoramento genético, permitindo a obtenção de híbridos interespecíficos entre espécies pouco exploradas comercialmente (Oliveira e Ruggiero, 2005), seja para a incorporação de resistência contra pragas e doenças às espécies comerciais (Junqueira et al., 2005) ou para fins ornamentais (Peixoto, 2005).

A propagação de *Passiflora*, na maioria das vezes, é feita por sementes que, de forma geral, apresentam germinação baixa e desuniforme, dificultando a formação de mudas de alta qualidade, sendo um grande problema enfrentado pelos produtores (Souza e Meletti, 1997). Dessa forma, é importante conhecer os aspectos que afetam a germinação das sementes. Dentre estes, destacam-se os de origem genética (variação entre espécies e cultivares), de pré e pós-colheita (injúrias mecânicas durante a colheita, problemas fitossanitários, variações climáticas, secagem, longo período de armazenamento), morfológicos, fisiológicos

(dormência, maturidade, vigor), dentre outros (Padúa et al., 2011).

A germinação das sementes de *Passiflora* é influenciada pela presença do arilo, que é uma capa de constituição gelatinosa, rica em pectina, que envolve, completamente, as sementes. Aliado ao fato de constituir uma barreira à germinação, o arilo pode conter substâncias reguladoras de crescimento, as quais podem contribuir para a desuniformidade na germinação (Pereira e Dias, 2000).

A maioria dos estudos, conduzidos com a finalidade de superar a dormência em sementes de *Passiflora*, emprega promotores de crescimento, principalmente, giberelina, em seus testes de germinação, e poucos são os trabalhos que utilizam outras substâncias químicas, como, por exemplo, nitrato de potássio ( $\text{KNO}_3$ ) (Souza et al., 2009; Padúa et al., 2011).

O efeito positivo do  $\text{KNO}_3$ , em soluções aquosas, na germinação, é, frequentemente, relatado na literatura. Gupta (2002), estudando diversas espécies de *Ocimum*, conseguiu a superação da dormência das sementes pela utilização de soluções  $\text{KNO}_3$ . Em *Plantago major*, Saruhan et al. (2002) promoveram um aumento na germinação ao embeber as sementes em solução de  $\text{KNO}_3$  a 1 mM ou 10 mM, e afirmam que o efeito isolado do íon nitrato pode ser pouco significativo; no entanto, em interação com luz e, mais ainda, com temperaturas alternadas, o efeito estimulador aumenta consideravelmente.

Dada a grande importância dos estudos sobre a germinação das sementes das espécies cultivadas e silvestres de *Passiflora*, este estudo teve como objetivo avaliar a germinação das sementes de *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. coriacea*, *P. micropetala* e *P. setacea* armazenadas por um período de cinco anos e meio, em respostas a diferentes concentrações, em solução aquosa de  $\text{KNO}_3$ .

### 3.1.4. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1.4.1. Material Vegetal

As sementes das espécies *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. coriacea*, *P. micropetala* e *P. setacea*, utilizadas neste trabalho,

foram obtidas de frutos provenientes de plantas da Unidade de Apoio à Pesquisa da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), localizada no município de Campos dos Goytacazes-RJ, onde foram selecionados frutos completamente maduros, de plantas saudáveis, livres de pragas e doenças, no ano de 2003, obtidos de polinização controlada.

As sementes, após retiradas dos frutos, foram extraídas da polpa por abrasão sobre uma peneira de arame com o auxílio de cal virgem (CaO), na proporção de 50g/Kg de polpa. Posteriormente, as sementes foram lavadas e submetidas à secagem em estufa e, em seguida, à temperatura ambiente. Após a secagem, os arilos remanescentes nas sementes foram removidos por fricção manual. As sementes foram condicionadas em sacos de papel (envelope), identificadas e armazenadas em refrigerador (temperatura em torno de 6°C e 60% umidade relativa do ar) onde permaneceram por cinco anos e meio.

#### **3.1.4.2. Condução do experimento**

Para cada espécie, foi conduzido um pré-tratamento em um delineamento, inteiramente, casualizado com 4 repetições de 100 sementes, seguindo um esquema fatorial 3 x 2 x 2, sendo três concentrações de nitrato de potássio em solução aquosa (0, 10 e 20%), dois períodos de exposição (24 e 48 horas) e duas temperaturas de exposição no agitador de movimentos orbitais (25 e 35 °C).

As unidades experimentais foram constituídas por quatro caixas gerbox (11 x 11cm), onde as sementes foram dispostas sobre duas folhas de papel germiteste umedecidas com 12 mL de água destilada e cobertas por uma terceira folha. As caixas gerbox, contendo, cada uma, 100 sementes, foram transferidas para uma câmara de germinação do tipo BOD, regulada à temperatura alternada de 20-30°C e 16-8 horas de escuro-luz, respectivamente.

#### **3.1.4.3. Análise e interpretação dos dados**

A metodologia adotada, para a avaliação, seguiu as recomendações das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992) para *P. Edulis*, e a mesma foi estendida para as demais espécies.

O critério de germinação adotado foi a emissão de, no mínimo, 0,5 cm de extensão da radícula. As variáveis avaliadas foram percentagem e velocidade de germinação. A percentagem de germinação foi realizada por meio da contagem diária, no mesmo horário, do número de sementes germinadas, durante o período de 28 dias. A velocidade de germinação (VG) foi calculada, utilizando-se a fórmula descrita por Edmond e Drapala (1958), sendo a  $VG = [(N_1 \times D_1) + \dots + (N_n \times D_n)] / (D_1 + \dots + D_n)$ , em que, N = número de sementes germinadas em cada dia de contagem e D = número de dias da avaliação. Os dados referentes à percentagem de germinação foram transformados em arco seno  $\sqrt{\frac{x}{100}}$ .

Os dados foram submetidos à análise de variância, e foi realizado um teste de comparação múltipla de médias, teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Utilizou-se o *software* Genes (Cruz, 2006) para realizar as análises estatísticas.

### 3.1.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1.5.1. Índice de Velocidade de Germinação

De acordo com os resultados apresentados, na tabela 1, nota-se que, para o índice de velocidade de germinação, houve efeito significativo dos tratamentos, isolados ou em combinação, para as espécies *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. micropetala*, e *P. setacea*. Observa-se que as médias, para a variável índice de velocidade de germinação, variaram de 8,64 em *P. micropetala* a 53,4 para *P. foetida*. Os coeficientes de variação foram de magnitude baixa, indicando a precisão do experimento. Para as espécies *P. suberosa*, *P. organensis*, e *P. coriacaea*, os efeitos dos tratamentos foram não significativos a 5%, indicando a ausência do efeito da solução aquosa de  $KNO_3$ .

Tabela 1. Fontes de variação, graus de liberdade (gl) e quadrado médios para a variável Índice de Velocidade de Germinação relativos aos tratamentos de solução aquosa de nitrato de potássio (temperatura, concentração e período) aplicados às sementes de espécie *Passiflora*.

Fonte de Variação	Quadrado Médio								
	gl	<i>P. edulis</i>	<i>P. micropetala</i>	<i>P. foetida</i>	<i>P. alata</i>	<i>P. setacea</i>	<i>P. suberosa</i>	<i>P. organesis</i>	<i>P. coriacea</i>
Temperatura (T)	1	0,09 <sup>ns</sup>	2,17 <sup>ns</sup>	2,39 <sup>ns</sup>	647,13*	539,18*	10,12 <sup>ns</sup>	7,44 <sup>ns</sup>	4,32 <sup>ns</sup>
Concentração (C)	2	53,78*	1760,29*	789,97*	998,71*	721,39*	9,65 <sup>ns</sup>	9,73 <sup>ns</sup>	3,81 <sup>ns</sup>
Período (PE)	1	147,89*	706,82*	1589,56*	1,02 <sup>ns</sup>	9,81 <sup>ns</sup>	3,50 <sup>ns</sup>	5,98 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>
T x C	2	0,86 <sup>ns</sup>	2,05 <sup>ns</sup>	70,45 <sup>ns</sup>	13841,20*	951,65*	10,96 <sup>ns</sup>	5,61 <sup>ns</sup>	4,03 <sup>ns</sup>
T x P	1	0,20 <sup>ns</sup>	1,93 <sup>ns</sup>	60,08 <sup>ns</sup>	0,76 <sup>ns</sup>	7,14 <sup>ns</sup>	21,15 <sup>ns</sup>	6,54 <sup>ns</sup>	3,98 <sup>ns</sup>
P x C	2	328,93*	404,61*	59,80 <sup>ns</sup>	1,14 <sup>ns</sup>	2,01 <sup>ns</sup>	26,30 <sup>ns</sup>	5,52 <sup>ns</sup>	4,01 <sup>ns</sup>
T x C x P	2	1,01 <sup>ns</sup>	2,56 <sup>ns</sup>	3,56 <sup>ns</sup>	1,03 <sup>ns</sup>	3,30 <sup>ns</sup>	10,63 <sup>ns</sup>	4,03 <sup>ns</sup>	3,27 <sup>ns</sup>
Resíduo	36	6,32	1,08	73,27	2,19	6,04	9,74	3,15	2,04
Total	47	-	-	-	-	-	-	-	-
Média Geral		20,45	8,64	53,40	12,45	20,46	17,80	17,56	9,65
CV (%)		12,3	12,03	16,03	12,4	12,01	17,53	10,11	2,04

\* significativo ao nível de probabilidade de 0,05; ns = não significativo

Na espécie cultivada (*P. edulis*) e nas silvestres (*P. micropetala* e *P. foetida*), os fatores concentração, período de exposição foram significativas a 5% de probabilidade, sendo que a interação concentração x período só foi significativa nas duas primeiras espécies; por outro lado, a temperatura, assim como as suas interações, não foi significativa a 5%. Esses resultados indicam que, para essas espécies, a temperatura não teve efeito sobre a germinação das sementes do maracujazeiro-azedo.

Na tabela 2, encontram-se as médias do índice de velocidade de germinação das sementes de *P. edulis*, *P. micropelata* e *P. foetida* em resposta à concentração e a período de exposição à solução de  $\text{KNO}_3$ . Para *P. edulis*, o índice de velocidade de germinação, as melhores combinações observadas foram concentrações de 10 e 20% de  $\text{KNO}_3$  em solução aquosa e o período de 24 horas, pois os valores médios não diferiram entre si. Considerando-se os resultados e com base na relação custo x benefício, sugere-se o uso da menor concentração, já que as médias das concentrações de 10 e 20% de  $\text{KNO}_3$  não apresentaram diferença significativa.

Para as espécies *P. micropetala* e *P. foetida*, o tempo de exposição não foi tão influente quanto à concentração. Observa-se, ainda, na tabela, que os valores das médias, na concentração de  $\text{KNO}_3$  a 20%, foram superiores quando o tempo de exposição foi de 24 horas.

Regimes de temperatura, de luz, períodos e tratamentos químicos, entre os quais a aplicação de  $\text{KNO}_3$  e suas combinações com os fatores supracitados, são componentes que favorecem a germinação de sementes (Popinigis, 1985; Carvalho e Nakagawa, 2000).

Os aspectos relacionados à germinação encontram-se, de certa forma, relacionados com o crescimento inicial, fase vegetativa e ciclo ótimo da planta (Popinigis, 1985), além do que são, também, importantes para avaliar a qualidade de uma amostra ou lote de sementes, tanto para objetivos de comercialização, semeadura e estabelecimento da cultura como de conservação de germoplasma.

Tabela 2. Médias do índice de velocidade de germinação avaliados em sementes de *P. edulis*, *P. micropetala* e *P. foetida*, em resposta à concentração e a períodos de exposição.

<i>P. edulis</i>		
Concentração (%)	Período (24 horas)	Período (48 horas)
0	1,12 Cb	1,04 Cb
10	40,05 Aa	19,17 Ba
20	43,12 Aa	18,23 Ba
<i>P. micropetala</i>		
0	1,07 cC	2,51 cC
10	5,49 bB	7,34 bB
20	16,32 aA	19,14 aA
<i>P. foetida</i>		
0	31,58 cC	29,83 cC
10	47,14 bB	50,31 bB
20	81,20 aA	80,32 aA

Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical, dentro de cada período, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade; e médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal, dentro de cada concentração, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a de 5% de probabilidade.

Nos trabalhos de melhoramento e em outras pesquisas, tem sido constatado que as sementes de algumas plantas não germinam bem ou o fazem de modo mais lento, apesar de coletadas e beneficiadas pela mesma técnica utilizada em sementes que não apresentam tais problemas (Alexandre et al., 2004), indicando, dessa forma, que estudos com diferentes substâncias utilizadas como promotoras, ao processo germinativo, devem ser expandidos.

Em *P. alata* e *P. setacea*, a variável índice de velocidade de germinação, apresentou dados significativos a 5% de probabilidade para os fatores temperatura, concentração e interação temperatura x concentração; para os demais fatores, não houve diferenças significativas (Tabela 1). Apesar da análise de variância ter detectado diferenças significativas para os efeitos de temperatura,

concentração e a interação entre esses dois fatores, o teste de média não detectou tal diferença, pois não foram observadas, nas duas espécies supracitadas, diferenças significativas entre as médias para o índice de velocidade de germinação (Tabela 3).

Tabela 3. Médias da característica índice de velocidade de germinação avaliado em sementes de *P. alata* e *P. setacea* aos 28 dias após a instalação do experimento, em resposta à concentração dentro dos diferentes regimes de temperatura.

<i>P. alata</i>		
Concentração(%)	Temperatura (25°C)	Temperatura (35°C)
0	0,75 bB	1,00 bB
10	17,00 aA	18,50 aA
20	18,50 aA	19,00 aA
<i>P. setaceae</i>		
0	0,00 cD	0,00 cD
10	30,83 bB	30,87 aB
20	39,61 aA	21,43 bC

Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical, dentro de cada temperatura, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade; e médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal, dentro de cada concentração, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

### 3.1.5.2. Percentagem de germinação

Os resultados da análise de variância para os dados de percentagem de germinação das sementes das espécies *Passiflora* submetidas aos tratamentos de solução aquosa de KNO<sub>3</sub> encontram-se na tabela 4.

De acordo com os resultados apresentados, nota-se que, para a percentagem de germinação, houve efeito significativo dos tratamentos, isolados ou em combinação, para todas as espécies, com exceção de *P. coriaceae* (Tabela 4).

Tabela 4. Fontes de variação, graus de liberdade (gl) e quadrado médios para a variável Percentagem de Germinação relativos aos tratamentos de solução aquosa de nitrato de potássio (temperatura, concentração e período) aplicados às sementes de espécies *Passiflora*.

Fonte de Variação	Quadrado Médio								
	gl	<i>P. edulis</i>	<i>P. micropetala</i>	<i>P. setacea</i>	<i>P. foetida</i>	<i>P. organesis</i>	<i>P. alata</i>	<i>P. suberosa</i>	<i>P. coriacea</i>
Temperatura (T)	1	5,67 <sup>ns</sup>	20,12 <sup>ns</sup>	295,34 <sup>ns</sup>	621,13*	1,10*	1,48 <sup>ns</sup>	9,32 <sup>ns</sup>	0,94 <sup>ns</sup>
Concentração (C)	2	32,40*	805,12*	1254,52*	937,31*	0,94*	437,52*	4186,32*	1,43 <sup>ns</sup>
Período (PE)	1	146,74*	199,83*	4568,17*	109,43 <sup>ns</sup>	0,09 <sup>ns</sup>	1,98 <sup>ns</sup>	9431,21*	1,19 <sup>ns</sup>
T x C	2	9,18 <sup>ns</sup>	43,19 <sup>ns</sup>	389,41 <sup>ns</sup>	104,50 <sup>ns</sup>	1,51 <sup>ns</sup>	6308,17*	29,50 <sup>ns</sup>	1,12 <sup>ns</sup>
T x P	1	5,67 <sup>ns</sup>	40,13 <sup>ns</sup>	403,72 <sup>ns</sup>	39,56 <sup>ns</sup>	0,26 <sup>ns</sup>	12,23 <sup>ns</sup>	15,81 <sup>ns</sup>	1,65 <sup>ns</sup>
P x C	2	356,98*	150,37*	5734,26*	127,54 <sup>ns</sup>	1,03 <sup>ns</sup>	397,19*	22,47 <sup>ns</sup>	2,02 <sup>ns</sup>
T x C x P	2	9,65 <sup>ns</sup>	50,13 <sup>ns</sup>	349,61 <sup>ns</sup>	79,83 <sup>ns</sup>	1,28 <sup>ns</sup>	852,01*	12,73 <sup>ns</sup>	2,17 <sup>ns</sup>
Resíduo	36	72,15	24,20	35,76	53,29	1,03	3,86	10,24	1,82
Total	47	-	-	-	-	-	-	-	-
Média Geral		59,93	36,21	48,0	79,8	5,71	29,08	24,43	12,82
CV (%)		14,2	13,59	12,46	9,23	17,77	11,9	13,10	10,52

\* significativo ao nível de probabilidade de 0,05; ns = não significativo

Observa-se, na tabela supracitada, que as médias foram baixas, sendo a média mais alta observada na *P. edulis* (53,4) e a menor observada em *P. coriaceae*. Os coeficientes de variação foram de magnitude baixa, indicando a precisão do experimento.

Observa-se, na tabela 4, que, para a variável percentagem de germinação, no fator concentração e período de exposição, bem como na interação concentração x período, houve diferenças significativas, a 5% de probabilidade, nas espécies *P. edulis*, *P. micropetala*, *P. setaceae*. O fator temperatura não teve efeito significativo na percentagem de germinação dessas espécies.

Na tabela 5, observa-se que, apesar da interação ter sido significativa, o teste de médias não detectou diferenças para a espécie *P. edulis*, porém pode-se observar que a percentagem de germinação foi muito boa, considerando que essas sementes estavam armazenadas por cinco anos e meio. Já para *P. micropetala*, nota-se que a concentração de 10% de  $\text{KNO}_3$ , combinada com o período de 48 horas, apresentou a melhor média entre todas as combinações dos fatores.

Ao analisar as médias referentes à percentagem de germinação em *P. setaceae*, verifica-se que a concentração de 20% de  $\text{KNO}_3$ , durante 48 horas, foi a mais significativa para a superação da dormência, indicando que o  $\text{KNO}_3$  foi eficiente na superação da dormência nessa espécie, pois, na ausência do composto nitrogenado, não foi verificado índice de germinação. O emprego do  $\text{KNO}_3$ , na superação da dormência em *P. setacea*, é relatado por Padúa et al. (2011), ao superarem a dormência em sementes de *P. setacea* armazenada em diferentes regimes de temperatura

Observa-se, na tabela 4, que, para a variável percentagem de germinação das espécies silvestres, *P. foetida* e *P. organensis*, os fatores temperatura e concentração foram significativos, porém os demais fatores e suas interações não o foram. Os resultados do teste de médias, apresentados na tabela 6, indicam que as sementes de *P. foetida*, submetidas à concentração de 20% de  $\text{KNO}_3$ , à temperatura de 25°C, apresentaram os resultados mais satisfatórios para a percentagem de germinação. Ao mesmo tempo, pode-se observar que o longo período de armazenamento, cinco anos e meio, indicou que as mesmas apresentam boa germinabilidade, quando comparadas com as demais espécies

do presente estudo.

Tabela 5. Médias da característica índice de velocidade de germinação avaliada em sementes de *P. edulis*, *P. micropetala*, e *P. setacea*, aos 28 dias após a instalação do experimento, em resposta à concentração de  $\text{KNO}_3$  e tempo de exposição.

<i>P. edulis</i>		
Concentração (%)	Período (24 horas)	Período (48 horas)
0	0,02 bB	0,05 bB
10	87,25 aA	90,00 aA
20	92,50 aA	89,75 aA
<i>P. micropetala</i>		
0	24,75 cC	21,00 cC
10	45,00 bB	60,00 aA
20	34,00 bB	32,50 bB
<i>P. setacea</i>		
0	0,00 cC	0,00 cC
10	51,00 bB	80,00 bA
20	65,00 bB	92,00 aA

Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical, dentro de cada temperatura, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade; e médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal, dentro de cada concentração, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 6. Médias da característica percentagem de germinação avaliada em sementes de *P. foetida* e *P. organensis* aos 28 dias após a instalação do experimento, em resposta à concentração dentro dos diferentes regimes de temperatura.

<i>P. foetida</i>		
Concentração(%)	Temperatura (25°C)	Temperatura (35°C)
0	65,00 cC	64,00 cC
10	82,50 bB	80,00 bB
20	98,00 aA	85,00 aB
<i>P. organensis</i>		
0	0 bC	0 bC
10	10,50 aA	5,00 aB
20	12,75 aA	6,00 aB

Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical, dentro de cada temperatura, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade; e médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal, dentro de cada concentração, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A hidratação de sementes maduras e secas estabelece o início do processo de germinação, possibilitando a reativação do sistema metabólico e a síntese de novos compostos (Labouriau, 1983). De acordo com Carvalho e Nakagawa (2003), por meio do fornecimento da água, ocorre a reidratação dos tecidos e a consequente intensificação da respiração e de todas as outras atividades metabólicas, que culminam com o fornecimento de energia e nutrientes necessários para a retomada do crescimento do eixo embrionário. Esse fato deve ter favorecido a germinação das sementes de *P. foetida*, e a combinação com o  $\text{KNO}_3$  promoveu germinação mais significativa nessa espécie.

Na ausência do  $\text{KNO}_3$ , não houve germinação das sementes de *P. organensis* em ambos os regimes de temperatura (Tabela 6). No entanto, observa-se que a combinação do nitrato de potássio com os diferentes regimes de temperatura evidenciou taxa de germinação na espécie, sendo mais expressiva na combinação de 20% de  $\text{KNO}_3$  à temperatura de 25° C.

As sementes de numerosas espécies de plantas cultivadas ou silvestres

apresentam resposta positiva a temperaturas alternadas (Santos et al., 1999), muito provavelmente porque simulam as condições naturais. *P. organensis* é amplamente distribuída em regiões de temperatura mais amena, esse atributo é tão significativo que o epíteto específico, *organensis*, é referente ao local de coleta do exemplar tipo, realizado na Serra dos Órgãos, estado do Rio de Janeiro (Milward-Azevedo e Baumgratz, 2004).

A espécie *P. alata* apresentou, para percentagem de germinação, diferenças significativas a 5% de probabilidade para os fatores concentração e suas interações com os outros fatores (Tabela 4). Temperatura, isoladamente, não teve efeito significativo na germinação dessa espécie, porém, quando combinada com o  $\text{KNO}_3$ , houve uma resposta da espécie.

Na interação tripla (temperatura x concentração x período), para a característica percentagem de germinação, desdobradas nas tabelas 7 e 8, observa-se que, ao estudar o efeito temperatura dentro de cada combinação (concentração x período), não foram observadas diferenças entre as médias da variável temperatura dentro do período, para as concentrações de 10 e 20% de  $\text{KNO}_3$  em solução aquosa. Entretanto, a concentração de 20%, combinada com a temperatura de 25° C, foi a que promoveu uma melhor taxa de germinação nas sementes de *P. alata*.

Estudando as interações dos efeitos da temperatura e concentrações de  $\text{KNO}_3$  sobre a germinação de sementes de *Hypericum* spp, Faron et al. (2004) constataram que os regimes de temperatura adotados e as diferentes concentrações de  $\text{KNO}_3$  favorecem a germinação de *H. brasiliense*, evidenciando o efeito positivo desse composto nitrogenado sobre a germinação

O  $\text{KNO}_3$  é um agente osmótico inorgânico, atuando na recepção de elétrons quando se reduz a forma de nitrito no interior das sementes, reoxidando o NADPH e aumentando a disponibilidade de NADP para a redução das desidrogenases do ciclo da pentose fosfato, processo este que está envolvido na superação da dormência das sementes, favorecendo a sua germinação (Marcos Filho, 2005).

Tabela 7. Médias da percentagem de germinação avaliadas em sementes de *P. alata* aos 28 dias em resposta aos níveis de temperatura dentro de diferentes concentrações de KNO<sub>3</sub> e tempo.

Concentrações (%)	período (24 horas)		período (48 horas)	
	temperatura (25° C)	temperatura (35° C)	temperatura (25° C)	temperatura (35° C)
0	0,05 Bb	0,04 Bb	0,01 Bb	0,05 Bb
10	45,50 Aa	44,25 Aa	41,00 Aa	39,25 Aa
20	47,75 Aa	45,00 Aa	44,00 Aa	42,00 Aa

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal, dentro de cada nível de período e concentração, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade; e médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical, dentro de cada nível de tempo e regime de temperatura, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 8. Médias da percentagem de germinação avaliadas em sementes de *P. alata* aos 28 dias em resposta aos níveis de tempo dentro de diferentes concentrações e regimes de temperatura.

Concentrações (%)	temperatura (25° C)		temperatura (35° C)	
	período (24 horas)	período (48 horas)	período (24 horas)	Período (48 horas)
0	0,05 B	0,01 B	0,04 B	0,05 B
10	45,50 A	41,00 A	44,25 A	39,25 A
20	47,75 A	44,00 A	45,00 A	42,00 A

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal, dentro de cada regime de temperatura, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados da análise de variância para percentagem de germinação, das sementes da espécie *P. suberosa*, submetidas a diferentes temperaturas, concentrações de nitrato de potássio e período, estão apresentadas na tabela 9.

Nessa tabela, nota-se que as fontes de variação concentração e período, apresentaram efeito significativo, a 5% de probabilidade. Observam-se, na tabela

9, as médias da percentagem de germinação das sementes dessa espécie aos 28 dias após a instalação do experimento.

Tabela 9. Médias da percentagem de germinação avaliada em sementes de *P. suberosa* aos 28 dias após a instalação do experimento, em resposta à concentração dentro dos diferentes períodos.

Concentração (%)	Período (24 horas)	Período (48 horas)
0	0,05 cD	0,04 cD
10	29,00 bB	22,00 bC
20	65,50 aA	30,00 aB

Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical, dentro de cada período, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade; e médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal, dentro de cada concentração, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Para a percentagem de germinação das sementes dessa espécie, a melhor combinação observada foi o tratamento com a concentração de 20% de  $\text{KNO}_3$  durante o período de 24 horas.

De acordo com Fleck et al., (2001), de modo geral, o aumento da concentração de fontes nitrogenadas, em ensaios para a superação da dormência, pode ocasionar efeito inibitório na germinação e uma redução no índice de velocidade de germinação em algumas espécies. Lago (1974) verificou efeitos substanciais da aplicação de  $\text{KNO}_3$  na germinação de sementes da gramínea forrageira e relata que esse tratamento, também, pode ser benéfico para sementes de espécies silvestres.

A espécie *P. coriacea* foi a única espécie que não respondeu com diferenças significativas aos tratamentos com a solução aquosa de  $\text{KNO}_3$  nem para o índice de velocidade de germinação e nem para a percentagem de germinação (Tabela 1 e 2).

O  $\text{KNO}_3$ , a temperatura e o tempo não foram eficientes nos ensaios de germinação com *P. coriacea*; alguns autores (Faron et al., 2004) concordam que uma maior eficiência do  $\text{KNO}_3$ , em testes para a superação da dormência em determinada espécie, se deve a combinações deste com regimes de temperatura e distintos fotoperíodos. Em contrapartida, Fleck et al. (2001) comentam que o

aumento da concentração de fontes nitrogenadas, em ensaios para a superação da dormência, pode ocasionar efeito inibitório na germinação e uma redução no índice de velocidade de germinação em algumas espécies.

Outro fato que pode ser levado em consideração é a viabilidade das sementes de *P. coriacea*, talvez essa espécie não possua uma boa viabilidade, e o armazenamento por um longo período pode ter colaborado com a queda fisiológica das sementes, a utilização do nitrato de potássio não foi eficiente.

Os testes mais simples para a determinação do vigor são os de velocidade de desenvolvimento, sendo os mais utilizados o tempo médio de germinação e o índice de velocidade de germinação, que se baseiam no pressuposto de que sementes mais vigorosas germinam mais rapidamente do que outras, em condições inferiores, distinguindo as sementes de um mesmo lote e, principalmente, sementes de diferentes espécies (Ferreira e Borghetti, 2004).

O índice de velocidade de germinação e o percentual germinativo em espécies silvestres de *Passiflora* são reportados na literatura (Lima et al., 2006), e, neste estudo, observou-se que *P. laurifolia* e *P. giberti* apresentaram um percentual germinativo menor que as espécies cultivadas *P. alata* e *P. edulis*. Os mesmos autores ainda afirmam que é necessário que se conheçam o índice de velocidade de emergência e o tempo necessário para produção de mudas das diferentes espécies.

De acordo com Padúa et al. (2011), estudos relacionados aos fatores que interferem na viabilidade e vigor, como, por exemplo, na superação da dormência, são importantes para definir procedimentos a serem adotados nos testes para a avaliação do potencial fisiológico das sementes. Esses estudos são importantes, também, na definição da estratégia mais adequada para o armazenamento, principalmente em espécies não cultivadas, em que a heterogeneidade genética e fisiológica das amostras é acentuada.

### 3.1.6. CONCLUSÃO

O  $\text{KNO}_3$  foi eficiente na velocidade de germinação e na percentagem de

germinação das sementes de espécies de *Passiflora*, utilizadas no presente estudo, que estavam armazenadas por um longo período. Porém, seu efeito foi mais significativo em *P. organensis* e *P. setacea*, em que atuou, diretamente, na superação da dormência das sementes dessa espécie. Esse composto nitrogenado foi mais expressivo no aumento da porcentagem de germinação em *P. foetida*, aumentando-a consideravelmente, conforme o aumento da concentração.

Não foi observado nenhum efeito do  $\text{KNO}_3$  e de suas combinações com diferentes regimes de temperatura e tempo de exposição, sobre a germinação das sementes de *P. coriacea*.

Conclui-se, dessa forma, que o  $\text{KNO}_3$ , de um modo geral, favoreceu o processo germinativo das sementes das espécies utilizadas no presente estudo.

### 3.1.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alexandre, R.S., Wagner Júnior, A., Negreiros, J.R.S., Parizzotto, A., Bruckner, C.H. (2004) Germinação de sementes de genótipos de maracujazeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 39 (12): 1239-1245.

Brasil (1992) Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. *Regras para análise de sementes*. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 365p.

Carvalho, N.M., Nakagawa, J. (2000) *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. Jaboticabal: Funep, 650p.

Cruz, C.D. (2006) *Programa GENES: versão Windows – aplicativo computacional em genética e estatística*. UFV.

Edmond, J. B.; Drapala, W. J. (1958) The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. *Proceedings of the American Society Horticultural Science*, Alexandria, (71): 428-434.

- Faron, M.L.B., Perecin, M.B., Lago, A.A., Bovi, O.A., Maia, N.B. (2004) Temperatura, nitrato de potássio e fotoperíodo na germinação de sementes de *Hypericum perforatum* L. e *H. brasiliense* Choisy. *Bragantia*, 63(2): 193-199.
- Ferreira, A. G., Borghetti, F. (2004) *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 323 p.
- Fleck, N.G., Agostinetto, D., Vidal, R.A., Merotto Júnior, A. (2001) Efeitos de fontes nitrogenadas e de luz na germinação de sementes de *Bidens pilosa* e *Sida rhombifolia*. *Ciência e Agrotecnologia*, 25(3): 592-600
- Gupta, S. C. (2002) Seed dormancy studies in some *Ocimum* species and its control through chemical treatment. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, 24 (4): 957-960.
- Junqueira, N.T.V., Braga, M.F., Faleiro, F.G., Peixoto, J.R., Bernacci, L.C. (2005) Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Braga, M.F. *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. 1 ed. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p.81-108.
- Labouriau, L.G. (1983) *A germinação das sementes*. Washington: OEA, 174p.
- Lago, A.A. (1974) Observações sobre germinação de *Brachiaria brizantha* Stapf. *Semente*, Brasília, 1: 34-37.
- Lima, A. de A., Santos Filho, H. P., Caldas, R. C. (1997) *Porta-enxertos e tipos de enxertia para o maracujá-amarelo*. Cruz das Almas: EMBRAPA, (Comunicado Técnico, 50). 3p.
- Lima, A.A., Caldas, R.C., Santos, V.S. (2006) Germinação e crescimento de espécies de maracujá. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 28(1): 125-127.
- Marcos filho, J. (2005) *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba:

- Fealq, 495p.
- Milward-de-Azevedo, M. A., Baumgratz, J. F. A. (2004) *Passiflora* L. subg. *Decaloba* (DC) Rchb. (Passifloraceae) na região Sudeste. *Rodriguesia*, 55(85): 17-54.
- Oliveira, J.C., Ruggiero, C. (2005) Espécies de maracujá com potencial agrônômico. In: Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V.; Braga, M.F. (org). *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. 1 ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, p.143-158.
- Pereira, K. J. C., Dias, D. C. F. (2000) Germinação e vigor de sementes de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) submetidas a diferentes métodos de remoção da mucilagem. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, 22 (1): 288-291.
- Pádua, J.G., Schwingel, L.C., Mundim, R.C., Salomão, A.N., Roverijósé, S. C.B. (2011) Germinação de sementes de *Passiflora setacea* e dormência induzida pelo armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina 33 (11): 80-85.
- Peixoto, M. (2005) Problemas e perspectivas do maracujá ornamental. In: Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V.; Braga, M.F. (org). *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. 1 ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 457-463.
- Popinigis, F. (1985) *Fisiologia da sementes*. Brasilia: Agiplan.289p.
- Santos, C. M., Souza, G. R. L., Silva, J. R., Santos, V. L.M. (1999) Efeitos da temperatura e do substrato na germinação da sementes do maracujá (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.). *Revista Brasileira de Sementes*, 21(1): 1-6.
- Saruhan, N., Kadioglu, A., Durmus, N. (2002) Alleviation of seed dormancy in *Plantago major*. *Israel Journal of Plant Science*, v. 50, n. 3, p. 177-179.

- Souza, J.S.I., Meletti, L.M.M. (1997) *Maracujá: espécies, variedades e cultivo*. Piracicaba: FEALQ, 179p.
- Souza, S.A.M., Pereira, T.N.P., Martins, K.C., Monteiro, C.E.S., Cardoso, D.L.(2009) Efeito do nitrato de potássio na superação da dormência em sementes de *Passiflora foetida*. CD-ROM dos anais do V Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, Guarapari, ES, Brasil.
- Vitta, F.A., Bernacci, L.C. (2004) A new species and two overlooked species of *Passiflora* (Passifloraceae) from Brazil. *Brittonia*, 56: 89-95.
- Ulmer T., MacDougal J.M. (2004) *Passiflora: Passionflowers of the World*. Portland-Cambridge: Timber Press, 430p.

## 3.2. DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE ESPÉCIES DE *Passiflora* L. COM BASE EM CARACTERÍSTICAS DA GERMINAÇÃO E DAS PLÂNTULAS

### 3.2.1. RESUMO

Estudos de divergência genética são fundamentais nas fases iniciais de um programa de melhoramento genético. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo, avaliar a diversidade genética entre 10 espécies de *Passiflora*, discriminando os caracteres mais importantes na avaliação da divergência genética, com base em características da germinação e das plântulas. Foram utilizadas sementes de 10 espécies de maracujazeiro (*P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. coriacea*, *P. micropetala*, *P. giberti*, *P. setacea* e *P. capsularis*). Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 100 sementes. Foram realizados o teste de primeira contagem, a percentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG). Aos 45 dias, avaliaram-se percentagem de sobrevivência, comprimento da parte aérea, comprimento de raiz e número de folhas das plântulas, com base na percentagem de sementes germinadas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias foram agrupadas pelo método de Scott-Knott. A diversidade genética foi estudada de acordo com o método de agrupamento de Tocher, baseado na distância de Mahalanobis ( $D^2$ ) e variáveis canônicas. Com base nos resultados desse trabalho, conclui-se que as características com maior contribuição para a divergência genética foram percentagem de germinação e

índice de velocidade de germinação. As espécies *P. foetida* e *P. setacea*, as quais formaram um único grupo, foram as mais divergentes e, também, as que apresentaram a maior taxa de germinação e índice de velocidade de germinação.

### 3.2.2. ABSTRACT

Studies of genetic divergence are fundamental in the early stages of a breeding program. Thus, this study aimed to assess the genetic diversity among 10 *Passiflora* species, listing the most important characters in the evaluation of genetic diversity, based on germination and seedling traits. Seeds of 10 passion fruit species (*P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. coriacea*, *P. micropetala*, *P. giberti*, *P. setacea*, and *P. capsularis*) were assessed. The tests evaluated the first germination count, germination percentage and germination speed index (GSI), using a completely randomized design with four replications of 100 seeds. After 45 days, the seedlings were evaluated for the survival rate, shoot length, root length and leaf number, based on the percentage of germinated seeds. The data were subjected to analysis of variance and means were grouped by the Scott-Knott method. Genetic diversity was studied according to the grouping method of Tocher, based on Mahalanobis' distance ( $D^2$ ) and on canonical variables. Based on the results of this work, it was concluded that the characteristics with greatest contribution to the genetic divergence were germination percentage and germination speed index. The species *P. foetida* and *P. setacea*, which formed a separate group, were the most divergent and also those with the highest germination rate and germination speed index.

### 3.2.3. INTRODUÇÃO

O maracujazeiro é apreciado tanto pela qualidade de seus frutos, ricos em sais minerais e vitaminas, sobretudo A e C, possuindo suco com aroma e sabor

bastante agradáveis, quanto pelas propriedades farmacológicas (Pires et al., 2011). No Brasil, a espécie mais importante é o maracujazeiro-azedo (*P. edulis*) (Cunha et al., 2002), mas alguns autores (Ferreira e Oliveira, 1991) relatam que, devido à grande variabilidade que ocorre, naturalmente, em *Passiflora*, outras espécies podem apresentar características de interesse, tais como teor de sólidos solúveis e de vitamina C. O uso desse germoplasma, entretanto, é dificultado em razão do processo germinativo nessas espécies, cujas sementes são consideradas como ortodoxas ou ortodoxas intermediárias, tolerantes à perda de umidade (Nakagawa et al., 1981; Catunda et al., 2003; Osipi e Nakagawa, 2005),

Vários fatores estão envolvidos no processo germinativo das sementes, e um deles é a qualidade fisiológica das sementes. O genótipo exerce grande influência na qualidade fisiológica das sementes, sendo máxima na sua maturidade, conforme observado por Alexandre et al. (2004) e por Prete e Guerra (1999), que, também, consideram que a qualidade das sementes, como germinação, emergência e vigor de plântulas, pode ser controlada geneticamente.

Como foi mencionado anteriormente, as *Passifloras* apresentam grande diversidade genética que tem sido objeto de estudo sob as mais diferentes metodologias que visavam a estabelecer quão próximas são as espécies que compõem essa família (Crochemore et al., 2003; Muschner, 2005; Viana et al., 2006). A divergência genética é um dos mais importantes atributos avaliados pelos melhoristas de plantas na fase inicial de um programa de melhoramento genético. Nas atividades de pré-melhoramento, a diversidade genética pode ser investigada, precocemente, pela qualidade fisiológica das sementes, com os testes de vigor, pois, dessa forma, é possível agrupar espécies que apresentam similaridade no tempo médio de germinação (Dias e Marcos Filho, 1995), proporcionando estimativas mais eficientes sobre a uniformidade da germinação de determinadas espécies e, conseqüentemente, uma produção de mudas em escala comercial de maneira mais eficiente.

Existem duas maneiras de se inferir sobre a diversidade genética: de forma quantitativa e de forma preditiva. Entre as de natureza quantitativa, citam-se as análises dialélicas, nas quais são necessários os cruzamentos entre os genitores e sua posterior avaliação. As de natureza preditiva têm por base as diferenças morfológicas, de qualidade nutricional, fisiológica ou molecular, quantificadas em alguma medida de dissimilaridade que possa expressar o grau

de diversidade genética entre os genitores (Cruz e Carneiro, 2003). Os métodos multivariados são usados na predição da divergência genética, como a análise por componentes principais, por variáveis canônicas e os métodos aglomerativos.

A escolha do método mais adequado deve ser realizada em função da precisão desejada, da facilidade de análise e da forma com que os dados foram obtidos (Cruz et al., 1994). Métodos aglomerativos diferem dos demais em razão de dependerem, fundamentalmente, de medidas de dissimilaridade estimadas previamente. Já no método dos componentes principais e, também, no de variáveis canônicas, o objetivo é avaliar a similaridade entre genitores por intermédio de uma dispersão gráfica, em que se consideram, em geral, dois eixos cartesianos (Cruz et al., 1994).

Negreiros et al. (2008) estimaram a diversidade genética entre as 24 populações de maracujazeiro-amarelo, baseando-se em dados referentes à germinação, e encontraram resultados satisfatórios ao agruparem populações semelhantes quanto à sincronização do tempo de germinação.

Este estudo teve como objetivo avaliar a diversidade genética entre 10 espécies de maracujazeiro, *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. coriacea*, *P. micropetala*, *P. giberti*, *P. setacea* e *P. capsularis*, com base em dados da capacidade germinativa das sementes, utilizando procedimentos multivariados.

### 3.2.4. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.2.4.1. Material Vegetal

As sementes das espécies *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. coriacea*, *P. micropetala*, *P. giberti*, *P. setacea* e *P. capsularis*, utilizadas neste trabalho, foram retiradas de frutos obtidos de polinização controlada em plantas saudáveis cultivadas na Unidade de Apoio à Pesquisa da Escola Agrícola Antônio Sarlo, localizada a 21° 45' de latitude sul e 41° 20' de longitude oeste e situada a 11m de altitude, localizada no município de Campos dos Goytacazes.

As sementes, após retiradas dos frutos, foram extraídas da polpa por abrasão sobre uma peneira de arame com o auxílio de cal virgem (CaO), na proporção de 50g/Kg de polpa. Posteriormente, foram lavadas e submetidas à secagem em estufa e, em seguida, à temperatura ambiente. Após a secagem, os arilos remanescentes nas sementes foram removidos por fricção manual.

#### **3.2.4.2. Condução do experimento**

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições. As unidades experimentais foram constituídas por quatro caixas gerbox (11 x 11cm), onde as sementes foram dispostas sobre duas folhas de papel germiteste umedecidas com 12 mL de água destilada e cobertas por uma terceira folha. As caixas gerbox, contendo, cada uma, 100 sementes, foram transferidas para uma câmara de germinação do tipo BOD, regulada à temperatura alternada de 20-30°C e 16-8 horas de escuro-luz, respectivamente.

#### **3.2.4.3. Variáveis analisadas**

A metodologia adotada, para a avaliação, seguiu as recomendações das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992) para *P. edulis*, e a mesma, foi estendida para as demais espécies. O critério de germinação adotado foi a emissão de, no mínimo, 0,5 cm de extensão da radícula.

##### **3.2.4.3.1. Teste de primeira contagem**

O teste de primeira contagem foi realizado pela contagem do número de sementes germinadas no 14<sup>o</sup> dia após a instalação do experimento (Brasil, 1992).

##### **3.2.4.3.2. Percentagem de germinação**

A percentagem de germinação foi realizada por meio da contagem diária, no mesmo horário, do número de sementes germinadas, durante o período de 28 dias (Brasil, 1992).

### 3.2.4.3.3. Índice de velocidade de germinação

O índice de velocidade de germinação (VG) foi calculado, utilizando-se a fórmula descrita por Edmond e Drapala (1958), sendo representada da seguinte forma:

$$\frac{I}{V} = \left[ \frac{(N_1 \cdot D_1) + (N_2 \cdot D_2) + \dots + (N_n \cdot D_n)}{(D_1 + D_2 + \dots + D_n) \cdot X} \right]$$

onde:

N = número de sementes germinadas em cada dia de contagem;

D = número de dias da avaliação.

### 3.2.4.3.4. Porcentagem de sobrevivência, a altura das plântulas, comprimento da raiz e número de folhas

Aos 45 dias, foram avaliados a percentagem de sobrevivência de plântulas após a germinação (%), a altura das plântulas (cm), o comprimento de raiz (cm), o número de folhas, conforme Negreiros et al. (2008).

### 3.2.4.3. Análise dos dados

Os dados referentes à percentagem de germinação foram transformados em arco seno  $\sqrt{\frac{x}{100}}$ , e número de folhas  $\sqrt{x+1}$ , os demais dados não sofreram transformação.

Preliminarmente, os dados foram submetidos à análise de variância, a fim de se verificar a existência de variabilidade genética entre as populações, sendo que suas médias foram agrupadas pelo teste de Scott e Knott, a 5% de probabilidade. Utilizou-se o *software* Genes (Cruz, 2006) para realizar as análises estatísticas.

Foi utilizada a análise multivariada, aplicando-se as técnicas de agrupamento e de variáveis canônicas. Na técnica de agrupamento, foi utilizada a

distância generalizada de Mahalanobis (Mahalanobis, 1936) como medida de dissimilaridade, e na delimitação dos grupos, o método de otimização de Tocher, citado por Rao (1952), adotando-se o critério de que a média das medidas de divergência, dentro de cada grupo, deve ser menor que as distâncias médias entre quaisquer grupos.

Na análise de variáveis canônicas, a diversidade genética foi evidenciada, utilizando-se eixos cartesianos, sendo os eixos representados pelas primeiras variáveis canônicas (Cruz et al., 2011). Adicionalmente, foi quantificada a contribuição relativa dos caracteres para a divergência genética, por meio das distâncias generalizadas de Mahalanobis, utilizando-se o critério proposto por Singh (1981).

### 3.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise de variância, observa-se que houve diferença significativa a 5% de probabilidade, pelo teste F, para o teste de primeira contagem, comprimento da raiz, percentagem de germinação, índice de velocidade de germinação e sobrevivência. Nas variáveis altura da parte aérea e número de folhas, não foi encontrado efeito significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

Por meio do teste de médias (Tabela 1), verificou-se que, apenas, quatro, das 10 espécies de *Passiflora*, apresentaram germinação acima de 80%, *P. foetida*, *P. edulis*, *P. setacea* e *P. micropetala*, com valores médios de 96,00; 88,50; 86,25 e 82,00%, respectivamente, indicando um alto percentual germinativo. As espécies que apresentaram maiores índices de velocidade de germinação foram, também, aquelas com germinação acima de 80%, com destaque, novamente, para *P. foetida* (Tabela 1).

Tabela 1. Agrupamento das médias referentes às variáveis, primeira contagem, índice de velocidade de germinação, percentagem de germinação, sobrevivência e comprimento da parte aérea, das 10 espécies de *Passiflora*.

Espécies	Variáveis				
	Primeira Contagem	Índice de Velocidade de Germinação	Percentagem de Germinação	Sobrevivência	Comprimento da parte aérea
<i>P. alata</i>	10,00 d	19,08 d	50,25 d	86,00 b	5,381 a
<i>P. capsularis</i>	21,75 c	15,60 d	62,00 c	76,50 c	2,212 c
<i>P. coriacea</i>	10,50 c	9,16 e	45,00 e	42,00 e	1,892 d
<i>P. edulis</i>	40,00 b	28,43 c	88,50 b	89,00 b	5,816 a
<i>P. foetida</i>	78,00 a	47,14 a	96,00 a	98,00 a	5,345 a
<i>P. giberti</i>	45,50 b	38,20 b	65,75 c	88,50 b	5,032 a
<i>P. micropetala</i>	24,50 c	30,21 c	82,00 b	82,00 b	2,230 c
<i>P. organensis</i>	25,00 c	30,20 c	42,00 e	52,00 d	2,809 c
<i>P. setacea</i>	41,00 b	41,15 a	86,25 b	91,00 b	5,904 a
<i>P. suberosa</i>	23,00 c	14,03 d	52,50 d	80,00 b	3,612 b

Segundo Tekrony e Egli (1991), o vigor das plântulas é observado pela habilidade da semente em emergir e crescer de forma rápida e vigorosa, sendo uma característica que pode influenciar na produtividade das culturas. De acordo com Melo et al. (2001), os programas de melhoramento genético em maracujá devem levar em consideração tanto características de interesse como produtividade, resistência à doença, teor de vitamina C e de sólidos solúveis, quanto a taxa de germinação das sementes dos genótipos e das espécies utilizadas em cruzamentos.

Junqueira et al. (2005), ao realizarem cruzamentos entre *P. coccinea* x *P. setacea* (F<sub>1</sub>) x *P. edulis*, verificaram que as plantas da geração F<sub>1</sub> entre *P. coccinea* x *P. setacea* são muito vigorosas, resistentes a antracnose e a verrugose. Utilizaram acessos de espécies silvestres, das espécies citadas, que

apresentaram taxa de germinação expressiva e essa, em uma percentagem menor, mas significativa, foi encontrada nos híbridos.

Verificou-se, pelo método de agrupamento de Tocher, que as espécies foram distribuídas, inicialmente, em quatro grupos, sendo que o grupo 1 reuniu cinco das 10 espécies estudadas. Assim, os dados foram analisados novamente, obtendo-se quatro grupos, sendo o grupo 1 constituído por dois subgrupos (Tabela 2). Dessa forma, foi possível observar a distinção de espécies que apresentam aspectos satisfatórios relacionados à germinação.

Tabela 2. Grupos de similaridade genética entre 10 espécies de *Passiflora*, estabelecidos pelo método de *Tocher*, baseados na distância generalizada de Mahalanobis.

Grupo	Espécies
1.1	<i>P. alata</i> , <i>P. micropetala</i> , <i>P. capsularis</i>
1.2	<i>P. organensis</i> , <i>P. suberosa</i>
2	<i>P. foetida</i> , <i>P. setacea</i>
3	<i>P. edulis</i> , <i>P. giberti</i>
4	<i>P. coriacea</i>

Em relação à contribuição relativa de cada característica para a diversidade genética entre as espécies (Tabela 3), com base no critério proposto por Singh (1981), verifica-se que, para as 10 espécies avaliadas, têm-se, em ordem decrescente de contribuição, as seguintes características: percentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, sobrevivência, primeira contagem, comprimento da raiz, comprimento da parte aérea e número de folhas, onde a percentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação contribuíram com 77,63% da distribuição total, sendo consideradas as mais importantes no presente estudo.

Tabela 3. Estimativas da contribuição relativa de cada característica (S.) para a divergência genética baseada nas características das plântulas em espécies de *Passiflora*.

Variável	Valor em Porcentagem (%)
Porcentagem de germinação	41,50
Índice de velocidade de germinação	36,13
Sobrevivência	16,39
Primeira contagem	1,93
Comprimento da raiz	1,89
Comprimento da parte aérea	1,30
Número de folhas	0,86

Os testes mais simples para a determinação do vigor e os que expressam o real potencial germinativo das espécies estudadas são os de velocidade de desenvolvimento, sendo os mais utilizados o tempo médio de germinação e o índice de velocidade de germinação, que se baseiam no pressuposto de que sementes mais vigorosas germinaram mais rapidamente do que outras em condições inferiores, distinguindo as sementes de um mesmo lote e, principalmente, sementes de espécies diferentes (Ferreira e Borghetti et al., 2004).

A dispersão gráfica das espécies por meio das variáveis canônicas (Figura 1) apresentou comportamento semelhante ao método de agrupamento de Tocher. Mas, não na mesma ordem, onde as espécies *P. foetida* e *P. setacea*, que tinham sido alocadas no grupo 2 por meio do método de Tocher, foram classificadas pelas variáveis canônicas no grupo 3.

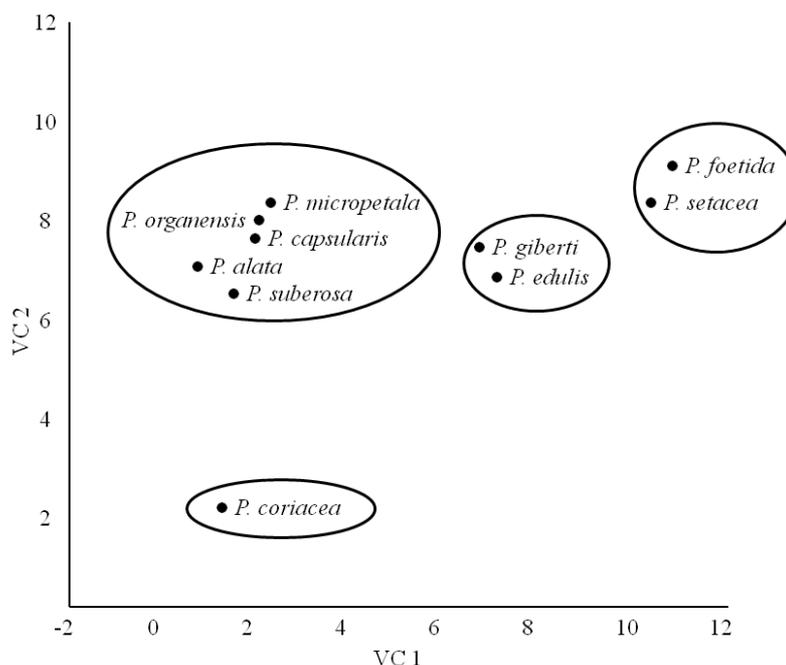


Figura 1. Dispersão gráfica dos escores de 10 espécies de *Passiflora* em relação às duas primeiras variáveis canônicas (VC1 e VC2).

As espécies *P. foetida* e *P. setacea* foram alocadas em um mesmo grupo (Tabela 2), onde se verificou que ambas apresentaram percentual germinativo acima de 80%, assim como as espécies *P. edulis* e *P. giberti*, alocadas em um único grupo e distinto do primeiro. As espécies *P. edulis*, *P. setacea* e *P. giberti* possuem o mesmo número de cromossomos (Souza et al., 2008), e híbridos interespecíficos, utilizando essas espécies, são reportados na literatura (Melo et al. 2001). *P. foetida* foi a espécie mais vigorosa no presente estudo, porém o seu número cromossômico (Souza et al., 2008) e subgênero (Judd et al., 2002) são distintos de *P. edulis*, *P. setacea* e *P. giberti*, dificultando a hibridação entre essas espécies. Porém, intercruzamentos, envolvendo *P. foetida* e espécies silvestres com o mesmo cariótipo, são reportados na literatura (Santos et al. 2011); esses híbridos apresentam, além de características de interesse ornamental, como a coloração e o formato das flores, alta taxa de germinação, corroborando com Ferreira e Borghetti (2004), que relatam que a qualidade fisiologia da sementes está relacionada, diretamente, com o genótipo da espécie em estudo.

As espécies *P. alata*, *P. micropetala*, *P. capsularis*, *P. organensis* e *P. suberosa* foram alocadas em um único grupo, e a espécie *P. coriacea*, a qual formou um grupo à parte (Figura 1), foi a espécie que apresentou os resultados

menos satisfatórios para todas as características avaliadas (Tabela 1). Algumas espécies apresentam dormência em suas sementes. Essa dormência consiste em um mecanismo de sobrevivência, pois pode retardar a germinação, evento esse que ocorre quando as condições para o estabelecimento são limitantes e não favorecem sua sobrevivência (Ramos et al., 2002). Do ponto de vista dos mesmos autores, durante o processo de domesticação, em algumas espécies, ocorreu seleção contra a dormência das sementes que, na maioria das espécies cultivadas, apresentam germinação rápida e uniforme, não sendo verificada em espécies silvestres.

Gerar conhecimentos sobre os aspectos da germinação de sementes de diversas espécies de *Passiflora*, em especial as espécies silvestres, é fundamental para a propagação e para a manutenção de bancos de germoplasma, visando a evitar a erosão genética (Passos et al., 2004). Na concepção de Cruz et al., (2011), embora o volume de informações genéticas provenientes de marcadores moleculares tenha aumentado consideravelmente nos estudos de diversidade genética, continua-se a dar ênfase ao estudo da diversidade por meio de características fenotípicas, principalmente as de natureza quantitativa; essas características apresentam, geralmente, distribuição contínua, são determinadas por vários genes e demonstram resultados satisfatórios em estudos de divergência genética.

### 3.2.6. CONCLUSÃO

Assim, com base nos resultados deste trabalho, conclui-se que as características com maior contribuição para a divergência genética foram a percentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação. As espécies *P. foetida* e *P. setacea*, as quais formaram um único grupo, foram as mais divergentes e, também, as que apresentaram a maior taxa de germinação e índice de velocidade de germinação.

### 3.2.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexandre, R.S., Wagner-Júnior, A., Negreiros, J.R.S., Parizzotto, A., Bruckner, C.H. (2004) Germinação de sementes de genótipos de maracujazeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 39 (12): 1239-1245.
- Brasil (1992) Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. *Regras para análise de sementes*. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 365p.
- Carvalho, L.P. de, Lanza, M.A., Fallieri, J., Santos, J.W. dos. (2003) Análise da divergência genética entre acessos de banco ativo de germoplasma de algodão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 38 (10): 1149-1155.
- Catunda, P.H.A., Vieira, H.D., Silva, R.F., Posse, S.C.P. (2003) influência no teor de água, da embalagem e das condições de armazenamento na qualidade de sementes de maracujá amarelo, *Revista Brasileira de Sementes*, 25(1): 65-71.
- Crochemore, M.L., Molinari, H.B., Stenzel, N.M.C. (2003) Caracterização agromorfológica do maracujazeiro (*Passiflora* spp) *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25(1): 5-10.
- Cruz, C.D. (2006) *Programa GENES: versão Windows – aplicativo computacional em genética e estatística*. UFV.
- Cruz, C.D., Ferreira, F.M., Pessoni, L.A. (2011) *Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética*, Viçosa: Ed UFV, 620 p.
- Cruz, C.D., Regazzi, A.J., Carneiro, P.C.S. (2004) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*, Viçosa: Ed UFV, 480 p.
- Cunha, M.A.P. da, Barbosa, L.V., Junqueira, N.T.V. (2002) Espécies de maracujazeiro. *In*: Lima, A. de A. *Maracujá - Produção: aspectos técnicos*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, (Frutas do Brasil, 15), p. 15-24.

- Dias, D.C.F.S.; Marcos Filho, J. (1995) Testes de vigor baseados na permeabilidade das membranas celulares: In: *Condutividade elétrica*. Informativo Abrates, Brasília, 5 : 26-33.
- Edmond, J. B.; Drapala, W. J. (1958) The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. *Proceedings of the American Society Horticultural Science*, Alexandria, (71): 428-434.
- Ferreira, A. G., Borghetti, F. (2004) *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 323 p.
- Ferreira, F.R., Oliveira, J.C. (1991) Germoplasma de *Passiflora* no Brasil. In: São José, A.R. (org) *A cultura do maracujá no Brasil*, Jaboticabal: FUNEP, p.187-200.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellog, E.A., Stevens, P.F., Donoghue, M.J. (2002) *Plant Systematics: a phylogenetic approach*. Sunderland: Sinauer Association, 576p.
- Junqueira, N.T.V., Braga, M.F., Faleiro, F.G., Peixoto, J.R., Bernacci, L.C. (2005) Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Braga, M.F. *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. 1 ed. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p.81-108.
- Mahalanobis, P.C. (1936) On the generalized distance in statistics. *Proceedings of the National Institute of Science of India*, New Delhi, (2): 49-55.
- Melo, K.T., Manica, I., Junqueira, N.T.V. (2001). Produtividade de seis cultivares de maracujazeiro-azedo durante três anos em Vargem Bonita, DF. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36(9): 1117-1125.
- Muschner, V. C. (2005) Filogenia molecular, taxas evolutivas, tempo de divergência e herança organelar em *Passiflora* L. (Passifloraceae). Tese

(Doutorado em Genética e Biologia Molecular) – Porto Alegre – RS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 105p.

Nakagawa, J., Cavariani, C., Amaral, W.A.N. (1981) Armaenamento de sementes de maracujá amarelo, *Revista Brasileira de Sementes*, 13(1): 77-80.

Negreiros, J.R.S., Alexandre, R.S., Álvares, V.S., Bruckner, C.H., Cruz, C.D. (2008) Divergência genética entre progênies de maracujazeiro-amarelo com base em características das plântulas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 30 (1): 197-201.

Nunes, T.S., Queiroz, L.P. (2001) A família Passifloraceae na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Sitientibus*, 1(1): 33-46.

Passos, I.R.S., Matos, G.V.C., Meletti, L.M.M., Scott, M.D.S., Bernacci, L. C., Vieira, M.A.R. (2004). Utilização do ácido giberélico para a quebra de dormência de sementes de *Passiflora nitida* kunth germinadas *in vitro*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 26 (2): 380-381.

Pires, M.M., José, A.R.S., Conceição, A.O. (2011) *Maracujá: avanços tecnológicos e sustentabilidade*, Ilhéus: Editora da UESC, 237p.

Prete, C.E.C., Guerra, E.P. (1999) Qualidade fisiológica das sementes. In: Destro, D., Montalván, R. (org.) *Melhoramento genético de plantas*, Londrina: UEL, p.661-676.

Rao, R.C. (1952) *Advanced statistical methods in biometric research*. New York: Jonh Wiley and Sons, 390 p.

Ramos, J.D., Chalfun, N.N.J., Pasqual, M., Rufini, J.C.M. (2002) Produção de mudas de plantas frutíferas por semente. *Informe Agropecuário*, v.23, p.64-72.

Santos, E.A. Souza, M.M., Viana, A.P., Almeida, A.A.F., Freitas, J.C.O., Lawinsky, P.R. (2011) Multivariate analysis of morphological characteristics of

two species of passion flower with ornamental potential and of hybrids between them. *Genetic and Molecular Research*, 10(4): 2457-2471.

Souza M.M., Pereira, T.N.S., Vieira, M.L.C. (2008) Cytogenetic Studies in Some Species of *Passiflora* L. (Passifloraceae): A Review Emphasizing Brazilian Species. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51(2): 247-258.

Singh, D. (1981) The relative importance of characters affecting genetic divergence. *The Indian Journal of Genetic and Plant Breeding*, New Delhi, 41 (1): 237-245.

Tekrony, M.D., Egli, D.B. (1991) Relationship of seed vigour to crop yield: a review. *Crop Science*, Madson, 31: 816-822.

### **3.3. CARACTERIZAÇÃO DA FENOLOGIA REPRODUTIVA EM ESPÉCIES DE *Passiflora* L.**

#### **3.3.1. RESUMO**

A escolha correta de espécies com florescimento sincronizado é determinante para a obtenção de ganhos em programas de melhoramento genético de maracujá. Porém, existem poucas informações quanto à fenologia reprodutiva da espécie cultivada, *P. edulis*, e seus parentes silvestres. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi caracterizar a fenologia reprodutiva de 10 espécies de *Passiflora* (*P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. coriacea*, *P. micropetala*, *P. giberti*, *P. setacea* e *P. capsularis*) no período de setembro de 2009 a setembro de 2010, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ (21° 45'W; 41° 20'S). O experimento foi conduzido em delineamento de blocos ao acaso, com duas plantas por parcela e arranjado em cinco blocos, totalizando 10 plantas de cada uma das espécies. Primeiramente, foi estabelecida uma escala para a avaliação do desenvolvimento dos estádios fenológicos reprodutivos do maracujazeiro-azedo, com base em imagens digitalizadas de nove fenofases, a mesma escala foi utilizada para a caracterização das demais espécies. Foram estimados a taxa de florescimento, o pico de florescimento e a taxa de frutificação, os dados referentes à temperatura foram correlacionados, via análise de trilha, com os dados fenológicos. As informações obtidas neste trabalho contribuíram para um melhor entendimento do

ciclo fenológico das espécies de *Passiflora*, demonstrando ser uma importante ferramenta aos programas de melhoramento genético do maracujazeiro-azedo. A escala de notas demonstrou ser eficiente na caracterização da fenologia reprodutiva das espécies de *Passiflora*, pois, com seu emprego, foi possível estimar um intervalo de dias de cada uma das fenofases utilizadas no presente estudo. O maracujazeiro-azedo apresentou emissão da gema floral entre os meses de outubro de 2009 a março de 2010, com pico de florescimento no mês de janeiro e de frutificação em fevereiro. O florescimento do maracujazeiro-azedo coincidiu com outras espécies como, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. giberti*, *P. setacea* e *P. capsularis*. As espécies *P. edulis*, *P. alata* e *P. micropetala* apresentaram alta correlação entre o número de flores e a temperatura, as duas primeiras espécies, ainda, apresentaram forte associação entre a temperatura e as variáveis, número de frutos e amadurecimento dos frutos, evidenciando que essas duas variáveis são favorecidas por temperaturas mais elevadas no local do presente estudo.

### 3.3.2. ABSTRACT

The correct choice of synchronously flowering species is decisive for a progress in passion flower breeding programs. But little information is available about the reproductive phenology of the cultivated species *P. edulis*, and its wild relatives. The objective of this study was to characterize the reproductive phenology of 10 *Passiflora* species (*P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. coriacea*, *P. micropetala*, *P. giberti*, *P. setacea*, and *P. capsularis*) from September 2009 to September 2010, under the climate conditions of Campos dos Goytacazes, state of Rio de Janeiro (21 ° 45'W, 41 ° 20'S). The experiment was conducted in a randomized block design, with five blocks and two plants per plot, i.e., 10 plants of each species. First, a graded scale was established to assess the development of the reproductive growth stages of sour passion fruit, based on electronic images of nine phenophases, The same scale was used to characterize the other species. The flowering rate, flowering peak and fruit set were estimated, and temperature data were correlated by path analysis with phenological data.

The results of this work contributed to a better understanding of the phenological cycle of the *Passiflora* species, thus supporting the breeding programs of sour passion fruit. The rating scale proved effective in characterizing the reproductive phenology of *Passiflora* species, because by the scale a range of days was estimated for each phenophase considered in this study. The flower bud of sour passion fruit grew between October 2009 and March 2010, and a flowering peak was observed in January and fruit set in February. The flowering of sour passion fruit coincided with other *Passiflora* species, such as *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. giberti*, *P. setacea*, and *P. capsularis*. In the species *P. edulis*, *P. alata* and *P. micropetala*, the number of flowers was strongly correlated with temperature. For the first two species the correlation between temperature and the variables number of fruits and fruit maturation was also high, which shows that higher temperatures at the study location were favorable for these two variables.

### 3.3.3. INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* é amplamente distribuído pelas Américas, apresentando uma grande variabilidade genética que poderá ser explorada em programas de melhoramento; porém, para um melhor uso desse recurso genético, faz-se necessária a caracterização e avaliação, ferramentas importantes para ampliar o uso das espécies desse gênero (Ganga et al., 2004).

O interesse econômico pelas espécies do gênero *Passiflora* deve-se, principalmente, à produtividade dos frutos, com destaque para o maracujá-azedo (*Passiflora edulis* Sims), que é a espécie mais cultivada e predominante no mercado (Oliveira et al., 2008). Mesmo com a grande importância econômica da espécie, a maioria dos estudos relacionados à geração de informações básicas para os programas de melhoramento genético são recentes (Viana et al. 2003), e estudos relacionados à fenologia da cultura, ainda, são incipientes.

A fenologia compreende o estudo dos eventos biológicos periódicos da vida da planta em função da sua reação às condições ambientais, como, por exemplo, umidade relativa do ar, radiação solar, pluviosidade e temperatura (Silva

et al., 2007).

Segundo Gaspari-Pezzopane et al. (2009), o conhecimento do comportamento de espécies cultivadas em relação ao ciclo fenológico, como uniformidade de maturação, duração do ciclo e florescimento, é essencial para subsidiar pesquisas, visando o melhoramento genético. Para Lawinski (2010), em experimentos envolvendo hibridação interespecífica, as informações referentes à fenologia são imprescindíveis, pois auxiliam na escolha de genitores cujo florescimento seja sincronizado. Em maracujazeiro-azedo, as fases de floração e frutificação sofrem grande influência do ambiente (Camilo, 2003), e, devido a isso, é muito importante realizar pesquisas em períodos e locais distintos a fim de caracterizar os estádios fenológicos dessa espécie, bem como compará-lo com as demais espécies do gênero *Passiflora*.

Devido à grande importância da cultura do maracujazeiro-azedo e de seus parentes silvestres, este estudo teve como objetivo elaborar uma escala ao atribuir notas a cada estágio fenológico reprodutivo e avaliar os atributos fenológicos reprodutivos como taxa de florescimento, pico de florescimento e taxa de frutificação e, com base nessa escala, realizar a caracterização da fenologia reprodutiva das espécies cultivadas, *P. edulis* e *P. alata*, e das espécies silvestres, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. coriacea*, *P. micropetala*, *P. giberti*, *P. setacea* e *P. capsularis*.

### 3.3.4. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no município de Campos dos Goytacazes, região norte do estado do Rio de Janeiro, na Unidade de Apoio à Pesquisa da Escola Agrícola Antônio Sarlo, localizada a 21° 45' de latitude sul e 41° 20' de longitude oeste e situada a 11 m de altitude, durante o período de setembro de 2009 a setembro de 2010. O experimento foi conduzido em delineamento de blocos ao acaso, com cinco blocos e duas plantas por parcela, totalizando 10 plantas de cada uma das espécies, dispostas no sistema de espaldeiras verticais com um fio de arame situado a 1,75m do solo, no espaçamento de 2 m entre plantas e 2,5 m

entre linhas.

O clima da região é classificado como tropical-quente, com inverno seco e verão quente e chuvoso (Köppen, 1948). Para a caracterização das condições meteorológicas ocorridas durante o período experimental, foram obtidos os dados climatológicos (pluviosidade e temperatura) a partir da estação convencional do INMET – Instituto Nacional de Meteorologia – situada no local do presente estudo.

Em todas as plantas, foi marcada uma ramificação assim que observado o surgimento da gema floral e registrado o dia da ocorrência do evento fenológico, bem como as posteriores mudanças de estádios. As marcações, sempre, ocorreram no primeiro dia de cada mês. Para a elaboração da escala de notas, foram obtidas fotografias digitais com a finalidade de identificar nove estádios reprodutivos das espécies de *Passiflora*. Foram consideradas etapas (fenofases) de fácil identificação e que apresentavam alterações morfológicas significativas durante a fenologia reprodutiva da espécie. A duração do ciclo reprodutivo foi calculada a partir das datas fornecidas de cada nota fenológica, sendo contados os dias desde o surgimento da gema floral até o amadurecimento completo do fruto.

As imagens digitalizadas, que compõem a escala de notas para avaliar os estádios fenológicos das espécies de *Passifloras*, foram baseadas na espécie *P. edulis* e estão representadas na figura 1. As notas atribuídas e os eventos fenológicos corresponderam, respectivamente, a: (0) surgimento da gema floral, (1) desenvolvimento do botão floral, (2) botão floral desenvolvido, (3) botão floral dois dias antes da antese, (4) botão floral no dia da antese, (5) antese, (6) desenvolvimento inicial do fruto, (7) desenvolvimento final do fruto e (8) fruto maduro.

O número de flores, quando presente, foi registrado, diariamente, em todas as plantas, e, com base nesses dados, foram estimados a taxa de florescimento, (razão entre o número total de flores na antese e o número de dias analisados) e o pico de florescimento, ou seja, o maior número de flores na antese em um único dia. Além das avaliações fenológicas relacionadas à floração, foi realizada, em conjunto, a determinação da taxa de frutificação (razão entre o número total de frutos completamente maduros e o número de dias analisados) (Dafni, 1992).

Os dados das avaliações fenológicas, referentes à floração (taxa de

florescimento e pico de florescimento) e a frutificação (taxa de frutificação), foram submetidos à estatística descritiva, utilizando-se medidas de tendência central e de variabilidade de dados, e as variáveis (número de flores, número de frutos, temperatura e pluviosidade) foram analisadas via correlação, desdobradas em efeitos diretos e indiretos, com a finalidade de verificar os efeitos diretos e indiretos das variáveis climatológicas sobre as fenológicas. As análises foram realizadas com o auxílio do programa Genes (Cruz, 2006).

### 3.3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os atributos fenológicos utilizados estão relacionados à importância dos mesmos nas pesquisas com espécies de *Passiflora*. Os três primeiros atributos são fundamentais em estudos sobre o comportamento meiótico, pois a microsporogênese e a microgametogênese estão associadas, diretamente, ao tamanho do botão floral (Souza et al., 2002). Polinizações realizadas dois dias antes da antese, utilizando-se pólenes maduros e incompatíveis, resultaram em fertilização da oosfera (Madureira, 2009); devido a isso, a importância de incluir esse evento. O botão floral, no dia da antese, é empregado em estudos de caracterização palinológica (Milward-de-Azevedo, et al., 2004) e de viabilidade polínica (Souza et al., 2002); o estágio de antese e o do desenvolvimento inicial dos frutos são importantes em experimentos de hibridação e na avaliação da taxa de pegamento de frutos (Meletti et al., 2000); por sua vez, as duas últimas fenofases, são importantes, devido ao fato de que o interesse econômico pela cultura relaciona-se, principalmente, à produtividade (Oliveira et al., 2008).

De acordo com Pezzopane et al., (2003), é de suma importância atribuir uma escala de notas aos estádios fenológicos de determinada cultura, pois, durante a sucessão das fases vegetativas e reprodutivas, as plantas passam por fenofases que determinam etapas importantes do desenvolvimento, e, sendo bem caracterizadas, podem auxiliar pesquisas relacionadas a estimativas de cultivo, previsão da época de maturação e programas de melhoramento genético.

Durante o período analisado, o maracujazeiro-azedo apresentou desenvolvimento de gema floral e florescimento entre os meses de outubro de

2009 a março de 2010, meses com a maior temperatura média (32°C), e pluviosidade, variando de 20mm (fevereiro de 2010) a 125 mm (dezembro de 2009) (Figura 2). Outras espécies, também, coincidiram o florescimento com *P. edulis* (maracujazeiro-azedo), como, por exemplo, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. giberti*, *P. setacea* e *P. capsularis*. A espécie *P. alata* apresentou coincidência de florescimento com *P. edulis* durante cinco meses, seis meses para *P. setacea* e dois meses para *P. giberti*, mas o pico de florescimento entre essas quatro espécies ocorreu em épocas distintas (Tabela 1).

Tabela 1. Taxa de florescimento (TFLO), pico de florescimento (PFLO), taxa de frutificação (TFRUT), seguido de seus parâmetros, média e desvio padrão, além das variáveis, ciclo fenológico reprodutivo (CFR), valores médios em dias, mês de início da floração (IF), mês término da floração (TF) e mês do pico de florescimento (MPF), para 10 espécies de maracujazeiro avaliadas de setembro de 2009 a setembro de 2010, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

Variáveis	Espécies									
	<i>P. edulis</i>	<i>P. alata</i>	<i>P. foetida</i> <sup>(1)</sup>	<i>P. giberti</i>	<i>P. setacea</i> <sup>(2)</sup>	<i>P. coriacea</i>	<i>P. micropetala</i>	<i>P. organensis</i> <sup>(3)</sup>	<i>P. suberosa</i> <sup>(4)</sup>	<i>P. capsularis</i>
TFLO	2,57±1,03	0,40±0,25	2,65±0,69	1,81±0,87	1,78±0,46	0,88±0,48	4,35±0,89	1,06±0,35	1,42±0,56	1,01±0,26
PFLO	5,66±1,63	3,57±1,81	9,20±3,42	11,5±4,94	11,70±1,76	8,25±16,5	23,00±6,89	9,00±4,89	8,00±6,40	5,50±1,60
TFRUT	2,04±0,82	0,20±0,12	2,20±0,65	1,35±0,26	1,87±0,42	0,47±0,05	3,99±0,91	0,96±0,33	1,49±0,32	0,97±0,24
CFR	44	49	33	48	34	48	29	31	31	33
IF	outubro	setembro	setembro	dezembro	setembro	novembro	abril	novembro	setembro	novembro
TF	março	março	setembro	janeiro	setembro	fevereiro	setembro	junho	setembro	junho
MPF	janeiro	setembro	outubro	dezembro	outubro	fevereiro	setembro	maio	dezembro	fevereiro

<sup>(1)</sup> não apresentou florescimento nos meses de novembro, dezembro e janeiro.

<sup>(2)</sup> não apresentou florescimento nos meses de junho, julho e agosto.

<sup>(3)</sup> não apresentou florescimento nos meses de novembro, dezembro e janeiro.

<sup>(4)</sup> não apresentou florescimento nos meses de junho, julho, agosto.

De acordo com Benevides et al. (2009), ao analisarem diferentes localidades da região Norte Fluminense, incluindo a do presente estudo, entre outubro de 2004 e setembro de 2005, verificaram que *P. edulis* apresentou florescimento de setembro a junho, abrangendo o período de maior temperatura média, entretanto variações significativas, entre cinco e nove meses, nos períodos de florescimento, foram observadas. Os dados do presente estudo e os de Benevides et al. (2009) evidenciam a importância de uma caracterização fenológica contínua do maracujazeiro-azedo na região do presente estudo, pois esses resultados poderão auxiliar na adoção de práticas culturais eficientes, visando, por exemplo, aumento da produtividade.

Sincronismo, na época de florescimento, entre as espécies não garante sucesso nos cruzamentos interespecíficos em *Passiflora*, pois, para se utilizar diferentes espécies de maracujazeiro na obtenção de híbridos, é necessário conhecer os horários de abertura dos botões florais e o índice de compatibilidade entre as espécies (Souza et al., 2008). Porém, os dados de uma caracterização fenológica fornecem informações importantes para subsidiar estudos de hibridação interespecífica.

Foi observado desenvolvimento de botão floral entre os meses de fevereiro a outubro (*P. foetida*), setembro a junho (*P. suberosa*), em novembro, dezembro e de abril a junho (*P. organensis*), de novembro a fevereiro (*P. coriacea*), de abril a setembro (*P. micropetala*) e de novembro a junho (*P. capsularis*) (Tabela 1, Figuras 3 a 12).

O desenvolvimento fenológico de algumas espécies silvestres de *Passiflora* é reportado, na literatura, por Faria e Stehmann (2010) e Milward-Azevedo e Baumgratz (2004); os primeiros, ao realizarem um estudo sobre a biologia reprodutiva de *P. capsularis*, verificaram que a mesma apresenta desenvolvimento fenológico reprodutivo em épocas semelhantes ao do presente estudo, ou seja, de novembro a junho; os dois últimos autores, em um estudo mais amplo sobre algumas espécies silvestres de *Passiflora*, encontradas, naturalmente, no sudeste do Brasil, verificaram que *P. organensis* apresenta um florescimento mais significativo em temperatura mais amena, essa afirmação corrobora os dados do presente estudo ao verificar o florescimento dessa espécie nos meses de abril a junho.

Em maracujazeiro-azedo, o período do surgimento da gema floral até o amadurecimento completo do fruto, observado nos meses de outubro, novembro, dezembro, janeiro, fevereiro e março, apresentaram, em média, respectivamente, 43, 43, 41, 40, 39 e 59 dias de ciclo fenológico reprodutivo, nas condições do presente estudo (Figura 3), com média de 44 dias durante todo o período supracitado (Tabela 1). Outras espécies apresentaram resultados médios semelhantes, 49 e 48 dias, respectivamente, para *P. alata* e *P. giberti* (Tabela 1). O maracujazeiro-azedo apresentou um menor ciclo fenológico reprodutivo quando a temperatura média do período foi mais elevada (Figura 2 e 3). Na concepção de Forsthofer et al. (2004), o ciclo fenológico pode variar em diferentes períodos dentro de um mesmo ano, pois a radiação solar, temperatura, pluviosidade e a umidade relativa do ar são fatores limitantes no desenvolvimento fenológico de uma determinada espécie.

As espécies *P. foetida*, *P. setacea*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. micropetala* e *P. capsularis* apresentaram, em média, o ciclo fenológico reprodutivo menor do que *P. edulis* (Tabela 1; Figuras 3 a 12), e coincidência de florescimento em alguns meses (Figura 3 a 12), porém o pico de florescimento não coincidiu com nenhuma das espécies estudadas, nas condições do presente estudo (Tabela 1). Esses dados estão de acordo com Cervi (1997), ao relatar épocas de florescimento de algumas espécies de *Passiflora*.

O pico de florescimento foi de oito flores para o maracujazeiro-azedo, no mês de janeiro, e a maior incidência de frutos maduros foi contabilizada no mês de fevereiro, com taxa de frutificação de 3,57 (Tabela 2); essa espécie é exigente quanto à luminosidade, necessitando, aproximadamente, de 12 horas diárias de luz para florescer, justificando, dessa forma, seu pico de florescimento em períodos do ano com dias mais longos (Camilo, 2003).

As espécies que apresentaram o maior pico de florescimento no total de plantas observadas foram *P. micropetala* com 32 flores abertas em um único dia no mês de setembro e *P. setacea* com 19 flores abertas em um mesmo dia, no mês de outubro (Tabelas 1, 8 e 10). De acordo com Saiki et al. (2008), o ambiente pode influenciar alguns caracteres morfológicos de certas espécies, especialmente aqueles ligados à reprodução, e determinados locais apresentam condições mais favoráveis à sobrevivência e à perpetuação da espécie, o que

pode ser evidenciado pelo maior número de flores e de frutos.

A partir da análise de correlação, foi possível verificar o efeito dos fatores ambientais sobre o ciclo fenológico reprodutivo das espécies de *Passiflora*. Pela decomposição do coeficiente de correlação em efeitos diretos e indiretos (Tabela 11), observou-se forte associação entre a temperatura e o número de flores com coeficiente de correlação igual a 0,87 e de efeito direto igual a 0,78 para *P. edulis*. A temperatura apresentou uma correlação expressiva (0,66) com o amadurecimento dos frutos, indicando que essa variável possui influência significativa sobre essa fenofase no maracujazeiro-azedo.

De acordo com Vencovsky e Barriga (1992), quando o coeficiente de correlação e o efeito direto forem semelhantes em magnitude e sinal, essa correlação direta explica a verdadeira associação entre as variáveis. Isso representa que, aparentemente, essa variável (temperatura) atua com maior independência e influencia, diretamente, o número de flores e o amadurecimento dos frutos durante o ciclo fenológico reprodutivo do maracujazeiro-azedo. Dessa forma, ao obter as correlações e decompô-las em efeitos diretos e indiretos, é possível obter dados mais acurados sobre o verdadeiro efeito de uma variável sobre uma determinada característica, sendo essa análise uma importante ferramenta na caracterização do ciclo fenológico de uma determinada espécie.

As espécies *P. alata* e *P. micropetala* apresentaram efeitos expressivos na análise de correlação, onde foram observados, para a primeira espécie, um coeficiente de correlação entre a temperatura e o número de flores (0,72) e temperatura e o amadurecimento de frutos (0,76). *P. micropetala* apresentou forte associação entre a temperatura e o número de flores, cujos coeficientes de correlação foram 0,85, e de efeito direto 0,76.

As demais espécies (Tabelas 12 a 21) não apresentaram correlação dos atributos fenológicos com os fatores climatológicos; por sua vez, as mesmas apresentaram florescimento em quase todo o período do estudo, indicando que a temperatura e a pluviosidade não interferem no seu florescimento. Lawiscki (2010), ao caracterizar a fenologia reprodutiva de *P. alata* e *P. cincinnata*, nas condições de Ilhéus-BA, verificou que, apenas, a primeira espécie apresentou correlação expressiva entre as variáveis fenológicas e climatológicas. Esses dados corroboram o do presente estudo, onde foi possível verificar que as

espécies *P. edulis*, *P. alata* e *P. micropetala* apresentaram forte associação entre dados climatológicos e fenológicos.

Alguns trabalhos têm sido realizados com o objetivo de estimar as correlações entre diferentes características agronômicas, assim como decompô-las em seus efeitos diretos e indiretos, fornecendo resultados mais expressivos para uma determinada cultura (Amorim et al., 2008), como visto, dentre outras culturas, em girassol (Hladni et al., 2006), trigo (Hartwig et al., 2007), porém, para estimar correlações e efeitos diretos e indiretos entre condições ambientais e determinada característica de interesse, encontram-se trabalhos que utilizam, apenas, correlações de Pearson (Santos et al., 2010), ou Spearman (Pedroni et al., 2002). Contudo, o estudo de correlações simples entre caracteres não permite tirar conclusões sobre o estudo da relação de causa/efeito (Vencovsky e Barriga, 1992).

### 3.3.6. CONCLUSÃO

As informações obtidas neste trabalho contribuíram para um melhor entendimento do ciclo fenológico das espécies de *Passiflora*, demonstrando ser uma importante ferramenta aos programas de melhoramento genético do maracujazeiro-azedo.

A escala de notas demonstrou ser eficiente na caracterização da fenologia reprodutiva das espécies de *Passiflora*, pois, com seu emprego, foi possível estimar um intervalo de dias de cada uma das fenofases utilizadas no presente estudo.

O maracujazeiro-azedo apresentou emissão da gema floral entre os meses de outubro de 2009 a março de 2010, com pico de florescimento no mês de janeiro e de frutificação em fevereiro.

O florescimento do maracujazeiro-azedo coincidiu com outras espécies como *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. giberti*, *P. setacea* e *P. capsularis*.

As espécies *P. edulis*, *P. alata* e *P. micropetala* apresentaram alta

correlação entre o número de flores e a temperatura; as duas primeiras espécies apresentaram, ainda, forte associação entre a temperatura e as variáveis, número de frutos e amadurecimento dos frutos, evidenciando que essas duas variáveis são favorecidas por temperaturas mais elevadas no local do presente estudo.

### 3.3.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amorim, E. P., Ramos, N. P., Ungaro, M. R. G., Kiihl, T. A. M. (2008) Correlações e análise de trilha em girassol. *Bragantia*, 67(2): 307-316.
- Benevides, C.R., Gaglianone, M.C., Hoffmann, M. (2009) Visitantes florais do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. Passifloraceae) em áreas de cultivo com diferentes proximidades a fragmentos florestais na região Norte Fluminense, RJ. *Revista Brasileira de Entomologia*, 53(3): 415-421.
- Camillo, E. (2003) *Polinização do maracujá*. Ribeirão Preto: Holos, 44 p.
- Cervi, A. C. (1997) *Passifloraceæ do Brasil: Estudo do gênero Passiflora L., subgênero Passiflora*. Madri: Forquera, 45: 95p.
- Dafni, A. (1992) *Pollination ecology: a practical approach*. New York: Oxford University Press, 250p.
- Faria, F.S., Stehmann, J.R., (2010) Biologia reprodutiva de *Passiflora capsularis* L. e *P. pohlii* Mast. (Decaloba, Passifloraceae). *Acta Botânica Brasílica*. 24(1): 262-269.
- Forsthofer, E.L., Silva, P.R.F., Argenta, G., Strieder, M., Suhre, E., Rambo, E. (2004) Desenvolvimento fenológico e agrônomico de três híbridos de milho em três épocas de semeadura. *Ciência Rural*, 34(5): 1341-1348.

- Ganga, R.M.D., Ruggiero, C., Lemos, E.G.M., Grili, G.V.G., Gonçalves, M.M., Chagas, E.A., Wickert, E. (2004) Diversidade genética em maracujazeiro-amarelo utilizando marcadores moleculares fAFLP. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 26(3): 494-498.
- Gaspari-Pezzopane, C. Favarin, J.F., Maluf, M.P., Pezzopane, J.R.M., Guerreiro Filho, O. (2009) Atributos fenológicos e agronômicos em cultivares de cafeeiro arábica. *Ciência Rural*, 39(3): 711-717.
- Hartwig, I., Carvalho, F. I. F., Vieira E. A., Silva J. A. G., Bertan, I.; Ribeiro G., Finatto, T., Reis, C. E. S., Busato, C. C. (2007) Estimativa de coeficientes de correlação e trilha em gerações segregantes de trigo hexaplóide. *Bragantia*, 66(2): 203-218.
- Hladni, N., Skoric, D., Kraljevic-Balalic, M., Sakac, Z., Jovanovic, D. (2006) Combining ability for oil content and its correlations with other yield components in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Helia*, 29 (44): 101-110.
- Köppen, W. (1948) *Climatologia: com um estudio de los climas de la tierra*. Mexico: Fondo de Cultura Econômica, 479p.
- Lage, D.A.C., Junqueira, N.T.V., Borges, T.A., Braga, M.F., Faleiro, F.G., Belloni, G., Alencar, C.M. (2005) Compatibilidade genética entre o maracujazeiro-azedo e espécies de passifloras silvestres, CD-ROM dos *Anais do 3º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas*, Gramado, RS, Brasil.
- Lawinski P.R. (2010) *Caracterização morfológica, reprodutiva e fenológica de Passiflora alata* CURTIS e *Passiflora cincinnata* MAST. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Ilhéus – BA, Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, 134f.
- Madureira, H.C. (2009) *Caracterização celular e molecular do sistema de auto-incompatibilidade esporofítica do maracujazeiro-amarelo (Passiflora edulis*

- Sims*). Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 81f.
- Meletti, L.M.M., Santos, R.R., Minami, K.. (2000) Melhoramento do maracujazeiro azedo: obtenção do cultivar 'composto IAC-27'. *Scientia Agrícola*, 57(3): 491-498.
- Milward-de-Azevedo, M.A., Baumgratz, J.F.A. (2004) *Passiflora* subgênero *Decaloba* (DC) Rchb. (Passifloraceae) na região sudeste do Brasil. *Rodriguésia*, 55(85): 17-54.
- Milward-de-Azevedo, M.A., Gonçalves-Esteves, V., Baumgratz, J.F.A. (2004). Palinotaxonomia das espécies de *Passiflora* L. subg. *Decaloba* (DC.) Rchb. (Passifloraceae) no Sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 27(4): 655-665.
- Oliveira, E.J., Santos, V.S., Lima, D.S., Machado, M.D., Lucena, R.S., Motta, T.B.N., Castellen, M.S. (2008) Seleção em progênies de maracujazeiro-amarelo com base em índices multivariados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43(11): 1543-1549.
- Pedroni, F., Sanchez, M., Santos, F. A.M. (2002) Fenologia da copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf. Leguminosae, Caesalpinioideae) em uma floresta semidecídua no sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 25(2): 183-194.
- Pezzopane, J.R.M., Pedro-Júnior, M.J., Thomaziello, A., Camargo, M.B.P. (2003). Escala de avaliação de estádios fenológicos do cafeeiro arábica. *Bragantia*, 62(3): 499-505.
- Saiki, P.T.O., Silva, B., Lomônaco, C. (2008) Expressão de caracteres reprodutivos e vegetativos de *Senna velutina* (Vogel) H.S. Irwin & Barneby

(leguminosae, Caesalpinioideae) em dois ambientes distintos de cerrado. *Revista Brasileira de Botânica*, 31(2): 363-369.

Santos, C. M., Endres, L. (2010) Wanderley, H. C. L.; Rolim Filho, E. V.; Ferreira, V. M. Fenologia e crescimento do pinhão manso cultivado na zona da Mata do estado de Alagoas, Brasil. *Scientia Agraria*, 11(3): 201-209.

Souza, L.S., Junqueira, N.T.V., Lima, C.A., Silva, Faleiro, F.G., Campos Neto, F.C., Bernacci, L.C. (2008) Determinação da compatibilidade genética entre espécies de Passifloras visando a obtenção de híbridos resistentes a doença. CD-ROM dos Anais do IX Simpósio Nacional do Cerrado, Brasília, DF, Brasil.

Souza, M.M., Pereira, T.N.S., Martins, E.R. (2002) 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 e Agrotecnologia*, 26(6): 1209-1217.

Silva, F.J.T., Schwade, M.R.M., Webber, A.C. (2007) Fenologia, biologia floral e polinização de *Erythroxylum cf macrophyllum* (Erythroxylaceae), na Amazônia Central. *Revista Brasileira de Biociências*, 5: p.186-188.

Vencovsky, R., Barriga, P. (1992) *Genética Biométrica no Fitomelhoramento*. Ribeirão Preto: SBG, 496p.

Viana, A.P., Pereira, T.N.S., Pereira, M.G., Souza, M.M., Maldonado, J.F.M. Amaral Júnior, A.T. (2003) Diversidade genética entre genótipos comerciais de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de passifloras nativas determinada por marcadores RAPD. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25(3): 489-493.

## APÊNDICE



Figura 1. Escala de notas para o desenvolvimento fenológico. (0) surgimento da gema floral, (1) desenvolvimento do botão floral, (2) botão floral desenvolvido, (3) botão floral dois dias antes da antese, (4) botão floral no dia da antese, (5) antese, (6) desenvolvimento inicial do fruto, (7) desenvolvimento final do fruto e (8) fruto maduro.

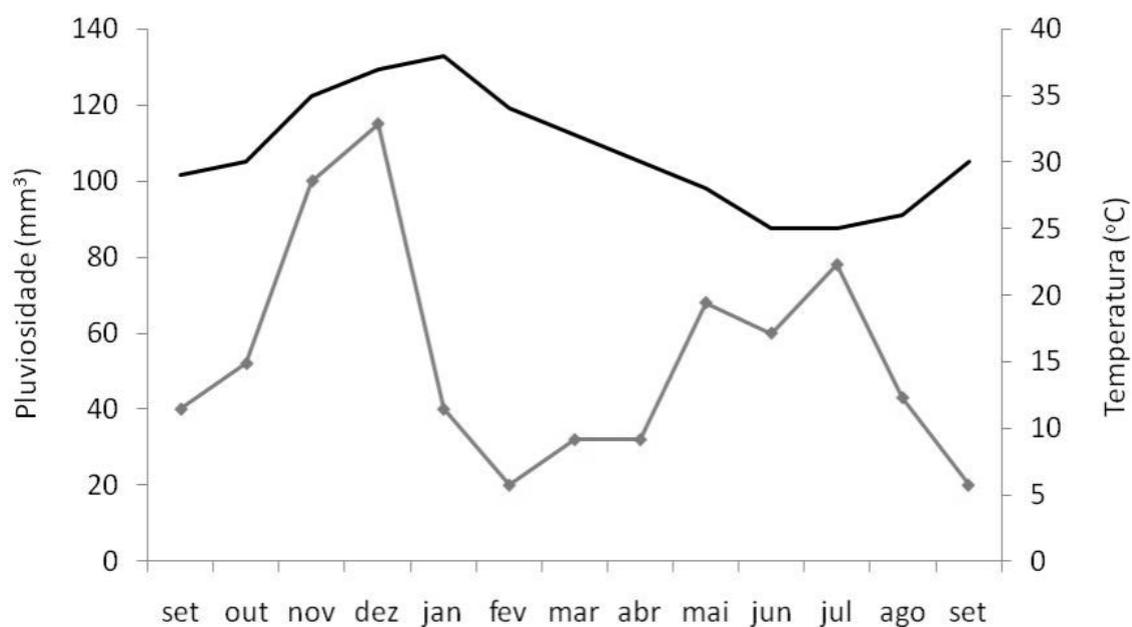


Figura 2. Curva de temperatura média (°C) (—) e pluviosidade (—) para o período de setembro de 2009 a setembro de 2010, para o município de Campos dos Goytacazes-RJ.

Tabela 2 - Taxa de florescimento, pico de florescimento e taxa de frutificação, seguidos de seus parâmetros, média e desvio padrão durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. Edulis*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

mês	taxa de florescimento	pico de florescimento	taxa de frutificação
setembro	-	-	-
outubro	1,38	4,00	-
novembro	1,66	4,00	1,26
dezembro	2,03	6,00	1,45
janeiro	3,85	8,00	1,87
fevereiro	3,61	7,00	3,57
março	2,93	5,00	2,22
abril	-	-	1,88
maio	-	-	-
junho	-	-	-
julho	-	-	-
agosto	-	-	-
setembro	-	-	-
desvio padrão	1,03	1,63	0,82
média	2,57	5,66	2,04

Tabela 3 - Taxa de florescimento, pico de florescimento e taxa de frutificação, seguidos de seus parâmetros, média e desvio padrão durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. Alata*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

mês	taxa de florescimento	pico de florescimento	taxa de frutificação
setembro	0,80	7,00	-
outubro	0,70	5,00	0,32
novembro	0,45	3,00	0,40
dezembro	0,33	3,00	0,29
janeiro	0,25	3,00	0,13
fevereiro	0,22	2,00	0,16
março	0,10	2,00	0,09
abril	-	-	0,07
maio	-	-	-
junho	-	-	-
julho	-	-	-
agosto	-	-	-
setembro	-	-	-
desvio padrão	0,25	1,81	0,12
média	0,40	3,57	0,20

Tabela 4 - Taxa de florescimento, pico de florescimento e taxa de frutificação, seguidos de seus parâmetros, média e desvio padrão durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. Foetida*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

mês	taxa de florescimento	pico de florescimento	taxa de frutificação
setembro	1,66	12,00	-
outubro	3,87	17,00	1,50
novembro	-	-	3,54
dezembro	-	-	-
janeiro	-	-	-
fevereiro	1,60	11,00	1,17
março	2,58	10,00	2,29
abril	3,00	6,00	2,16
maio	2,96	7,00	2,16
junho	2,93	8,00	2,30
julho	2,90	8,00	2,61
agosto	3,00	7,00	2,54
setembro	2,06	6,00	1,76
desvio padrão	0,69	3,42	0,65
média	2,65	9,20	2,20

Tabela 5 - Taxa de florescimento, pico de florescimento e taxa de frutificação, seguidos de seus parâmetros, média e desvio padrão durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. Suberosa*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

mês	taxa de florescimento	pico de florescimento	taxa de frutificação
setembro	1,03	8,00	-
outubro	1,25	4,00	1,13
novembro	1,43	9,00	1,40
dezembro	1,90	12,00	1,89
janeiro	1,93	11,00	1,91
fevereiro	1,82	11,00	1,79
março	1,51	7,00	1,50
abril	1,50	8,00	1,50
maio	1,33	6,00	1,30
junho	-	-	1,00
julho	-	-	-
agosto	-	-	-
setembro	0,96	6,00	-
desvio padrão	0,56	6,4	0,32
média	1,42	8,00	1,49

Tabela 6 - Taxa de florescimento, pico de florescimento e taxa de frutificação, seguidos de seus parâmetros, média e desvio padrão durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. Organensis*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

mês	taxa de florescimento	pico de florescimento	taxa de frutificação
setembro	-	-	-
outubro	-	-	-
novembro	0,76	4,00	-
dezembro	0,67	4,00	0,64
janeiro	-	-	0,66
fevereiro	-	-	-
março	-	-	-
abril	1,03	10,00	
maio	1,38	15,00	1,29
junho	1,46	12,00	1,32
julho	-	-	0,90
agosto	-	-	-
setembro	-	-	-
desvio padrão	0,35	4.89	0,33
média	1,06	9,00	0,96

Tabela 7 - Taxa de florescimento, pico de florescimento e taxa de frutificação, seguidos de seus parâmetros, média e desvio padrão durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. Coriacea*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

mês	taxa de florescimento	pico de florescimento	taxa de frutificação
setembro	-	-	-
outubro	-	-	-
novembro	0,65	5,00	-
dezembro	0,61	8,00	0,41
janeiro	0,67	9,00	0,47
fevereiro	1,61	11,00	0,58
março	-	-	0,43
abril	-	-	-
maio	-	-	-
junho	-	-	-
julho	-	-	-
agosto	-	-	-
setembro	-	-	-
desvio padrão	0,48	16,5	0,05
média	0,88	8,25	0,47

Tabela 8 - Taxa de florescimento, pico de florescimento e taxa de frutificação, seguidos de seus parâmetros, média e desvio padrão durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. Micropetala*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

mês	taxa de florescimento	pico de florescimento	taxa de frutificação
setembro	-	-	-
outubro	-	-	-
novembro	-	-	-
dezembro	-	-	-
janeiro	-	-	-
fevereiro	-	-	-
março	-	-	-
abril	3,16	12,00	2,90
maio	3,51	19,00	2,93
junho	4,73	27,00	4,43
julho	4,70	25,00	4,33
agosto	4,41	23,00	4,12
setembro	5,63	32,00	5,23
desvio padrão	0,89	6,89	0,91
média	4,35	23,00	3,99

Tabela 9 - Taxa de florescimento, pico de florescimento e taxa de frutificação, seguidos de seus parâmetros, média e desvio padrão durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. Giberti*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

mês	taxa de florescimento	pico de florescimento	taxa de frutificação
setembro	-	-	-
outubro	-	-	-
novembro	-	-	-
dezembro	2,43	15,00	-
janeiro	1,19	8,00	1,16
fevereiro	-	-	1,54
março	-	-	-
abril	-	-	-
maio	-	-	-
junho	-	-	-
julho	-	-	-
agosto	-	-	-
setembro	-	-	-
desvio padrão	0,87	4,94	0,26
média	1,81	11,5	1,35

Tabela 10 - Taxa de florescimento, pico de florescimento e taxa de frutificação, seguidos de seus parâmetros, média e desvio padrão durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. Setacea*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

mês	taxa de florescimento	pico de florescimento	taxa de frutificação
setembro	1,33	10,00	
outubro	2,51	19,00	2,38
novembro	1,66	13,00	1,55
dezembro	1,77	12,00	1,69
janeiro	2,45	9,00	2,30
fevereiro	2,50	11,00	2,37
março	2,26	12,00	2,19
abril	1,66	10,00	1,58
maio	1,58	12,00	1,54
junho	-	-	1,28
julho	-	-	-
agosto	-	-	-
setembro	1,26	13,00	-
desvio padrão	0,46	1,76	0,42
Média	1,78	11,70	1,87

Tabela 11 - Taxa de florescimento, pico de florescimento e taxa de frutificação, seguidos de seus parâmetros, média e desvio padrão durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. Capsularis*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

Mês	taxa de florescimento	pico de florescimento	taxa de frutificação
setembro	-	-	-
outubro	-	-	-
novembro	0,54	4,00	
dezembro	0,90	7,00	0,86
Janeiro	0,87	3,00	0,85
fevereiro	1,32	7,00	1,31
março	0,96	6,00	0,96
abril	0,97	4,00	0,89
maio	1,29	6,00	1,17
junho	1,23	7,00	1,19
julho	-	-	0,53
agosto	-	-	-
setembro	-	-	-
desvio padrão	0,26	1,60	0,24
média	1,01	5,50	0,97

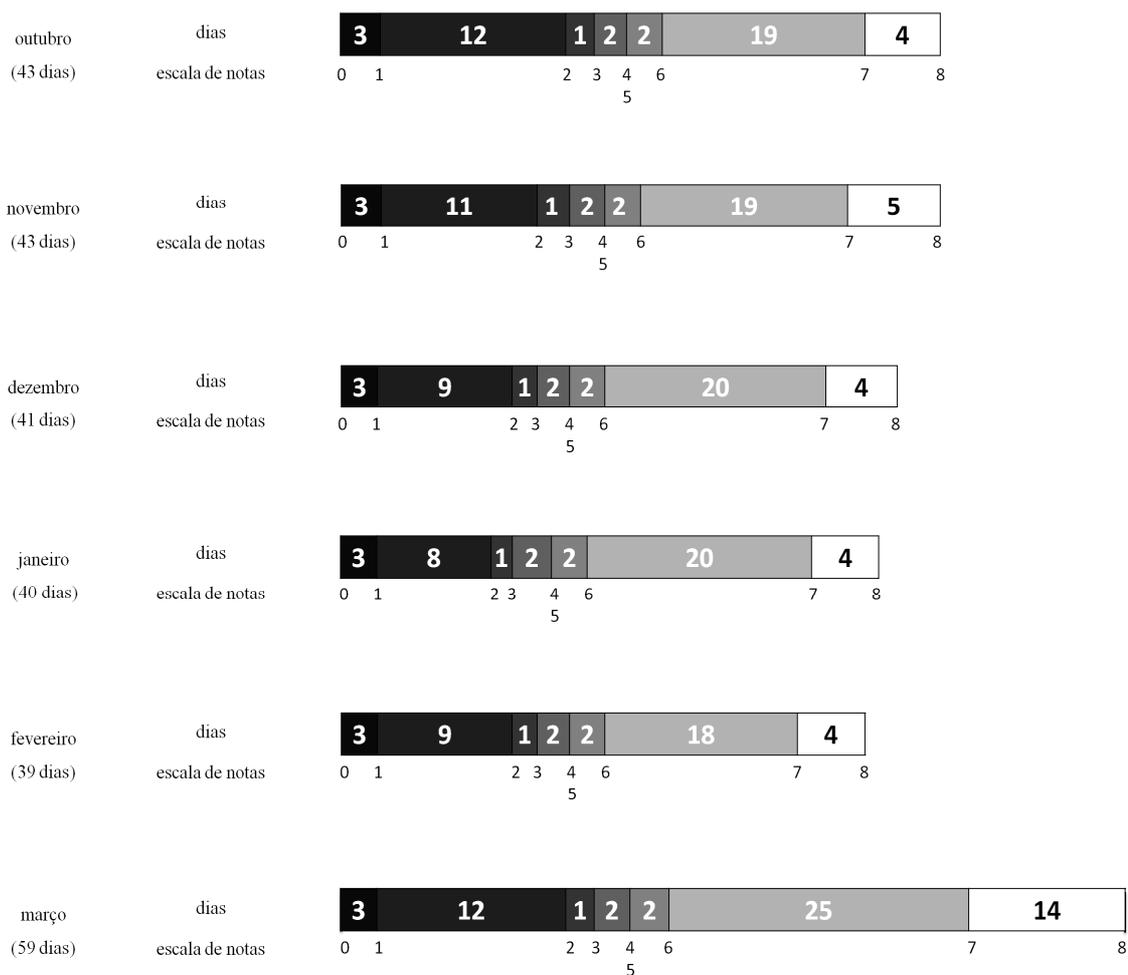


Figura 3. Duração das diferentes fenofases de *P. edulis*, baseando-se na escala de notas, (0) surgimento da gema floral, (1) desenvolvimento do botão floral, (2) botão floral desenvolvido, (3) botão floral dois dias antes da antese, (4) botão floral no dia da antese, (5) antese, (6) desenvolvimento inicial do fruto, (7) desenvolvimento final do fruto e (8) fruto maduro durante os meses de outubro de 2009 a março de 2010, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

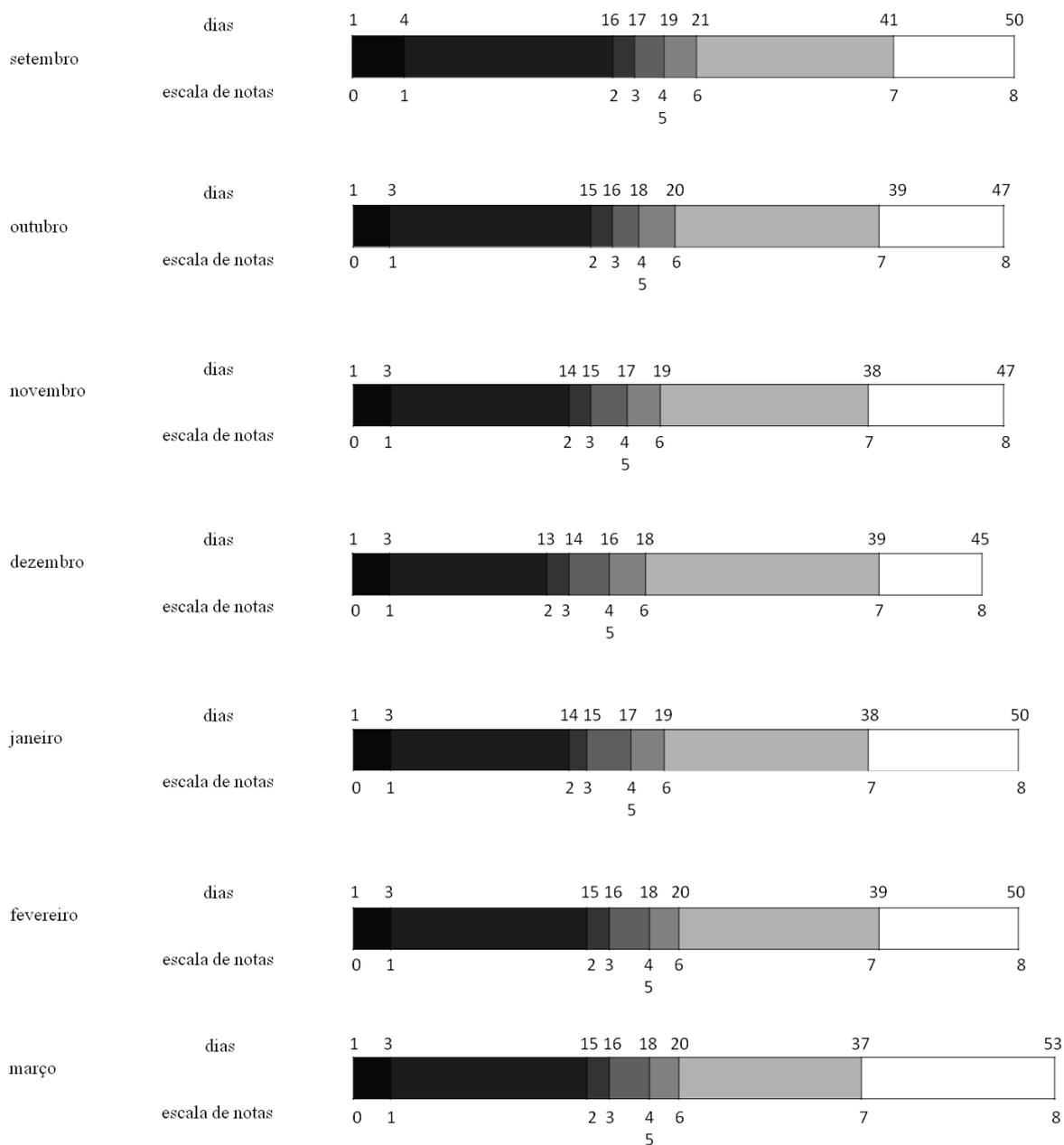


Figura 4. Duração das diferentes fenofases de *P. alata*, baseando-se na escala de notas, (0) surgimento da gema floral, (1) desenvolvimento do botão floral, (2) botão floral desenvolvido, (3) botão floral dois dias antes da antese, (4) botão floral no dia da antese, (5) antese, (6) desenvolvimento inicial do fruto, (7) desenvolvimento final do fruto e (8) fruto maduro durante os meses de setembro de 2009 a março de 2010, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

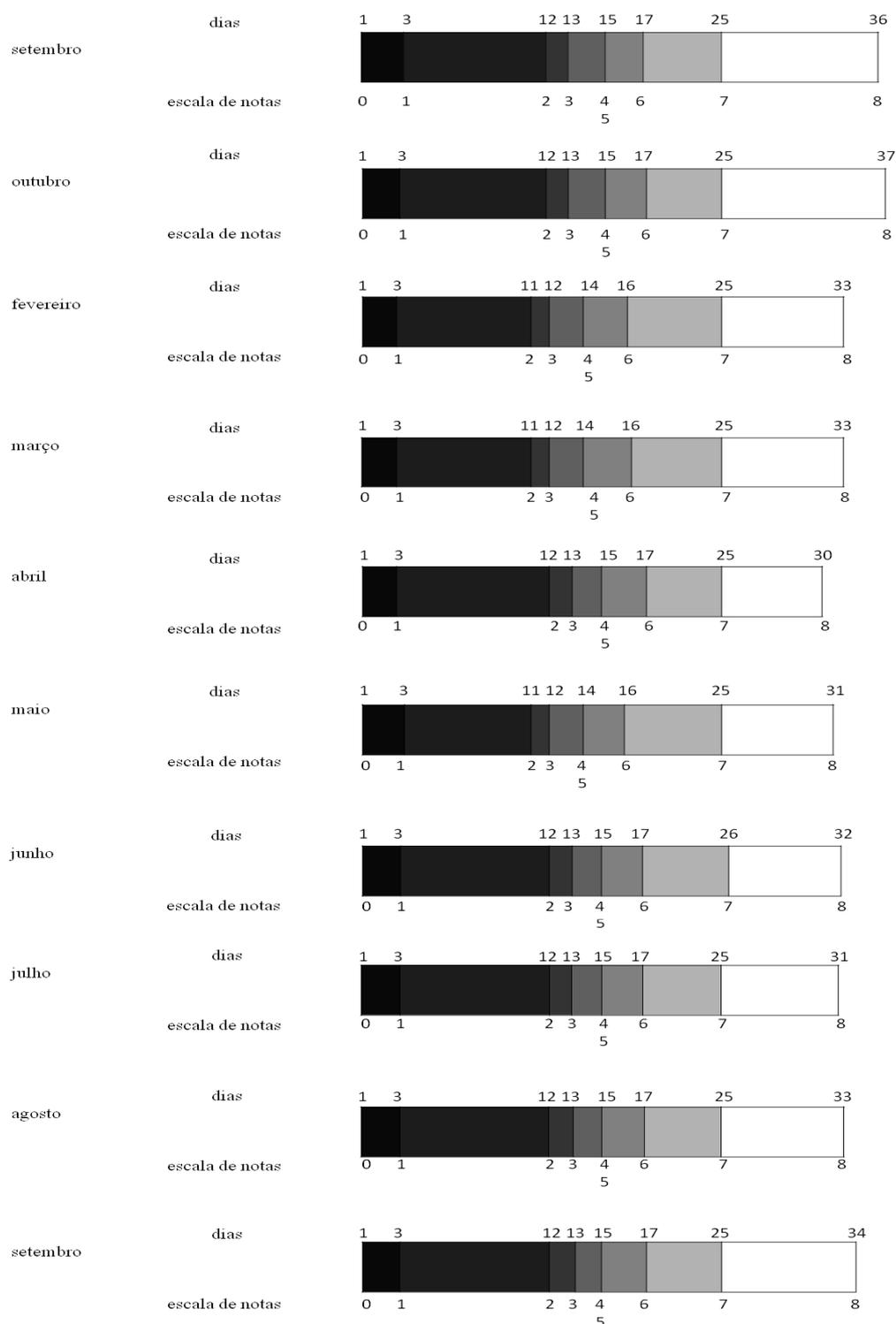


Figura 5. Duração das diferentes fenofases de *P. foetida*, baseando-se na escala de notas, (0) surgimento da gema floral, (1) desenvolvimento do botão floral, (2) botão floral desenvolvido, (3) botão floral dois dias antes da antese, (4) botão floral no dia da antese, (5) antese, (6) desenvolvimento inicial do fruto, (7) desenvolvimento final do fruto e (8) fruto maduro durante os meses de setembro de 2009 a setembro de 2010, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

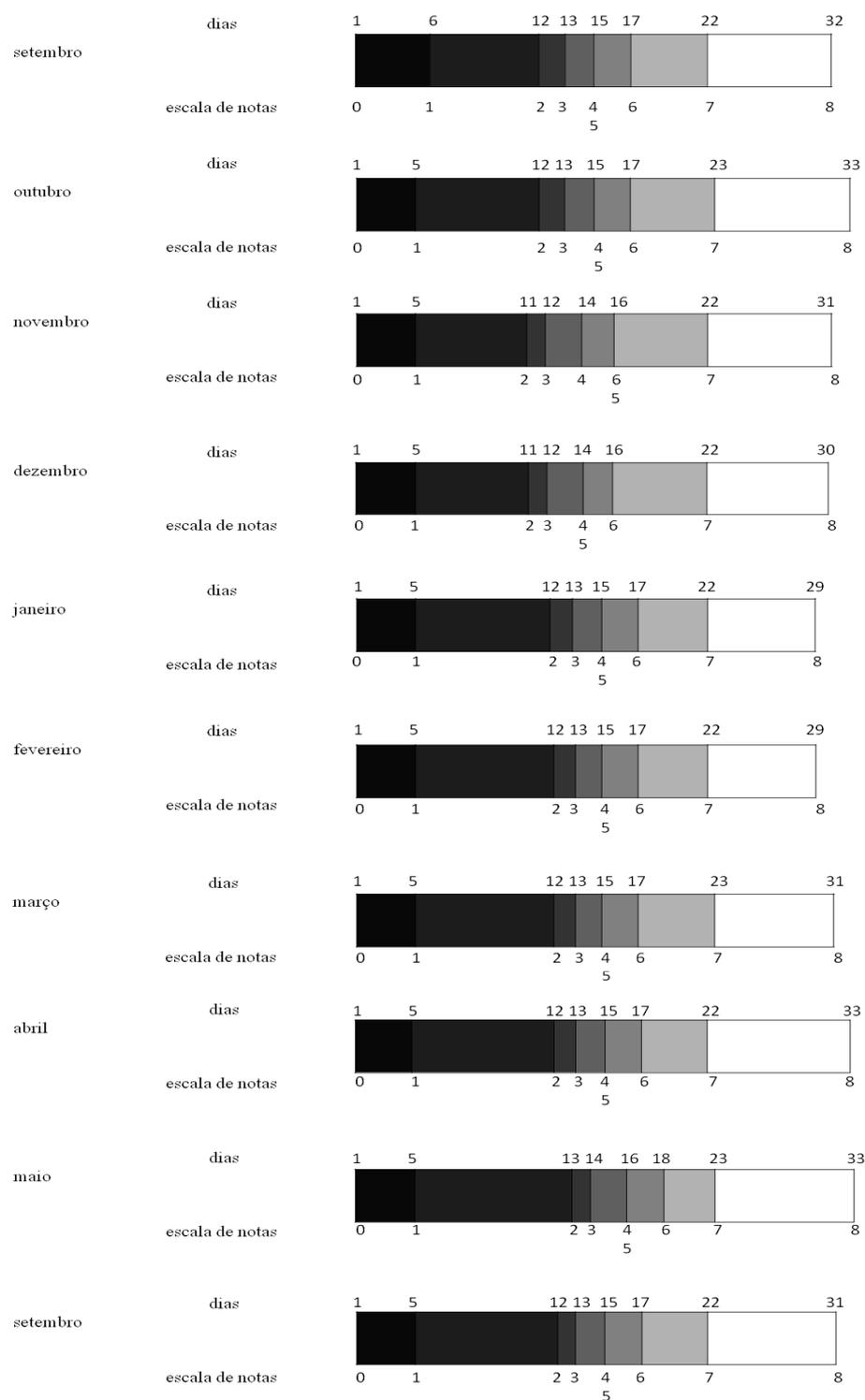


Figura 6. Duração das diferentes fenofases de *P. suberosa*, baseando-se na escala de notas, (0) surgimento da gema floral, (1) desenvolvimento do botão floral, (2) botão floral desenvolvido, (3) botão floral dois dias antes da antese, (4) botão floral no dia da antese, (5) antese, (6) desenvolvimento inicial do fruto, (7) desenvolvimento final do fruto e (8) fruto maduro durante os meses de setembro de 2009 a setembro de 2010, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

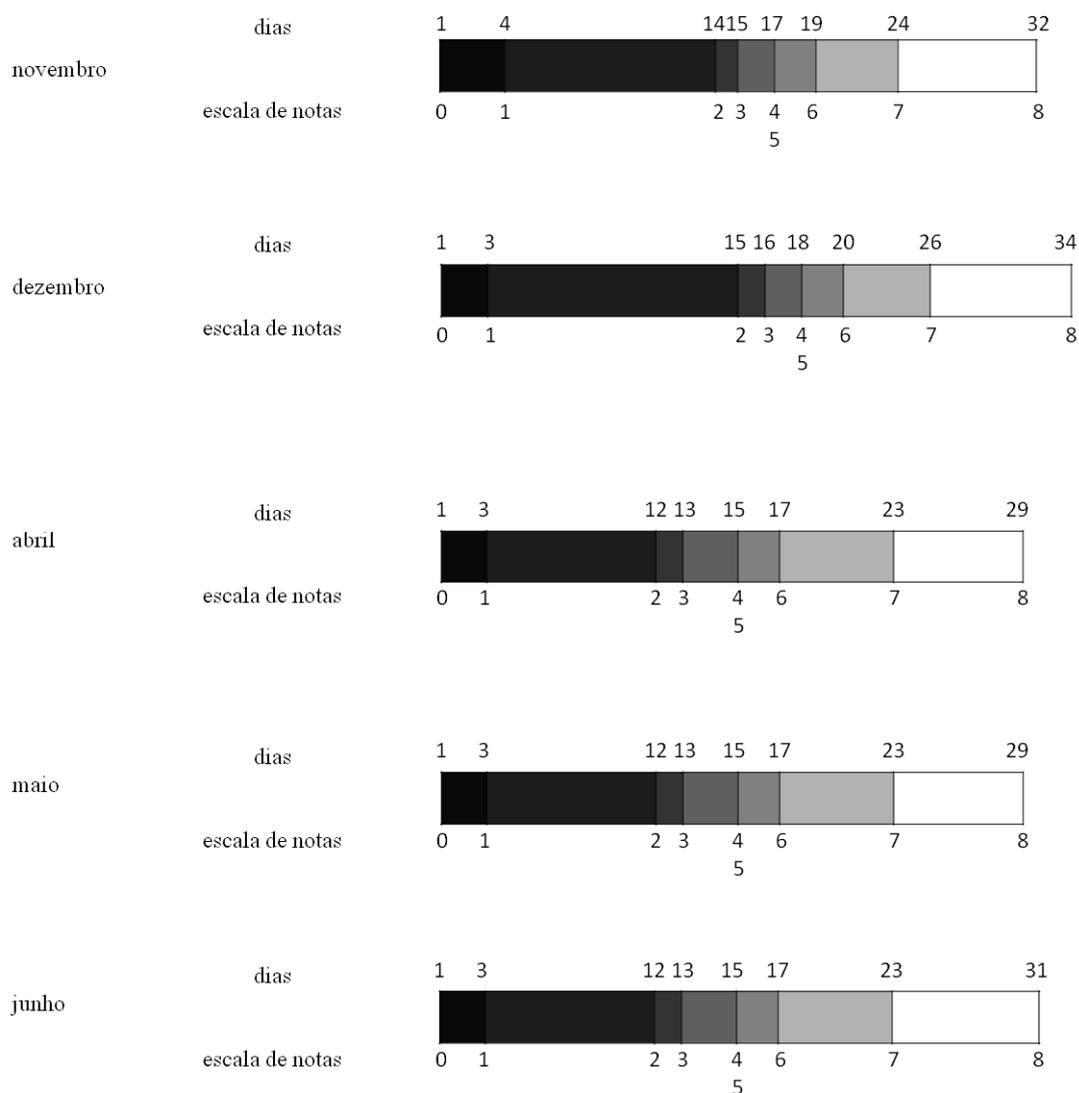


Figura 7. Duração das diferentes fenofases de *P. organensis*, baseando-se na escala de notas, (0) surgimento da gema floral, (1) desenvolvimento do botão floral, (2) botão floral desenvolvido, (3) botão floral dois dias antes da antese, (4) botão floral no dia da antese, (5) antese, (6) desenvolvimento inicial do fruto, (7) desenvolvimento final do fruto e (8) fruto maduro durante os meses de novembro de 2009 a junho de 2010, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

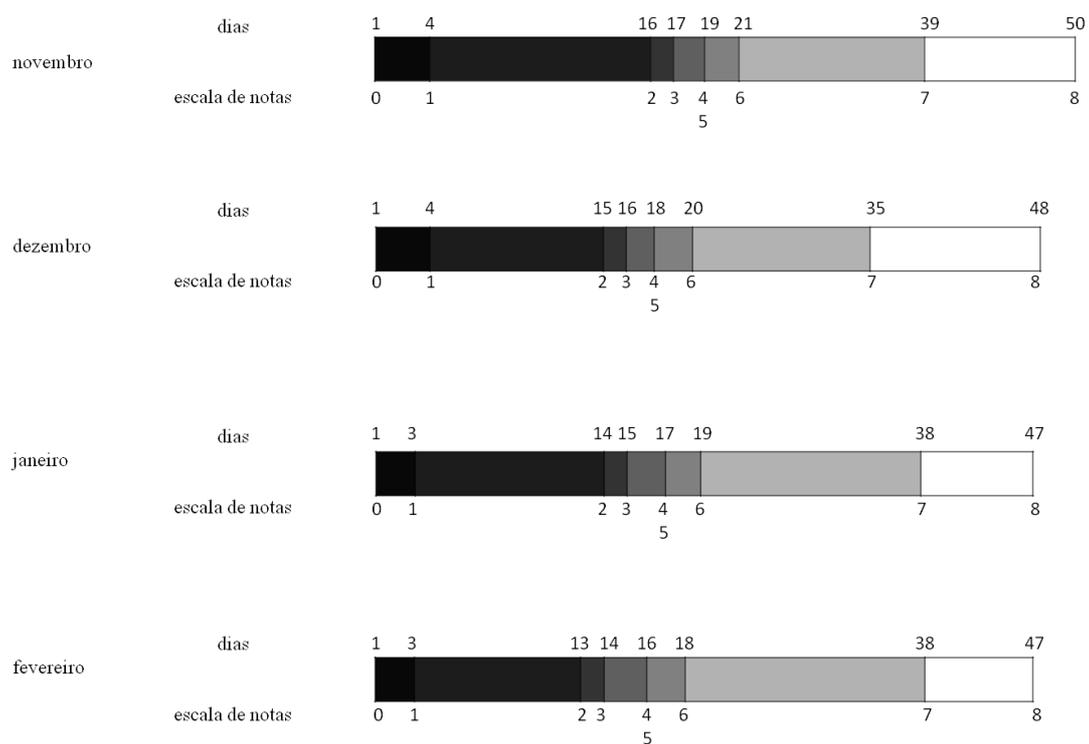


Figura 8. Duração das diferentes fenofases de *P. coriácea*, baseando-se na escala de notas, (0) surgimento da gema floral, (1) desenvolvimento do botão floral, (2) botão floral desenvolvido, (3) botão floral dois dias antes da antese, (4) botão floral no dia da antese, (5) antese, (6) desenvolvimento inicial do fruto, (7) desenvolvimento final do fruto e (8) fruto maduro durante os meses de novembro de 2009 a fevereiro de 2010, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

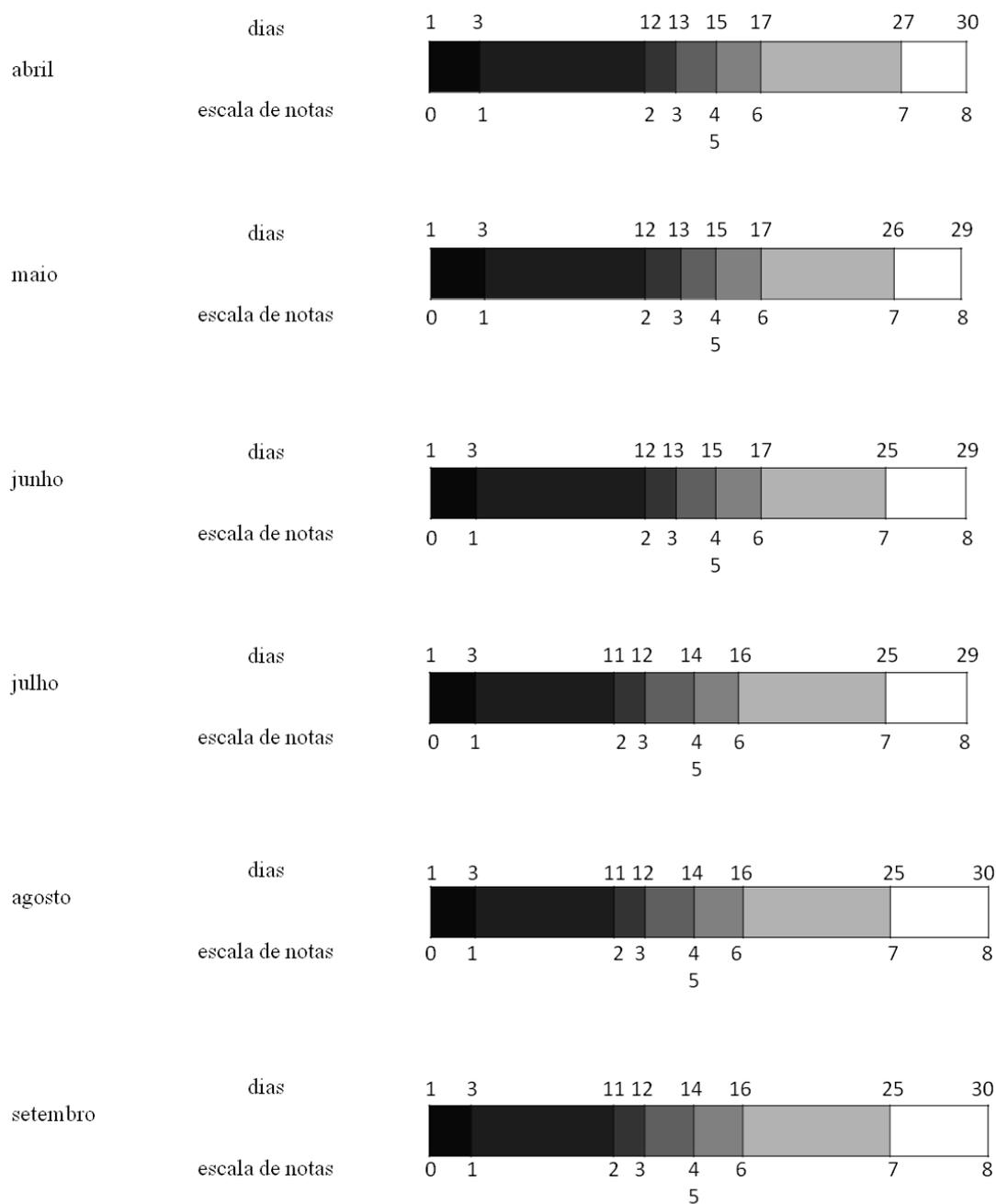


Figura 9. Duração das diferentes fenofases de *P. micropetala*, baseando-se na escala de notas, (0) surgimento da gema floral, (1) desenvolvimento do botão floral, (2) botão floral desenvolvido, (3) botão floral dois dias antes da antese, (4) botão floral no dia da antese, (5) antese, (6) desenvolvimento inicial do fruto, (7) desenvolvimento final do fruto e (8) fruto maduro durante os meses de abril a setembro de 2010, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

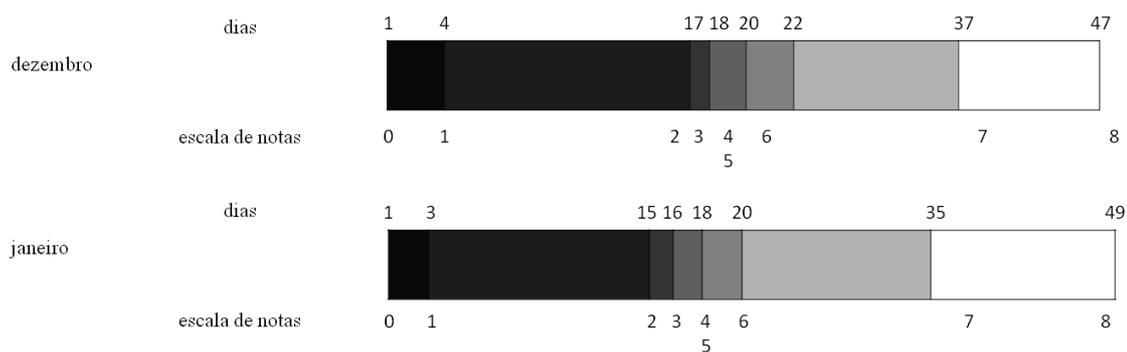


Figura 10. Duração das diferentes fenofases de *P. giberti*, baseando-se na escala de notas, (0) surgimento da gema floral, (1) desenvolvimento do botão floral, (2) botão floral desenvolvido, (3) botão floral dois dias antes da antese, (4) botão floral no dia da antese, (5) antese, (6) desenvolvimento inicial do fruto, (7) desenvolvimento final do fruto e (8) fruto maduro durante os meses de dezembro e janeiro de 2009, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

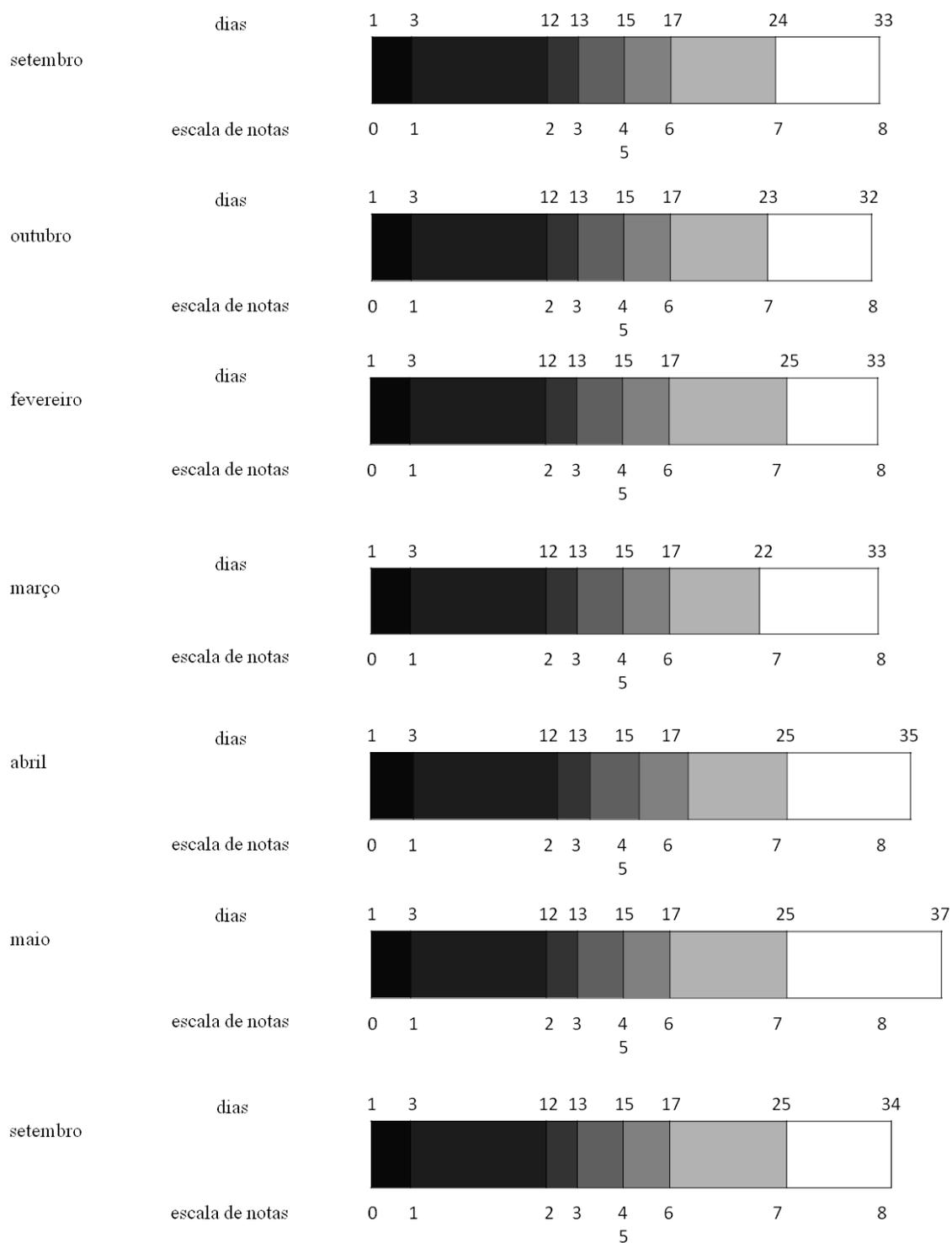


Figura 11. Duração das diferentes fenofases de *P. setacea*, baseando-se na escala de notas, (0) surgimento da gema floral, (1) desenvolvimento do botão floral, (2) botão floral desenvolvido, (3) botão floral dois dias antes da antese, (4) botão floral no dia da antese, (5) antese, (6) desenvolvimento inicial do fruto, (7) desenvolvimento final do fruto e (8) fruto maduro durante os meses de setembro de 2009 a setembro de 2010, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

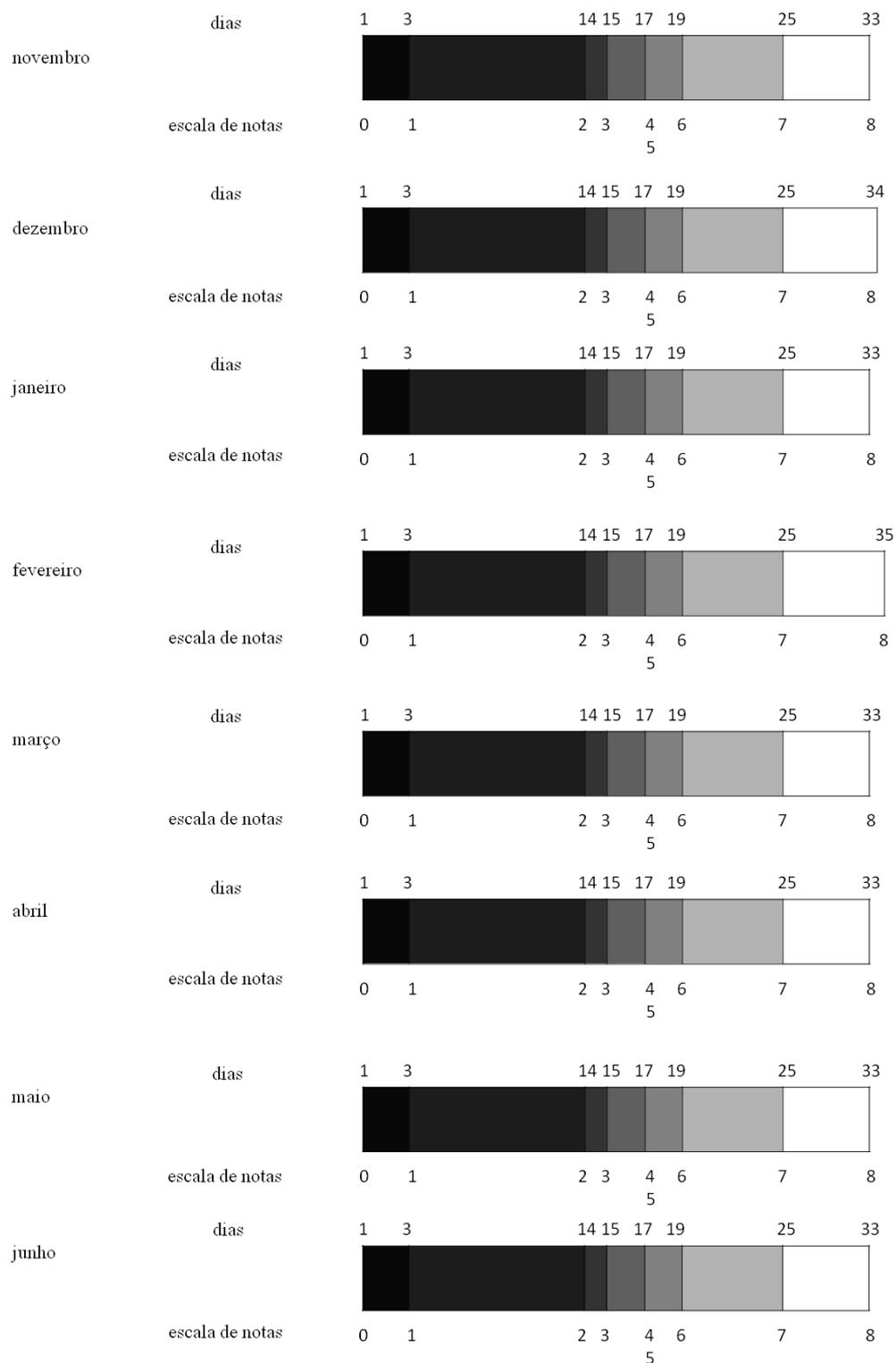


Figura 12. Duração das diferentes fenofases de *P. capsularis*, baseado-se na escala de notas, (0) surgimento da gema floral, (1) desenvolvimento do botão floral, (2) botão floral desenvolvido, (3) botão floral dois dias antes da antese, (4) botão floral no dia da antese, (5) antese, (6) desenvolvimento inicial do fruto, (7) desenvolvimento final do fruto e (8) fruto maduro durante os meses de novembro de 2009 a junho de 2010, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

Tabela 12. Efeitos diretos e indiretos e correlação entre o número de flores, número de frutos, amadurecimento dos frutos, temperatura e pluviosidade durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. edulis*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

Vias de associação	Variável	
	Temperatura	Pluviosidade
Efeito direto sobre o número de flores	0,78	0,12
Efeito indireto no número de flores via temperatura	-	0,15
Efeito indireto no número de flores via pluviosidade	0,09	-
Total (Correlação)	0,87	0,27
Efeito direto sobre o número de frutos	0,20	0,14
Efeito indireto no número de frutos via temperatura	-	0,03
Efeito indireto no número de frutos via pluviosidade	0,02	-
Total (Correlação)	0,22	0,17
Efeito direto sobre o amadurecimento dos frutos	0,59	0,05
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via temperatura	-	0,09
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via pluviosidade	0,07	-
Total (Correlação)	0,66	0,14

Tabela 13. Efeitos diretos e indiretos e correlação entre o número de flores, número de frutos, amadurecimento dos frutos, temperatura e pluviosidade durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. alata*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

Vias de associação	Variável	
	Temperatura	Pluviosidade
Efeito direto sobre o número de flores	0,69	0,01
Efeito indireto no número de flores via temperatura	-	0,02
Efeito indireto no número de flores via pluviosidade	0,03	-
Total (Correlação)	0,72	0,03
Efeito direto sobre o número de frutos	0,31	0,11
Efeito indireto no número de frutos via temperatura	-	0,09
Efeito indireto no número de frutos via pluviosidade	0,12	-
Total (Correlação)	0,43	0,20
Efeito direto sobre o amadurecimento dos frutos	0,64	0,07
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via temperatura	-	-0,05
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via pluviosidade	0,12	-
Total (Correlação)	0,76	0,02

Tabela 14. Efeitos diretos e indiretos e correlação entre o número de flores, número de frutos, amadurecimento dos frutos, temperatura e pluviosidade durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. foetida*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

Vias de associação	Variável	
	Temperatura	Pluviosidade
Efeito direto sobre o número de flores	0,05	0,03
Efeito indireto no número de flores via temperatura	-	0,02
Efeito indireto no número de flores via pluviosidade	0,01	-
Total (Correlação)	0,06	0,05
Efeito direto sobre o número de frutos	0,03	-0,03
Efeito indireto no número de frutos via temperatura	-	0,05
Efeito indireto no número de frutos via pluviosidade	0,01	-
Total (Correlação)	0,04	0,02
Efeito direto sobre o amadurecimento dos frutos	0,11	-0,03
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via temperatura	-	0,04
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via pluviosidade	0,05	-
Total (Correlação)	0,16	0,01

Tabela 15. Efeitos diretos e indiretos e correlação entre o número de flores, número de frutos, amadurecimento dos frutos, temperatura e pluviosidade durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. suberosa*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

Vias de associação	Variável	
	Temperatura	Pluviosidade
Efeito direto sobre o número de flores	0,04	0,09
Efeito indireto no número de flores via temperatura	-	-0,03
Efeito indireto no número de flores via pluviosidade	-0,01	-
Total (Correlação)	0,03	0,06
Efeito direto sobre o número de frutos	-0,05	0,09
Efeito indireto no número de frutos via temperatura	-	-0,01
Efeito indireto no número de frutos via pluviosidade	-0,01	-
Total (Correlação)	-0,06	0,08
Efeito direto sobre o amadurecimento dos frutos	-0,04	0,03
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via temperatura	-	-0,05
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via pluviosidade	0,01	-
Total (Correlação)	-0,03	-0,02

Tabela 16. Efeitos diretos e indiretos e correlação entre o número de flores, número de frutos, amadurecimento dos frutos, temperatura e pluviosidade durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. organensis*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

Vias de associação	Variável	
	Temperatura	Pluviosidade
Efeito direto sobre o número de flores	-0,76	-0,04
Efeito indireto no número de flores via temperatura	-	-0,05
Efeito indireto no número de flores via pluviosidade	-0,03	-
Total (Correlação)	-0,79	-0,09
Efeito direto sobre o número de frutos	-0,06	-0,03
Efeito indireto no número de frutos via temperatura	-	0,07
Efeito indireto no número de frutos via pluviosidade	-0,04	-
Total (Correlação)	-0,11	0,04
Efeito direto sobre o amadurecimento dos frutos	-0,05	0,13
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via temperatura	-	-0,07
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via pluviosidade	0,02	-
Total (Correlação)	-0,03	0,06

Tabela 17. Efeitos diretos e indiretos e correlação entre o número de flores, número de frutos, amadurecimento dos frutos, temperatura e pluviosidade durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. coriacea*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

Vias de associação	Variável	
	Temperatura	Pluviosidade
Efeito direto sobre o número de flores	0,03	-0,12
Efeito indireto no número de flores via temperatura	-	0,06
Efeito indireto no número de flores via pluviosidade	0,12	-
Total (Correlação)	0,15	-0,06
Efeito direto sobre o número de frutos	-0,07	-0,07
Efeito indireto no número de frutos via temperatura	-	-0,05
Efeito indireto no número de frutos via pluviosidade	-0,04	-
Total (Correlação)	-0,11	-0,12
Efeito direto sobre o amadurecimento dos frutos	-0,23	0,04
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via temperatura	-	0,01
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via pluviosidade	0,03	-
Total (Correlação)	-0,20	0,05

Tabela 18. Efeitos diretos e indiretos e correlação entre o número de flores, número de frutos, amadurecimento dos frutos, temperatura e pluviosidade durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. micropetala*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

Vias de associação	Variável	
	Temperatura	Pluviosidade
Efeito direto sobre o número de flores	0,76	0,01
Efeito indireto no número de flores via temperatura	-	0,02
Efeito indireto no número de flores via pluviosidade	0,09	-
Total (Correlação)	0,85	0,03
Efeito direto sobre o número de frutos	0,12	-0,11
Efeito indireto no número de frutos via temperatura	-	-0,01
Efeito indireto no número de frutos via pluviosidade	-0,02	-
Total (Correlação)	0,10	-0,12
Efeito direto sobre o amadurecimento dos frutos	0,04	0,01
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via temperatura	-	0,01
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via pluviosidade	0,03	-
Total (Correlação)	0,07	0,02

Tabela 19. Efeitos diretos e indiretos e correlação entre o número de flores, número de frutos, amadurecimento dos frutos, temperatura e pluviosidade durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. giberti*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

Vias de associação	Variável	
	Temperatura	Pluviosidade
Efeito direto sobre o número de flores	-0,12	0,02
Efeito indireto no número de flores via temperatura	-	-0,05
Efeito indireto no número de flores via pluviosidade	-0,04	-
Total (Correlação)	-0,16	-0,03
Efeito direto sobre o número de frutos	0,01	0,01
Efeito indireto no número de frutos via temperatura	-	0,02
Efeito indireto no número de frutos via pluviosidade	-0,09	-
Total (Correlação)	-0,08	0,03
Efeito direto sobre o amadurecimento dos frutos	0,12	-0,06
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via temperatura	-	-0,02
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via pluviosidade	0,13	-
Total (Correlação)	0,24	-0,08

Tabela 20. Efeitos diretos e indiretos e correlação entre o número de flores, número de frutos, amadurecimento dos frutos, temperatura e pluviosidade durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. setacea*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

Vias de associação	Variável	
	Temperatura	Pluviosidade
Efeito direto sobre o número de flores	0,03	-0,05
Efeito indireto no número de flores via temperatura	-	-0,01
Efeito indireto no número de flores via pluviosidade	0,04	-
Total (Correlação)	0,07	-0,06
Efeito direto sobre o número de frutos	0,02	0,01
Efeito indireto no número de frutos via temperatura	-	0,01
Efeito indireto no número de frutos via pluviosidade	-0,05	-
Total (Correlação)	-0,03	0,02
Efeito direto sobre o amadurecimento dos frutos	0,11	0,02
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via temperatura	-	-0,05
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via pluviosidade	0,01	-
Total (Correlação)	0,12	-0,03

Tabela 21. Efeitos diretos e indiretos e correlação entre o número de flores, número de frutos, amadurecimento dos frutos, temperatura e pluviosidade durante a caracterização do ciclo fenológico reprodutivo de *P. capsularis*, nas condições do município de Campos dos Goytacazes-RJ.

Vias de associação	Variável	
	Temperatura	Pluviosidade
Efeito direto sobre o número de flores	0,03	-0,03
Efeito indireto no número de flores via temperatura	-	0,05
Efeito indireto no número de flores via pluviosidade	0,17	-
Total (Correlação)	0,20	0,02
Efeito direto sobre o número de frutos	-0,13	0,07
Efeito indireto no número de frutos via temperatura	-	-0,16
Efeito indireto no número de frutos via pluviosidade	0,04	-
Total (Correlação)	-0,09	-0,11
Efeito direto sobre o amadurecimento dos frutos	0,01	-0,11
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via temperatura	-	0,09
Efeito indireto sobre o amadurecimento dos frutos via pluviosidade	0,03	-
Total (Correlação)	0,04	-0,02

### 3.4. PALINOLOGIA EM *Passiflora* spp: CARACTERIZAÇÃO E DIVERSIDADE GENÉTICA

#### 3.4.1. RESUMO

A família *Passifloraceae* é a mais diversificada da flora tropical, e a palinologia desse grupo possui uma ampla variabilidade. Este estudo teve como objetivos caracterizar a morfologia polínica de 10 espécies do gênero *Passiflora*, cinco pertencentes ao subgênero *Decaloba* DC (*P. suberosa*, *P. organensis*, *P. micropetala*, *P. coriacea* e *P. capsularis*) e cinco ao subgênero *Passiflora* L. (*P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. setacea* e *P. giberti*) e estimar a divergência genética entre essas espécies com base nas características da morfologia polínica. Botões florais foram coletados em solução fixadora etanol-ácido acético (3:1). Os grãos de pólen das espécies do subgênero *Decaloba* foram acetolisados, e os grãos de pólen das espécies do subgênero *Passiflora* foram tratados com solução de hidróxido de sódio (10%). Após o preparo das lâminas, os grãos de pólen foram analisados e medidos, sob microscopia óptica, com o uso do programa *Image-Pro Plus* versão 5.1. Posteriormente, os grãos de pólen foram descritos, tomando por base as terminologias dos glossários palinológicos. O estudo da dissimilaridade entre as espécies foi realizado com base na distância euclidiana média padronizada, e a análise de agrupamento foi estimada pelos métodos de Ward e Tocher. Para a representação gráfica da similaridade entre os

acessos, foi utilizado o método da Análise dos Componentes Principais. Os dados permitiram concluir que as espécies do subgênero *Decaloba* *P. organensis*, *P. micropetala*, *P. coriacea* e *P. capsularis* apresentaram pólen do tipo 12-colporado, e *P. suberosa* apresentou pólen do tipo 12-colpado. As espécies *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. setacea* e *P. giberti*, pertencentes ao subgênero *Passiflora* apresentaram, sem exceção, pólen do tipo 6-colpo. Todas as espécies estudadas apresentam grãos de pólen de tamanho grande. Pelo método de Ward e de componentes principais, foi possível agrupar as espécies que apresentaram características semelhantes, formando grupos correspondentes a dois subgêneros de *Passiflora*, com exceção de *P. foetida*, a qual ficou em um grupo distinto dos demais. Acrescenta-se que a metodologia utilizada, à base de hidróxido de sódio a 10% em solução aquosa, demonstrou ser eficaz na preparação dos grãos de pólen das espécies do subgênero *Passiflora*, ao permitir preparações com pólenes íntegros e de fácil visualização morfológica.

### 3.4.2. ABSTRACT

The family *Passifloraceae* is the most diversified of the tropical flora and palynology of this group has an enormous variability. This study aimed to characterize the pollen morphology of 10 species of the genus *Passiflora*, five of which belong to the subgenus *Decaloba* DC (*P. suberosa*, *P. organensis*, *P. micropetala*, *P. coriacea*, and *P. capsularis*) and five to the subgenus *Passiflora* L. (*P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. setacea*, and *P. giberti*) and to estimate the genetic divergence between these species based on pollen morphology characteristics. Flower buds were fixed in ethanol-acetic acid solution (3:1). The pollen grains of species of the subgenus *Decaloba* were acetolyzed and those of species of the subgenus *Passiflora* treated with sodium hydroxide solution (10%). After preparation, the pollen slides were measured and analyzed by light microscopy using the program *Image-Pro Plus*, version 5.1. Thereafter, the pollen grains were described based on palynological terminology. The study of dissimilarity between the species was based on the standardized Euclidean

distance and cluster analysis on the methods of Ward and Tocher. The similarity between the accessions was graphically represented by the method of Principal Component Analysis. The data suggested that the pollen of the species *P. organensis*, *P. micropetala*, *P. coriacea*, and *P. capsularis*, of subgenus *Decaloba*, has 12-colporate grains and pollen of *P. suberosa* 12-colpate grains. The pollen of the species *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. setacea*, and *P. giberti*, of subgenus *Passiflora* had, invariably, 6-colpate grains. The pollen grains of all studied species are large. By Ward's method and by principal components, species with similar characteristics were clustered, forming groups corresponding to two subgenera of *Passiflora*, with the exception of *P. foetida*, which was grouped separately. It is also worth mentioning that the method of 10% base sodium hydroxide in aqueous solution proved effective to prepare the pollen grains of the species of the subgenus *Passiflora*, by maintaining the pollen intact and making morphological observations easy.

### 3.4.3. INTRODUÇÃO

*Passiflora* L. é o maior gênero da família *Passifloraceae*, com cerca de 530 espécies (Feuillt e MacDougal, 2003). No Brasil, de acordo com Cervi (2006), há, aproximadamente, 140 espécies do gênero já descritas.

As Passifloráceas encontram-se diversificadas na flora brasileira e estruturadas em um sistema de classificação complexo (Killip, 1938). Pouco se conhece sobre a importância da morfologia polínica na caracterização das espécies do gênero *Passiflora*, principalmente, sobre as características que possam ter valor taxonômico e auxiliar a sistemática do gênero (Milward-Azevedo et al., 2004).

De acordo com Dettke (2009), do ponto de vista palinológico, a família *Passifloraceae* mostra-se bastante interessante, pois os grãos de pólen apresentam uma grande variabilidade morfológica e, em muitos casos, ainda, pouco utilizados, pois a maioria dos estudos (Milward-Azevedo et al., 2004; Dettke, 2009; Milward-Azevedo et al., 2010) se preocupa, apenas, em relatar

dados descritivos, sem submetê-los a análises mais acuradas que, por sua vez, apresentariam resultados mais satisfatórios.

Estudos de caracterização polínica em espécies do gênero *Passiflora* são reportados na literatura (Milward-Azevedo et al., 2004; Dettke, 2009; Milward-Azevedo et al., 2010), porém poucos (Dettke, 2009) estudam, simultaneamente, diferentes subgêneros do grupo mais expressivo da família *Passifloraceae*.

O gênero *Passiflora* não possui uma lista de descritores morfológicos registrados no IPGRI; dessa forma, determinados autores elaboram seus próprios marcadores morfológicos (Crochemore et al., 2003). Conforme Cruz et al. (2011), no estudo da diversidade genética, é dada maior ênfase ao estudo da diversidade por meio de características fenotípicas, principalmente de natureza quantitativa; essas características apresentam, geralmente, distribuição contínua e determinadas por vários genes; essas características se enquadram nos dados morfopolínicos, possibilitando, assim, o seu uso como um descritor no gênero *Passiflora*.

O presente estudo teve como objetivos caracterizar dez espécies *Passiflora*, sendo cinco pertencentes ao subgênero *Decaloba* DC. (*P. suberosa*, *P. organensis*, *P. micropetala*, *P. coriacea* e *P. capsularis*) e cinco pertencentes ao subgênero *Passiflora* L. (*P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. setacea* e *P. giberti*) com base em caracteres dos grãos de pólen, bem como estimar as relações genéticas entre as espécies com base nos dados morfopolínicos.

### **3.4.4. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.4.4.1. Material genético**

Foram estudadas 10 espécies de *Passiflora*, sendo cinco pertencentes ao subgênero *Decaloba* DC. (*P. suberosa*, *P. organensis*, *P. micropetala*, *P. coriacea* e *P. capsularis*) e cinco pertencentes ao subgênero *Passiflora* L. (*P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. setacea* e *P. giberti*). Essas espécies são mantidas na Coleção de germoplasma de *Passifloraceae* da Universidade Estadual do Norte

Fluminense Darcy Ribeiro.

As plantas representantes das espécies estavam mantidas no campo, na unidade de apoio à pesquisa da Escola Agrícola Antônio Sarlo, município de Campos dos Goytacazes. Essa região está localizada a 21° 45' de latitude sul e 41° 20' de longitude oeste e situada a 11 m de altitude.

A área de conservação das espécies, na qual foram coletados os botões florais, foi conduzida em delineamento de blocos ao acaso, com duas plantas na parcela, com idade aproximada de 10 meses, e arranjada em cinco blocos, totalizando 10 plantas de cada uma das espécies, dispostas no sistema de espaldeiras verticais com um fio de arame situado a 1,75 m do solo, no espaçamento de 2 m entre plantas e 2,5 m entre linhas. A coleta de botões foi realizada em 2009 e 2010, dependendo do florescimento das espécies.

#### **3.4.4.2. Métodos**

##### **3.4.4.2.1. Acetólise**

Para o preparo das lâminas, botões florais foram coletados e fixados em solução etanol-ácido acético, na proporção 3:1 por, no mínimo, 24 horas, sob refrigeração (4° C). Posteriormente, foram retiradas duas anteras por botão fixado e as mesmas foram colocadas em microtubos de 1 ml, contendo 500 µl de ácido acético, e colocadas em repouso por 15 minutos. Os tubos foram centrifugados com 3000 rotações por minutos, durante 5 minutos, e o sobrenadante foi descartado.

Paralelamente, foi preparada a mistura acetolítica de Erdtman (1960), que promove a hidrólise ácida nos grãos de pólen através de uma mistura de anidrido acético e ácido sulfúrico com proporção de 9:1, visando eliminar o conteúdo celular, facilitando a visualização e o reconhecimento dos caracteres morfológicos.

Os grãos de pólen ficaram imersos na mistura acetolítica, em banho-maria, em uma temperatura de  $100 \pm 2$  °C, durante dois minutos. Os tubos com as amostras foram centrífugados novamente e, depois da centrifugação, a mistura acetolítica foi retirada, permanecendo, apenas, os grãos de pólen. Em cada tubo,

foi acrescentado 1 ml de água destilada mais 2 gotas de álcool etílico, sendo centrifugado novamente e decantado. Posteriormente, foi acrescentado, em cada tubo, 1 ml de água destilada e glicerina na proporção de 3:1, ficando por, no máximo, duas horas. Após esse período, o material foi depositado sob a lâmina. Essa metodologia foi empregada, apenas, para as espécies do subgênero *Decaloba*, pois, nas espécies do subgênero *Passiflora*, a ação do ácido sulfúrico promoveu o rompimento dos grãos de pólen, danificando-os.

Assim, para as espécies do subgênero *Passiflora*, os grãos de pólen foram submetidos a uma solução distinta da acetolítica de Erdtman (1960). No primeiro momento, anteras das espécies *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. setacea* e *P. giberti*, de forma independente, foram colocadas em microtubos (1mL), contendo 500 µL de ácido acético 100%, durante 15 minutos, para a exposição dos polens; em seguida, os mesmos foram transferidos para um microtubo (1mL), contendo 800 µL de solução aquosa de hidróxido de sódio a 10%, durante o período de 15 minutos, à temperatura ambiente. Essa metodologia permitiu visualizar e reconhecer os caracteres da morfologia do pólen dessas espécies.

#### **3.4.4.2.2. Montagem das lâminas**

Para observação dos grãos de pólen acetolisados, foram montadas lâminas com gelatina glicerinada, segundo Kisser (1935, citado por Erdtman, 1952). Para tal, encostou-se um estilete aquecido em um pedaço de gelatina glicerinada, com cerca de 2 mm de lado, no sedimento presente nos tubos que foram, previamente, colocados de cabeça para baixo, sobre papel de filtro. A gelatina glicerinada, contendo o sedimento, foi colocada sobre uma lâmina que foi, então, aquecida até a fusão da gelatina. Em seguida, colocou-se uma lamínula sobre a mancha de gelatina glicerinada e a lâmina foi observada ao microscópio óptico.

#### **3.4.4.2.3. Medidas dos grãos de pólen**

As mensurações foram realizadas no mesmo dia da preparação das lâminas, visando evitar possíveis problemas de intumescimento, que podem

ocorrer com o passar do tempo (Melhem e Matos 1972; Salgado-Labouriau 1973), visto que os grãos de pólen tendem a aumentar o tamanho depois de submetidos ao processo de acetólise (Faegri e Deuse, 1960).

Foram obtidas medidas dos diâmetros polar e equatorial em vista equatorial (posição em que o grão de pólen está perpendicular à vista polar) e do diâmetro equatorial em vista polar (posição em que o grão de pólen está com uma área polar voltada para o observador) dos grãos de pólen, além das medidas das aberturas, da espessura das camadas da exina (sexina e nexina) e do apocolpo Milward-Azevedo et al. (2010). Foram realizadas 25 medições de cada característica do pólen, aleatoriamente, em diferentes lâminas, sendo mensurados, no mínimo, cinco pólenes por lâmina, em um total de 25 grãos de pólen.

Para classificar os grãos de pólen, de acordo com sua forma, foi utilizada a relação entre o eixo polar e o eixo equatorial (P/E) em vista equatorial. Essa classificação foi proposta por Erdtman (1952) que criou um índice para classificar a forma dos grãos de pólen em nove classes (Quadro 1).

Quadro 1. Classificação dos grãos de pólen com base na razão entre o eixo polar e o eixo equatorial (P/E), segundo Erdtman (1952):

Classes de Pólen		
P/E	Denominação	
0,50	Peroblato	
0,50 – 0,74	Oblato	
0,75 – 0,87	Suboblato	Subesferoidal
0,88 – 0,99	Oblato-esferoidal	
1,00	Esférico	
1,01 – 1,14	Prolato-esferoidal	
1,15 – 1,33	Subprolato	
1,34 – 2,00	Prolato	
2,00	Perprolato	

Em relação ao seu tamanho, os grãos de pólen foram classificados de acordo com Erdtman (1945), baseando-se no comprimento do eixo maior, nas seguintes classes: muito pequenos ( $< 10 \mu\text{m}$ ), pequenos ( $10\text{-}25 \mu\text{m}$ ), médios ( $25\text{-}50 \mu\text{m}$ ), grandes ( $50\text{-}100 \mu\text{m}$ ), muito grandes ( $100\text{-}200 \mu\text{m}$ ) e gigantes ( $> 200 \mu\text{m}$ ).

A forma das aberturas foi determinada de acordo com a relação entre os dois diâmetros da mesma (Erdtman, 1952). Aberturas dos grãos de pólen são classificadas como poro quando são mais ou menos circulares e cuja relação entre os dois diâmetros for inferior a 2. Por outro lado, aberturas do tipo colpo são aberturas alongadas cuja relação entre os dois diâmetros for superior a 2 e quando a abertura for a fusão das duas formas e classificado como colporo.

Os grãos de pólen foram, também, classificados, tomando por base o índice de área polar, que é dado pela relação entre as extremidades de duas aberturas adjacentes (ou suas margens) e a maior largura do grão de pólen em vista polar, de acordo com classificação proposta por Iversen e Troels-Smith em 1950 e Faegri e Iversen em 1964 (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação dos grãos de pólen em relação ao índice de área polar (IAP):

Denominação	Intervalo do I.A.P.
Sem área polar	0
Área polar muito pequena	$<0,25$ (abertura muito longa)
Área polar pequena	$0,25 - 0,50$ (abertura longa)
Área polar grande	$0,50 - 0,75$ (abertura curta)
Área polar muito grande	$>0,75$ (abertura muito curta)

Posteriormente às descrições polínicas, as terminologias adotadas foram baseadas no glossário de Barth e Melhem (1988), Barth (1964) e Punt *et al.* (2007).

Os grãos de pólen foram examinados sob microscopia óptica (Olympus BX60), e as imagens capturadas, analisadas e medidas, utilizando-se o programa *Image-Pro Plus* versão 5.1.

#### 3.4.4.2.4. Análise Estatística

Para os grãos de pólen em vista equatorial das espécies, foram estimados média, desvio padrão da média, desvio padrão da amostra, coeficiente de variação e Intervalo de confiança. Para os grãos de pólen em vista polar, foram estimados o diâmetro equatorial (DEVP), lado do apocolpo (LA) e índice de área polar (IAP).

Para estimar as relações entre as espécies, os dados foram submetidos à análise multivariada, empregando os métodos de otimização de Tocher, agrupamento hierárquico de Ward e de componentes principais, utilizando, como medida de dissimilaridade, a Distância Euclidiana Média Padronizada. Para tal, foi utilizado o programa GENES (Cruz, 2006).

### 3.4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.4.5.1. Caracterização polínica das espécies

Com base nos dados, foi possível caracterizar que as espécies do subgênero *Decaloba* apresentam grãos de pólen grandes, ou seja, com medidas variando de 50-100  $\mu\text{m}$ , e isopolares com pólo proximal e distal semelhantes. Quanto à classificação dos grãos de pólen, com base na razão entre o eixo polar e o eixo equatorial (P/E), as espécies *P. organensis*, *P. micropetala*, *P. coriacea* e *P. capsularis* apresentam grãos de pólen prolato esferoidal (DP/DE entre 1,01 a 1,14  $\mu\text{m}$ ), enquanto *P. suberosa* apresenta grãos de pólen subprolato (DP/DE entre 1,15 a 1,33  $\mu\text{m}$ ) (Tabela 2). Em relação ao tipo de abertura, as espécies *P. organensis*, *P. micropetala*, *P. coriacea* e *P. capsularis* apresentaram pólen 12-colporado, enquanto *P. suberosa* apresenta grãos de pólen 12-colpado (Tabela 2) (Figura 1). Esses resultados são similares aos obtidos por Milward-Azevedo et al., (2004) e Milward-Azevedo et al., (2010), que estudaram a palinotaxonomia de espécies do subgênero *Decaloba* do sudeste brasileiro; apenas pequenas diferenças nos valores entre DP/DE foram evidenciadas.

De acordo com Melhem (1978), para a rotina de identificação de pólen, o número, a forma e a estrutura das aberturas são caracteres requeridos; entretanto, no contexto filogenético-evolutivo, a posição das aberturas é importante, pois estas não estão localizadas, ao acaso, na superfície do grão de pólen e, frequentemente, têm lugar definido em relação aos pólos e ao equador

As mensurações realizadas em vista equatorial encontram-se listadas na Tabela 3, sendo possível verificar que a espécie que apresentou o menor diâmetro polar em vista equatorial foi *P. coriacea* (média de 49,3  $\mu\text{m}$ ) e o maior diâmetro foi observado em *P. suberosa* (média de 60,1  $\mu\text{m}$ ), sendo esta última a espécie que apresenta o maior diâmetro entre as analisadas do subgênero *Decaloba* neste estudo.

Tabela 2. Caracterização morfológica dos grãos de pólen de cinco espécies de *Passiflora* pertencentes ao subgênero *Decaloba*.

Espécies	Tamanho	Forma	DP/DE*	Tipo de abertura
<i>P. capsularis</i>	Grande	prolato-esferoidal	1,07	12-colporado
<i>P. coriacea</i>	grande	prolato-esferoidal	1,09	12-colporado
<i>P. micropetala</i>	grande	prolato-esferoidal	1,10	12-colporado
<i>P. organensis</i>	grande	prolato-esferoidal	1,04	12-colporado
<i>P. suberosa</i>	grande	subprolato	1,25	12-colpado

\* DP/DE – razão entre o eixo polar e o eixo equatorial

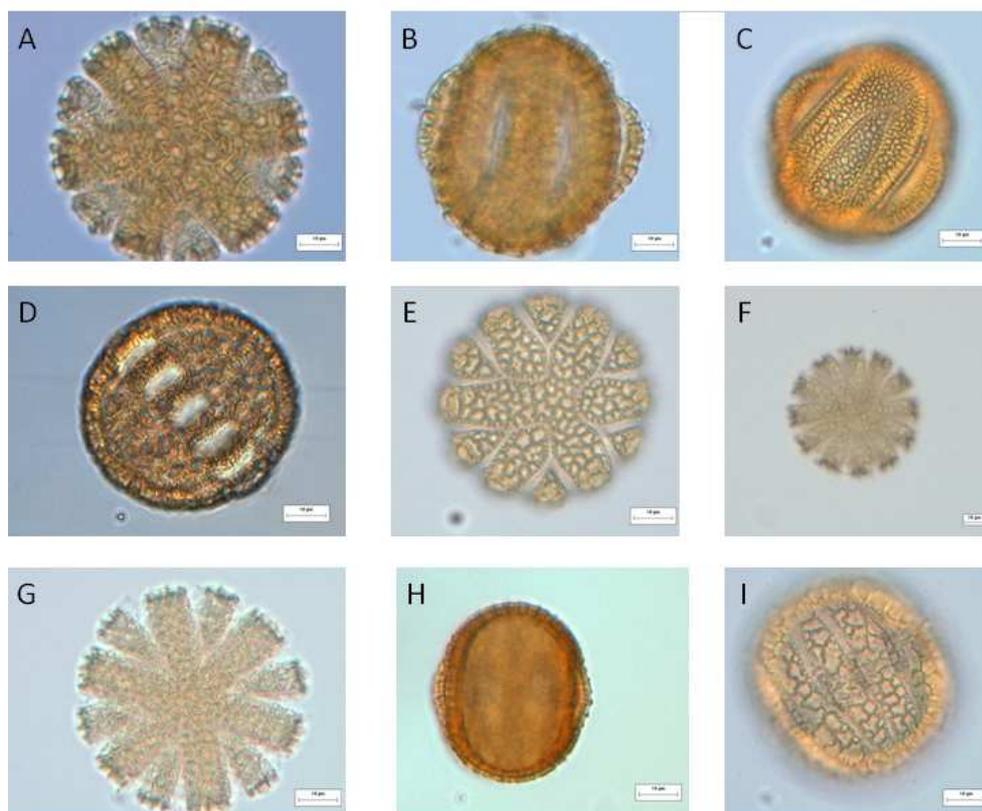


Figura 1. Fotomicrografias dos grãos de pólen de espécies de *Passiflora* subg *Decaloba*. (A-E-F-G) vista polar das espécies *P. coriacea*, *P. capsularis*, *P. micropetala* e *P. organensis*, respectivamente. (B-C-D-H-I) vista equatorial das espécies *P. coriacea*, *P. suberosa*, *P. capsularis*, *P. organensis* e *P. micropetala*, respectivamente. Aumento de 400x (A-B-C-D-E-G-H-I) e aumento de 100x (F). Barra 10 µm.

Tabela 3. Medidas (em  $\mu\text{m}$ ) dos grãos de pólen em vista equatorial das espécies de *Passiflora* pertencentes ao subgênero *Decaloba*, seguidas dos valores de média (m), desvio padrão da média ( $s_x$ ), desvio padrão da amostra (s), coeficiente de variação (CV%) e intervalo de confiança (IC).

Espécies	Diâmetro polar					Diâmetro equatorial				
	Faixa de variação	m $\pm$ $s_x$	s	IC. 95%	CV (%)	Faixa de variação	m $\pm$ $s_x$	s	IC. 95%	CV (%)
<i>P. capsularis</i>	47,3-62,5	52,8 $\pm$ 0,6	3,0	50,9-55,3	5,7	46,7-62,1	50,8 $\pm$ 1,7	3,9	47,8-52,8	7,6
<i>P. coriacea</i>	46,2-59,8	49,3 $\pm$ 0,4	2,8	47,2-50,4	5,6	48,1-60,4	50,5 $\pm$ 0,9	4,3	50,1-53,8	8,5
<i>P. micropetala</i>	49,7-58,3	53,7 $\pm$ 0,8	3,2	52,7-54,6	5,9	50,2-57,3	52,6 $\pm$ 1,3	3,0	52,6-55,3	5,7
<i>P. organensis</i>	53,2-60,3	56,4 $\pm$ 1,5	2,9	54,2-57,2	5,1	55,2-62,7	55,9 $\pm$ 1,9	3,2	56,2-58,0	5,7
<i>P. suberosa</i>	58,8-75,3	60,1 $\pm$ 0,7	1,3	50,3-64,7	2,1	57,1-74,9	58,2 $\pm$ 0,4	1,8	59,1-62,8	3,0

A área polar foi considerada muito pequena para *P. capsularis*, *P. coriacea* e *P. organensis* e pequena para *P. micropetala* e *P. suberosa* (Tabela 3). Valores semelhantes para as três variáveis analisadas, diâmetro equatorial (DEVP), lado do apocolpo (LA), e índice de área polar (IAP) (Tabela 4), foram reportados por Araújo et al. (2004), ao analisarem a morfologia polínica de diferentes espécies de *Passiflora*.

Tabela 4. Médias (em  $\mu\text{m}$ ) do diâmetro equatorial (DEVP), lado do apocolpo (LA) índice de área polar (IAP) em vista polar de espécies de *Passiflora* pertencentes ao subgênero *Decaloba*.

Espécies	Variáveis		
	DEVP	LA	IAP
<i>P. capsularis</i>	59,2	11,7	0,19
<i>P. coriacea</i>	56,7	10,2	0,18
<i>P. micropetala</i>	55,3	14,3	0,25
<i>P. organensis</i>	68,0	11,0	0,16
<i>P. suberosa</i>	75,9	21,7	0,28

Os valores das medidas das aberturas dos grãos de pólen das espécies estão apresentados na Tabela 4. Valores referentes ao tamanho e tipo de aberturas, na família *Passifloraceae*, são de suma importância na classificação polínica da família. Detcke, (2009) e Evaldt et al. (2011) observaram que há discrepâncias nas interpretações quanto à morfologia polínica na grande maioria das espécies do gênero *Passiflora* com diferenças quanto ao número, tipo de aberturas e nomenclatura adotada para as estruturas dos grãos de pólen das espécies, visto que os estudos de morfologia polínica tratam de descrições baseadas, sobretudo, no aspecto externo da exina; isso contribui para a divergência de interpretação.

O comprimento dos colpos variou de 38,4  $\mu\text{m}$  (*P. coriacea*) a 48,2  $\mu\text{m}$  (*P. suberosa*); quanto à largura, os colpos foram considerados estreitos na maioria das espécies, sendo mais largos em *P. suberosa*. O comprimento da endoabertura variou de 9,2  $\mu\text{m}$  (*P. coriacea*) a 10,3  $\mu\text{m}$  (*P. micropetala*) e, em relação à largura, o menor valor foi observado na espécie com o menor

comprimento da endoabertura, *P. coriacea* (Tabela 5).

Tabela 5. Média das medidas das aberturas do pólen das espécies de *Passiflora*, pertencentes ao subgênero *Decaloba*

Espécies	Colpo		Endoabertura	
	Comprimento	largura	comprimento	largura
<i>P. capsularis</i>	44,0	1,3	10,2	6,3
<i>P. coriacea</i>	38,4	1,2	9,2	5,9
<i>P. micropetala</i>	43,5	1,4	10,3	6,1
<i>P. organensis</i>	43,2	1,4	10,1	6,9
<i>P. suberosa</i>	48,2	3,5	-	-

Os dados referentes às médias da exina, sexina e nexina estão apresentados na Tabela 6. Com base nesses dados, é possível observar que a espessura da exina é muito fina. A exina, em espécies do subgênero *Decaloba*, é delgada e complexa e representa um dos tipos mais elaborados de parede celular do reino vegetal (Piffanelli et al., 1998). De acordo com Spirlet (1965), variações na exina levam à formação dos mais variados tipos de aberturas encontrada na família *Passifloraceae*, o que faz com que a exina tenha um grande valor na sistemática vegetal.

Tabela 6. Média ( $\mu\text{m}$ ) da medida das camadas de exina, sexina, e nexina dos grãos de pólen das espécies de *Passiflora*, subgênero *Decaloba*

Espécies	Exina	sexina	nexina
<i>P. capsularis</i>	2,1	1,9	0,2
<i>P. coriacea</i>	1,7	1,6	0,1
<i>P. micropetala</i>	1,4	1,3	0,1
<i>P. organensis</i>	2,2	1,7	0,6
<i>P. suberosa</i>	1,9	1,8	0,1

Com relação às espécies do subgênero *Passiflora*, foi possível observar que o emprego do hidróxido de sódio a 10% em solução aquosa possibilitou uma

visualização clara da morfologia polínica das espécies desse grupo (Figura 2). Alguns autores (Araujo e Santos, 2004; Detcke, 2009; Detcke et al., 2009 e Evaldt et al., 2011), ao visualizarem os grãos de pólen acetolisados de representantes do subgênero *Passiflora*, via microscopia óptica de campo claro, apresentam, em seus estudos, pólenes parcialmente ou totalmente rompidos, dificultando a caracterização correta do material; dessa forma, os mesmos utilizam o microscopia eletrônica, técnica mais onerosa, para complementarem as suas análises.

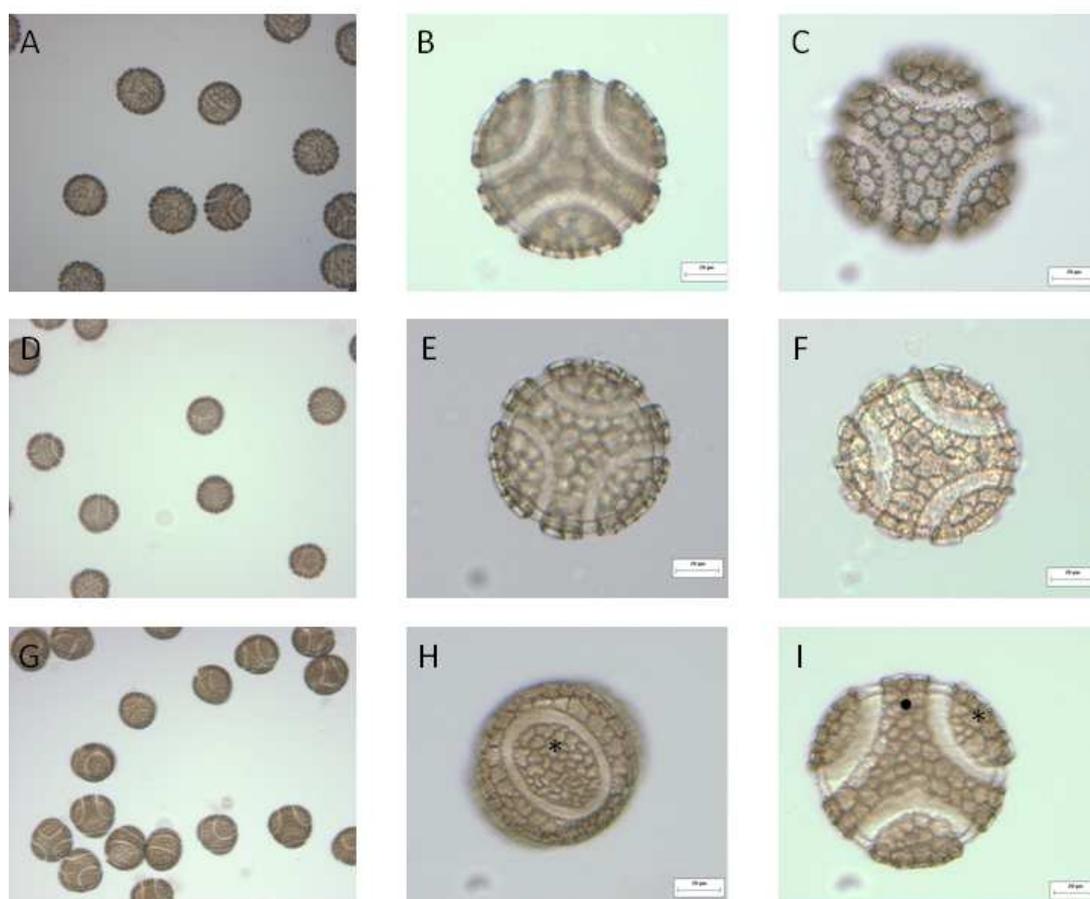


Figura 2. Fotomicrografias dos grãos de pólen de espécies do subgênero *Passiflora*. (A-D-G) pólenes íntegros, respectivamente, de *P. edulis*, *P. alata* e *P. setacea*, (B) *P. edulis*, (C) *P. foetida*, (E) *P. alata*, (F) *P. giberti* e (I) *P. setacea* em vista polar; (H) *P. setacea* em vista equatorial; (\*) pseudopericulus e (●) pontopérculo (aberturas dos grãos de pólen). Aumento de 400x. Barra 20 μm.

Observa-se, pela caracterização da morfologia polínica das espécies do subgênero *Passiflora*, que os grãos de pólen dos representantes desse grupo são grandes, isopolares e oblato-esferoidal para todas as espécies, com exceção de *P. giberti*, que possui a forma sub-oblata. Em relação ao tipo de abertura, as

espécies são do tipo 6-colpo (Tabela 7) (Figura 2). O tipo de abertura e a forma dos grãos de pólen, nas espécies do subgênero *Passiflora*, geram muita dúvida entre autores (Araujo e Santos, 2004; Detcke, 2009; Detcke et al., 2009; Evaldt et al., 2011); dessa forma, optou-se por utilizar, no presente estudo, a denominação proposta por Detcke et al., (2009).

De acordo com Garcia et al., (2002) devido à grande variabilidade encontrada no subgênero *Passiflora*, a correta identificação e caracterização dos dados morfológicos contribuem para eficiente classificação taxonomia nas espécies pertencentes a esse grupo. Tendo em vista a importância da correta classificação polínica em *Passiflora*, Barrios et al. (2005) realizaram um estudo com 156 acessos de *Passiflora* pertencentes aos subgêneros *Dilkea* e *Passiflora*, e encontraram resultados satisfatórios, ao alocarem as espécies em seus subgêneros, utilizando, basicamente, dados referentes ao tamanho e número de aberturas nos grãos de pólen.

As mensurações realizadas em vista equatorial (Tabela 7) permitem observar que a espécie *P. edulis* apresentou o menor diâmetro polar em vista equatorial (média de 69,2  $\mu\text{m}$ ) e *P. setacea* o maior diâmetro (média de 79,4  $\mu\text{m}$ ). Esses dados estão de acordo com Evaldt et al. (2011), mas são discordantes de Araujo e Santos (2004), pois, apesar desses autores apresentarem uma caracterização palinológica de várias espécies de *Passifloraceae*, poucos são os dados apresentados pelos mesmos, principalmente em vista equatorial. Esse motivo deve-se, principalmente, ao fato do grão de pólen das espécies do subgênero *Passiflora* se posicionar, preferencialmente, em vista polar, devido à tendência da condição oblata, evento, também, encontrado no presente estudo, mas contornado por um maior número de lâminas preparadas.

O diâmetro do grão de pólen nas espécies do subgênero *Passiflora* são maiores do que em *Decaloba*; esse fato pode ser justificado pelas conclusões encontradas por Lewis (1979) que, ao analisar diferentes espécies vegetais, verificou que flores longistiladas (flores com estilete longo e posicionamento oposto às anteras) apresentam grãos de pólen maiores do que brevistiladas (flores com estilete curto e posicionamento oposto às anteras), pois a distância a ser percorrida pelos tubos polínicos, entre o estigma e o ovário, é maior, exigindo maior quantidade de reservas no interior do pólen; essa diferença pode ser utilizada para justificar a diferença no tamanho do diâmetro entre as espécies

estudadas no presente estudo, onde, em *Decaloba*, as flores são bem menores quando comparadas com *Passiflora*, e, por sua vez, o estigma também. Outro fato que pode ser levado em consideração é o tamanho da flor; as espécies do gênero *Decaloba* apresentam flores menores do que as espécies do subgênero *Passiflora* (Feuillet e MacDougal, 2003).

Tabela 6. Caracterização morfológica dos grãos de pólen de cinco espécies de *Passiflora* pertencentes ao subgênero *Passiflora*.

Espécies	Tamanho	Forma	DP/DE*	Tipo de Abertura
<i>P. edulis</i>	grande	oblato-esferoidal	0,91	6-colpo
<i>P. alata</i>	grande	oblato-esferoidal	0,96	6-colpo
<i>P. foetida</i>	grande	oblato-esferoidal	0,89	6-colpo
<i>P. setacea</i>	grande	oblato-esferoidal	0,95	6-colpo
<i>P. giberti</i>	grande	sub-oblato	0,85	6-colpo

\* DP/DE – razão entre o eixo polar e o eixo equatorial

Tabela 7. Medidas ( $\mu\text{m}$ ) dos grãos de pólen em vista equatorial das espécies de *Passiflora* pertencentes ao subgênero *Passiflora*, seguidas dos valores de média (m), desvio padrão da média ( $s_x$ ), desvio padrão da amostra (s), coeficiente de variação (CV%) e Intervalo de Confiança (IC).

Espécies	Diâmetro polar					Diâmetro equatorial				
	Faixa de variação	m $\pm$ $s_x$	s	IC. 95%	CV (%)	Faixa de variação	m $\pm$ $s_x$	s	IC. 95%	CV (%)
<i>P. edulis</i>	65,3-75,4	69,2 $\pm$ 1,5	2,9	68,3-71,2	4,1	64,7-76,1	70,2 $\pm$ 1,4	2,5	69,0-72,3	3,5
<i>P. alata</i>	62,1-84,7	73,3 $\pm$ 1,8	1,3	70,5-74,0	3,9	61,8-83,9	72,5 $\pm$ 3,5	3,7	70,1-74,8	5,1
<i>P. foetida</i>	65,6-94,5	76,9 $\pm$ 2,4	2,0	75,2-78,5	2,6	66,1-95,3	75,1 $\pm$ 1,9	3,0	74,0-77,4	3,9
<i>P. setacea</i>	70,1-83,2	79,4 $\pm$ 1,3	1,7	78,8-80,7	2,1	69,8-84,7	80,3 $\pm$ 3,0	2,9	78,5-81,6	3,6
<i>P. giberti</i>	64,8-80,1	78,5 $\pm$ 2,0	3,2	76,5-80,9	4,0	62,2-82,3	79,0 $\pm$ 2,7	3,4	78,4-81,0	4,3

A área polar foi considerada pequena para todas as espécies do subgênero *Passiflora* (Tabela 8). Variações do tamanho dos grãos de pólen das áreas polares e da ornamentação da exina podem permitir a separação de espécies ou de grupos de espécies, e a similaridade entre essas características pode posicionar as espécies dentro de um mesmo grupo ou *táxon* (Gonçalves-Esteves e Melhem, 2004).

Tabela 8. Médias ( $\mu\text{m}$ ) do diâmetro equatorial (DEVP), lado do apocolpo (LA) índice de área polar (IAP) em vista polar de espécies de *Passiflora* pertencentes ao subgênero *Passiflora*.

Espécies	Variáveis		
	DEVP	LA	IAP
<i>P. edulis</i>	72,5	22,6	31,1
<i>P. alata</i>	75,2	23,8	31,6
<i>P. foetida</i>	78,8	24,5	31,0
<i>P. setacea</i>	85,1	29,6	34,7
<i>P. giberti</i>	83,7	23,2	27,7

Os valores referentes à abertura dos grãos de pólen das espécies estão apresentados na tabela 9. Segundo Detcke et al. (2009), os grãos de pólen das espécies pertencente ao subgênero *Passiflora* apresentam duas aberturas, pseudopérculo e pontopérculo. O primeiro apresenta um aspecto elíptico e de mais fácil mensuração do que o segundo. No presente estudo, foram observadas ambas as aberturas, porém somente os valores do pseudopérculo foram mensurados.

De acordo com Presting (1965), os grãos de pólen das espécies do subgênero *Passiflora* são delimitados em algumas regiões do mesocolpo por aberturas denominadas de pseudopérculos, recebem essa denominação, pois funcionam, também, como aberturas que facilitam a saída do tubo polínico quando o pólen é depositado sobre o estigma,

Tabela 9. Média ( $\mu\text{m}$ ) das medidas da abertura do pólen das espécies de *Passiflora*, pertencentes ao subgênero *Passiflora*

Espécie	Abertura	
	comprimento	largura
<i>P. edulis</i>	23,6	20,3
<i>P. alata</i>	22,1	19,8
<i>P. foetida</i>	20,9	18,7
<i>P. setacea</i>	24,6	21,0
<i>P. giberti</i>	21,7	18,4

Observam-se, na tabela 10, os dados referentes às médias da exina, sexina e nexina; com base nos dados, é possível verificar que a exina das espécies do subgênero *Passiflora* é mais espessa, quando comparada com as do subgênero *Decaloba*. Esses dados estão de acordo com Detcke (2009), ao estudar a composição química e a espessura de espécies do subgênero *Decaloba* e *Passiflora*.

Tabela 10. Média ( $\mu\text{m}$ ) da medida das camadas de exina, sexina, e nexina dos grãos de pólen das espécies de *Passiflora* pertencentes ao subgênero *Passiflora*.

Espécies	Exina	sexina	nexina
<i>P. edulis</i>	8,3	4,9	3,4
<i>P. alata</i>	8,8	5,0	3,8
<i>P. foetida</i>	10,0	5,3	3,8
<i>P. setacea</i>	8,3	5,3	3,0
<i>P. giberti</i>	7,7	4,7	3,0

Os grãos de pólen do subgênero *Passiflora* apresentam, tipicamente, grandes quantidades de substâncias lipofílicas junto à exina (Souza et al., 2004), na forma de grandes gotas de aspecto fibrilar. Essas substâncias, denominadas de *pollenkit*, são derivadas da atividade das células do *tapetum*, liberadas quando ocorre a senescência desse tecido nas anteras maduras e depositadas sobre ou entre os espaços existentes na exina (Pacini e Hesse, 2005), promovendo um

aumento na espessura da exina, como observado nas espécies do subgênero *Passiflora*, do presente estudo. O *pollenkitt* ocorre em grande parte das Angiospermas, na maioria das espécies entomófilas e possui importantes funções durante a dispersão dos grãos de pólen, participando da aderência dos pólenes ao corpo dos polinizadores e no sistema de reconhecimento pólen-estigma, pois, também, leva moléculas protéicas que participam dessa interação.

#### 3.4.5.2. Diversidade genética

Como propósito de estimar a diversidade genética entre as espécies de *Passiflora*, os dados morfológico de ambos os subgêneros foram submetidos à análise estatística multivariada. As estimativas de dissimilaridade/similaridade atendem aos objetivos do melhorista, por quantificarem e informarem sobre o grau de semelhança ou de diferença apresentado entre quaisquer dois genótipos (Cruz e Carneiro, 2003).

As distâncias Euclidianas Médias Padronizadas, que medem o grau de dissimilaridade ( $D^2$ ) entre pares do material analisado, encontram-se na Tabela 7. A maior distância foi verificada entre as espécies *P. setacea* e *P. coriacea* ( $D = 2,291520$ ), e a menor, entre *P. alata* e *P. edulis* ( $D = 0,624571$ ) (Tabela 11), o que indica que as espécies *P. setacea* e *P. coriacea* são, geneticamente, as mais divergentes, enquanto *P. alata* e *P. edulis* as mais similares pelos dados morfológicos do presente estudo. Esses resultados são fáceis de serem entendidos já que as duas primeiras espécies pertencem a diferentes subgêneros (*Passiflora* e *Decaloba*, respectivamente), enquanto as duas últimas pertencem ao subgênero *Passiflora* (Feuillet e MacDougal, 2003).

As variáveis utilizadas na estatística multivariada foram: razão DP/DE; número de aberturas; diâmetro polar, diâmetro equatorial, em vista equatorial; diâmetro equatorial (DEVP), lado do apocolpo (LA), índice de área polar (IAP) em vista polar; comprimento e largura da abertura, (somente o colpo, em *Decaloba*); exina, sexina e nexina.

Tabela 11. Medidas de dissimilaridade da distância Euclidiana Média Padronizada entre pares espécies de *Passiflora* pertencentes aos subgêneros *Decaloba* e *Passiflora*.

	<i>P. capsularis</i>	<i>P. coriácea</i>	<i>P. micropetala</i>	<i>P. organensis</i>	<i>P. suberosa</i>	<i>P. edulis</i>	<i>P. alata</i>	<i>P. foetida</i>	<i>P. setacea</i>	<i>P. giberti</i>
<i>P. capsularis</i>	-	1,00573	0,89526	0,76189	0,89057	1,07915	1,0675	1,1004	<b>2,291520</b>	1,123823
<i>P. coriacea</i>		-	0,996061	0,83076	0,88373	1,310	1,1008	1,0893	1,01028	1,17031
<i>P. micropetala</i>			-	0,95610	1,00098	1,2915	1,0719	1,08725	1,0671	1,752432
<i>P. organensis</i>				-	1,00073	1,6710	1,0471	1,00456	1,1071	1,38881
<i>P. suberosa</i>					-	1,00176	1,9503	1,06718	1,4017	1,68202
<i>P. edulis</i>						-	<b>0,624571</b>	1,37981,	0,9945	0,892668
<i>P. alata</i>							-	1,87588	0,98161	0,961037
<i>P. foetida</i>								-	1,0519	1,000819
<i>P. setacea</i>									-	0,794055
<i>P. giberti</i>										-

A partir da matriz de dissimilaridade, realizou-se o agrupamento das espécies através do método hierárquico de Ward. Esse método de agrupamento, como os demais métodos hierárquicos, leva à obtenção de um diagrama em árvore ou dendrograma.

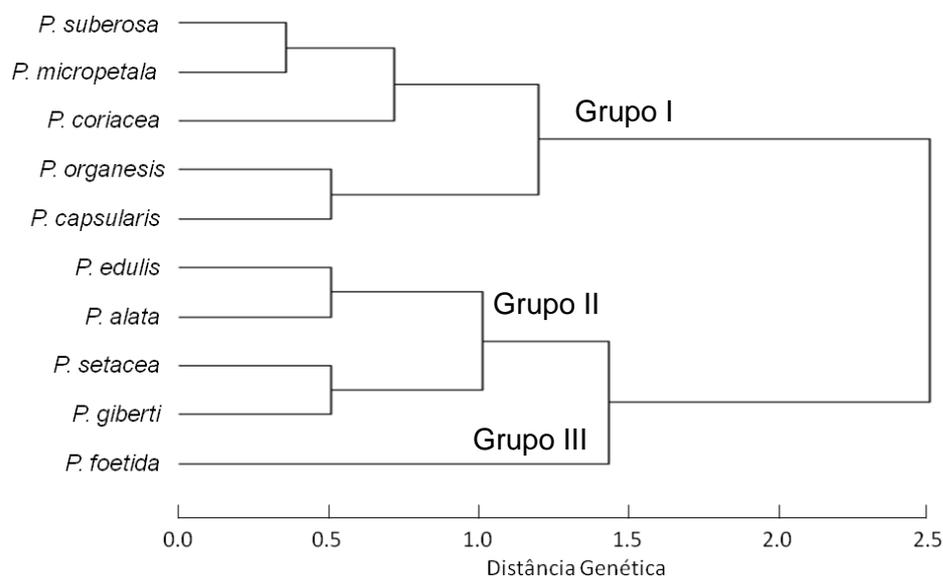


Figura 3. Dendrograma de dissimilaridades genéticas entre sete acessos de *Capsicum* obtido pelo método de Ward, com base em 12 variáveis polínicas avaliadas, utilizando-se a distância Euclidiana Média Padronizada. Variáveis, razão DP/DE; número de aberturas; diâmetro polar, diâmetro equatorial, em vista equatorial; diâmetro equatorial (DEVP), lado do apocolpo (LA), índice de área polar (IAP) em vista polar; comprimento e largura da abertura; exina, sexina e nexina.

Com base no dendrograma, pode-se observar a formação de três grupos, o grupo I reuniu todas as espécies pertencentes ao subgênero *Decaloba*, o grupo II reuniu as espécies pertencentes ao subgênero *Passiflora*, com exceção da espécie *P. foetida*, a qual ficou isolada, ou seja, em um grupo distinto das demais espécies do presente estudo, porém próxima às do subgênero *Passiflora*. A sistemática no gênero *Passiflora*, assim como em *Passifloraceae*, ainda não está bem resolvida, pois são bastante controversos os limites de limitação de vários subgêneros, seções e séries (Feuillet e MacDougal, 2003).

De acordo com a proposta de Killip (1938), para as espécies de *Passiflora*, o gênero é composto de 22 subgêneros, e, nessa classificação, *P. foetida* pertence ao subgênero *Dysomia*. Essa classificação levou em consideração caracteres

morfológicos, principalmente, os referentes à estrutura da flor. Feuillet e MacDougal (2003) propõem uma nova classificação infragenérica para *Passiflora*, reduzindo o número de subgêneros para, apenas, quatro: *Astrophea*, *Deidamioides*, *Decaloba* e *Passiflora*, sendo essa proposta baseada, principalmente, na morfologia externa e características ecológicas da espécie. Nesse estudo, com base em dados morfopolínicos, a espécie *P. foetida* ficou em um grupo distinto das espécies do subgênero *Passiflora*. Talvez algumas características possam ter contribuído para esse resultado já que, nessa espécie, a exina, sexina e nexina foram as mais espessas dentro do mesmo grupo, e o diâmetro da abertura foi o maior entre as espécies do subgênero *Passiflora*, analisadas no presente estudo.

Outra diferença observada entre os grupos formados foi referente às aberturas polínicas, uma vez que as espécies do grupo I são as que possuem 12 aberturas, apresentando pólen 12-colporado e 12-colpado. Já as espécies pertencentes ao grupo II e *P. foetida*, alocada no terceiro grupo, apresentam o pólen do tipo 6-colpo.

O estudo da divergência genética pode ser avaliado por meio de dispersão gráfica, juntamente com o método de agrupamento, considerando os dados originais que apresentam grande importância no estudo e no relacionamento entre diferentes genótipo ou espécies (Xavier, 1996). Quando se estuda a diversidade genética pelo método dos componentes principais, tem-se, como propósito, a identificação de genótipos similares em gráficos de dispersão bi ou tridimensional, possibilitando simplificar a interpretação dos resultados. A viabilidade de sua interpretação está restrita à concentração da variabilidade entre os primeiros componentes, geralmente acima de 80% (Cruz et al., 2004).

Através da análise de componentes principais, verificou-se que os dois primeiros componentes, resultantes da combinação linear dos 12 caracteres morfopolínicos avaliados, explicaram mais de 80% (81,46 %) da variação total. Dias (1994) relata que, através da dispersão gráfica, obtida com componentes principais, recupera-se a informação em nível de indivíduo que é perdida por se considerar, apenas, a informação de grupos na análise de agrupamento. O procedimento dos componentes principais e/ou da distância Euclidiana, têm sido, largamente, empregados na avaliação de acessos em bancos de germoplasma, pelo fato de, nessa situação, ser difícil a quantificação de influências não-

genéticas, que atuam, simultaneamente, sobre várias características (Cruz et al., 2011).

Observa-se, na figura 4, que as espécies pertencentes ao subgênero *Decaloca* apresentaram posições bem similares, formando um único grupo, enquanto as espécies *P. edulis*, *P. alata*, *P. setacea* e *P. giberti* foram alocadas em outro grupo, e a espécie *P. foetida* formou um grupo à parte. É possível verificar, pela análise dos componentes principais, o mesmo padrão de agrupamento obtido pelo método de Ward.

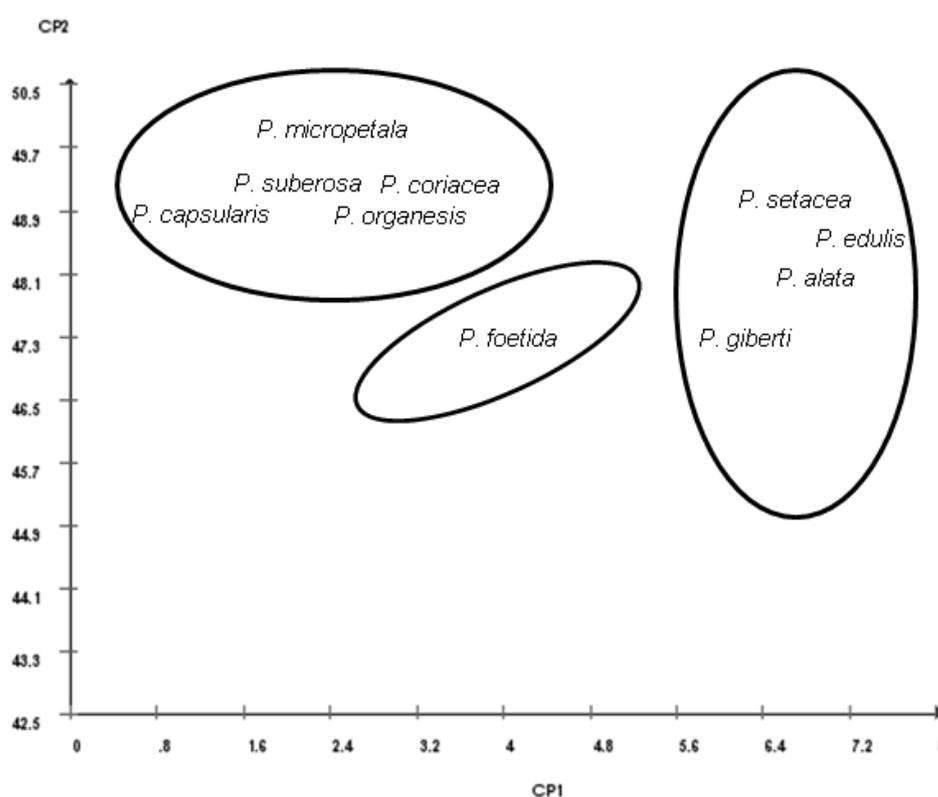


Figura 5. Dispersão gráfica dos acessos com base nos dois primeiros componentes principais, as espécies do subgênero *Passiflora* L. (*P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. setacea* e *P. giberti*) e as pertencentes ao subgênero *Decaloba* DC. (*P. suberosa*, *P. organensis*, *P. micropetala*, *P. coriacea* e *P. capsularis*).

Ambos os métodos de agrupamento, Ward (Figura 4) e componentes principais (Figura 5), alocaram *P. foetida* em um grupo distinto das demais espécies do subgênero *Passiflora*. *P. foetida* é, possivelmente, a mais variável espécie do gênero, particularmente a respeito de folhas, flores e frutos (Ulmer e MacDougal, 2004). A variabilidade em *P. foetida* é muito expressiva, Killip (1938)

revisou algumas variantes dessa espécie e encontrou 38; essa pesquisa foi baseada na pilosidade do botão floral, divisão e arranjo das brácteas, tamanho e cor das flores e frutos, comprimento do pedicelo e formato das folhas. Bernaci (2003) considerou as variedades existentes de difícil reconhecimento devido à sua plasticidade morfológica e decide, em muitos casos, por não adotá-las em seus trabalhos. Esse fato pode ter contribuído para a escolha de um exemplar da espécie com características peculiares que não favoreceram a mesma ser alocada com as demais espécies do subgênero *Passiflora*. A variabilidade observada em *P. foetida* está, possivelmente, associada a pressões ambientais intrínsecas ou variações genotípicas e fenotípicas, levando, muitas vezes, a pequenas modificações nas estruturas reprodutivas dos espécimes (Araújo e Alves, 2007).

Os dados do presente estudo permitiram agrupar as espécies dentro de seus subgêneros com base em caracteres morfológicos; dessa forma, pode-se sugerir o uso da análise da morfologia do pólen em estudos que visam a avaliar a diversidade genética entre espécies.

### 3.4.6. CONCLUSÕES

Os dados permitiram concluir que as espécies do subgênero *Decaloba* *P. organensis*, *P. micropetala*, *P. coriacea* e *P. capsularis* apresentaram pólen do tipo 12-colporado, e *P. suberosa* apresentou pólen do tipo 12-colpado. As espécies *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. setacea* e *P. giberti*, pertencentes ao subgênero *Passiflora*, apresentaram, sem exceção, pólen do tipo 6-colpo. Todas as espécies estudadas apresentam grãos de pólen de tamanho grande.

Pelo método de Ward e de componentes principais, foi possível agrupar as espécies que apresentaram características semelhantes, formando grupos correspondentes a dois subgêneros de *Passiflora*, com exceção de *P. foetida*, a qual ficou em um grupo distinto dos demais.

Acrescenta-se que a metodologia utilizada, a base de hidróxido de sódio a 10% em solução aquosa, demonstrou ser eficaz na preparação dos grãos de

pólen das espécies do subgênero *Passiflora*, ao permitir preparações com pólenes íntegros e de fácil visualização morfológica.

### 3.4.7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araújo, D., Alves, M. (2007) Variabilidade morfológica de *Passiflora foetida* L.: quantas variedades existem no estado de Pernambuco? *Revista Brasileira de Biociências*, 5(2): 852-844.
- Araújo, R.C.M., Santos, F.A.R. (2004). Palinologia de Espécies do Gênero *Passiflora* L (Passifloraceae) da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Sitientibus: Série Ciências Biológicas*, 4(1/2): 37-42.
- Araújo, F.P., Silva, N., Queiroz, M.A. (2008). Divergência genética entre acessos de *Passiflora cincinata* Mast. com base em descritores morfoagronômicos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30(3) 723-730.
- Barrios, L., Caetano, C.M., Cardoso, C.I., Eeckenbrugge, G.C., Arroyave, J.A. Olaya, C.A. (2005) Caracterización del pollen de espécies de los gêneros *Passiflora* e *Dilkea*, *Acta Agronomica*, 54(3): 19-23.
- Barth, O.M. (1964). Catálogo sistemático dos pólenes das plantas arbóreas do Brasil Meridional – Glossário Palinológico. *Memorias Instituto. Oswaldo Cruz* 63: 133-162.
- Barth, O. M., Melhem, T.S. (1988) Glossário Ilustrado de Palinologia. Campinas, Editora da Universidade Estadual de Campinas.
- Bernacci, L.C. 2003. Passifloraceae. In: Wanderley, M.G.J., Shepard, G.J. Guilietti, A.M., Melherm, T.S. Flora Fanerogâmica de São Paulo. Rima: São Paulo. 247-257.

- Cassiano, A. P. A. A., LEMOS, E.G.M., OLIVEIRA, J.C., (1998) Avaliação de espécies de *Passiflora* através de marcadores moleculares RAPD. *Genetics and Molecular Biology*, v.21, n.3, p.214, Suplemento.
- Cervi, A.C. (2006). O gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae) no Brasil, espécies descritas após o ano de 1950. *Adumbrationes ad Summae Editionem* 16: 1-5.
- Crochemore, M.L., Molinari, H.B., Stenzel, N.M.C. (2003) Caracterização agromorfológica do maracujazeiro (*Passiflora* spp) *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25(1): 5-10.
- Cruz, C.D. (2006) *Programa GENES: versão Windows – aplicativo computacional em genética e estatística*. UFV.
- Cruz, C. D., Carneiro, P. C. S. (2003) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV. 585p.
- Cruz, C.D.; Regazzi, A.J.; Carneiro, P.C.S. (2004) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV. 480p.
- Cruz, C.D., Ferreira, F.M., Pessoni, L.A. (2011) *Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética*, Viçosa: Ed UFV, 620 p.
- Detcke, G.A. (2009) Anatomia comparada da antera de espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) do Rio Grande do Sul. Dissertação (Mestrado em Botânica) Porto Alegre – RS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 111f.
- Detcke, G.A. Santos, R.P. (2009) Tipos de aberturas dos grãos de pólen de espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae). *Acta Botânica Brasilica*, 23(4): 1119-1129.
- Dias, L.A.S. (1994) Divergência genética e fenética multivariada na predição de

híbridos e preservação de germoplasma de cacau (*Theobroma cacao* L.). Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo - USP – 94f.

Erdtman (1945) Pollen morphology and plant taxonomy. III. *Morina* L. with an addition on pollen morphological terminology. Svensk bot. Tidskr. 39.

Erdtman, G. (1952) Pollen morphology and plant taxonomy Angiosperms. Almqvist e Wiksell, Stockholm.

Erdtman, G. (1960) The acetolysis method. A revised description. Svensk Botanisk Tidskrift 54: 561-564

Evaldt, A.C.P., Bauermann, S.G., Cancelli, R.R., Acioli, M., Neves, P.C.P. (2011) Morfologia polínica de Passifloraceae Juss ex Kunth. No Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências*, 9(1): 75-87.

Faegri, K., Deuse, P. (1960) Size variation in pollen grains with different treatment. *Pollen et Spores*, 2(2) 293-298.

Faegri, K., Iversen, J. (1964) Textbook of pollen analysis. 2<sup>nd</sup> ed. Blackwell, Oxford.

Feuillet, C., MacDougal, J. (2003) A new infrageneric classification of *Passiflora* L. (Passifloraceae). *Passiflora: The Journal and Newsletter of Passiflora Society International*, 13(2): 34-38.

García, M.T.A., Galati, B.G., Anton, A.M. (2002) Microsporogenesis, microgametogenesis and pollen morphology of *Passiflora* spp. (Passifloraceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 139(4): 383-394.

Gonçalves-Esteves, V., Melhem, T.S. (2004) Palinologia de espécies brasileiras de *Cheiloclinium* Miers (Hippocrateaceae Juss.), *Acta Botânica Brasilica*, 18(3): 503-512.

Iversen, J., Troels-Smith, J. (1950) Pollenmorfologiske definitiones of types.

Danmarks Geol. Unders 4, rk. 3,8.

Killip, E. (1938). The American species of Passifloraceae. *Field Museum of Natural History, Botanical Series*, 19: 1-613.

Lewis, D. (1979). Sexual incompatibility in plants. *Studies in Biology*, London: Edward Arnold, 60p.

Martins, K.C. Palinologia em *Capsicum*: caracterização, divergência genética e viabilidade polínica. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goyataces – RJ – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro –UENF,

Melhem, T. S. (1978) Palinologia – suas aplicações e perspectivas no Brasil. Coleção Museu Paulista, série Ensaios.

Melhem, T. S.; Matos, M. E. R. (1972) Variabilidade de forma dos grãos de pólen de *Eriope crassipes* Benth. Labiatae. *Hoehnea*, 2: 1-10.

Milward-de-Azevedo, M.A., Gonçalves-Esteves, V., Baumgratz, J.F.A. (2004). Palinotaxonomia das espécies de *Passiflora* L. subg. *Decaloba* (DC.) Rchb. (Passifloraceae) no Sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 27(4): 655-665.

Milward-de-Azevedo, M.A., Souza, F.C., Baumgratz, J.F.A., Gonçalves-Esteves, V. (2010) Palinotaxomia de *Passiflora* L. subg *Decaloba* (DC.) Rchb. (Passifloraceae) no Brasil, *Acta Botânica Brasílica*, 24(1):135-45.

Pacini E., Hesse, M. (2005) Pollenkit-its composition, forms and functions. *Flora* 200:399-415.

Piffnelli, P., Ross, J.H.E., Murphy, D.J. (1998) Biogenesis and functions of the lipidie structures of pollen grains. *Sexual Plant Reproduction* 11: 65-80.

Presting, D. (1965). Zur Morphologie Der Pollenkörner Der Passifl Oraceen. *Pollen*

*Et Spores* 7: 193-247.

Punt, W., Blackmore, S., Nilsson, S.; Le Thomas, A. (2007) Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 143: 1-81

Salgado-Labouriau, M. L. (1973) Contribuição à palinologia dos cerrados. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro.

Souza, M.M., Pereira, T.N.S., Viana, A.P., Silva, L.C., Sudré, C.P. (2004) Pollen viability and fertility in wild and cultivated *Passiflora* species (Passifloraceae) Beitrage zur Biologie Pflazen, 73:359:376.

Spirlet, M.L. (1965) Utilisation taxonomique des grains de pollen de Passifloracées. *Pollen et Spores*. 7: 249-301.

Viana, A.P., Pereira, T.N.S., Pereira, M.G., Souza, M.M., Maldonado, J.F.M. Amaral Júnior, A.T. (2003) Diversidade genética entre genótipos comerciais de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de passifloras nativas determinada por marcadores RAPD. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25(3): 489-493.

Xavier, A. (1996) Aplicação de análise multivariada da diversidade genética no melhoramento de *Eucalyptus* spp. 1996. 126 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Viçosa –MG – Universidade Federal de Viçosa – UFV – 126f.

#### 4. RESUMO E CONCLUSÃO

As atividades de pré-melhoramento são de grande importância na caracterização e avaliação do germoplasma. Dessa forma, este estudo teve como objetivo principal gerar informações básicas das espécies *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. coriacea*, *P. micropetala*, *P. giberti*, *P. setacea* e *P. capsularis*, com o propósito de subsidiar o programa de melhoramento genético da forma cultivada, o maracujazeiro-azedo. O estudo foi dividido em trabalhos que englobam determinadas atividades de pré-melhoramento em *Passiflora*, como, por exemplo, caracterização da fenologia reprodutiva, avaliação da superação da dormência utilizando nitrato de potássio, estimação da divergência genética com base em dados das plântulas e na morfologia dos grãos de pólen.

O nitrato de potássio demonstrou ser eficiente na superação da dormência em algumas sementes de espécies de *Passiflora*.

As características com maior contribuição para a divergência genética foram a percentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação. As espécies *P. foetida* e *P. setacea*, as quais formaram um único grupo, foram as mais divergentes e, também, as que apresentaram a maior taxa de germinação e índice de velocidade de germinação.

A escala de notas demonstrou ser eficiente na caracterização da fenologia reprodutiva das espécies de *Passiflora*, pois, com seu emprego, foi possível estimar um intervalo de dias de cada uma das fenofases utilizadas no

presente estudo.

O florescimento do maracujazeiro-azedo coincidiu com outras espécies, como *P. alata*, *P. foetida*, *P. suberosa*, *P. organensis*, *P. giberti*, *P. setacea* e *P. capsularis*.

Os dados da morfologia do pólen permitiram concluir que as espécies do subgênero *Decaloba* *P. organensis*, *P. micropetala*, *P. coriacea* e *P. capsularis* apresentaram pólen do tipo 12-colporado, e *P. suberosa* apresentou pólen do tipo 12-colpado. As espécies *P. edulis*, *P. alata*, *P. foetida*, *P. setacea* e *P. giberti*, pertencentes ao subgênero *Passiflora*, apresentaram, sem exceção, pólen do tipo 6-colpo. Todas as espécies estudadas apresentam grãos de pólen de tamanho grande.

Pelo método de Ward e de componentes principais, foi possível agrupar as espécies que apresentaram características semelhantes, formando grupos correspondentes a dois subgêneros de *Passiflora*, com exceção de *P. foetida*, a qual ficou em um grupo distinto dos demais.

Acrescenta-se que a metodologia utilizada, a base de hidróxido de sódio a 10% em solução aquosa, demonstrou ser eficaz na preparação dos grãos de pólen das espécies do subgênero *Passiflora*, ao permitir preparações com pólenes íntegros e de fácil visualização morfológica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexandre, R.S., Wagner Júnior, A., Negreiros, J.R.S., Parizzotto, A., Bruckner, C.H. (2004) Germinação de sementes de genótipos de maracujazeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 39 (12): 1239-1245.
- Almeida, A. M. (1985) *Maturação e qualidade fisiológica de sementes de maracujá amarelo (Passiflora edulis f.flavicarpa Deg.)*. Dissertação (Mestrado Agronomia) – Botucatu – SP, Universidade Estadual Paulista (UNESP), 91p.
- Amorim, E. P., Ramos, N. P., Ungaro, M. R. G., Kiihl, T. A. M. (2008) Correlações e análise de trilha em girassol. *Bragantia*, 67(2): 307-316.
- Araújo, D., Alves, M. (2007) Variabilidade Morfológica de *Passiflora foetida* L.: Quantas variedades existem no estado de Pernambuco? *Revista Brasileira de Biociências*, 5(2): 852-844.
- Araújo, F.P. (2007) *Caracterização da variabilidade morfoagronômica de maracujazeiro (passiflora cincinnata mast.) no semi-árido brasileiro*. Tese (Doutorado em Agronomia) – Botucatu – SP, Universidade Estadual Paulista (UNESP), 94p.
- Araújo, F.P., Silva, N., Queiroz, M.A. (2008). Divergência genética entre acessos

de *Passiflora cincinata* Mast. com base em descritores morfoagronômicos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30(3) 723-730.

Araújo, R.C.M., Santos, F.A.R. (2004). Palinologia de Espécies do Gênero *Passiflora* L (Passifloraceae) da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Sitientibus: Série Ciências Biológicas*, 4(1/2): 37-42.

Araújo, R.R., (2009) Fenologia e morfologia de plantas e biometria de frutos e sementes de muricizeiro (*Byrsonima verbascifolia* (L.) Rich. do tabuleiro costeiro de alagoas. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Mossoró – RN, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), 89p

Baker, H. G. (1954) Aperture membranes in studies of pollen morphology and taxonomy. *Studies of pollen morphology and taxonomy*, p. 350-352.

Barrios, L., Caetano, C.M., Cardoso, C.I., Eeckenbrugge, G.C., Arroyave, J.A. Olaya, C.A. (2005) Caracterización Del pollen de espécies de los gêneros *Passiflora* e *Dilkea*, *Acta Agronomica*, 54(3): 19-23.

Barros, D.I. (2006) *Tecnologia de sementes de mangaba (Hancornia speciosa Gomes)*. Tese (Doutorado em Agronomia) – Areia – PB, Universidade Federal de Paraíba (UFPB) 89p.

Barth, O. M., Melhem, T.S. (1988) Glossário Ilustrado de Palinologia. Campinas, Editora da Universidade Estadual de Campinas.

Barth, O.M. (1964). Catálogo sistemático dos pólenes das plantas arbóreas do Brasil Meridional – Glossário Palinológico. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 63: 133-162.

Barth, O.M., Melhem, T.S. (1988) Glossário Ilustrado de Palinologia. Campinas, Editora da Universidade Estadual de Campinas.

Benevides, C.R., Gaglianone, M.C., Hoffmann, M. (2009) Visitantes florais do

maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. Passifloraceae) em áreas de cultivo com diferentes proximidades a fragmentos florestais na região Norte Fluminense, RJ. *Revista Brasileira de Entomologia*, 53(3): 415-421.

Benin, G., Carvalho, F.I.F de., Oliveira, A.C. de, Marchioro, V.S., Lorencetti, C., Kuek, A.J.; Silva, J.A.G., Cruz, P.J., Hartwing, I., Schmidt, D.A.M. (2003) Comparações entre medidas de dissimilaridade e estatística multivariadas como critérios no direcionamento de hibridações em aveia. *Ciência Rural*, 33: 657-662.

Bernacci, L.C. (2003). Passifloraceae. In: Wanderley, M.G.J., Shepard, G.J. Guilietti, A.M., Melherm, T.S. Flora Fanerogâmica de São Paulo. Rima: São Paulo. 247-257.

Brasil (1992) Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. *Regras para análise de sementes*. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 365p.

Breese, L. (1989) Multiplication and regeneration of germoplasm. In: Stalker, H.T., Chapman, C. (ed) *Scientific Management of Germoplasm: characterization, evaluation and enhancement*. Roma: IBPGR, p. 17-22.

Bruckner, C.H., Casali, V.W.D., Moraes, C.F. de., Regazzi, A.J., Silva, E.A.M. da. (1995) Self-incompatibility in passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). *Acta Horticulturae*, 370: 45-57.

Bruckner, C.H., Meletti, L.M.M., Otoni, W.C., Zerbini Júnior, F.M. (2002) Maracujazeiro. In: Bruckner, C.H. (org). *Melhoramento de fruteiras tropicais*. Viçosa: UFV, p. 373-409.

Bruckner, C.H., Suassuna, T. de M.F., Rêgo, M.M., Nunes, E.S. (2005) Auto-incompatibilidade do maracujá - implicações no melhoramento genético. In: Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Braga, M.F. (ed). *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina: Embrapa Cerrados, p.315-338.

- Camillo, E. (2003) *Polinização do maracujá*. Ribeirão Preto: Holos, 44 p.
- Canceli, R.R., Schneider, A.A., Bauermann, S. G. (2006) Morfologia polínica do gênero *Pluchea* Cass. (Asteraceae), no Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Paleontologia*. 9(1): 149-156
- Carvalho, L.P., Lanza, M.A., Fallieri, J., Santos, J.W., (2003) Análise da diversidade genética entre os acessos do banco ativo de germoplasma de algodão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38: 1149-1155.
- Carvalho, N.M., Nakagawa, J. (2000) *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. Jaboticabal: Funep, 650p.
- Cassiano, A. P. A. A., Lemos, E.G.M., Oliveira, J.C., (1998) Avaliação de espécies de *Passiflora* através de marcadores moleculares RAPD. *Genetics and Molecular Biology*, v.21, n.3, p.214, Suplemento.
- Catunda, P.H.A., Vieira, H.D., Silva, R.F., Posse, S.C.P. (2003) influência no teor de água, da embalagem e das condições de armazenamento na qualidade de sementes de maracujá amarelo, *Revista Brasileira de Sementes*, 25(1): 65-71.
- Cervi, A. C. (1997) *Passifloraceæ do Brasil: Estudo do gênero Passiflora L., subgênero Passiflora*. Madri: Forquera, 45: 95p.
- Cervi, A.C. (2006) O gênero *Passiflora* (Passifloraceae) no Brasil, espécies descritas após o ano de 1950. *Adumbrationes ad summae editionem* 16: 1-5.
- Clausen, A.M. (1997) *Informe Especial Campo y Tecnologia, Agrobiodiversidade, Conservación y Utilización Sustentable*, p.4-6.
- Colinvaux, P. A.; Oliveria, P. E.; Patño, J. E. M.; Moreno, E. (1999) Amazon pollen manual and atlas. Editor: CRC Press. 332 p.
- Crochemore, M.L., Molinari, H.B., Stenzel, N.M.C. (2003) Caracterização

agromorfológica do maracujazeiro (*Passiflora* spp) *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25(1): 5-10.

Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S. (2003) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV. 585p.

Cruz, C.D. (2006) *Programa GENES: versão Windows – aplicativo computacional em genética e estatística*. UFV.

Cruz, C.D., Ferreira, F.M., Pessoni, L.A. (2011) *Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética*, Viçosa: Ed UFV, 620 p.

Cruz, C.D., Regazzi, A.J., Carneiro, P.C.S. (2004) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*, Viçosa: Ed UFV, 480 p.

Cunha, M.A.P. da, Barbosa, L.V., Junqueira, N.T.V. (2002) Espécies de maracujazeiro. *In*: Lima, A. de A. *Maracujá - Produção: aspectos técnicos*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, (Frutas do Brasil, 15), p. 15-24.

Dafni, A. (1992) *Pollination ecology: a practical approach*. New York: Oxford University Press, 250p.

Dajoz, I., Bottraud, I.T., Gouyon, P.H. (1991) Evolution of pollen morphology. *Science*, v. 253, p. 66-68

Dectcke, G.A. Santos, R.P. (2009) Tipos de aberturas dos grãos de pólen de espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae), *Acta Botânica Brasilica*, 23(4): 1119-1129.

Dectcke, G.A. (2009) Anatomia comparada da antera de espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) do Rio Grande do Sul. Dissertação (Mestrado em Botânica) Porto Alegre – RS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 111f.

- Delanoy, M., Van Dammea, P., Scheldeman, X., Beltran, J. (2006) Germination of *Passiflora mollissima* (Kunth) LH Bailey, *Passiflora tricuspidata* Mast. and *Passiflora nov sp.* seeds. *Scientia Horticulturae*, 110(2): 198-203.
- Dias, D.C.F.S.; Marcos Filho, J. (1995) Testes de vigor baseados na permeabilidade das membranas celulares: In: *Condutividade elétrica*. Informativo Abrates, Brasília, 5 : 26-33.
- Dias, L.A.S., Kageyama, P. Y., Castro, G.C.T. (1997) Divergência genética multivariada na preservação de germoplasma de cacau (*Theobroma cacao* L.) *Agrotrópica*, 9: 29-40.
- Dias, L.A.S. (1994) Divergência genética e fenética multivariada na predição de híbridos e preservação de germoplasma de cacau (*Theobroma cacao* L.). Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” USP – 94f.
- Duarte, M.O., Alves, M.F., Silva, L.O., Yamamoto, M., Barbosa, A.A.A., Oliveira, P.E.A.M.; Sano, S.M. (2009) Biologia Reprodutiva de três espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) Em Uberlândia, Mg, Brasil. CD-ROM dos *Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil*, São Lourenço-MG, Brasil.
- Edmond, J. B.; Drapala, W. J. (1958) The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. *Proceedings of the American Society Horticultural Science*, Alexandria, (71): 428-434.
- Ellis, R. T., Hong. T.D., Roberts, E.H. (1985) *Handbook of seed technology for genebanks*, Roma: International Board for Plant Genetic Resources, IBPGR.
- Erdtman (1945) Pollen morphology and plant taxonomy. III. *Morina* L. With an addition on pollenmorphological terminology. *Svensk bo. Tidskr.* 39.
- Erdtman, G. (1952) Pollen morphology and plant taxonomy Angiosperms. Almqvist e Wiksell, Stockholm.

- Erdtman, G. (1960) The acetolysis method. A revised description. *Svensk Botanisk Tidskrift* 54: 561-564
- Erdtman, G. (1986) pollen morphology and plant taxonomy: an introduction to palynology. 2<sup>nd</sup> Ed, Almqvist e Wiksell, Stockholm, Sweden. 553p.
- Erdtman, G. (1971). *Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms. Corrected reprint of 1952 edition.* New York: Hafner Publishing Company.
- Evaldt, A.C.P., Bauermann, S.G., Cancelli, R.R., Acioli, M., Neves, P.C.P. (2011) Morfologia polínica de Passifloraceae Juss ex Kunth. No Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências*, 9(1): 75-87.
- Faegri, K., Deuse, P. (1960) Size variation in pollen grains with different treatment. *Pollen et Spores*, 2(2) 293-298.
- Faegri, K., Iversen, J. (1964) Textbook of pollen analysis. 2<sup>nd</sup> ed. Blackwell, Oxford. 237p.
- Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Bellon, G., Borges, T.A., Anjos, J.R.N. Peixoto, J.R., Braga, M.F., Santos, D.G. (2004) Diversidade genética de espécies silvestres de maracujazeiro com resistência a múltiplas doenças com base em marcadores RAPD. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 29, supl,
- FAO (1996) Food and Agriculture Organization of the United Nations – *Report on the State of the World's Plant Genetic Resources' for Food Agriculture*, Rome.
- Faria, F.S., Stehmann, J.R., (2010) Biologia reprodutiva de *Passiflora capsularis* L. e *P. pohlii* Mast. (Decaloba, Passifloraceae). *Acta Botânica Brasílica*. 24(1): 262-269.
- Faron, M.L.B., Perecin, M.B., Lago, A.A., Bovi, O.A., Maia, N.B. (2004) Temperatura, nitrato de potássio e fotoperíodo na germinação de sementes de *Hypericum perforatum* L. e *H. brasiliense* choisy. *Bragancia*, 63(2): 193-

199.

Ferreira, A. G., Borghetti, F. (2004) *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 323 p.

Ferreira, F.R. (2005) Recursos genéticos de *Passiflora*. In: Faleiro, F.G.; Junqueira, N.T.V., Braga, M.F. (ed). *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 41-50.

Ferreira, F.R., Oliveira, J.C de. (1991) Germoplasma de *passiflora*. In: SÃO JOSÉ, A. R. ; Ferreira, F.R., Vaz, R.L. (ed). *A cultura do maracujá no Brasil*. Jaboticabal: FUNEP, p. 187-200.

Ferreira, G. (2000) Propagação do maracujazeiro. *Informe Agropecuário*, v.21, p.18-24.

Ferreira, G., Fogaça, L. A., Bloedorn, M. (2001) Efeito do ácido giberélico (GA3) aplicado em sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryander) para a produção de mudas em diferentes embalagens. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23(1): 152-155.

Feuillet, C., MacDougal, J. (2003). A new infrageneric classification of *Passiflora* L. (Passifloraceae). *Passiflora: The journal e Newsletter of Passiflora Society International*. 13(2): 34-38.

Fischer, I.H. (2003) *Seleção de plantas resistentes e de fungicidas para o controle da "morte prematura" do maracujazeiro, causada por Nectria hematococca e Phytophthora parasitica*. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Piracicaba – SP, Universidade de São Paulo (USP),48f..

Fleck, N.G., Agostinetto, D., Vidal, R.A., Merotto Júnior, A. (2001) Efeitos de fontes nitrogenadas e de luz na germinação de sementes de *Bidens pilosa* e *Sida rhombifolia*. *Ciência e Agrotecnologia*, 25(3): 592-600

- Forsthofer, E.L., Silva, P.R.F., Argenta, G., Strieder, M., Suhre, E., Rambo, E. (2004) Desenvolvimento fenológico e agrônomico de três híbridos de milho em três épocas de semeadura. *Ciência Rural*, 34(5): 1341-1348.
- Ganga, R.M.D., Ruggiero, C., Lemos, E.G.M., Grili, G.V.G., Gonçalves, M.M., Chagas, E.A., Wickert, E. (2004) Diversidade genética em maracujazeiro-amarelo utilizando marcadores moleculares fAFLP. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 26(3): 494-498.
- García, M.T.A., Galati, B.G., Anton, A.M. (2002). Microsporogenesis, microgametogenesis and pollen morphology of *Passiflora* spp. (Passifloraceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 139(4): 383-394.
- Gardner, D.E. (1989) Pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* to Banana Poka and other *Passiflora* spp. in Hawaii. *Plant Disease*, 73: 476-478.
- Gasparino, E. C.; Barros, M. A. V. C. (2006) Palinologia. Curso de Capacitação de monitores e educadores. Programa de Pós Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. Instituto de Botânica: [http://www.biodiversidade.pgibt.ibot.sp.gov.br/Web/pdf/Palinologia\\_Eduardo\\_Gasparino.pdf](http://www.biodiversidade.pgibt.ibot.sp.gov.br/Web/pdf/Palinologia_Eduardo_Gasparino.pdf) em 20/10/2010. pagina mantida pelo Instituto de Botânica do Jardim Botânico de São Paulo.
- Gaspari-Pezzopane, C. Favarin, J.F., Maluf, M.P., Pezzopane, J.R.M., Guerreiro Filho, O. (2009) Atributos fenológicos e agrônomicos em cultivares de cafeeiro arábica. *Ciência Rural*, 39(3): 711-717.
- Goedert, C.O. (2007) Histórico e avanços em recursos genéticos no Brasil. In: Nass, L.L. (org). Recursos genéticos vegetais. Brasília: Embrapa, p. 23-60.
- Gonçalves-Esteves, V., Melhem, T.S. (2004) Palinologia de espécies brasileiras de *Cheiloclinium* Miers (Hippocrateaceae Juss.), *Acta Botânica Brasilica*, 18(3): 503-512.

- Gupta, S. C. (2002) Seed dormancy studies in some *Ocimum* species and its control through chemical treatment. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, 24 (4): 957-960.
- Hajjar R., Hodgkin T. (2007) The use of wild relatives in crop improvement: a survey of developments over the last 20 years. *Euphytica*, 156(1-2): 1-13.
- Hartwig, I., Carvalho, F. I. F., Vieira E. A., Silva J. A. G., Bertan, I.; Ribeiro G., Finatto, T., Reis, C. E. S., Busato, C. C. (2007) Estimativa de coeficientes de correlação e trilha em gerações segregantes de trigo hexaplóide. *Bragantia*, 66(2): 203-218.
- Hesse, M., Waha, M. (1989) A new look at the acetolysis method. *Plant Systematic and Evolution*. 163, 147-152.
- Hladni, N., Skoric, D., Kraljevic-Balalic, M., Sakac, Z., Jovanovic, D. (2006) Combining ability for oil content and its correlations with other yield components in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Helia*, 29 (44): 101-110.
- IBGE (2011) Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA In: IBGE: <http://sidra.ibge.gov.br/> em 10/01/2012 pagina mantida pelo IBGE.
- Iversen, J., Troels-Smith, J. (1950) Pollenmorfologiske definitiones of types. *Danmarks Geol. Unders* 4, rk. 3,8.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellog, E.A., Stevens, P.F., Donoghue, M.J. (2002) *Plant Systematics: a phylogenetic approach*. Sunderland: Sinauer Association, 576p.
- Junqueira, N.T.V., Braga, M.F., Faleiro, F.G., Peixoto, J.R., Bernacci, L.C. (2005) Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Braga, M.F. (org) *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. 1 ed. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p.81-108.

- Killip, E. (1938). The American species of Passifloraceae. *Field Museum of Natural History, Botanical Series*, 19: 1-613.
- Köppen, W. (1948) *Climatologia: com um estudio de los climas de la tierra*. Mexico: Fondo de Cultura Econômica, 479p.
- Labouriau, L.G. (1983) *A germinação das sementes*. Washington: OEA, 174p.
- Lage, D.A.C., Junqueira, N.T.V., Borges, T.A., Braga, M.F., Faleiro, F.G., Belloni, G., Alencar, C.M. (2005) Compatibilidade genética entre o maracujazeiro-azedo e espécies de passifloras silvestres, CD-ROM dos *Anais do 3º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas*, Gramado, RS, Brasil.
- Lago, A.A. (1974) Observações sobre germinação de *Brachiaria brizantha* Stapf. *Semente*, Brasília, 1: 34-37.
- Lawinski P.R. (2010) *Caracterização morfológica, reprodutiva e fenológica de Passiflora alata CURTIS e Passiflora cincinnata MAST*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Ilhéus – BA, Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, 134f.
- Lewis, D. (1979). Sexual incompatibility in plants. *Studies in Biology*, London: Edward Arnold, 60p.
- Lima, A. de A., Santos Filho, H. P., Caldas, R. C. (1997) *Porta-enxertos e tipos de enxertia para o maracujá-amarelo*. Cruz das Almas: EMBRAPA,. (Comunicado Técnico, 50). 3p.
- Lima, A.A., Caldas, R.C., Santos, V.S. (2006) Germinação e crescimento de espécies de maracujá. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 28(1): 125-127.
- Loarce, Y., Gallego, R., Ferrer, E. (1996) A comparative analysis of the genetic relationship between rye cultivar using RFLP and RAPD markers. *Euphytica*, 88:107-115.

- Madureira, H.C. (2009) *Caracterização celular e molecular do sistema de auto-incompatibilidade esporófitica do maracujazeiro-amarelo (Passiflora edulis Sims)*. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 81f.
- Mahalanobis, P.C. (1936) On the generalized distance in statistics. *Proceedings of the National Institute of Science of India*, New Delhi, (2): 49-55.
- Marcos filho, J. (2005) *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba: Fealq, 495p.
- Marques, V.B., Moreira, R.A., Ramos, J.D., Araújo, N.A., Silva, F.O.R. (2011) Fenologia reprodutiva de pitaia vermelha no município de Lavras, MG, *Ciência Rural*, 41(6): 984-987.
- Martins, K.C. (2010) *Palinologia em Capsicum: caracterização, divergência genética e viabilidade polínica*. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro –UENF,
- Martins, L.H.P., Miranda, I.P.A., Nunes, C.D.N. (2002) Morfologia polínica de populações amazônicas de *Elaeis oleifera*. *Acta amazônica* 33(2): 159-166.
- McCormick, S. (1993) Male gametophyte development. *The plant cell*, 5: 1265-1275.
- Meletti, L. M. M., Soares-Scout, M. D., Bernacci, L. C., Passos, I. R. da S (2005) Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. In: Faleiro, F. G.; Junqueira, N. T. V., Braga, M. F. (Ed.). *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 55-78.
- Meletti, L.M.M. (1998) *Caracterização agronômica de progênies de maracujá amarelo (Passiflora edulis Sims. f. flavicarpa Degener)*, Tese (Doutorado em

Genética e Melhoramento) – Piracicaba – SP, Universidade de São Paulo – USP, 92p.

- Meletti, L.M.M., Bernacci, L.C., Soares-Scott, M.D., Azevedo Filho, J. A. de; Martins, A. L. M. (2003) Variabilidade genética em caracteres morfológicos, agronômicos e citogenéticos de populações de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25(2): 275-278.
- Meletti, L.M.M., Bruckner, C. H. (2001) 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.
- Meletti, L.M.M., Santos, R.R. dos., Minami, K. (2000) Melhoramento do maracujazeiro-amarelo: obtenção do composto IAC-27. *Scientia Agricola*, 56(3): 491-498.
- Meletti, L.M.M., Soares-Scott, M.D., Bernacci, L.C.; Passos, I.R.S (2005). Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. In: Faleiro, F.G.; Junqueira, N.T.V.; Braga, M.F. (eds.) *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina: Embrapa, p. 55-78.
- Meletti, L.M.M., Soares-Scott., Bernacci, L. C., Martins, F.P. (1992) Caracterização de germoplasma de maracujazeiro (*Passiflora* sp). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 14(2): 157-162.
- Melhem, T. S. (1978) Palinologia – suas aplicações e perspectivas no Brasil. Coleção Museu Paulista, série Ensaios.
- Melhem, T. S.; Matos, M. E. R. (1972) Variabilidade de forma dos grãos de pólen de *Eriope crassipes* Benth. Labiatae. *Hoehnea*, 2: 1-10.
- Melo, A.L., Oliveira, J.C., Vieira, R.D. (2000) Superação de dormência em sementes de *Passiflora nitida* H.B.K. com hidróxido de cálcio, ácido sulfúrico e ácido giberélico. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 22(2): 463-467..

- Melo, K.T., Manica, I., Junqueira, N.T.V. (2001). Produtividade de seis cultivares de maracujazeiro-azedo durante três anos em Vargem Bonita, DF. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36(9): 1117-1125.
- Melo, N. F., Cervi, A. C., Guerra, M. (2001). Karyology and cytotaxonomy of the genus *Passiflora* L. (Passifloraceae). *Plant Systematic and Evolution* 226(1): 69-84.
- Menezes, J.M.T., Oliveira, J.C., Ruggiero, C., Banzato, D.A., Avaliação da taxa de pegamento de enxertos de maracujá amarelo sobre espécies tolerantes à “morte prematura de plantas” *Científica*, 22(1): 95-104.
- Milward-de-Azevedo, M.A., Baumgratz, J.F.A. (2004) *Passiflora* subgênero *Decaloba* (DC) Rchb. (Passifloraceae) na região sudeste do Brasil. *Rodriguésia*, 55(85): 17-54.
- Milward-de-Azevedo, M.A., Gonçalves-Esteves, V., Baumgratz, J.F.A. (2004). Palinotaxonomia das espécies de *Passiflora* L. subg. *Decaloba* (DC.) Rchb. (Passifloraceae) no Sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 27(4): 655-665.
- Milward-de-Azevedo, M.A., Souza, F.C., Baumgratz, J.F.A., Gonçalves-Esteves, V. (2010) Palinotaxonomia de *Passiflora* L. subg *Decaloba* (DC.) Rchb. (Passifloraceae) no Brasil, *Acta Botânica Brasílica*, 24(1):135-45.
- Montovani, M., Ruschel, A.R., Reis, M.S., Puchalski, A., Nodari, R.O., (2003) Fenologia reprodutiva de espécies arbóreas em uma formação secundária da floresta atlântica. *Revista Árvore*, 27(4): 451-458.
- Moore, P. D., Webb, J. A. (1978) *An illustrated guide to pollen analysis*. 1.ed. New York: A Halsted Press Book, 133p.
- Moreira, B.A., Barros, M.A.V.C., Wanderley, M. G. L. (2005) Morfologia polínica de

algumas espécies dos gêneros *Neoregelia* L.B. Sm. e *Nidularium* Lem. (Bromeliaceae) do Estado de São Paulo, Brasil. *Acta Botânica Brasilica*. 19(1): 61-70.

Moreira, J.A., Santos, J.W.,Oliveira, S.R.M., (1994) *Abordagens e metodologias para a avaliação de germoplasma*. Campina Grande: Embrapa, 115p.

Moura, W.M., Casali, V.W.D., Cruz, C.D., Lima, P.C. (1999) Divergência genética em linhagens de pimentão em relação à eficiência nutricional de fosforo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34: 217-224.

Muschner, V. C. (2005) Filogenia molecular, taxas evolutivas, tempo de divergência e herança organelar em *Passiflora* L. (Passifloraceae). Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) – Porto Alegre – RS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 105p.

Nakagawa, J., Cavariani, C., Amaral, W.A.N. (1981) Armaenamento de sementes de maracujá amarelo, *Revista Brasileira de Sementes*, 13(1): 77-80.

Nass, L.L., Valois, A. C. C., Melo, I.S. de., Valadares-Inglis, M. C. (2001) Recursos genéticos e melhoramento de plantas. Rondonópolis: Fundação MT, 1183 p.

Nass, L.L., Paterniani, E. (2000) Pre-breeding: a link between genetic resources and maize breeding. *Scientia Agricola*, 57(3): 581-587.

Negreiros, J.R. da S., Álvares, V. de S., Bruckner, C.H., Morgado, M.A.D., Cruz, C.D. (2007) Relação entre características físicas e o rendimento de polpa de maracujá-amarelo. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 29 (3): 540-545.

Nunes, T.S., Queiroz, L.P. (2001) A família Passifloraceae na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Sitientibus*, 1(1): 33-46.

Oliveira, E.J., Santos, V.S., Lima, D.S., Machado, M.D., Lucena, R.S., Motta,

- T.B.N., Castellen, M.S. (2008) Seleção em progênies de maracujazeiro-amarelo com base em índices multivariados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43(11): 1543-1549.
- Oliveira, J.C. de. (1987) Melhoramento genético. In: RUGGIERO, C (org.). *A cultura do maracujazeiro*. Ribeirão Preto: Legis Summa, p.218-246.
- Oliveira, J.C. de., Ruggiero, C. (2005) Espécies de maracujá com potencial agrônômico. In: Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V., Braga, M.F. (Ed) *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina: Embrapa Cerrados, p.143-158.
- Oliveira-Júnior, M.X., São José, A.R., Rebouças, T.N.H., Morais, O.M., Dourado, F.W.N. (2010). Superação da dormência de maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.), *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32(2): 584-590.
- Ortega G.G., Schmidt P.C. (1995) Obtención de comprimidos conteniendo extractos atomizados de flor de la pasión (*Passiflora incarnata* L.) *Acta Farmacêutica Bonaerense* 14(3): 173-180.
- Osipi, E.A.F., Nakagawa, J. (2005) Avaliação da potencialidade fisiológica de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryander) submetidas ao armazenamento. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 27(1): 52-54 .
- Otoni, W.C., Casali, V.W.D., Power, J.B., Davey, M.R. (1996) Isolamento de protoplastos de mesófilo de *P. suberosa* L.: influência da idade das plantas matrizes. *Revista Ceres*, 43(246): 157-164.
- Pacini E., Hesse, M. (2005) Pollenkit-its composition, forms and functions. *Flora* 200:399-415.
- Pádua, J.G., Schwingel, L.C., Mundim, R.C., Salomão, A.N., Roverijosé, S. C.B. (2011) Germinação de sementes de *Passiflora setacea* e dormência induzida pelo armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes*, 33 (11): 80-85.

- Passos, I.R.S., Matos, G.V.C., Meletti, L.M.M., Scott, M.D.S., Bernacci, L. C., Vieira, M.A.R. (2004). Utilização do ácido giberélico para a quebra de dormência de sementes de *passiflora nitida* kunth germinadas *in vitro*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 26 (2): 380-381.
- Pedroni, F., Sanchez, M., Santos, F. A.M. (2002) Fenologia da copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf. Leguminosae, Caesalpinioideae) em uma floresta semidecídua no sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 25(2): 183-194.
- Peixoto, M. (2005) Problemas e perspectivas do maracujá ornamental. In: Faleiro, F.G., Junqueira, N.T.V.; Braga, M.F. (org). *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. 1 ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 457-463.
- Pereira, K. J. C., Dias, D. C. F. (2000) Germinação e vigor de sementes de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) submetidas a diferentes métodos de remoção da mucilagem. *Revista Brasileira de Sementes*, 22 (1): 288-291.
- Pezzopane, J.R.M., Pedro-Júnior, M.J., Thomaziello, A., Camargo, M.B.P. (2003). Escala de avaliação de estádios fenológicos do cafeeiro arábica. *Bragantia*, 62(3): 499-505.
- Piffnelli, P., Ross, J.H.E., Murphy, D.J. (1998) Biogenesis and functions of the lipidie structures of pollen grains. *Sexual Plant Reproduction* 11: 65-80.
- Pires, M.M., José, A.R.S., Conceição, A.O. (2011) *Maracujá: avanços tecnológicos e sustentabilidade*, Ilhéus: Editora da UESC, 237p.
- Popinigis, F. (1985) *Fisiologia da sementes*. Brasilia: Agiplan.289p.
- Presting, D. (1965). Zur Morphologie Der Pollenkörner Der Passifl Oraceen. *Pollen Et Spores* 7: 193-247.

- Prete, C.E.C., Guerra, E.P. (1999) Qualidade fisiológica das sementes. In: Destro, D., Montalván, R. (org.) *Melhoramento genético de plantas*, Londrina: UEL, p.661-676.
- Punt, W., Blackmore, S., Nilsson, S.; Le Thomas, A. (2007) Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Palaeobotany and Palynology*,143: 1-81
- Ramos, J.D., Chalfun, N.N.J., Pasqual, M., Rufini, J.C.M. (2002) Produção de mudas de plantas frutíferas por semente. *Informe Agropecuário*, v.23, p.64-72.
- Rao, R.C. (1952) *Advanced statistical methods in biometric research*. New York: John Wiley and Sons, 390 p.
- Raynal, A.; Raynal, J. (1971) Une technique de préparation des grains de pollen fragiles. *Adasonia*, 11: 77-79.
- Raynor, G.S., Cohen, L.A., Hayes, J., Ogden, E. (1966) Dyed pollen grains and spores as tracers in dispersion and deposition studies. *Journal of applied meteorology*. 5: 728-729
- Saiki, P.T.O., Silva, B., Lomônaco, C. (2008) Expressão de caracteres reprodutivos e vegetativos de *Senna velutina* (Vogel) H.S. Irwin & Barneby (leguminosae, Caesalpinioideae) em dois ambientes distintos de cerrado. *Revista Brasileira de Botânica*, 31(2): 363-369.
- Salgado-Labouriau, M. L. (1973) Contribuição à palinologia dos cerrados. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências. 291p.
- Santos, C. M., Endres, L. (2010) Wanderley, H. C. L.; Rolim Filho, E. V.; Ferreira, V. M. Fenologia e crescimento do pinhão manso cultivado na zona da Mata do estado de Alagoas, Brasil. *Scientia Agraria*, 11(3): 201-209.
- Santos, C. M., Souza, G. R. L., Silva, J. R., Santos, V. L.M. (1999) Efeitos da temperatura e do substrato na germinação da sementes do maracujá

- (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.). *Revista Brasileira de Sementes*, 21(1): 1-6.
- Santos, E.A. Souza, M.M., Viana, A.P., Almeida, A.A.F., Freitas, J.C.O., Lawinsky, P.R. (2011) Multivariate analysis of morphological characteristics of two species of passion flower with ornamental potential and of hybrids between them. *Genetic and Molecular Research*, 10(4): 2457-2471.
- Saruhan, N., Kadioglu, A., Durmus, N. (2002) Alleviation of seed dormancy in *Plantago major*. *Israel Journal Plant Science*, v. 50, n. 3, p. 177-179.
- Silva, A.A.G. (2002) *Maracujá amarelo (passiflora edulis sims f. flavicarpa deg.): aspectos relativos à fenologia, demanda hídrica e conservação pós colheita*. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu-SP, 98p.
- Silva, F.J.T., Schwade, M.R.M., Webber, A.C. (2007) Fenologia, biologia floral e polinização de *Erythroxylum cf macrophyllum* (Erythroxylaceae), na Amazônia Central. *Revista Brasileira de Biociências*, 5: 186-188.
- Silva, F.J.T., Schwade, M.R.M., Webber, A.C. (2007) Fenologia, biologia floral e polinização de *Erythroxylum cf macrophyllum* (Erythroxylaceae), na Amazônia Central. *Revista Brasileira de Biociências*, 5: p.186-188.
- Silva, M.G.M., Viana, A.P., Gonçalves, G.M., Amaral Júnior, A.T., Pereira, M.G. (2009) Seleção recorrente intrapopulacional no maracujazeiro amarelo: alternativa de capitalização de ganhos genéticos. *Ciência e Agrotecnologia*, 33(1): 170-176.
- Simmonds, N.W. (1993) Introgression and incorporation strategies for the use of crop genetic resources. *Biology Reviews*, 68: 539-562.
- Singh, D. (1981) The relative importance of characters affecting genetic divergence. *The Indian Journal of Genetic and Plant Breeding*, New Delhi, 41

- (1): 237-245.
- Soler J. B.; Nolla J. M. R. (2002) Introdução. In: Valero-Santiago AL, Cadahia-García A (Eds): *Polinosis, Polen y Alergia*, 7-16. MRA ediciones, España.
- Souza, J.S.I., Meletti, L.M.M. (1997) *Maracujá: espécies, variedades e cultivo*. Piracicaba: FEALQ, 179p.
- Souza, L.S., Junqueira, N.T.V., Lima, C.A., Silva, Faleiro, F.G., Campos Neto, F.C., Bernacci, L.C. (2008) Determinação da compatibilidade genética entre espécies de *Passifloras* visando a obtenção de híbridos resistentes a doença. CD-ROM dos *Anais do IX Simpósio Nacional do Cerrado*, Brasília, DF, Brasil.
- Souza, M.M., Pereira, T.N.S., Vieira, M.L.C. (2008) Cytogenetic Studies in Some Species of *Passiflora* L. (Passifloraceae): A Review Emphasizing Brazilian Species. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51(2): 247-258.
- Souza, M.M., Pereira, T.N.S., Martins, E.R. (2002) 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 e Agrotecnologia*, 26(6): 1209-1217.
- Souza, M.M., Pereira, T.N.S., Viana, A.P., Silva, L.C., Sudré, C.P. (2004) Pollen viability and fertility in wild and cultivated *Passiflorai* species (Passifloraceae) *Beitraege zur Biologie Pflazen* 73:359:376.
- Souza, S.A.M., Pereira, T.N.P., Martins, K.C., Monteiro, C.E.S., Cardoso, D.L.(2009) Efeito do nitrato de potássio na superação da dormência em sementes de *P. foetida*. CD-ROM dos anais do V Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, Guarapari, ES, Brasil.
- Spirlet, M.L. (1965) Utilisation taxonomiquedes grains de pollen de Passifloracées. *Pollen et Spores*. 7: 249-301.
- Suassuna, T. de M.F., Bruckner, C.H., Carvalho, C.R. de., Borém, A. (2003)

Self-incompatibility in passionfruit: evidence of gametophytic-sporophytic control. *Theoretical and Applied Genetics*, 106(2): 298-302.

Talora, D.C., Morellato, P.C. (2000) Fenologia de espécies arbóreas em florestas de planície litorânea do sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 23(1): 13:16.

Tekrony, M.D., Egli, D.B. (1991) Relationship of seed vigour to crop yield: a review. *Crop Science*, Madison, 31: 816-822.

Tonin, G.A., Gatti, A.B., Carelli, B.P., Perez, S.C.J.G.A. (2005) Influência da temperatura de condicionamento osmótico na viabilidade e no vigor de sementes de *Pterogyne nitens* Tull. *Revista Brasileira de Sementes*, 27(2):.35-43.

Ulmer T., MacDougal J.M. (2004) *Passiflora: Passionflowers of the World*. Portland-Cambridge: Timber Press, 430p.

Valls, J.F.M. (2007) Caracterização de recursos genéticos vegetais, In: Nass, L.L. (org) Recursos Genéticos Vegetais Brasília: Embrapa, p.201-305.

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

Vencovsky, R., Barriga, P. (1992) *Genética Biométrica no Fitomelhoramento*. Ribeirão Preto: SBG, 496p.

Viana, A.P., Pereira,T.N.S., Pereira, M.G., Souza, M.M., Maldonado, J.F.M. Amaral Júnior,A.T. (2003) Diversidade genética entre genótipos comerciais de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de passifloras nativas determinada por marcadores RAPD. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25(3): 489-493.

Vitta, F.A., Bernacci, L.C. (2004) A new species and two overlooked species of *Passiflora* (Passifloraceae) from Brazil. *Brittonia*, 56: 89-95.

- Wagner Júnior, A., Negreiros, J. R. S., Alexandre, A. S., Pimentel, L. D., Bruckner, C. H. (2007) Efeito do pH da água de embebição e do trincamento das sementes de maracujazeiro-amarelo na germinação e desenvolvimento inicial. *Ciência Agrotecnologia*, 31(4): 1014-1019.
- Wodehouse, R. P. (1935) Pollen grains, their structure, identification and significance in science and medicine. McGraw-Hill, New York.
- Xavier, A. (1996) Aplicação de análise multivariada da diversidade genética no melhoramento de *Eucalyptus* spp. 1996. 126 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Viçosa –MG, Universidade Federal de Viçosa – UFV – 126f.