

Avaliação da viabilidade polínica e da hibridização de seis espécies de *Passiflora* L. do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Semiárido

Evaluation of pollen viability and hybridization of six *Passiflora* L. species from Active Germplasm Bank of Embrapa Tropical Semi-Arid

Jessica Coelho Valeriano¹; Maria do Socorro Evangelista Coelho²; Nataniel Franklin de Melo³; Francisco Pinheiro de Araújo⁴

Resumo

Nesse trabalho, objetivou-se analisar a viabilidade do pólen nos estádios de pré-antese e antese, de seis espécies de *Passiflora* (*P. alata* Curtis, *P. cincinnata* Mast., *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg., *P. laurifolia* L., *P. luetzelburgii* Harms e *P. quadrangularis* L.) provenientes do BAG da Embrapa Semiárido, visando a sua utilização em cruzamentos interespecíficos. Botões florais foram coletados e fixados em Carnoy (3:1 álcool etílico/ácido acético). Grãos de pólen das anteras em antese foram analisados após a coleta. As anteras foram esmagadas entre lâmina e lamínula e coradas com carmim acético 1,2%. De acordo com a colorabilidade, os grãos de pólen

¹Estudante de Ciências Biológicas, UPE, estagiária da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

²Bióloga, M.Sc. em Produção Vegetal, bolsista BFT Facepe/Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

³Biólogo, D.Sc. em Genética, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.
natoniel@cpatsa.embrapa.br.

⁴Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Fitotecnia, analista da Embrapa Semiárido, Petrolina.

foram contados e classificados como viáveis ou inviáveis, calculando-se os índices médios de viabilidade com seus respectivos desvios padrão. Para a polinização artificial, botões florais foram protegidos na pré-antese. Foram realizados, no mínimo, 10 cruzamentos entre espécies. Os frutos desenvolvidos foram avaliados 7 dias após a hibridização. Observou-se alto percentual médio (>91%) de viabilidade de pólen nas espécies estudadas. Os maiores percentuais de frutos desenvolvidos foram obtidos das polinizações feitas em estágio de antese. No entanto, polinizações com grãos de pólen obtidos em pré-antese também foram viáveis, mostrando que as hibridizações podem ser realizadas com sucesso nos dois estádios de desenvolvimento.

Palavras-chave: polinização, cruzamento, melhoramento genético.

Introdução

O gênero *Passiflora* L. é representado por cerca de 530 espécies (ULMER; MACDOUGAL, 2004; HANSEN et al., 2006), das quais, aproximadamente, 140 são encontradas no Brasil (CERVI, 2006).

Dentre as espécies de interesse econômico, o maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) é o mais cultivado no País, existindo outras espécies silvestres com potencial agrônômico a serem exploradas, algumas destas com características interessantes que podem contribuir com o melhoramento genético das espécies comerciais, principalmente, as relacionadas às doenças do sistema radicular (MELETTI et al., 2005; JUNQUEIRA et al., 2005). Porém, para assegurar o sucesso nas hibridizações artificiais, é importante que o pólen a ser utilizado tenha boa viabilidade.

Segundo Teixeira et al. (1994), diferentes espécies de maracujazeiro apresentam distintos períodos de abertura floral, mas quase sempre curtos, dificilmente passando de 8 horas. Portanto, o conhecimento do período de antese floral é muito importante nos estudos de hibridização.

Com o presente trabalho, objetivou-se analisar a viabilidade de pólen, nos estádios de pré-antese e antese, de seis espécies de *Passiflora*, bem como a viabilidade de seus cruzamentos interespecíficos para produção de híbridos.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Campo Experimental da Caatinga, entre agosto de 2010 e abril de 2011, e as análises realizadas no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

As espécies analisadas pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Semiárido foram coletadas nos estados da Bahia, Ceará, Pernambuco e Piauí, como pode ser observado na Tabela 1.

Foi analisada a viabilidade do pólen em dois estádios de desenvolvimento (pré-antese e antese) de seis espécies do gênero *Passiflora* (Tabela 1). Os botões florais na pré-antese foram isolados com a utilização de sacos de papel, visando evitar a polinização por mamangavas (*Xylocopa* sp.). Os botões coletados foram fixados em solução Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético glacial, v/v) ainda no campo. As fixações foram mantidas por 2 horas à temperatura ambiente sendo, em seguida, estocadas a -20 °C até posterior análise. Os grãos de pólen, provenientes de cinco anteras por indivíduo no estádio de antese, foram analisados logo após a coleta, sendo esmagados entre lâmina e lamínula, e corados com carmim acético 1,2% (RADFORD et al., 1974). As análises foram realizadas sob microscópio óptico, utilizando-se a objetiva de 20x, sendo contados os grãos de pólen de cinco campos, ao acaso, em cinco lâminas. Os grãos do pólen que apresentaram coloração intensa do seu citoplasma foram classificados como viáveis. Neste caso, foram considerados inviáveis os que apresentaram tamanho normal e/ou reduzido com coloração fraca, calculando-se os índices médios com seus respectivos desvios padrão, tanto na pré-antese quanto na antese.

Para a polinização artificial, botões florais na pré-antese foram protegidos com sacos de papel, depositando-se, no dia seguinte, o pólen do genitor masculino em toda superfície do estigma da flor receptora. Em seguida, as flores foram protegidas novamente com sacos de papel, visando evitar o contato com polinizadores.

Foram realizados cruzamentos interespecíficos recíprocos entre a espécie comercial *P. edulis* f. *flavicarpa* com as demais espécies pré-selecionadas realizando-se, no mínimo, dez cruzamentos entre espécies. A avaliação do número de frutos formados foi realizada 7 dias após a hibridização.

Tabela 1. Identificação e local de coleta das espécies e acessos de *Passiflora* L. do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Semiárido.

Acesso	Espécie	Local de Coleta
BGM 63	<i>P. alata</i> Curtis	Barreiras (BA)
BGM 54	<i>P. cincinnata</i> Mast.	Genviniano (PI)
BGM 56	<i>P. cincinnata</i> Mast.	Birtinga (BA)
BGM 55	<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Caíru (BA)
BGM 66	<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Petrolina (PE)
BGM 67	<i>P. laurifolia</i> L.	Crato (CE)
BGM 57	<i>P. luetzelburgii</i> Harms	Várzea Grande (BA)
BGM 68	<i>P. quadrangularis</i> L.	Petrolina (PE)

Resultados e Discussão

A Tabela 2 apresenta os percentuais de viabilidade de pólen obtidos nas espécies estudadas durante a pré-antese e antese. Neste caso, foram obtidos valores médios acima de 91%, indicando uma considerável estabilidade genética durante a microsporogênese, bem como a confirmação da alta viabilidade polínica das espécies estudadas. De acordo com Ruggiero et al. (1996) e Souza et al. (2002), percentuais acima de 70% são os mais recomendados nas hibridizações.

Menck et al. (1990) relataram que, para possibilitar cruzamentos específicos, o conhecimento do estágio adequado de coleta do botão floral é essencial para obter grãos de pólen maduros com o máximo de viabilidade. No nosso estudo, os valores obtidos permitiram realizar a polinização artificial tanto nas fases de pré-antese como de antese.

Tabela 2. Valores médios percentuais de grãos de pólen viáveis, com seus respectivos desvios padrão, em seis espécies do gênero *Passiflora* L.

Acesso	Espécie	Pré-antese (%)	Antese (%)	Médias (%)
BGM 63	<i>P. alata</i> Curtis	93,8 ± 3,65	97,2 ± 1,04	95,5 ± 2,40
BGM 54	<i>P. cincinnata</i> Mast.	96,6 ± 1,88	94,6 ± 4,29	95,6 ± 1,41
BGM 56	<i>P. cincinnata</i> Mast.	94,8 ± 2,80	93,8 ± 1,54	94,3 ± 0,70
BGM 55	<i>P. edulis</i> f. flavicarpa Deg.	89,9 ± 3,06	93,9 ± 4,22	91,9 ± 2,82
BGM 66	<i>P. edulis</i> f. flavicarpa Deg.	98,3 ± 1,15	94,5 ± 4,04	96,4 ± 2,68
BGM 67	<i>P. laurifolia</i> L.	92,0 ± 1,82	92,3 ± 2,83	92,2 ± 0,50
BGM 57	<i>P. luetzelburgii</i> Harms	97,6 ± 0,99	98,3 ± 1,10	97,9 ± 0,49
BGM 68	<i>P. quadrangularis</i> L.	86,8 ± 4,83	95,7 ± 1,73	91,3 ± 6,29

Para a obtenção de híbridos interespecíficos, Junqueira et al. (2005) e Melletti e Bruckner (2001) afirmam que é necessário conhecer tanto o horário de abertura dos botões florais - norteador das polinizações manuais - como os índices de compatibilidade entre espécies.

No presente estudo, os resultados preliminares, para o número de frutos formados (Tabela 3), mostraram que há compatibilidade genética para três cruzamentos interespecíficos: entre *P. cincinnata* (acesso 54) e *P. edulis* f. flavicarpa (acesso 55), com valor percentual de 26,9%; entre *P. edulis* f. flavicarpa (acesso 55) e *P. laurifolia* (acesso 67), com 20%, e entre *P. edulis* f. flavicarpa (acesso 55) e *P. luetzelburgii* (acesso 57), com valor de 8,7%. Os cruzamentos onde não foi observada formação de frutos indicam a existência de incompatibilidade genética ou uma heteromorfia restritiva entre essas espécies.

Tabela 3. Índice de Compatibilidade Genética (%CG) entre diferentes espécies de *Passiflora*. NFLC = número de flores cruzadas, EST = estágio de desenvolvimento, PAT = pré-antese, AT = antese, NFF = número de frutos formados.

Cruzamentos ♂ x ♀ (acesso)	NFLC	EST	NFF	% CG
<i>P. alata</i> (63) x <i>P. edulis</i> f. flavicarpa (66)	12	AT	0	0
<i>P. cincinnata</i> (54) x <i>P. edulis</i> f. flavicarpa (55)	26	AT	7	26,9
<i>P. cincinnata</i> (56) x <i>P. edulis</i> f. flavicarpa (55)	10	AT e PAT	0	0
<i>P. edulis</i> f. flavicarpa (55) x <i>P. cincinnata</i> (54)	20	AT e PAT	0	0
<i>P. edulis</i> f. flavicarpa (55) x <i>P. luetzelburgii</i> (57)	23	PAT	2	8,7
<i>P. edulis</i> f. flavicarpa (55) x <i>P. laurifolia</i> (67)	10	AT	2	20,0
<i>P. edulis</i> f. flavicarpa (66) x <i>P. alata</i> (63)	10	AT e PAT	0	0
<i>P. luetzelburgii</i> (57) x <i>P. edulis</i> f. flavicarpa (55)	11	AT e PAT	0	0
<i>P. laurifolia</i> (67) x <i>P. edulis</i> f. flavicarpa (55)	10	AT e PAT	0	0
<i>P. alata</i> (63) x <i>P. edulis</i> f. flavicarpa (66)	12	AT	0	0

Conclusão

As espécies de *Passiflora* estudadas apresentam alta viabilidade polínica, sendo viável a obtenção de híbridos interespecíficos com maior potencial genético para criação de novas cultivares.

Agradecimentos

Às instituições, Embrapa Semiárido, CNPq e CHESF pelo apoio às atividades de pesquisa.

Referências

- CERVI, A. C. O gênero *Passiflora* (*Passifloraceae*) no Brasil, espécies descritas após o ano de 1950. *Adumbrationes ad Summae Editionem*, Madrid, v. 16, p. 1-5, 2006.
- HANSEN, A. K.; GILBERT, L. E.; SIMPSON, B. B.; CERVI, A. C.; JANSEN, R. K. Phylogenetic relationships and chromosome number evolution in *Passiflora*. *Systematic Botany*, [Washington, DC], v. 31, p. 138-150, 2006.
- JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; FALEIRO, F. G.; PEIXOTO, J. R.; BERNACCI, L. C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Ed.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 81-107.
- MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOT, M. D.; BERNACCI, L. C.; PASSOS, I. R. da S. 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, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 55-78.
- MELETTI, L. M. M.; BRUCKNER, C. H. Melhoramento genético. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado**. 2. ed. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001. 472 p.
- MENCK, A. L. M.; ODA, S.; MARCHI, E. L.; KOVALSKI, M. E. Influência do sistema de coleta de botões florais na viabilidade de pólen de *Eucalyptus* spp. *IPEF*, Suzano, v. 44, n. 43, p. 20-23, 1990.
- RADFORD, A. E.; DICKISON, W. C.; MASSEY, J. R.; BELL, C. R. **Vascular plant systematics**. New York: Harper and Row, 1974. 891 p.
- RUGGIERO, C.; SÃO JOSÉ, A. R.; VOLPE, C. A.; OLIVEIRA, J. C. de; DURIGAN, J. F.; BAUMGARTNER, J. G.; SILVA, J. R. da; NAKAMURA, K.; FERREIRA, M. E.; KAVATI, R.; PEREIRA, V. P. **Maracujá para exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1996. 64 p. (FrupeX. Publicações Técnicas, 19).
- SOUZA, M. M. de; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 26, n. 6, p. 1.209-1.217, 2002.
- TEIXEIRA, C. G.; CASTRO, J. V.; TOCCHINI, R. P.; NISIDA, A. L. A. C.; HASHIZUME, T.; MEDINA, J. C.; TURATTI, J. M.; LEITE, R. S. da S. F.; BLISKA, F. M. de M.; GARCIA, E. B. **Maracujá: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos**. 2. ed. Campinas: ITAL, 1994. 267 p.
- ULMER, T.; MACDOUGAL, J. M. **Passiflora: passionflower of the World**. Cambridge: Timber Press, 2004.

