UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS – PPGRGV

KEYLLA SOUZA DOS SANTOS

ESTUDO GENÉTICO E ASPECTOS REPRODUTIVOS EM ESPÉCIES DO GÊNERO *PHYSALIS*

Feira de Santana,

Março, 2018.

KEYLLA SOUZA DOS SANTOS

ESTUDO GENÉTICO E ASPECTOS REPRODUTIVOS EM ESPÉCIES DO GÊNERO *PHYSALIS*

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade Estadual de Feira de Santana, como requisito para a obtenção do título de DOUTOR em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: Profa. Dra Adriana Rodrigues Passos

Co-orientadora: Profa. Dra Janay Almeida dos Santos Serejo

Feira de Santana,

Março, 2018.

Ficha Catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteado

S235e Santos, Keylla Souza dos
Estudo genético e aspectos reprodutivos em espécies do gênero *Physalis* / Keylla Souza dos Santos. - 2018.
92 f.: il.

Orientadora: Adriana Rodrigues Passos.
Coorientadora: Janay Almeida dos Santos Serejo
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2018.

1. *Physalis* – Aspectos genéticos. 2. *Physalis* - Reprodução. I. Passos, Adriana Rodrigues, orient. II. Serejo, Janay Almeida dos Santos. III. Universidade Estadual de Feira de Santana. IV. Título.

CDU: 582.951.4

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Luciene Cristina Lima e Lima
(Universidade do Estado da Bahia - UNEB)

Prof. Dr. José Geraldo de Aquino Assis
(Universidade Federal da Bahia - UFBA)

Prof. Dr. Ronaldo Simão de Oliveira
(Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano - IFBaiano)

Profa. Dra. Marilza Neves do Nascimento
(Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS)

Profa. Dra. Adriana Rodrigues Passos
(Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS)
Orientadora e Presidente da Banca

Feira de Santana – BA
2018

Por todo esforço e dedicação para com meus estudos, a meus pais dedico.

AGRADECIMENTOS

Á Deus por me conceder o dom da vida, por ser minha fortaleza, meu refúgio e por estar sempre me guiando pelos caminhos do bem.

A meus pais, pelo amor e dedicação, por se esforçarem para que eu e meus irmãos pudéssemos ter sucesso pessoal e profissional.

Aos meus familiares pelo carinho e apoio nos momentos de maior necessidade.

Ameu sobrinho Pedro Henrique por alegrar meus dias, amo mais que tudo.

Aos meus amigos por serem presença constante em minha vida, por me incentivar e por entender que os momentos de ausência fazem parte desta trajetória.

A meu namorado Pedro Marques pelo companheirismo, pelo amor, e por acreditar que eu sou capaz.

A minha orientadora Dra. Adriana, pelos ensinamentos, pela dedicação, paciência, e por acima de tudo acreditar no meu potencial.

A Dra. Janay pela contribuição para que este trabalho fosse realizado e por ter me apresentado ao maravilhoso mundo da citogenética vegetal.

As amigas Camila, Edna, Verônica, Adriane, Luciana e Maria pelos ensinamentos, amizade, companheirismo e cumplicidade.

Aos amigos Janáira, Alismário, Mariana Carvalho, Uaslei, Gabriela, Rafael e a Profa. Marilza por terem participado ativamente para a realização desse trabalho.

Aos amigos conquistados no Horto Florestal, em especial: Tamara, Ronaldo, Mariana Santos, Prof. Raniere, Flavia, Tecla e Carine Raíssa pelos momentos de carinho e pela amizade construída ao longo desses anos de convivência.

A amiga do laboratório de cultura de tecidos vegetais da Embrapa Mandioca e Fruticultura: Meire Morais Lino pelo carinho e disponibilidade e, principalmente, por contribuir para a realização deste trabalho.

Aos professores, pelos ensinamentos, carinho e responsabilidade para com a nossa formação.

A Universidade Estadual de Feira de Santana e ao programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais pela formação e suporte durante a participação em congressos e eventos científicos.

Aos funcionários do Horto Hlorestal, pelo carinho e respeito.

SUMÁRIO

1.0 **INTRODUÇÃO GERAL** 8

1.1 O gênero Physalis 8
1.2 Recursos Genéticos em *Physalis* 11
1.3 Comportamento meiótico, Viabilidade polínica e Receptividade de estigma 13

1.4 Parâmetros Genéticos e Correlações Fenotípicas 15

1.5 Divergência Genética 16

1.6 Referências Bibliográficas 19

CAPITULO I: Microsporogênese e Viabilidade Polínica em espécies do gênero Physalis 24

Artigo 1: Microsporogênese e viabilidade polínica em *Physalis ixocarpa* 25

1. Resumo 25

2. Introdução 27

3. Material e Métodos 28

4. Resultados 29

5. Discussão 32

6. Referências Bibliográficas 35

Artigo 2: Comportamento meiótico e viabilidade polínica em espécies de *Physalis* (Solanaceae) 38

1. Resumo 38

2. Introdução 40

3. Material a Métodos 41

4. Resultados e Discussão 42

5. Conclusões 48

6. Referências Bibliográficas 48

CAPITULO II: Efeito do horário de coleta sobre a viabilidade polínica ereceptividade estigmática em espécies de *Physalis* (Solanaceae) 51

1. Resumo 52

2. Introdução 54

3. Material e Métodos 55

4. Resultados e Discussão 56

5. Conclusões 64

6. Referências Bibliográficas 64

CAPITULO III: Parâmetros genéticos, correlações e divergência com base em características físico-químicas de frutos de *Physalis* 67

1. Resumo 68

2. Introdução 70

3. Material e Métodos 72

4. Resultados e Discussões 72

5. Conclusões 81

6. Referências Bibliográficas 82

Conclusão Geral 86

Anexo 87

SANTOS, K. S. **Estudo genético e aspectos reprodutivos em espécies do gênero P*hysalis***. 2018. 93p. Tese (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, BA, 2018.

Resumo: O gênero *Physalis* L. pertence à família Solanaceae. Seu centro de diversidade se encontra no México, onde dois terços das espécies são endêmicas. A importância das espécies que compõem este gênero está relacionada, principalmente, à produção de substâncias de interesse farmacológico. Ademais, além das propriedades medicinais, o gênero se destaca, também, por conter espécies que produzem frutos com alto valor comercial. Diante da importância das espécies que compõem o gênero *Physalis*, este trabalho teve por objetivo estudar duas espécies deste gênero (*Physalis ixocarpa*, variedades verde e roxa, e *Physalis philadelphica*) do ponto de vista genético, citogenético e reprodutivo. Os estudos citogenéticos revelaram que, na meiose, os cromossomos das espécies estudadas, apresentam padrão regular de divisão, resultando na boa viabilidade polínica observada. Para o estudo que avaliou a viabilidade de pólen e a receptividade do estigma, ao longo do dia, observou-se que os grãos de pólen das duas espécies apresentaram boa viabilidade ao longo dia, entretanto, novos estudos devem ser realizados para determinar o meio de cultura mais eficiente para a germinação do tubo polínico em espécies de *Physalis*. Com relação a receptividade estigmática, recomenda-se que a hibridação para *P. ixocarpa* verde pode ser realizada em qualquer momento do dia, e em *P philadelphica* e *P. ixocarpa* roxa recomenda-se que a hibridação seja realizada no período da tarde. Com relação ao estudo de parâmetros genéticos, correlações e divergência, constatou-se que: os maiores CVg (%) foram obtidos para PMF e AT. As características PMF, DLT, DTF e AT apresentaram valores de herdabilidade elevados possibilitando ganhos na seleção. Foram observadas correlações positivas, altamente significativas, para os caracteres PMF x DTF, e positiva e significativa para as características DLF x DTF, pelo teste t. E pelo teste de correlação de Mantel observou-se correlações positivas, altamente significativas, para as características PMF x DL, PMF x DT, DL x DT, PTF x NF, PTF x AT e NF x AT. Por fim, o método de Toucher foi mais sensível para a discriminação das espécies, pois permitiu isolar a *P. philadelphlca* da *P. ixocarpa*. As variáveis DTF, AT e DLF apresentaram as maiores contribuições para a divergência genética.

Palavras-chave: Physalis; meiose; viabilidade de pólen; parâmetros genéticos; divergência genética.

SANTOS, K. S. **Genetic, cytogenetic and reproductive aspects in species of the genus Physalis**. 2018. 93p. Tese (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, BA, 2018.

Abstract: The genus Physalis L. belongs to the Solanaceae family. Its center of diversity is found in Mexico, where two-thirds of the species are endemic. The importance of the species that comprise this genus is mainly related to the production of substances of pharmacological interest. In addition to the medicinal properties, the genus also stands out because it contains species that produce fruits with high commercial value. Considering the importance of the species that make up the genus Physalis, this work aimed to study two species of this genus (*Physalis ixocarpa*, green and purple varieties, and *Physalis philadelphica*) from a genetic, cytogenetic and reproductive point of view. Cytogenetic studies revealed that, in meiosis, the chromosomes of the species studied show a regular pattern of division, resulting in good pollen viability observed. For the study that evaluated the viability of pollen and the receptivity of the stigma, throughout the day, it was observed that the pollen grains of both species presented good viability throughout the day, however, new studies must be carried out to determine the more efficient culture for the germination of the pollen tube in Physalis species. With respect to stigmatic receptivity, it is recommended that hybridization to P. ixocarpa verde can be performed at any time of the day, and in *P. philadelphica* and P. ixocarpa roxa it is recommended that the hybridization be performed in the afternoon. Regarding the study of genetic parameters, correlations and divergence, it was verified that: the highest CVg (%) were obtained for PMF and AT. The PMF, DLT, DTF and AT characteristics presented high heritability values allowing selection gains. Positive, highly significant correlations were observed for the PMF x DTF characters, and positive and significant for the DLF x DTF characteristics, by the t test. The Mantel correlation test showed highly significant positive correlations for PMF x DL, PMF x DT, DL x DT, PTF x NF, PTF x AT and NF x AT. Finally, the Toucher method was more sensitive for the species discrimination, since it allowed to isolate P. philadelphlca from P. ixocarpa. The DTF, AT and DLF variables presented the greatest contributions to the genetic divergence.

Keywords: Physalis; meiosis; viability of pollen; genetic parameters; genetic divergence.

1.0 INTRODUÇÃO

1.1 O gênero *Physalis*

O gênero *Physalis* L. pertence à família Solanaceae, e inclue aproximadamente 100 espécies. O centro de diversidade do gênero se encontra no México. Com exceção de *Physalis alkekengi* L., que é euroasiático, todos os demais representantes do gênero apresentam ocorrência na Améica (HUNZIKER, 2001). De acordo com o Reflora, no Brasil, são encontradas as espécies *Physalis angulata* L., *Physalis cordata* Mill., *Physalis ignota* Britton, *Physalis minuta* Griggs, *Physalis peruviana* L., *Physalis pruinosa* L., *Physalis pubescens* L. e *Physalis viscosa* L. Apresentando ocorrência em todas as regiões: Norte (Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Tocantins); Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte); Centro-Oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso); Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo); Sul (Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina) (REFLORA, 2018). No Rio Grande do Sul ocorrem *P. angulata* L., *P. pubescens* L. e *P. viscosa* L. (SOARES et al., 2009) (Figura 1).

As plantas são do tipo perene e anual, em sua maioria comestível, e de fácil cultivo. As espécies possuem flores pentâmeras com estames com aberturas longitudinais; ovário com disco basal e frutodo tipo baga, envolvido pelo cálice acrescente e inflado (SILVA e AGRA, 2005; RUFATO et al., 2008). As espécies de *Physalis*, em geral, produzem uma grande quantidade de frutos carnosos do tipo baga, comumente chamados de tomate, de diferentes cores, formas e tamanho. Seus frutos são envoltos por um cálice floral, denominado “tomate de cáscara”, que se desenvolve durante a frutificação, com função de proteção (PEÑA LOMELÍ et al., 2004). Em alguns estudos, autores descrevem *Physalis philadelphica* como sinônima de *Physalis ixocarpa*, entretanto outros autores as descrevem como uma espécie distinta (SANTIAGUILLO-HERNÁNDEZ e BLAS-YÁÑEZ, 2009; LAGOS et al., 2005).

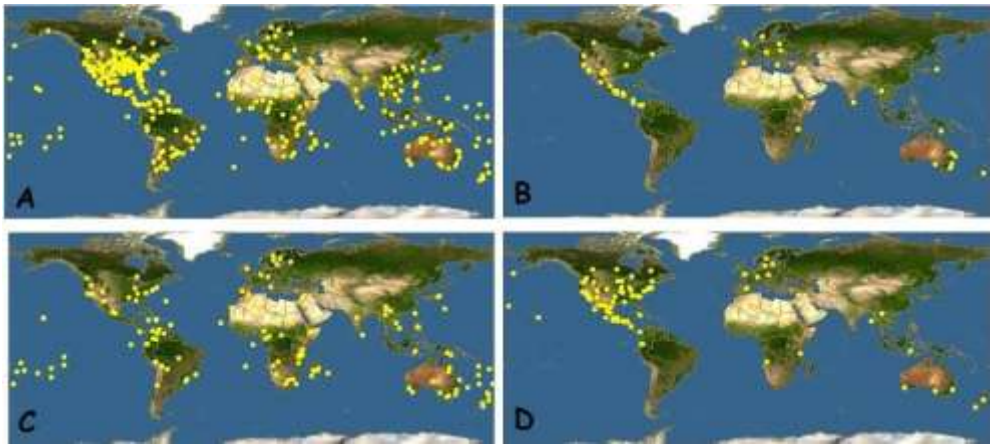

Figura 1: Mapa de distribuição do gênero *Physalis*. A) o gênero *Physalis*; B) *Physalis ixocarpa*; C) *Physalis peruviana*; e D) *Physalis philadelphica*. Fonte: http://www.discoverlife.org

O nome *Physalis* tem origem no grego, "Physa", que significa bolha ou bexiga, que se refere ao cálice da flor que cresce e protege o fruto, sendo considerada a principal característica que define o táxon. A importância das espécies que compõem este gênero está relacionada, principalmente, à produção de substâncias de interesse farmacológico como: vitaesteróides, fisalinas, flavonóides simples ou glicosilado, esteróides, ácidos graxos de cadeia linear, carotenóides, ácido ascórbico e alcaloides (TOMASSINI et al., 2000).

Estudos utilizando extrato das folhas de espécies de *Physalis* revelaram a presença de atividades biológicas, como ação antibiótica, antioxidante, anticancerígena e anti-inflamatória. Na medicina popular, as espécies de *Physalis* são conhecidas para diversos fins terapêuticos, tais como: purificar o sangue, fortalecer o sistema imunológico, aliviar dores de garganta, diminuir as taxas de colesterol e amenizar os sintomas do Mal de Parkinson. No Brasil, na região nordeste, a planta é amplamente utilizada em tratamentos caseiros de reumatismo, problemas renais, de bexiga e do fígado, como também pode ser sedativa, antifebril e antivomitiva. Já em países como a Colômbia, considerada como maior produtor mundial, as espécies de *Physalis* são amplamente utilizadas como anticarcinogênica, antibacteriana, antipirética, diurética e no tratamento de doenças como asma, hepatite, dermatite e artrite (MUNIZ et al., 2015). Em *Physalis philadelphica* foi relatada a presença de ésteres de sacarose. Este material possui aspecto pegajoso e é encontrado na superfície dos frutos.Estudos demonstraram que essa substância purificada possui atividade anti-inflamatória, semelhante à aspirina, ibuprofeno e naproxeno. Assim, os autores sugerem que a

partir dos resultados aqui relatados, que a ingestão dos ésteres de sacarose, através do consumo do fruto pode trazer benefícios a saúde em decorrência da atividade anti-inflamatória a ele atribuída (ZHANG et al., 2016).

Além das propriedades medicinais, o gênero se destaca, também, por conter espécies que produzem frutos com alto valor comercial: como a uchuva, *Physalis peruviana*, cujo maior produtor é a Colômbia (NOVOA, et al., 2006); camapú (*P. angulata*) importante alternativa de renda, uma vez que possui alto valor agregado podendo ser cultivado em áreas pequenas; o tomate de cáscara, (*P. ixocarpa*), fruto altamente consumido no México, principalmente no preparo de alimentos típicos, como molhos (SAGARPA, 2002; POLTRONIERI, 2003).

A *Physalis peruviana* L. é a mais conhecida do gênero. O seu centro de origem e diversificação, provavelmente, encontra-se nos Andes Sul-americanos, principalmente, na Colômbia, Peru e Equador (MEDINA, 1991). Esta espécie é conhecida popularmente como Uchuva e se destaca dentro do gênero *Physalis* em decorrência da produção de seu fruto que é amplamente comercializado em diversos países como no Equador, China, África do Sul, Nova Zelândia, Austrália, Kenia, Havaí, Índia, Malásia e Colômbia que atualmente é considerada a maior produtora de uchuva. O fruto tem grande aceitação devido a sua coloração atrativa, bem como pelo agradável sabor com grande concentração de açúcar (NOVOA et al., 2006).

O tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) é originário do México, sendo muito utilizado na agroindústria. Neste país, após o seu processamento, seus produtos são utilizados para consumo nacional e para a exportação, onde ocupa o quinto lugar em superfícies cultivadas como espécie olerícola. Apesar do seu vasto cultivo o seu estudo é escasso (SANTIAGUILLO-HERNÁNDEZ et al., 2004; SANTIAGUILLO HERNÁNDEZ e BLAS YÁÑEZ, 2009) (figura 2). Como descrito para o gênero *Physalis*, a espécie *P. ixocarpa* apresenta propriedades medicinais. Estudos realizados por Tomassini et al. (2000) relatam a presença de alcalóides quaternários, vitaesteróides (fisalina, ixocarpalactona A), flavonóides e saponinas.

Tendo em vista a importância das espécies do gênero *Physalis* L. e estudos escassos que permitam sua exploração comercial, faz-se necessário ampliar conhecimentos diversos sobre estas espécies, dando ênfase aos aspectos reprodutivos. Sendo assim, a compreensão das características da morfologia e biologia floral é condição primordial para que se possam avaliar as interações entre pólen e o estigma, flores e polinizadores, pois interfere no sucesso

reprodutivo das espécies vegetais. Ademais, essas informações ampliam o conhecimento a respeito da ecologia evolutiva das espécies, permitindo a sua sobrevivência e perpetuação ao longo dos tempos, em diferentes ambientes (KEARNS e INOUYE, 1993).

As espécies do gênero *Physalis* apresentam diversas formas florais, como as espécies monóicas com flores hermafroditas, e também possui espécies autógamas e alógamas, onde estas últimas possuem um sistema de incompatibilidade gametofítica (WHALEN e ANDERSON, 1981). Como em *Physalis ixocarpa*, que apesar de suas flores serem hermafroditas são consideradas alógamas obrigatórias, pois apresenta autoincompatibilidade gametofítica produzida por duas séries alélicas, sendo a esterilidade observada quando um ou mais alelos estão em estado homozigoto, convertendo-a em alógama (PANDEY, 1957). Suas flores se abrem antes da ocorrência da deiscência das anteras entre as 8 e 12h do dia. Suas anteras não se abrem uniformemente, sendo que se passam de dois a quatro dias desde a deiscência da primeira antera até a abertura da última (quinta antera), após a liberação dos grãos de pólen as estruturas florais se encurvam e começam a muchar, e finalmente caem (VERDEJO, 1987; PÉREZ et al., 1998).

Figura 2 – Flores e frutos de *Physalis ixocarpa* variedades verde e roxa e *Physalis philadelphica*, respectivamente. A) Flores abertas; B) *Physalis ixocarpa*; C) *Frutos.*

1.2 Recursos Genéticos em *Physalis*

Ao longo da história, os achados arqueológicos documentam que o “tomate” foi utilizado como alimento pelos povos mexicanos desde os tempos pré-colombianos. Ainda

hoje observa-se que apesar das mudanças nos hábitos alimentares, ao longo da evolução das gerações, os frutos de tomate permanecem na dieta mexicana como um ingrediente muito popular na preparação de vários pratos, principalmente na elaboração de molhos. Esta iguaria também é utilizada na agroindústria, onde após passar por processamento, é utilizada para consumo e exportação. Apesar das espécies do gênero *Physalis* serem amplamente utilizadas na alimentação humana, outras qualidades são atribuídas a elas: como propriedades medicinais e ornamentais, que são pouco conhecidas e exploradas. Assim, torna-se importante estudá-las com o objetivo de conhecê-las e disseminá-las, podendo, assim, resgatar parte do seu conhecimento tradicional (SANTIAGUILLO-HERNÁNDEZ et al., 2012).

Pouco se sabe a respeito da existência de Bancos de Germoplasma de *Physalis*, existem relatos que os agricultores, em suas áreas de origem, mantêm suas sementes e, em muitos casos, compartilham com familiares ou amigos. Este tipo de conservação, geralmente, ocorre com a variedade de uso, sendo portanto de curto prazo, particularmente de um ciclo para outro, período em que ocorre a renovação da semente a ser conservada. O germoplasma possui implicações importantes no resgate de espécies em perigo de extinção ou erosão genética, seja no uso imediato desta coleção, até mesmo na sua proteção in situ e ex situ do germoplasma, com o intuito de aprofundar o conhecimento sobre as espécies. No caso do gênero *Physalis*, a coleção mantida pela Rede Tomato Cáscara é, em primeira instância, estabelecido a partir da coleta de germoplasma selvagem e cultivado, visando a sua preservação ex situ e estudos de caracterização, promovendo seu uso. Na Colômbia, apesar do apoio de organizações e instituições nacionais, internacionais e governamentais na elaboração de projetos visando o conhecimento e conservação dos recursos genéticos do país, bem como na realização de trabalhos para identificação de espécies promissoras de plantas de interesse agronômico ou industrial, ainda são escasas coleções de espécies de *Physalis* (PALOMINO, 2010; SANTIAGUILLO HERNÁNDEZ et al., 2012).

Hoje se observa que diversas instituições de ensino e pesquisa mantém uma coleção de espécies de *Physalis*, visando gerar informações que possam contribuir para melhor uso e exploração de seus recursos, como é o caso do Banco Nacional de Germoplasma da Colômbia, que possui aproximadamente 46 acessos de *Physalis peruviana* (GONZÁLEZ et al., 2008). O Banco de Germoplasma de CORPOICA (Corporação Colombiana de Investigação Agropecuária), em Antioquia, compõem 98 acessos, também de *P. peruviana* (LIGARRETO et al., 2005). No Banco de Germoplasma da Universidade Nacional de

Colômbia, situado em Palmira, são conservados cerca de 222 acessos de *P. peruviana* (PALOMINO, 2010). Em que pese, existam coleções de *Physalis* L., em alguns países da América do Sul, existe uma preocupação na perda de materiais selvagens e cultivados, tornando necessária a ampliação de coleções, que permitam a preservação e caracterização do germoplasma destas espécies, tendo em vista sua importância e ampla versatilidade de uso. Atendendo a esta necessidade, no Brasil a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Fiocruz, Rio de Janeiro, e algumas universidades, tais como: Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC); Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC); Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ); Universidade Federal da Paraíba (UFPB); Universidade Federal de Lavras (UFLA) e Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) trabalham no sentido de estabelecimento de pequenas coleções.

Na Universidade Estadual de Feira de Santana são mantidas duas coleções de sementes de espécies do gênero *Physalis*, uma no Laboratório de Germinação de Sementes (LAGER), contendo sementes de diversas espécies, e outra no Laboratório de Genética Molecular (LAGEM), onde estão depositadas progênies de meios-irmãos das espécies *P. phildelphica*, *P. ixocarpa*, variedade verde e roxa, e materiais oriundos de coletas de *P. angulata.* Os acessos armazenados nestes bancos estão sendo utilizados em pesquisas que envolvem diversos aspectos, que vão desde avaliações do ponto de vista farmacológico, com o objetivo de explorar o seu pontencial medicinal, avaliação do seu potencial germinativo e resistência a condições adversas do clima e solo, até estudos de pré-melhoramento, com o intuito conhecer o comportamento reprodutivo dessas espécies e o nível de diversidade genética apresentado entre os acessos, visando a utilização dos acessos em futuros trabalhos de melhoramento com o intuito de obter acessos promissores para a maior produção de substâncias de interesse farmacológico, com maior produção de frutos e resistência a pragas e doenças.

1.3 Comportamento meiótico, Viabilidade polínica e Receptividade de estigma

Os estudos citogenéticos são importantes em qualquer programa de melhoramento, visto que através destas análises é possível determinar o número e comportamento dos cromossomos, os seus níveis de ploidia, a fertilidade dos grãos de pólen, a formação de complexos sinaptonêmicos, quiasmas e formação dos gametas haplóides. A determinação

destas características é importante para a escolha dos materiais que serão utilizados em futuros cruzamentos dirigidos (HANNA, 1980; SYBENGA, 1998).

A meiose é uma das fontes de variabilidade genética utilizadas pelos organismos para sua adaptação ao meio ambiente e, consequente, perpetuação através da descendência. Desta forma, o comportamento meiótico exerce papel decisivo na estabilidade evolutiva de um indivíduo. O modo de atuação dos genes é muito amplo, determinando várias irregularidades em todas as fases de divisão meiótica (SINGH, 1993). O estudo do comportamento meiótico é importante para o processo de recombinação e segregação, visto que estes eventos contribuem para a variabilidade existente entre os organismos.

Para assegurar o sucesso do uso de indivíduos superiores selecionados, bem como garantir a produção de novas cultivares, através da recombinação de caracteres pela hibridação dirigida, é importante que o pólen utilizado nos cruzamentos tenha boa viabilidade. A elevada instabilidade meiótica, associada às anormalidades genéticas e/ou aberrações cromossômicas, podem resultar na formação de plantas atípicas, macho-estéreis ou incapazes de formar grãos de pólen, o que pode prejudicar a produção de sementes, assim como afetar a polinização (POZZOBON et al., 2011).

As irregularidades cromossômicas afetam diretamente os processos reprodutivos das espécies, em decorrência da formação de grãos de pólen inviáveis (CORRÊA et al., 2005; MARUTANI et al., 1983). Os gametas portadores de anormalidades perdem em competitividade com os gametas normais, ocasionando a redução na formação de frutos com ou sem sementes (PAGLIARINI, 2001). Irregularidades na formação e desenvolvimento dos grãos de pólen são a causa primária da infertilidade de espécies ou híbridos. Neste caso, a inviabilidade do pólen pode ocorrer devido a gametas não reduzidos (com tamanho maior) ou que não tem o número de cromossomos balanceado (com menor tamanho) (LAGOS et al., 2005)

O estudo do comportamento meiótico de diferentes espécies de lulo (*Solanum sp*.), demonstrou que a viabilidade polínica foi alta em todas as espécies estudadas (*Solanum hirtum* Vahl., *Solanum sessiliflorum* Dunal, *Solanum quitoense* Lam), com número cromossômico igual 2n = 2x = 24. As fases que compõem a meiose I e II, em todas as espécies estudadas, apresentaram comportamento normal (ORDÓÑEZ et al., 2010). Estudos de viabilidade de pólen de *P. peruviana* L. e *P. philadelphica* Lam. demonstraram que estas espécies apresentam uma elevada viabilidade polínica, com porcentagem de viabilidade

oscilando entre 81,7% e 98% na localidade de Botana (LAGOS et al., 2006). Visando dar suporte a programas de melhoramento, é importante conhecer as características florais do germoplasma disponível, para fins de viabilizar a seleção de genitores a serem utilizados na formação de populações segregantes, bem como a viabilidade e a capacidade germinativa dos grãos de pólen (ZAMBON et al., 2014).

A compreensão das características da morfologia e biologia floral é condição primordial para que se possam avaliar as interações entre pólen e estigma, flores e polinizadores, bem como o sucesso reprodutivo das espécies vegetais. Ademais, essas informações ampliam o conhecimento a respeito da ecologia evolutiva das espécies, indicando a maneira pela qual garanta a sua sobrevivência e perpetuação ao longo dos tempos, em diferentes ambientes (KEARNS e INOUYE, 1993). A relação entre o pólen e o estigma depende da viabilidade dos grãos, da receptividade do estigma e das interações genéticas entre ambos (DAFINI, 1992).

Existe um grande vazio com relação a estudos de viabilidade e caracterização dos grãos de pólen de *P. peruviana e P. philadelphica*. Essas lacunas dizem respeito a quantidade e a qualidade dos polens produzidos por uma flor,sendo considerado um dos aspectos mais relevantes em estudos evolutivos e na adaptação de genótipos, sendo, assim, necessário o conhecimento destas caracteristicas (LAGOS et al., 2005). Levando em consideração que estudos do comportamento meiótico e viabilidade polínica para o gênero *Physalis* são escassos na literatura, este trabalho é de fundamental importância, pois permite conhecer a biologia reprodutiva em espécies de *Physalis*, fornecendo subsídios para futuros trabalhos com o gênero.

1.4 Parâmetros Genéticos e Correlações Fenotípicas

Estimar parâmetros genéticos é de grande importância em programas de melhoramento de plantas, pois através destas análises é possível conhecer a estrutura genética das populações para fins de seleção. Dentre os parâmetros genéticos, destacam-se as variâncias, fenotípicas, genéticas e ambiental, as herdabilidades e as correlações fenotípicas. No tocante à herdabilidade, é crucial que seja a mais real possível, em virtude da sua importância na predição de ganhos genéticos de um caráter. Essa precisão, por sua vez, depende do controle experimental, do local e número de anos de experimentação, da

característica avaliada, do método de estimação e da natureza da unidade de seleção (FEHR, 1987; MORETI et al., 1994; FERRÃO et al., 2008).

A determinação da amplitude das estimativas de herdabilidade contribui para a definição das estratégias de seleção, assim como fornecem subsídio à predição de ganhos obtidos (FEHR, 1987; MORETI et al., 1994). Para Falconer (1981), a obtenção do sucesso na seleção depende, sobretudo, do grau da correlação entre o valor fenotípico e o valor genético apresentado pelo caráter métrico nas condições do ambiente e da população onde os indivíduos foram avaliados. Na prática, esse grau de correspondência reflete a herdabilidade do caráter analisado. Assim, apenas o valor fenotípico de um indivíduo pode ser determinado, entretanto, é o valor genético que influenciará a próxima geração. Portanto, é importante o conhecimento de quanto da variação fenotípica é conferida a variação genotípica e este é medido pela herdabilidade (FALCONER e MACKAY, 1996).

Estimar os parâmetros genéticos, tais como: coeficiente de variação genético, coeficiente de herdabilidade/determinação e correlações entre caracteres são de extrema importância, pois contribuem para aumentar a eficiência dos programas de melhoramento genético (SINGH, 2007). O coeficiente de variação genético (CVg) permite inferir sobre a amplitude da variabilidade presente na população para diferentes caracteres, permitindo comparar os níveis de variabilidade genética presente em diferentes genótipos e caracteres, além de ser um indicador do ganho genético (FERRÃO et al., 2008; RANGEL et al., 2000).

Os programas de melhoramento têm por finalidade identificar genótipos superiores visando o aprimoramento de caracteres importantes, sobretudo os de produção, no intuito de obter ganhos genéticos, entretanto a melhoria de uma característica nem sempre resulta no melhoramento das demais e muitas vezes pode influenciar negativamente. Assim, torna-se importante entender sobre a relação entre os caracteres e a forma como eles variam em conjunto. Esta associação entre dois ou mais caracteres especifica o que se denomina de correlação e isso ocorre quando esses caracteres não são independentes (FERREIRA et al., 2003). A correlação é utilizada para medir a intensidade de associação entre duas variáveis, ou uma medida do grau de variação conjunta de duas variáveis, podendo ser apresentada de forma positiva ou negativa, à medida que ocorre aumento das duas variáveis ou acréscimo de uma e decréscimo da outra, respectivamente (STEEL e TORRIE, 1980).

1.5 Divergência Genética

Umas das premissas básicas para desenvolver trabalhos de melhoramento é a presença de variabilidade genética na população. Um dos métodos para reconhecer a diversidade genética em uma população por meio de estudos de divergência genética (CRUZ e CARNEIRO, 2003). De acordo com Falconer (1981) estudos de divergência genética entre populações ou entre indivíduos são relevantes em programas de melhoramento genéticos que envolvem hibridações, uma vez que auxiliam a identificação de progenitores que possibilitem a formação de progênies com maior efeito heterótico, bem como com características superiores. Métodos utilizados na classificação e ordenamento da variabilidade genética entre acessos de Bancos de Germoplasma estão se tornando cada vez mais significativos. Assim, a análise multivariada se apresenta como uma importante ferramenta para classificar o germoplasma, quantificar a variabilidade genética de um amplo número de acessos, ou ainda estudar as relações genéticas entre materiais melhorados (MOHAMMADI et al., 2003).

Pelo fato da divergência genética estar associada à heterose, estas análises podem ser úteis para a predição preliminar de cruzamentos que otimizem a heterose (MIRANDA et al., 2003). Dos métodos de agrupamento, os mais utilizados são os de otimização e os hierárquicos (CRUZ et al., 2011). A análise de agrupamento, que têm por objetivo separar, seguindo-se algum critério de similaridade ou dissimilaridade, um grupo original de observações em vários outros grupos. Segundo esses autores, as distâncias euclidianas e a de Mahalanobis são as medidas de distâncias mais utilizadas na identificação de genitores para a hibridação (CRUZ et al., 2004; COSTA et al., 2006).

Para que um programa de melhoramento se torne bem sucedido é necessário que um grande número progênies seja avaliado, principalmente nas primeiras gerações segregantes, com o intuito de detectar diferenças cada vez menores entre elas. Nesse contexto, mesmo com pequeno número de repetições, os experimentos tornam-se grandes e dependem de formas mais sofisticadas de planejamento e de análises que levem a estimativas precisas dos parâmetros de interesse (SOUZA et al., 2000; COSTA et al., 2005). Diversos métodos multivariados podem ser utilizados na predição da diversidade genética. A escolha do método mais adequado baseia-se na precisão desejada pelo pesquisador, bem como na facilidade da análise e na forma como os dados foram obtidos (BEZERRA NETO et al., 2010). Diversas pesquisas têm sido desenvolvidas utilizando os métodos de análises multivariados, para estudos de divergência genética, com várias culturas, obtendo resultados significativos, como

o morangueiro (MORALES et al., 2011), Pimenta e pimentão (SUDRÉ et al., 2005), berinjela (ARAMENDIZ-TATI, et al., 2011) e mandioca (OLIVEIRA, 2011).

Em pesquisas recentes com o melhoramento genético de *P. angulata*, utilizando o método de seleção recorrente, obteve-se resultados satisfatórios no que se refere a padrões de herdabilidade de caracteres, como peso e número de frutos, altura da planta e aumento do teor de açúcares, concluindo-se que é possível obter avanços significativos na qualidade desses caracteres através do melhoramento. Outro fator positivo com relação ao melhoramento de *P. angulata*, refere-se à produção de fisalinas, em que se observou que plantas selecionadas geneticamente apresentaram maior teor de fisalinas totais quando comparadas às plantas não selecionadas (SILVA, 2007). Para algumas espécies de *Physalis*, dentre elas o tomatillo (*P. ixocarpa* Brot.), apresentam um sistema de auto-incompatibilidade gametofítica (SI), sendo esta caracteristica um dos principais fatores limitantes para o melhoramento destas espécies (MENZEL, 1951). Estudos foram realizados a fim de avaliar às condições ambientais, e observar se a temperatura pudesse superar a auto-incompatibilidade, forma testadas cinco temperaturas (15, 20, 25, 30 e 35ºC) utilizando plantas de *P. ixocarpa*, que é um arranjo autônomo totalmente auto-incompatível. Por fim, verificou-se que nenhuma planta se tornou autocompatível, levando os autores a concluir que a autocompatibilidade é uma característica genética. A autocompatibilidade no tomatillo não é herdada através do citoplasma, o gene responsável está localizado nos cromossomos. A autocompatibilidade em tomatillo é geneticamente controlada por um único gene dominante (Sc); indivíduos autocompativeis são estritamente heterozigotos (Sc, 4); o Alelo Sc no lado masculino (Sc, 4) não é funcional ao polinizar o estigma Sc, 4 (MULATO-BRITO et al., 2007). Assim, Peña e Márquez (1990) sugeriram que na seleção massal, as populações de meios-irmãos e a combinação de meios-irmãos, são métodos de seleção mais apropriados para o melhoramento de espécies autoincompativeis.

Na escolha das melhores populações segregantes para um programa de melhoramento, quando prevalece a ação gênica aditiva, além da melhor média, devem ser preferidas as populações com maior variabilidade, de onde se poderão selecionar os materiais mais desejáveis (SANTOS e VENCOVSKY, 1986).

A identificação de genitores superiores tem sido realizada por meio da avaliação de caracteres morfológicos, agronômicos e, mais recentemente por marcadores moleculares, que

permitem caracterizar e determinar a divergência genética existente dentro e entre as espécies vegetais (BONETT et al., 2006).

Diante da importância das espécies do gênero *Physalis* o presente estudo teve por objetivo obter informações a respeito da receptividade do estigma, da formação dos gametas masculinos e da viabilidade polínica em espécies do gênero, bem como estimar parâmetros genéticos, correlações fenotípicas e divergência, a fim gerar informações que auxiliem programas de melhoramento.

REFERÊNCIAS

ARAMENDIZ-TATIS, H.; SUDRÉ C. P.; GONÇALVES L. S. A.; RODRIGUES R. Potencial agronômico e divergência genética entre genótipos de berinjela nas condições do Caribe Colombiano. **Horticultura Brasileira**, v. 29, p. 174-180, 2011.

BEZERRA NETO, F. V. B. Descritores quantitativos na estimativa da divergência genética entre genótipos de mamoneira utilizando análises multivariadas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 02, p. 294-299, 2010.

BONETT, L. P. et al. Divergência genética em germoplasma de feijoeiro comum coletado no Estado do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.27, p.547-560, 2006.

CORRÊA, M. G. S. et al. Meiose e viabilidade polínica na família Araceae. **Acta Botanica Brasilica,** São Paulo, v.19 n.2, p. 295-303, 2005.

COSTA, M. N. et al. Divergência genética entre acessos e cultivares de mamoneira por meio de estatística multivariada. **Pesquia agropecuária brasileira**, v.41, n.11, p.1617-1622, 2006.

COSTA, R. B. et al. Avaliação genética dentro de progênies de erva-mate (Ilex paraguariensis St. Hil.), na região de Caarapó, MS, pelo procedimento REML/BLUP. **Ciência Florestal**. v.15, p.371-376, 2005.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFVp. 585, 2003.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa: UFV, v. 1. 2004.

CRUZ, C.D; FERREIRA, F. M; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética.** Visconde do Rio Branco: Suprema, 620p. 2011.

DAFNI, A. Pollination ecology: a pratical approach. **[S.1]: Oxford University Press**, p. 250, 1992.

FALCONER DS. Introdução à Genética Quantitativa. Tradução de Silva MA e Silva JC. Viçosa-MG: UFV, Impr. Univ., 279p, 1981.

FALCONER, D.S.; MACKAY, T.F.C. **Introduction to quantitative genetics**. 4.ed. Edinburgh : Longman Group Limited. 464p, 1996.

FEHR, W. R. **Principles of cultivars development**. New York:, Mac millan. P.536, 1987).

FERRÃO, R. G. et al. Parâmetros genéticos em café Conilon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-69, 2008.

FERREIRA, M. A. J. F. et al. Correlações genotípicas, fenotípicas e de ambiente entre dez caracteres de melancia e suas implicações para o melhoramento genético. **Horticultura Brasileira** V.21, p. 438-441, 2003.

GONZÁLEZ, O. T. et al. Caracterización morfológica de cuarenta y seis acessiones de uchuva (*Physalis peruviana* L.), in Antioquia (Colombia). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p. 708-715, 2008.

HANNA, W. W. Aplication of cytogenetics to plant breeging. In: The southern pasture and forage crop improvement conference. **Proceedings of the national academy of science of the United States of America,** Gainnesville, 1980.

HUNZIKER, A. T. Genera Solanacearum. The genera of Solanaceae illustrated, arranged according to a new system. Ruggell, A.R.G.Gantner Verlag. 2001.

KANDASAMY, M. K.; KRISTEN, U. Developmental aspects of ultrastructure, histochemistry and receptivity of the stigma of *Nicotiana sylvestris*. **Annals of Botany**, London, v.60, p.427- 437, 1987.

KEARNS, C. A.; INOUYE, D. Techniques for pollinations biologists. **Niwot,** Colorado: University press of Colorado. P. 579, 1993.

LAGOS, T. C. et al. Comportamiento meiotico de algunos genotipos de Physalis peruviana L. **Revista Fitotecnia Colombiana**. Colombia, v. 5 n.1, p. 1-12. Enero-junio 2005.

LAGOS, T. C. **Biología reproductiva, citogenética, diversidad genética y heterosis en parentales de uvilla o uchuva *Physalis peruviana* L**. 2006. 129 f. Tesis (Doctorado en Genética y Mejoramiento de Plantas) - Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Palmira, 2006.

LI, Y. Q. et al. Distribution of unesterified and esterified pectins in cell walls of pollen tubes of flowering plants. **Sexual Plant Reproduction**, Berlin, v.7, p.145-152, 1994.

LIGARRETO, G. A.; LOBO, M.; CORREA, A. **Recursos genéticos del género Physalis en Colombia**. In: FISCHER, G. (Ed). Avances en el cultivo, poscosecha y exportación de la uchuva (Physalis peruviana L.) en Colombia. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, p. 9-532005.

MARUTANI, N.; KAMEMOTO, H. Transmission and significance of B chromosomes in *Anthurium waroqueanum*. **American Journal of Botany.** V. 70, p. 40-46, 1983.

MENZEL, Y. M. The cytotaxon(,rny and genetics of Physalis. **Proceedings of the American Philosophical Society**. V. 95, n. 2, p. 132-183, 1951.

MEDINA, E. El cultivo de la Uchuva tipo exportación. **Revista Agricultura Tropical**. vol. 28, n. 2, p 55-58, 1991.

MIRANDA, G. V. et al. V. Potencial de melhoramento e divergência genética de cultivares de milho pipoca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 6, p. 681-688, 2003.

MOHAMMADI, S.A.; PRASANNA, B.M. Analysis of genetic diversity in crop plants - Salient statistical tools and considerations. **Crop Science**, v.43, n.4, p.1235-48, 2003.

MORALES, R. G. F. et al. Divergência genética em cultivares de morangueiro, baseada em caracteres morfoagronômicos. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n.3, p. 323-329, 2011.

MORETI, D. et al. Estimativas de parâmetros genéticos e ganhos esperados com a seleção de caracteres juvenis em progênies de seringueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, p.1099-1109, 1994.

MULATO-BRITO, J. et al. Self-Compatibility Inheritance in Tomatillo (Physalis Ixocarpa Brot.). **Vegetable crops research bulletin**. V. 67, p. 17-24, 2007.

MUNIZ, J.; MOLINA, A. R.; MUNIZ, J. Physalis: productive and economic overview in Brazil. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 33, n. 2, 2015.

NOVOA, R. H. et al. La madurez del fruto y el secado del cáliz influyen en el comportamiento poscosecha de la uchuva, almacenada a 12 °C (Physalis peruviana L.). **Revista Agronomía Colombiana**, v. 24, n.1, p 77-86, 2006.

OLIVEIRA, N. T. et al. Caracterização e identificação de clones de mandioca produzidos em Roraima para consumo in natura. **Revista Agro@ mbiente On-line**, v.5, p.188-193, 2011.

ORDÓÑEZ, N. M. P. et al. Comportamiento meiótico de diferentes especies de lulo, Solanum. **Acta Agronómica**, v. 59, n.4, p 394-400, 2010.

PAGLIARINI, M. S. Citogenética aplicada ao melhoramento. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos Genéticos no Melhoramento Plantas**, Rondonópolis: Pallotti, p. 872-910, 2001.

PALOMINO, C. E. M. **Caracterización morfológica de accesiones de Physalis peruviana L. del banco de germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira**. 2010. 70 p. Tese (Mestrado) - Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 2010.

PANDEY, K. K. Genetics of self-incompatibility in *Physalis ixocarpa* Brot. A New System. **American Journal of Botany**. v. 44, n. 10, p. 979-887, 1957.

PEÑA, L. A.; MÁRQUEZ S, F. Mejoramiento genético de tomate de cáscara (Physalis ixocarpa Brot.). **Revista Chapingo**. V. 71/72, p.85-88, 1990.
PEÑA, L. A; MÁRQUEZ, S. F. Mejoramiento genético en Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa Brot*.). **Revista Chapingo**, v. 71-72, p.84-88, 1990.

PEREZ, R. M. et al. Neuropharmacological activity of Solanum nigrum fruit. **Journal of Ethnopharmacology**. 62: 43-48, 1998.

Physalis in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB14697>. Acesso em: 14 Mai. 2018.

POLTRONIERI, E. Alternativas para o mercado interno de pequenas frutas. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1., 2003, Vacaria. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p. 37-40. (Documentos, 37), 2003.

POZZOBON, M. T. et al.Meiose e viabilidade polínica em linhagens avançadas de pimenta. **Horticultura brasileira**, v. 29, n. 2, 2011.

RANGEL, P. H. N. et al. Ganhos na produtividade de grãos pelo melhoramento genético do arroz irrigado no meio-norte do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.35, n.8, p.1595–1604, 2000.

RUFATO, L. et al. **Aspectos técnicos da cultura da Physalis**. Lages: CAV/UDESC; Pelotas: UFpel, 2008. 100p.

SAGARPA. Estadística básicas agropecuárias. **Servicio de informacion y estadística agroalimentaria y pesquera.** SAGARPA, México, 2002.

SANTIAGUILLO-HERNÁNDEZ, J. F. et al. Diagnóstico del Tomate de cáscara. SNICS, SAGARPA, SINAREFI., Guadalajara, Jalisco. México, 46 p. 2012.

SANTIAGUILLO-HERNÁNDEZ, J. F; SANTANA, T. C; PEÑA-LOMELÍ, A. Selección para rendimiento y calidad de fruto de cruzas planta x planta entre variedades de tomate de cáscara. **Revista Fitotecnia Mexicana**. Vol. 27 (1), 2004.

SANTIAGUILLO-HERNÁNDEZ, J.F., y S. BLAS-YÁÑEZ. Aprovechamiento tradicional de las especies de Physalis en México. **Revista de Geografia Agrícola**. 43:81-86, 2009.

SANTOS, J. B; VENCOVSKY, R. Correlações fenotípicas e genética entre alguns caracteres agronômicos do feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.). **Ciência e Prática**, V. 10, p. 265-272, 1986.
SILVA, A. H. B. **Seleção e variabilidade genética para caracteres qualitativos e quantitativos em progênies de Physalis angulata L. (Solanaceae).** Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 76 f, 2007.

SILVA, K. N.; AGRA, M. F. Estudo farmacobotânico comparativo entre *Nicandra physalodes* e *Physalis angulata* (Solanaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.4, João Pessoa, 2005.

SINGH, D. Adaptive significance of female physical attractiveness: Role of waist-to-hip ratio. **Journal of Personality and Social Psychology**. V. 65, p. 293–307, 1993.

SOARES, E. L. C. et al. O gênero *physalis* l. (solanaceae) no rio grande do sul, brasil pesquisas, botânica. São Leopoldo: Instituto Anchietano de Pesquisas, 2009.

SOUZA. A.P; GERALDI, I. O; RAMALHO, M. A. P. Alternativas experimentais na avaliação de famílias em programas de melhoramento genético do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.35, p.1765-1771, 2000.

STEEL, R. G. D; TORRIE, J. H. **Principles and Procedures of Statistics**. 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 1980.

SUDRÉ, C. P. et al. Divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão utilizando técnicas multivariadas. **Horticultura Brasileira,** Brasília, v.23, n.1, p.22-27, 2005.
SYBENGA, J. Forty years of cytogenetics in plant breeding: a peersonal view. Current topics in plant cytogenetics related to plant improvement. Vienna, P 222, 1998.

TOMASSINI, T. C. B.; BARBI, N.; RIBEIRO, I. M.; XAVIER, D. C. D. Gênero *Physalis*-uma revisão sobre vitaesteróides. **Química Nova**, v.12, p 47-57, 2000.

VERDEJO, R. **Caracterización de la variedad de tomate de cáscara "Rendidora" (Physalis ixocarpa Brot.) Para su mejoramiento genético en Chapingo, México.** Tesis de Licenciatura de la Universidad Veracruzana. 1987.

WHALEN, M. D.; ANDERSON, G. J. Distribution of gametphytic self-incompatibility and intrageneric classification in*Solanum*. **Taxon**, v.30, p.761-767, 1981.

ZAMBON, C. R. et al. N. Estabelecimento de meio de cultura e quantificação da germinação de grãos de pólen de cultivares de marmeleiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 400-407, 2014.

ZHANG, C, R. et al. New antiinflammatory sucrose esters in the natural sticky coating of tomatillo (Physalis philadelphica), an important culinary fruit**. Food chemistry**, V. 196, p. 726- 732, 2016.

CAPÍTULO 1

Microsporogênese e Viabilidade Polínica em espécies do gênero *Physalis*.[1]

[1]Publicado como Artigo científico (Anexo): SANTOS, K. S.; PASSOS, A. R. ; SEREJO, J. A. S. ; LINO, L. S. M. ; CHAVES, M. C. ; SANTOS, R. M. F. Microsporogenesis and Pollen Viability in *Physalis ixocarpa*. **Cytologia**, v. 82, p. 625-, 2017.

Artigo 1

Microsporogênese e viabilidade polínica em *Physalis ixocarpa*

Resumo: O presente estudo teve como objetivo descrever o comportamento dos cromossomos na microsporogênese e estimar a viabilidade polínica em *Physalis ixocarpa*, para fins de melhoramento genético da espécie. O trabalho foi realizado no laboratório de Citogenética Vegetal da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em que botões florais previamente coletados e fixados em Carnoy (3:1) foram analisados em microscópio após serem corados com carmim acético (1%). Em seguida, determinou-se o número de células presentes em cada uma das fases das meioses I e II: prófase, metáfase, anáfase, telófase, bem como a formação de tétrades. Foram registradas as irregularidades observadas em cada uma das fases analisadas. O Índice Meiótico (IM) foi calculado. A viabilidade do pólen foi determinada de acordo com o nível de coloração: pólen corado de vermelho como viável e com a cor verde-amarelado ou incolor como não-viáveis. A porcentagem de grãos de pólen viáveis foi determinada pelo número de grãos de pólen corados pelo número total de polens avaliados x 100. Foram observados 2.256 meiócitos. Destes, foram avaliados 788 meiócitos na meiose I, 762 células foram observados na meiose II e 706 tétrades. O índice meiótico calculado para *P. ixocarpa* foi de 100%, o que indica que a espécie se encontra meioticamente estável. A viabilidade polínica estimada para avaliação de 3.600 grãos de pólen foi de 93,11%, sendo considerada altamente viável. No presente estudo, foi observada a presença de pollenkitt aderido aos grãos de pólen. Sendo assim, o processo de microsporogênese é normal, resultando na formação de grãos de pólen altamente viáveis.

Palavras-chave: Physalis; Meiose; Diacinese; Pólen.

Microsporogenesis and pollen viability *in Physalis ixocarpa*

Summary: The present study aims to describe the behavior of the chromosomes in the microsporogenesis and to estimate the pollen viability in Physalis ixocarpa, for purposes of genetic improvement of the species. Floral buds previously collected and fixed in Carnoy (3 : 1) were analyzed under a microscope after being stained with acetic carmine (1%). The number of cells present in each phase of meiosis I and II were determined: prophase, metaphase, anaphase, telophase and the formation of tetrads. The irregularities observed in each of the analyzed phases were recorded. The Meiotic Index (MI) was calculated. The viability of the pollen was determined according to the level of staining: pollen stained red as viable and yellowish-green or colorless as non-viable. The percentage of viable pollen grains was determined by the number of pollen grains stained by the total number of evaluated pollen ×100. A total of 2256 meiocytes were observed. Of these, 788 meiocytes were measured in meiosis I, 762 cells were observed in meiosis II and 706 tetrads. The calculated MI for P. ixocarpa was 100%, indicating that the species are meiotically stable. The estimated pollen viability for the evaluation of 3600 pollen grains was 93.11% and considered highly viable. In the present study, the presence of pollenkitt adhered to the pollen grains was observed. Thus, the microsporogenesis process is normal, resulting in the formation of highly viable pollen grains.

Key words: Physalis; Meiosis; Diacinese; Pollen

INTRODUÇÃO

A *Physalis ixocarpa* Brot. é uma planta herbácea pertencente a família Solanaceae. Esta hortaliça era bem conhecida e utilizada pelos povos maias e astecas, sendo o México considerado o seu centro de domesticação. Seus frutos, ricos em vitaminas A e C, são conhecidos no México como tomate verde ou tomate casca, e constitui um componente importante da cozinha mesoamericana, sendo utilizado de modo semelhante ao tomate (Solanum lycopersicum L.), apesar de possuir um sabor ligeiramente ácido (BOCK et al., 1995; ROBLEDO-TORRES et al., 2011). A importância desta espécie não é atribuída apenas a produção de frutos, já que como descrito para o gênero *Physalis*, a espécie *P. ixocarpa* apresenta propriedades medicinais, em decorrência da presença de alcalóides quaternários, vitaesteróides (fisalina, ixocarpalactona A), flavonóides e saponinas (DROST KARBOWSKA et al., 1993; TOMASSINI et al., 2000).

Estudos prévios com *Physalis ixocarpa* indicam número cromossômico diplóide de 2n=2x=24. Apesar de suas flores serem hermafroditas são consideradas alógamas obrigatórias, pois apresenta autoincompatibilidade gametofítica produzida por duas series alélicas, sendo a esterilidade observada quando um ou mais alelos estão em estado homozigoto, convertendo-a em alógama (PANDEY, 1957). Esta condição torna difícil a obtenção de linhagens endogâmicas para hibridização clássica em programas de melhoramento (MENZEL, 1951; HUDSON, 1983).

A citogenética fornece informações indispensáveis para a manipulação de plantas, pois contribui para aumentar a eficiência das estratégias de conservação e gerar informações para serem utilizadas em trabalhos de melhoramento com a espécie que envolva hibridação. Pesquisas, nesta área, têm contribuído em estudos de evolução, principalmente porque os cromossomos constituem o próprio material genético, o que os torna significativos para o rumo evolutivo das espécies (GUERRA, 1988; SYBENGA, 1998).

O grau de fertilidade das plantas é resultado do comportamento meiótico, sendo que a formação de gametas funcionais é controlada por genes que garantem um processo meiótico normal. Porém, podem ocorrer mutações gênicas, gerando irregularidades que comprometem a fertilidade dos indivíduos. Mutações que interfiram no processo meiótico podem afetar o pareamento cromossômico, podendo levar a planta à esterilidade total ou à formação de indivíduos poliplóides e aneuplóides. O estudo meiótico pode comprovar o fato de que se dois genomas são suficientemente similares para ocorrer o pareamento na meiose, demonstrar ser

possível a ocorrência de recombinação genética (CHAPMAN e KIMBER, 1992; PAGLIARINI, 2000).

A viabilidade polínica é um fator de grande importância para o melhoramento de plantas, tendo em vista que em espécies alógamas, cada grão de pólen leva consigo a carga genética como consequência da heterozigose, aumentando a probabilidade de diferentes combinações entre os alelos. Levando-se em consderação que a expressão do genótipo de um indivíduo resulta da combinação dos gametas masculino e feminino, tem-se que quanto maior a viabilidade polínica, maior a possibilidade da formação de diferentes combinações entre alelos, promovendo maior variabilidade genética (SOUZA et al., 2002).

Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo descrever o comportamento dos cromossomos na microsporogênese e estimar a viabilidade polínica em *Physalis ixocarpa*, para fins de melhoramento genético da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no laboratório de Citogenética Vegetal da Embrapa Mandioca e Fruticultura e na unidade experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana. Para tanto, sementes de *Physalis ixocarpa* foram semeadas em casa de vegetação e transplantadas com aproximadamente 40 dias para vasos com capacidade de 10 litros, contendo Terra vegetal e o substrato comercial *Techns Vivato*® (casca de pinus bio-estabilizada, vermiculita, moinha de carvão vegetal, água e espuma fenólica) na proporção 3:1. Botões florais, de diferentes estádios, foram coletados, fixados em Carnoy (3:1) e armazenados em *freezer*.

Para o preparo das lâminas foram selecionados botões com tamanho 0,5 mm, que foram imersos em solução de ácido acético 45% para manipulação do material. As anteras foram removidas com auxilio de uma pinça e transferidas para lâmina contendo carmim acético 1%, em seguida foram realizados cortes seguido de suaves compressões para a liberação dos meiócitos. Posteriormente, o material foi coberto com lamínula, aquecido levemente em lamparina, e em seguida observados em microscópio óptico Leica DMRA2, equipado com câmera Leica DFC300 FX.

Os meiócitos foram observados, e determinou-se o número de células que estavam em cada uma das fases das meioses I e II: prófase, metáfase, anáfase, telófase, bem como a

formação de tétrades. As células que não apresentaram configurações meióticas com cromossomos bivalentes foram consideradas irregulares; também foram consideradas outras irregularidades como atrasos e pontes durante a anáfase, e disjunção irregular dos cromossomos nas fases subsequentes às metáfases I e II.

O Índice Meiótico (IM) foi calculado de acordo com Love (1949): IM = número de tétrades normais / número total de tétrades x 100. Os meiócitos com quatro micrósporos foram consideradas tétrades normais e como anormais aquelas com números de micrósporos diferentes de quatro: díades, tríades, políades (CORRÊA et al., 2005). As amostras que apresentarem IM superior a 90% foram consideradas meioticamente estáveis.

O teste de viabilidade de pólen foi realizado segundo a técnica descrita por Linsley & Cazier (1963), onde anteras de botões florais em fase de pré-antese e antese foram coletadas e dispostas em lâminas contendo carmim acético 1%, que indica a integridade cromossômica. Foram realizados cortes para liberação dos grãos de pólen e, então, o material foi coberto com lamínula e observado em microscópio. Foram confeccionadas nove lâminas das quais foram contabilizados 400 grãos de pólen por lâmina.

A viabilidade do pólen foi determinada de acordo com o nível de coloração: pólen corado de vermelho como viável e com a cor verde-amarelado ou incolor como não-viáveis. A porcentagem de grãos de pólen viáveis foi determinada de acordo com a fórmula: Viabilidade do pólen (%) = N. de grãos de pólen corados/ N. de grãos pólen total . 100.

RESULTADOS

Foram observados 2.256 meiócitos (Tabela 1). Destes, foram avaliados 788 meiócitos na meiose I, em que 58% estavam em fase de prófase I e cromossomos com comportamento normal. Aproximadamente 1,27% dos meiócitos analisados estavam no final da prófase I/diacinese, onde foram observados 24 cromossomos formando 11 bivalentes e 2 univalentes. Apesar do aparecimento de univalentes na diacinese, pode-se observar que ao longo das fases os cromossomos assumem um processo de segregação harmonioso resultando na formação de grãos de pólen altamente viáveis (Figura 1).

Na metáfase I foram observadas poucas irregularidades na segregação dos cromossomos para a placa equatorial, sendo que dos 183 meiócitos analisados, nesta fase, 97,8% apresentaram comportamento normal, e 0,55% e 1,64% apresentaram,

respectivamente, 1 e 3 cromossomos atrasados. Na anáfase I, dos 39 meiócitos avaliados, 97,4% apresentaram segregação normal dos cromossomos aos pólos da célula, e em 2,56% foi observada a segregação precoce de um cromossomo. No final da telófase I, observou-se comportamento normal de segregação e citocinese formando duas células haploides em 14,21% dos meiócitos analisados (Figura 1).

Um total de 762 células foram observados na meiose II e no final da divisão na formação das tétrades, sendo que 7,74% dos meiócitos encontravam-se em fase de prófase II, apresentando padrões normais no comportamento dos cromossomos. Observou-se que 5,9% dos meiocitos analisados estavam em fase de metáfase II, e para estes, não foram encontradas irregularidades no padrão de segregação dos cromossomos. Foi observado, apenas, um discreto assincronismo no padrão de divisão, quando em uma célula a fase estava iniciando, na outra a fase estava mais avançada (Figura 1).

A anáfase foi a fase observada com menor frequência, apenas 1,31% dos meiócitos analisados. As células observadas nessa fase apresentaram comportamento normal de segregação dos cromossomos aos pólos das células. Já a fase de telófase II foi a que apresentou a maior frequência de observações, representada por 85,04% dos meiócitos observados, sendo que esta fase, também, apresentou comportamento de divisão normal o que culminou na observação de 706 tétrades. Não foi observada a formação de micronúcleo, assim como número anormal de células ao final da meiose (Figura 1).

O índice meiótico foi estabelecido por Love (1951), que determinou o limite de 90% para uma espécie ser considerada meioticamente estável. Apesar de terem sido observadas algumas irregularidades na segregação dos cromossomos na fase I da meiose, o índice meiótico calculado para *P. ixocarpa* foi de 100%, o que indica que a espécie se encontra meioticamente estável.

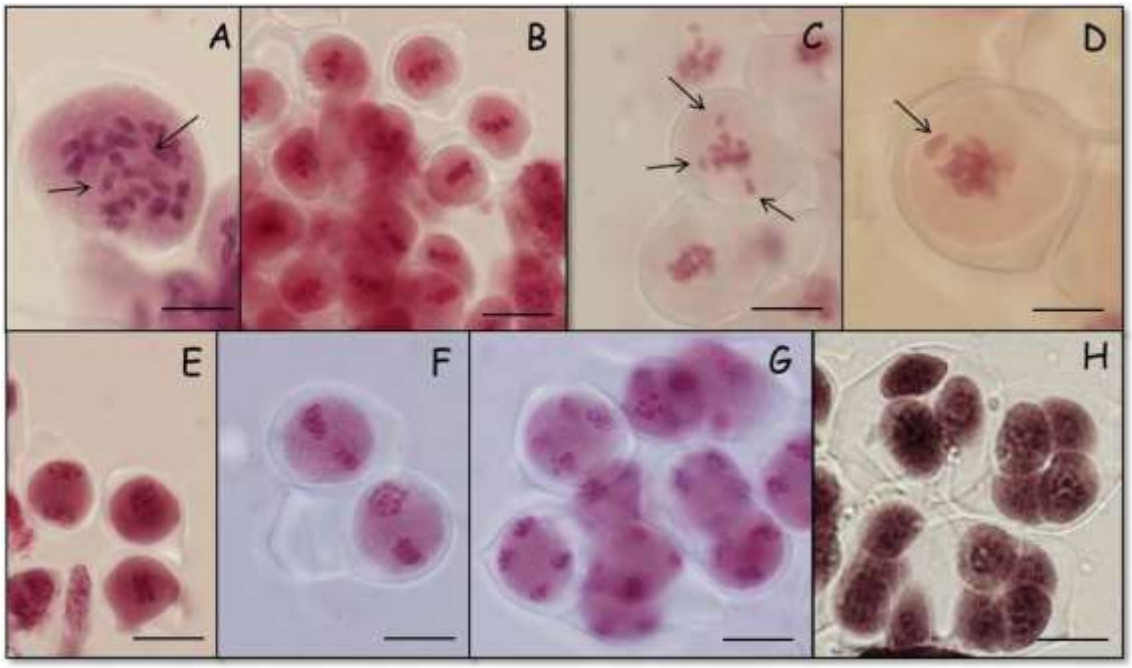

Figura 1. Meiose em *Physalis ixocarpa*. A) Prófase/Diacinese I com 11 cromossomos bivalentes e 2 univalente (setas). B) Meiócitos em metáfase I normal e C) metáfase I com 3 cromossomos atrasados (setas). D) inicio da anáfase I com 1 cromossomo com acessão precoce (seta). E) Meiócitos em telófase I e anáfase I normais. F) Células em metáfase II e assincronismo com prófase e metáfase II. G) Células em anáfase e telófase II. H) Tétrades. Barra = 1cm.

Tabela 1: Comportamento meiótico em *Physalis ixocarpa*. Feira de Santana-BA, 2015.

Fases Meiose I e II	Número de Células	
	Total	(%)
Prófase I	457	91,5
Prófase/Diacinese	10	7,31
Metáfase I normal	179	0,84
Metáfase I com 3 cromossomos atrasados	1	0,24
Metáfase I com 2 cromossomos atrasados	3	0,12
Anáfase I normal	38	98,39
Anáfase I com 1 cromossomo com segregação precoce	1	1,61
Telófase I normal	112	97,18
Prófase II	59	2,82
Metáfase II normal	45	100
Anáfase II normal	10	100
Telófase II normal	648	100
Tétrades	706	61,1

A viabilidade polínica estimada para avaliação de 3.600 grãos de pólen foi de 93,11%, sendo considerada altamente viável. No presente estudo foi observada a presença de pollenkitt aderido aos grãos de pólen (Figura 2).

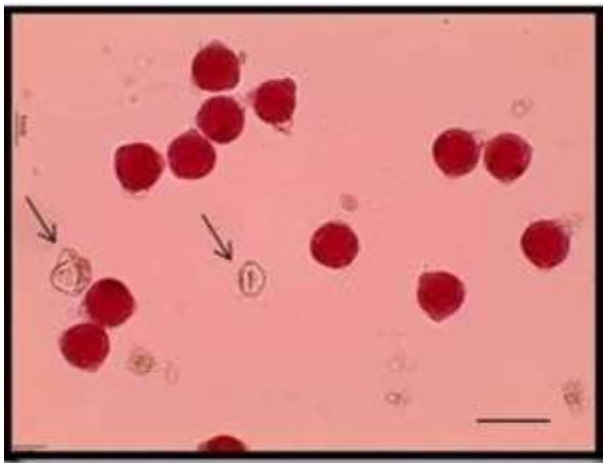

Figura 2: Grãos de pólen de *Physalis ixocarpa* corados com Carmim acético a 2%. Grãos de pólen viável e inviável (seta). Barra = 1cm

DISCUSSÃO

Mutações em genes que afetam o pareamento cromossômico na meiose são importantes, pois podem resultar na formação de indivíduos totalmente estéreis ou na formação poliplóides e aneuplóides (PAGLIARINI, 2000). No presente estudo, foi observada

irregularidade no pareamento dos cromossomos com a formação de 11 bivalentes e 2 univalentes. Autores afirmam que o surgimento de cromossomos univalentes podem dar origem a anormalidades na segregação destes cromossomos, durante a meiose, como a observação de cromossomos retardatários e a formação de micronúcleos em quartetos de pólen (FERNANDES, 1982).

Os dados encontrados, no presente estudo, corroboram com Grimaldo-Juárez et al (1999) que estudou o comportamento dos cromossomos, em diacinese, de *Physalis ixocarpa* silvestre e cultivada, e observou que a associação cromossômica mais observada foi de 12 bivalentes, com frequência que variou de 6,98 a 9,40. Neste mesmo estudo, também, foram observados cromossomos com configuração univalente, com frequências de 5,72 a 10,04. No referido estudo, os autores também observaram que a presença de univalentes causou efeito apenas na frequência de quiasmas por núcleo, já que a segregação dos cromossomos na anáfase foi normal, fato este, que foi confirmado com a alta viabilidade de pólen. Outro estudo realizado com quatro gerações autotetraploides sintéticas de *Physalis ixocarpa*, evidenciou a presença de configurações univalentes, bivalentes e tetravalentes, porém a presença de bivalentes foi em maior frequência, o que leva o autor a constatar que ao longo das gerações a tendência é alcançar a regularidade meiótica (RODRIGUEZ DE LEON et al., 2015).

Observou-se, em células na fase de meiose II, que o comportamento de divisão apresentou um leve assincrônismo, ou seja, no mesmo micrósporo foram encontradas células em diferentes fases de divisão. Martins et al. (2010) avaliou o comportamento meiótico em acessos de *Capsicum annuum* e *Capsicum baccatum* e constatou que apesar do processo de divisão ter sido predominantemente regular, foram observadas algumas anormalidades como a divisão assincrônica, ou seja, foram encontradas diferentes fases da meiose II em um mesmo núcleo, sendo esta a irregularidade mais comum avaliada.

Em outro estudo com acessos de *Capsicum chinense*, observou-se que dos genótipos analisados, o acesso CNPH 4327 apresentou comprometimento no comportamento meiótico com a maior porcentagem total de células com irregularidades, 41,15%, seguidos pelos acessos CNPH 4332 e CNPH 4325 com 15,66% e 10,39%, respectivamente. Os dois primeiros acessos apresentaram valores mais baixos para o índice meiótico (52,29 e 86,15%, respectivamente). Isto ocorreu em função das irregularidades observadas que culminaram em produtos pós-meióticos anormais (POZZOBON et al, 2015).

O índice meiótico apresenta um dado complementar na análise do comportamento meiótico, sendo considerado um indicador de regularidade. Plantas com índices inferiores a 90%, quando usadas em cruzamentos, trariam problemas nas gerações segregantes, originando progênies desuniformes (LOVE, 1949). Em estudos de meiose, em linhagens avançadas de pimenta, observou-se que a maioria das linhagens analisadas se encontram meioticamente estáveis com produção de gametas masculinos balanceados (POZZOBON et al., 2011).

Através da estimativa da viabilidade polínica, torna-se possível obter correlações com irregularidades meióticas, gerando informações que poderão auxiliar na seleção de materiais genéticos e fazer inferências sobre a eficiência de cruzamentos (DIEGUES et al., 2015). Neste estudo, foi observado um alto percentual de tétrades normais, culminando em uma elevada taxa de viabilidade polínica, que de acordo com Souza el al. (2002) é considerada alta para valores acima de 70%. Rodriguez de Leon et al (2015) estudaram, por meio de corante, a viabilidade polínica em quatro gerações de uma população autotetraploide sintética de *Physalis ixocarpa* e relatou que a viabilidade média observada foi de 62,7%, valores considerados relativamente baixos, porém não interfere na fertilidade da planta. Estudos de viabilidade polínica em acessos de *Capsicum annuum* e *Capsicum baccatum,* estimado via coloração tripla de Alexander, obtiveram uma taxa de viabilidade polínica variando entre 96,53 a 98,91%, com predominância de grãos de pólen viáveis em todos os acessos, observando-se, assim, uma correlação positiva entre o percentual de tétrades normais e a viabilidade dos grãos de pólen (MARTINS et al, 2010).

Foram observadas a presença de pollenkitt, substância formada por uma mistura de material hidrofóbico, que apresenta em sua composição lipídios saturados e insaturados, carotenoides, flavonoides, proteínas e carboidratos. Na literatura são atribuídas ate 20 funções distintas do pollenkitt, entre elas: manter o pólen na antera até a dispersão, facilitar a dispersão do pólen, proteger o pólen contra perda de água e da radiação UV, manter proteínas esporofíticas responsáveis pelo reconhecimento pólen-estigma, proteção contra fungos e bactérias, manter os grãos unidos durante o transporte, permitir ocultar ou tornar os polens visíveis aos animais, facilita a aderência ao corpo de insetos e fornecer recompensa aos polinizadores, conduz a autopolinização e facilita a adesão ao estigma (PACINE E HESSE, 2005).

CONCLUSÕES

- A espécie Physalis ixocarpa encontra-se meioticamente estável, com índice meiótico de 100%.
- O processo de microsporogênese é normal resultando na formação de grãos de pólen altamente viáveis.

REFERÊNCIAS

BOCK, M. A. et al. Selected nutritional and quality analyses of tomatillos *(Physalis ixocarpa).* **Plant Foods for Human Nutrition**. 48: 127-133, 1995.

CHAPMAM, C.G.D.; KIMBER, G. Developments in the meiotic analysis of hybrids. II. Amended models for tetraploids. Heredity, v. 68, p. 105-113, 1992.

CORRÊA, M. G. S. et al. Meiose e viabilidade polínica na família Araceae. Acta botânica Brasílica, São Paulo, v.19, n. 2, p. 295-303, 2005.

DIEGUES, I. P. et al. Comportamento meiótico e viabilidade polínica na espécie Jatropha curcas L. Meiotic behavior and pollen viability in Jatropha curcas L. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 1, p. 141-150, 2015.

DROST-KARBOWSKA, K., et al. Phytochemical investigation of the tomatillo fruit (*Physalis ixocarpa* Brot. Solanaceae). **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, v. 62 (3-4), p. 155-159, 1993.

GRIMALDO-JUÁREZ, O.; GARCÍA-VELÁZQUEZ, A.; PEÑA-LOMELÍ, A. Morfología cromosómica y comportamiento meiótico en tomate de cáscara (Physalis ixocarpa Brot.) **Revista Chapingo Serie Horticultura.** 5(1): 31-35, 1999.

GUERRA, M. Introdução à citogenética geral. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 142p.

HUDSON, R. R. Properties of a Neutral Allele Model with lntragenic Recombination. **Theoretical population biology**. 23, 183-201, 1983.

LINSLEY, E.C.; CAZIER, M.A. Further observation on bees which take polen form plants of genus *Solanum*. **Pan Pacific Entomologist**, v.39, n.1, p.1-18, 1963.

LOVE, R.A. Estudos citológicos preliminares de trigos Riograndenses. Circular n. 74. Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, p. 14, 1949.

MARTINS, K. C. et al. Meiose e viabilidade polínica em acessos de Capsicum annuum e Capsicum baccatum. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.8, p.1746-1751, 2010.

MENZEL, M. Y. The Cytotaxonomy and Genetics of Physalis. **Proceedings of theAmerican Philosophical Society**. Vol. 95, No. 2, pp. 132-183, 1951.

MORAES-FERNANDES, M. I. B. de. Citogenética. In: OSÓRIO, E. A. Trigo no Brasil. Campinas: Fundação Cargill, 1982. v. 1, p. 96-143.

PACINI, E.; HESSE, M. Pollenkitt—its composition, forms and functions. **Flora**, 399–415, 2005.

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

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

PANDEY, K. K. Genetics of self-incompatibility in Physalis ixocarpa Brot. A new system. *American Journal of Botany*. 44: 879-887, 1957.

POZZOBON, M. T. et al. Comportamento meiótico em acessos de Capsicum chinense Jacq. do Banco de Germoplasma da Embrapa, Brasil. **Revista brasileira Biociências**, Porto Alegre, v. 13, n. 2, p. 96-100, 2015.

POZZOBON**, M.** T. et al. Meiose e viabilidade polínica em linhagens avançadas de pimenta. Horticultura Brasileira**, 29: 212-216,** 2011.

ROBLEDO-TORRES, V. Et al. Development of tomatillo (Physalis ixocarpa Brot.) autotetraploids and their chromosome and phenotypic characterization. **Breeding Science,** 61:288-293, 2011.

RODRÍGUEZ DE LEÓN, J. I. et al. Análisis meiótico de cuatro generaciones de polinización cruzada en una población autotetraploide sintética de tomatillo (Physalis ixocarpa). **Revista internacional de botânica experimental**, 84: 101-106, 2015.

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

SYBENGA, J. Forty years of cytogenetics in plant breending: a personal view. In: LELLEY, T. (Ed.). Current topics in plant cytogenetics related to plant improvement. Vienna: Universitäts Verlang, p.22-32, 1998.

TOMASSINI, T. C. B. et al. Gênero *Physalis*- uma revisão sobre vitaesteróides. **Química Nova**, V. 12, p. 47-57, 2000.

Artigo 2

Comportamento meiótico e viabilidade polínica em espécies de *Physalis* (Solanaceae)

Resumo: O presente estudo teve como objetivo descrever o comportamento dos cromossomos durante o processo de microsporogênese e estimar a viabilidade polínica em três espécies de *Physalis (P. Philadelphica, P. peruviana e P. ixocarpa* roxa*)*, visando fornecer informações que auxiliem programas de melhoramento. De cada espécie, foram coletados botões florais, e fixados em Carnoy (3:1). Para fins de descrever o processo meiótico foram examinadas todas as células disponíveis em cada uma das fases das meioses I e II, bem como a formação de tétrades. O Índice Meiótico (IM) foi calculado, e a viabilidade do pólen foi estimada, após contagem dos grãos corados com carmim acético a 1%, sendo que a viabilidade do pólen foi estimada de acordo com o nível de coloração. Para as análises utilizou-se a fórmula: Viabilidade do pólen (%) = N. de grãos de pólen corados/ (N. de grãos pólen total x 100). Observou-se que para as três espécies analisadas o processo de divisão apresentou padrão de segregação predominantemente regular, no entanto algumas irregularidades foram observadas. Apenas para *P. philadelphica* foi possível a observação do número de cromossomos, sendo 2n = 2x = 24. Das espécies analisadas, pode-se observar que a *P. peruviana* foi a que apresentou o maior número de irregularidades. O índice meiótico estimado foi considerado satisfatório, e a viabilidade polínica foi considerada alta (93,5, 81,35 e 93,8%), sendo que a menor taxa foi observada em *P. peruviana*. Assim, as espécies estudadas apresentam processo de divisão regular, resultando em elevadas taxas de viabilidade de pólen.

Palavras-chave: Meiose; viabilidade de pólen; tétrades.

Meiotic behavior and pollen viability in species of *Physalis* (Solanaceae)

Abstract: The present study aimed to describe the behavior of chromosomes during the microsporogenesis process and to estimate pollen viability in three species of *Physalis*, in order to provide information to support breeding programs. From each species, floral buds were collected, and fixed in Carnoy (3:1). For the purpose of describing the meiotic process, all available cells in each of the stages of meiosis I and II, as well as the formation of tetrads, were examined. The Meiotic Index (MI) was calculated. And, the viability of the pollen was estimated after counting the grains stained with 1% acetic carmine. The viability of the pollen was estimated according to the level of staining. For the analyzes, the following formula was used: Pollen viability (%) = N. of pollen grains stained / N. of total pollen grains. 100. It was observed that for the three species analyzed the division process had a predominantly regular segregation pattern, however some irregularities were observed. Only for *P. philadelphica* was it possible to observe the number of chromosomes, being 2n = 2x = 24. Of the analyzed species, it can be observed that the *P. peruviana* was the one that presented the greatest number of irregularities. The estimated meiotic index was considered satisfactory. E, pollen viability was considered high, and the lowest rate was observed in *P. peruviana*. Thus, the species studied present a regular division process, resulting in high rates of viability of pollen.

Keywords: Meiosis; viability of pollen; tetrads.

INTRODUÇÃO

Pertencente à família Solanaceae, o gênero *Physalis* inclui aproximadamente 100 espécies, e possui como centro de diversidade o México. O gênero é composto por plantas perenes e anuais, que em sua maioria são comestíveis e de fácil cultivo. As espécies apresentam flores pentâmeras com estames com aberturas longitudinais, ovário com disco basal e fruto, baga, envolvido pelo cálice acrescente e inflado (SILVA e AGRA, 2005; RUFATO et al., 2008).

Physalis peruviana L. é considerada uma fruta exótica, que possui origem nos Andes e Amazônia. Seus frutos possuem grande aceitação nos mercados mundiais, principalmente por causa de sua cor atraente e sabor agradável, em decorrência do elevado teor de açucares presente no fruto (NOVOA et al., 2006; RODRIGUES et al., 2009). O sistema reprodutivo desta espécie é considerado misto, com taxas de alogamia por polinização cruzada natural de aproximadamente 54% (LAGOS et al. 2008). Outras espécies importantes são a *Physalis philadelphica* Lam. e *Physalis ixocarpa* Brot. que produzem frutos muito apreciados na cozinha tradicional mexicana, devido à sua utilização na elaboração de diversos pratos, como é caso dos famosos molhos. Além disso, o fruto cozido ou cru pode ser utilizado no preparo de purês ou picadinhos que servem de base e/ou complemento na preparação de diversos pratos (SANTIAGUILLO HERNÁNDEZ e BLAS YÁÑEZ, 2009; POLTRONIERI, 2003).

As espécies da família Solanaceae, em geral, apresentam número básico de cromossomos x = 12, com 2n = 24, sendo consideradas diplóides. A maior parte de seus cromossomos são pequenos, com formulação cariotípica metacêntrica e submetacêntrica (BERNADELLO et al., 1994). As espécies *P. ixocarpa* e *P. philadelphica* apresentam o número de cromossomos descrito para o gênero 2n = 24 (MENZEL,1951; SANTOS et al., 2017), mas estudos evidenciam variação no conjunto cromossômico de *P. peruviana*, sendo observados em ecotipos silvestres 2n = 24 cromossomos, e nas plantas cultivadas 2n = 32, 2n = 44, 2n = 46 e 2n = 48 cromossomos (RODRIGUÉZ e BUENO, 2006; ARAÚJO et al., 2015).

O processo de divisão meiótica ocorre de forma integrada e altamente regular. Entretanto, seu andamento pode ser alterado pela presença de genes mutantes que darão origem a produtos meióticos anormais, impedindo a formação de gametas e, consequentemente, prejudicando a fertilidade da planta. Os produtos meióticos também podem ser afetados pela ação de genes mutantes, entretanto esses eventos, diferente da

meiose, são controlados por um número relativamente pequeno de genes (PAGLIARINE, 2000). Estudos para ampliar o conhecimento sobre a base genética das espécies são extremamente importantes para o melhoramento genético de plantas, uma vez que informações detalhadas sobre o comportamento meiótico e fertilidade de grãos de pólen constitui ferramenta padrão para o cruzamento intra e inter-espécies e introgressão de genes em programas de melhoramento (KIIHL et al., 2011; SCHIFINO-WITTMANN, 2000; MARTINS et al., 2010).

Para assegurar o sucesso do uso de indivíduos superiores selecionados, bem como garantir a produção de novas cultivares, através da recombinação de caracteres pela hibridação dirigida, é importante que o pólen utilizado nos cruzamentos tenha boa viabilidade. A elevada instabilidade meiótica, associada às anormalidades genéticas e/ou aberrações cromossômicas, podem resultar na formação de plantas atípicas, macho-estéreis ou incapazes de formar grãos de pólen, o que pode prejudicar a produção de sementes, assim como afetar a polinização (POZZOBON et al., 2011).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo descrever o comportamento dos cromossomos durante o processo de microsporogênese e estimar a viabilidade polínica em *P. philadelphica*, *P. peruviana* e *P. ixocarpa* (variedade roxa) visando fornecer informações que auxiliem programas de melhoramento com a espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

As análises citológicas foram realizadas no laboratório de Citogenética Vegetal da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Plantas das espécies *P. philadelphica*, *P. peruviana* e *P. ixocarpa*, variedade roxa, oriundas do banco de sementes do LAGEM (Laboratório de germinação de sementes) pertencente à Universidade estadual de Feira de Santana foram utilizadas no estudo.

O trabalho foi desenvolvido tendo como base o protocolo convencional de citogenética descrito por Guerra e Souza (2002). De cada espécie foram coletados botões florais, em diferentes fases de desenvolvimento, de plantas mantidas em casa de vegetação da unidade experimental Horto Florestal da UEFS. Esses foram fixados em Carnoy (3:1) e mantidos nesta solução até o momento da análise.

Na preparação das lâminas, foram selecionados botões com tamanho entre 0,4 e 0,5 mm, estes foram macerados e corados em carmim acético 1%, o material foi observado em microscópio óptico Leica DMRA2, equipado com câmera Leica DFC300 FX. A fim de descrever o processo meiótico foram examinadas todas as células disponíveis em cada uma das fases das meioses I e II: prófase, metáfase, anáfase, telófase, bem como a formação de tétrades.

O Índice Meiótico (IM) foi estimado de acordo com Love (1949): IM = número de tétrades normais / número total de tétrades x 100. As tétrades com quatro células de tamanhos iguais foram consideradas normais e qualquer desvio a esse padrão foi considerado como irregular. As amostras que apresentarem IM superior a 90% foram consideradas meioticamente estáveis.

A viabilidade do pólen foi estimada para cada espécie, com base na contagem de 3.600 grãos de pólen/espécie, coletado de flores, corados com carmim acético a 1%. A análise de viabilidade do pólen foi estimada de acordo com o nível de coloração: pólen corado de vermelho como viável e incolor como não-viáveis. Para estabelecer a porcentagem de grãos de pólen viáveis foi determinada de acordo com a fórmula: Viabilidade do pólen (%) = N. de grãos de pólen corados/ (N. de grãos pólen total x 100).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisados 808, 2.010 e 1.201 meiócitos de *P. peruviana*, *P. philadelphica* e *P. ixocarpa*, variedade roxa, respectivamente, nas fases de meiose I e II e tétrades, sendo que apenas para a espécie *P. philadelphica* foi possível a observação do número de cromossomos na prófase/diacinese I. Entretanto, as associações cromossômicas não foram observadas em decorrência do tamanho dos cromossomos e da sua disposição na célula. Observou-se que para as três espécies analisadas o processo de divisão apresentou padrão de segregação predominantemente regular, no entanto algumas irregularidades foram observadas durante a divisão, como a presença de cromossomos retardatários ou com segregação precoce, bem como com formação de micronúcleo, tríade e pêntade. Martins et al. (2010), que estudou Capsicum, e Pagliarini (2000), ao estudar diferentes espécies como milho, *Paspalum* e cana-de-açucar, também observaram em seus estudos cromossomos com migração precoce e a presença de cromossomos retardatários.

De todas as células avaliadas, em *P. philadelphica*, 0,4% estavam no início divisão, em fase de prófase/diacinese I, onde foram observados 24 cromossomos, corroborando com Menzel, (1951) que registra a espécie como diploide 2n = 2x = 24 cromossomos. Santos et al. (2017) analisou meiócitos de *P. ixocarpa* em prófase I/diacinese I e registrou a presença de 24 cromossomos formando 11 bivalentes e 2 univalentes. Na metáfase II, foram observadas irregularidades no padrão de divisão, mas a predominância foi de metáfases normais (98,6%). Das células irregulares, 0,5% apresentaram um cromossomo retardatário e 0,9% apresentaram dois cromossomos retardatários. Dos meiócitos analisados em anáfase 93,5% apresentaram padrão de divisão normal e 6,5% apresentou um cromossomo retardatário. Pagliarini (2000) ressalta que as irregularidades meióticas observadas com mais frequência em diversas espécies é justamente a segregação cromossômica desarmônica, caracterizada pela migração precoce ou por cromossomos retardatários em metáfase I e em anáfase I. Os meiócitos analisados em telófase I apresentaram padrão normal de divisão, bem como a segunda divisão meiótica, para esta espécie. Já na formação dos produtos pós meióticos observou-se que, das células observadas, 99% formaram tétrades, enquanto 1% das células formaram tríades.

Das três espécies analisadas, pode-se observar que a *P. peruviana* foi a que apresentou o maior número de irregularidades ao longo do processo de divisão, tais como a presença de cromossomos atrasados e com ascensão precoce nas meioses I e II. Na metáfase I, de todas as células observadas 97,2% apresentaram padrão normal de divisão, enquanto 2,3% apresentaram um cromossomo retardatário e 0,5% apresentou dois cromossomos retardatários. Na anáfase I, dos meiócitos observados, 73,3% apresentou padrão normal de divisão, porém 16,7% apresentou um cromossomo retardatário e 10% apresentou dois cromossomos com ascensão precoce. As células em telófase I apresentaram padrão normal. Irregularidades foram observadas na segunda divisão, sendo que das metáfases II analisadas 97% apresentaram divisão normal e 3% apresentaram um cromossomo retardatário. Na anáfase da segunda divisão, 77,8% das células analisadas apresentaram padrão de divisão normal, enquanto 22,2% apresentaram um cromossomo retardatário, também foi observado assincronismo na divisão com células apresentando anáfase/telófase II. Ao final do processo de divisão celular, a telófase II apresentou 98% de células normais, 1% com um cromossomo retardatário e pode-se observar, em 1% das células, a presença de três conjuntos cromossômicos ao final desta fase. O produto final da divisão resultou na formação de 93,7% de tétrades normais, 0,7% tétrades com micronúcleo, 4,4% de formação de tríades e 1,2% de

pêntades (Figura 1 e Tabela 1). Pozzobon et al. (2015) avaliou o comportamento meiótico em acessos de *Capsicum chinense* e observou a presença de fusos irregulares desde a metáfase II até a telófase II. Isso gerou, como consequência, irregularidade no padrão de citocinese originando tétrades com micronúcleos e micrócitos, díades, tríades ou mais células, resultando em micrósporos desbalanceados e o que pareceu ser núcleo restituído 2n. Pozzobon et al. (2011), observou em linhagens avançadas de pimenta, ao final da divisão meiótica, a presença de tétrades com células de tamanho desigual, presença de micronúcleos nos micrósporos, díades, tríades e políades com ou sem a presença de micrócitos e, ou micronúcleos, também foram observadas. Lagos (2005) descreveu o comportamento meiótico de alguns acessos de *P. peruviana* e *P. philadelphica* e concluiu que ambas apresentaram padrão de divisão normal, apesar de em *P. peruviana* o autor ter observado a presença de algumas anormalidades, como cromossomos com ascensão precoce em metáfase I e II e cromossomos retardatários em anáfase I e II, entretanto o autor afirma que as irregularidades observadas não influenciaram a fertilidade das plantas.

P. ixocarpa (variedade roxa), foi a espécie que exibiu o menor número de irregularidades durante o processo de divisão, sendo, também, a espécie que apresentou a menor frequência de células nas fases de divisão da anáfase I, metáfase II e anáfase II. A metáfase I foi a fase que exibiu o maior número de células em divisão para esta espécie, sendo que de todas as células observadas 99,6% apresentaram padrão normal de segregação dos cromossomos, enquanto apenas 0,4% das células apresentou irregularidade com a presença de um cromossomo retardatário. A anáfase I foi uma das fases que apresentou a menor frequência de observação, em que apenas 0,33% dos meiócitos observados encontravam-se nessa fase e todos apresentaram comportamento normal de segregação dos cromossomos. Para esta espécie, não foram observadas irregularidades na segunda divisão meiótica, culminando na formação de 398 tétrades. Os resultados, obtidos neste estudo, corroboram com Santos et al. (2017) que descreveu o processo de divisão meiótica em *Physalis ixocarpa* e observou poucas irregularidades ao longo do processo de divisão, sendo estas observadas, apenas, em metáfase I e anáfase I.

O índice meiótico estimado para *P. philadelphica*, *P. peruviana* e *P. ixocarpa* (variedade roxa) foi de 99%, 94% e 100%, respectivamente. Sendo este índice considerado satisfatório, demonstrando que as espécies estudadas encontram-se meioticamente estáveis. Segundo Love (1951), índices meióticos acima de 90% é considerado bom. O autor ainda

ressalta que índices com valores abaixo pode restringir o uso da planta para melhoramento. Estudo recente que descreveu a microsporogênese em *Physalis ixocarpa* demonstrou que a espécie também se encontra meioticamente estável, com índice de 100% (SANTOS et al., 2017). Assim, como resultado do processo de divisão regular dos meiócitos nas fases da meiose I e II que culminou na formação de elevado índice de tétrades normais, associado ao elevado índice meiótico e alto índice de viabilidade dos grãos de pólen, permitem inferir na regularidade meiótica durante a microsporogênese destas espécies (BATTISTIN e MATTOS, 2002). Fernandes (1982) relata que a estabilidade meiótica é um dos fatores relacionados com a adaptabilidade das plantas, sendo esta compreendida como tendo um desempenho estável em diversas condições ambientais. Lagos (2005) estudou o comportamento meiótico em alguns genótipos de *P. peruviana* e os comparou com *P. philadelphica*, e estimou índice meiótico em 98% e 94%, respectivamente.

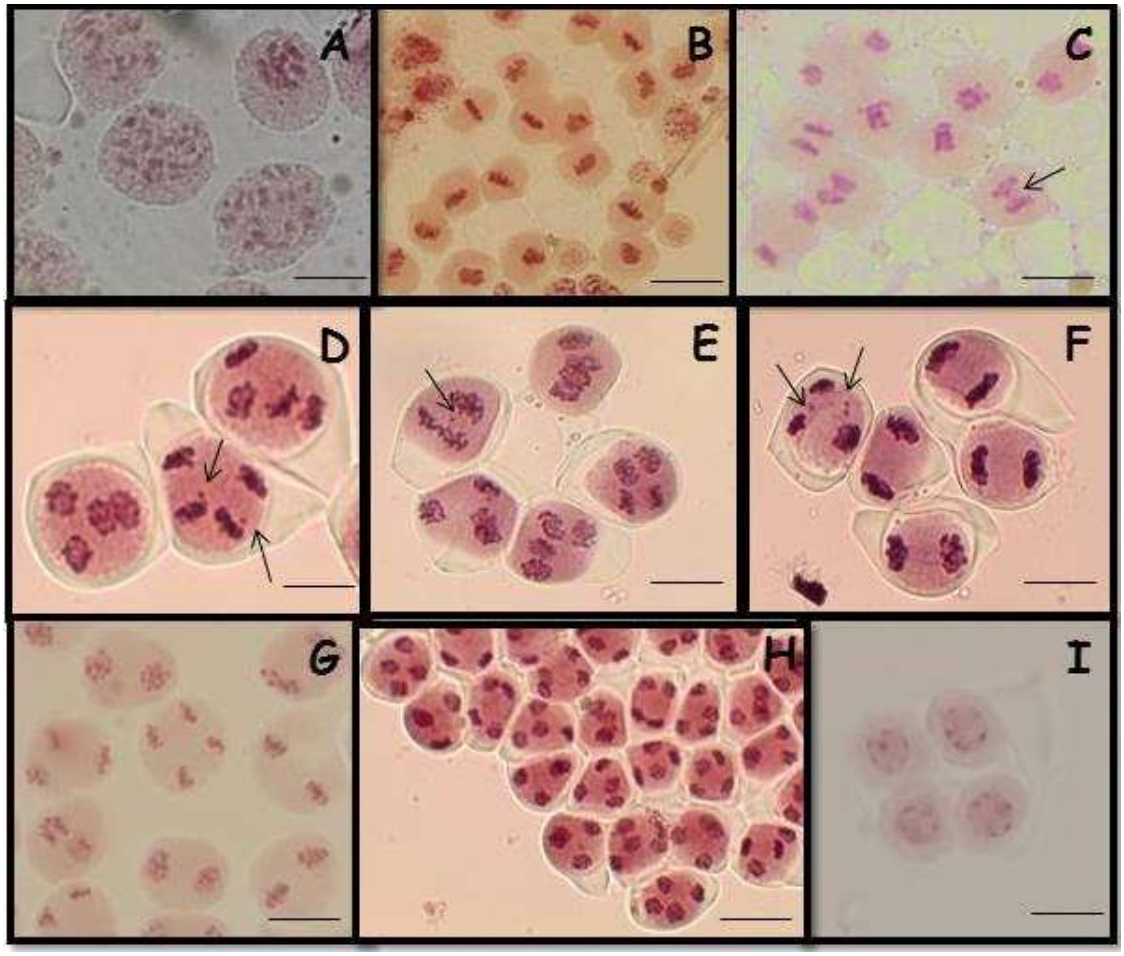

Figura 1. Meiose em espécies de *Physalis*. A) Prófase/Diacinese I. B) Metáfases I normais. C) Meiócitos em metáfase, anáfase normal e com 1 cromossomo retardatário (setas) e telófase I. D) Anáfase II com 1 cromossomo com retardatário (seta) e Telófase II normal. E) Meiócitos em anáfase II com cromossomos retardatários; Anáfase II normal e Telófase II. F) Meiócitos em telófase I e formando uma Tríade com cromossomos desorientados. G) Meiócitos em prófase II, metáse II e anáfase II normais. H) Meiócitos em telófase II normais. I) Tétrade. Barra = 1cm

Tabela 1: Comportamento meiótico em espécies de *Physalis*. Feira de Santana (2017).

Fases Meiose I e II	Número de Células		
	Physalis philadelphica	*Physalis peruviana*	*Physalis ixocarpa* roxa
Prófase/Diacinese	8	-	-
Metáfase I normal	561	214	689
Metáfase I com 1 cromossomos retardatários	3	5	3
Metáfase I com 2 cromossomos retardatários	5	1	-
Anáfase I normal	29	22	4
Anáfase I com 2 cromossomos com segregação precoce	-	3	-
Anáfase I com 1 cromossomo retardatário	2	5	-
Telófase I	66	154	30
Metáfase II normal	1	30	3
Metáfase II com 1 cromossomo retardatário	-	1	-
Anáfase II normal	5	7	2
Anáfase II normal com 1 cromossomo retardatário	-	2	-
Telófase II normal	337	319	72
Telófase II com 1 cromossomo retardatários	-	3	-
Telófase II com 3 conjuntos cromossômicos	-	3	-
Telófase / anáfase II	-	5	-
Tétrades	984	149	398
Tétrade com 1 micronúcleo	-	1	-
Tríade	9	7	-
Pêntade	-	2	-
Total	2.010	933	1.201

A viabilidade polínica estimada para *P. philadelphica*, *P. peruviana* e *P. ixocarpa* (variedade roxa) foram de 93,5; 81,35 e 93,8%, respectivamente, sendo considerada uma boa taxa de viabilidade. A menor taxa de viabilidade observada em *P. peruviana* é reflexo das diversas irregularidades observadas no comportamento dos cromossomos ao longo das fases de divisão nas meioses I e II, bem como a formação de micronúcleo, tríades e pêntades ao final da divisão, pois observa-se que estas alterações não foram capazes de comprometer, de forma significativa, a fertilidade da planta. Foram observadas células ainda em fase de divisão de meiose e polens imaturos, em meio aos grãos de pólen avaliados, do mesmo modo que nas avaliações dos meiócitos foram observadas fases variadas em um mesmo botão floral (Figura 2). Para Corrêa et al. (2005) a estimativa de viabilidade polínica por meio do teste

colorimétrico pode ser classificado como método indireto de avaliação, e sendo assim pode superestimar os resultados, já que a capacidade de corar o pólen não depende da viabilidade, mas sim do conteúdo celular dos grãos. Sendo esta avaliação realizada, em concomitância com a análise do comportamento meiótico, porém pode ser considerado um método rápido e um resultado de partida na avaliação da viabilidade.

Estudo de viabilidade polínica em *P. ixocarpa* estimou a viabilidade em 93,11% (SANTOS et al., 2017). Estudo desenvolvido por POZZOBON et al. (2011) avaliou a meiose e viabilidade polínica em linhagens avançadas de pimenta e constatou uma elevada porcentagem (>81%) de grãos de pólen corados para a maioria das linhagens permitindo inferir que, provavelmente, as irregularidades observadas na meiose não foram significativas em termos da fertilidade. Já em estudos realizados por Lagos (2005) constatou que a viabilidade polínica para *P. peruviana* oscilou entre 82% a 93%, enquanto para *P. philadelphica* a viabilidade foi estimada entre 82% e 89%.

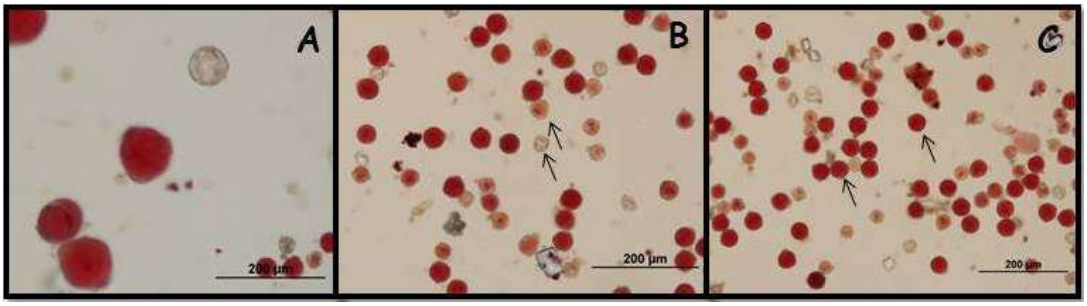

Figura 2: Grãos de pólen de espécies de *Physalis* corados com Carmim acético a 2%. A) Grão de pólen viável e inviável. B) Grãos de pólen viáveis e setas indicam grãos inviáveis e meiócitos. C) Grãos de pólen viáveis (seta).

CONCLUSÕES

- A espécie *P. philadelphica* possui 24 cromossomos;

- As espécies estudadas, encontram-se meioticamente estáveis;

- A viabilidade polínica observada, para as três espécies, é considerada elevada (*P. philadelphica* (93,5%), *P. peruviana* (81,35%) e *P. ixocarpa* (variedade roxa) (93,8%).

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, F. L. et al. Caracterização cromossômica em *Physalis angulata* L. e *P. peruviana* L. . **Magistra**, V. 27, N.1, p. 82- 89, 2015.

BATTISTIN, A.; MATTOS, A. C. F. Número de cromossomos, comportamento meiótico e viabilidade do pólen em três espécies de stylosanthes sw. (leguminosae-papilionoideae) nativas do sul do brasil. **Bioikos**, V. 16 (1/2), p.13-17, 2002.

BERNARDELLO, L. M.; HEISER, C. B. Piazzano M. Karyotypic studies in Solanum section Lasiocarpa (Solanaceae). **American Journal of Botany**, 81:95– 103, 1994.

CORRÊA, M .G. S. et al. Meiose e viabilidade polínica na família Araceae. **Acta Botanica Brasilica**, V. 19(2), p. 295-303, 2005.

FERNANDES, M. I. B. M. Estudo da instabilidade meiõtica em cultivares de trigo efeito genotipico, relação com fertilidade e seleçãode plantas estáveis. **Pesquisa agropecuária brasileira**, V. 17(8):1, p. 177-1 191, 1982.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. Como observar cromossomos. Ribeirão Preto: Ed.

KIIHL, P. R. P. et al. Chromosome stickiness during meiotic behavior analysis of Passiflora serrato-digitata L. (PASSIFLORACEAE). **Ciência Rural**, v.41, n.6, Ciência Rural, Santa Maria, 2011.

LAGOS, T. C. B. et al. Biología reproductiva de la uchuva. **Acta Agronómica Colombiana**, Palmira, v. 57, n.2, p.8187, 2008.

LAGOS, T; C. et al. Comportamiento meiótico de algunos genotipos de Physalis peruviana L. **Fitotecnia Colombiana**. V. 5, p. 1-12. 2005.

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

MARTINS, K. C. et al. Meiose e viabilidade polínica em acessos de Capsicum annuum e Capsicum baccatum. **Ciência Rural**, v.40, n.8, p.1746-1751, 2010.

MENZEL, M. Y. The Cytotaxonomy and Genetics of Physalis. **Proceedings of theAmerican Philosophical Society**. Vol. 95, No. 2, pp. 132-183, 1951.

NOVOA, R. H. et al. La madurez del fruto y el secado del cáliz influyen en el comportamiento poscosecha de la uchuva, almacenada a 12 °C (Physalis peruviana L.). Agronomía Colombiana, v. 24, n. 1, p. 77-86, 2006.

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

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

POZZOBON, M. T. et al. Comportamento meiótico em acessos de *Capsicum chinense* Jacq.do Banco de Germoplasma da Embrapa, Brasil. **Revista brasileira de Biociências**, v. 13, n. 2, p. 96-100, 2015.

POZZOBON**,** M**.** T**.** et al. Meiose e viabilidade polínica em linhagens avançadas de pimenta. **Horticultura Brasileira,** 29: 212-216, 2011.

RODRIGUES, E. et al. Minerals and essential fatty acids of the exotic fruit Physalis peruviana L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 3, p. 642-645, 2009.

RODRÍGUEZ, N.C.; BUENO, M.L. Estudio de la diversidad citogenética de *Physalis peruviana* L. (Solanaceae)**. Acta Biologica Colombiana**. Bogotá, v.11, n.2,p.75-85, 2006.

RUFATO, L. et al. Aspectos técnicos da cultura da Physalis. Lages: CAV/UDESC; Pelotas: UFpel, 2008. 100p.

SANTIAGUILLO-HERNÁNDEZ, J.F.; BLAS-YÁÑEZ, S.. Aprovechamiento tradicional de las especies de Physalis en México. **Revista de Geografia Agrícola**. 43:81-86, 2009.

SANTOS, K. S. et al. Microsporogenesis and Pollen Viability in Physalis ixocarpa. **Cytologia**, v. 82, p. 625, 2017.

SCHIFINO-WITTMANN, M. T. The cytogenetics and evolution of forage legumes from Rio Grande do Sul: a rewiew. **Genetics and Molecular Biology**, v.23, p.989-995, 2000.

SILVA, K. N.; AGRA, M. F. Estudo farmacobotânico comparativo entre *Nicandra physalodes* e *Physalis angulata* (Solanaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.4, João Pessoa, 2005.

CAPÍTULO 2

Viabilidade polínica e receptividade estigmática em espécies de *Physalis* (Solanaceae)

Viabilidade polínica e receptividade estigmática em espécies de *Physalis* (Solanaceae)

Resumo: Este trabalho teve como objetivo quantificar a viabilidade de grãos de pólen, bem como a receptividade estigmática em espécies de *Physalis*, ao longo do dia, a fim de determinar o melhor período para a realização de hibridações artificiais. A viabilidade dos grãos de pólen foi analisada por meio do método colorimétrico e através da germinação "*in vitro*" dos grãos, sendo a viabilidade do pólen foi determinada de acordo com o nível de coloração. Para a avaliação da germinação foram testados três meios de cultura, meio 1: (20% de sacarose, 0,5% ágar e com o pH de 6,5), meio 2: (0,5% ágar, 0,01% H_3BO_3, 0,03% $Ca(NO_3)_2$, 0,02% $Mg(SO_4)_1$, 0,01% KNO_3, 20% sacarose e pH 7.3) e meio 3: (ágar 8 g L^{-1}, pH do meio 5.4, sacarose 154,01 g L^{-1}, nitrato de cálcio - $Ca(NO_3)_2$ 460,14 mg L^{-1}e ácido bórico - H_3BO_3 481,13 mg L^{-1}. A receptividade estigmática foi determinada por meio do método do peróxido de hidrogênio. Os grãos de pólen das duas espécies permaneceram com boa taxa de viabilidade ao longo do dia. Apenas dois dos três meios testados apresentaram germinação do tubo polínico, porém as taxas observadas são consideradas insatisfatórias. Os estigmas de *P. ixocarpa* verde apresentou boa receptividade ao longo do dia, entretanto para *P philadelphica* e *P. ixocarpa* roxa os estigmas apresentaram melhor receptividade no período da tarde.

Palavras-chaves: Pólen, germinação, estigma, melhoramento genético.

Pollen viability and stigmatic receptivity in *Physalis* species (Solanaceae)

Abstract: This work aimed to estimate the viability of pollen grains as well as stigmatic receptivity in Physalis species throughout the day in order to determine the best period for artificial hybridizations. The viability of the pollen grains was analyzed through the colorimetric method and through the in vitro germination of the grains. The viability of the pollen was determined according to the level of staining. For the evaluation of the germination, three culture media (20% sucrose, 0.5% agar and pH of 6.5), (0.5% agar, 0.01% H3BO3, 0.03% Ca (NO3) 2, 0.02% Mg (SO4) 1, 0.01% KNO3, 20% sucrose and pH 7.3) and (agar 8 g L-1, medium pH 5.4, sucrose 154.01 g L- 1, calcium nitrate - Ca (NO 3) 2 460.14 mg L-1 and boric acid - H 3 BO 3 481.13 mg L-1. Stigmatic receptivity was determined by the hydrogen peroxide method. The pollen grains of both species remained with good viability throughout the day. Only two of the three media tested showed germination of the pollen tube, but the observed rates were considered unsatisfactory. The stigmas of P. ixocarpa verde showed good receptivity throughout the day, however for *P. philadelphica* and *P. ixocarpa* roxa the stigmas showed better receptivity in the afternoon.

Key-words: Pollen; germination; stigma; genetical enhancement.

INTRODUÇÃO

O gênero *Physalis* pertence à família Solanaceae e compreende um grupo com grande potencial, para usos diversos como na alimentação humana (*Physalis peruviana* L., *Physalis ixocarpa* Brot. ex Hornem *e Physalis philadelphica* Lam.), na produção de substâncias de uso farmacêutico (*Physalis angulata* L.) e em ornamentação (*Physalis alkekengi* L.) (MUNIZ et al., 2015). O estudo do extrato das folhas de diferentes espécies de *Physalis* têm revelado importantes atividades biológicas, como ação antibiótica, antioxidante, anticancerígena e anti-inflamatória (MUNIZ et al., 2015). Quanto à biologia floral, as espécies de *Physalis* possuem grande variação em tamanho e, principalmente, na cor de sua corola podendo ser amarelas, esverdeadas ou esbranquiçadas, com presença de manchas ou não, sendo estas relacionadas à biologia das abelhas, seu principal polinizador (MARTÍNEZ, 1998).

Estudar a viabilidade e germinabilidade polínica é de extrema importância para o melhoramento de plantas, pois em espécies alógamas cada grão de pólen transporta sua carga genética como consequência da heterozigose, permitindo que a próxima geração seja constituída de genótipos amplamente diversificados, devido à probabilidade de diferentes combinações entre os alelos que ocorre na meiose. A expressão do genótipo de um indivíduo resulta da combinação dos gametas masculino e feminino, sendo assim, quanto maior a viabilidade polínica, maior a possibilidade da formação de diferentes combinações entre alelos, e como consequência, maior será a variabilidade genética possibilitando, assim, a obtenção de ganhos na condução dos programas de melhoramento genético (SOUZA et al., 2002; POZZOBON et al, 2011).

Visando assegurar o sucesso das hibridações controladas, é importante que o pólen a ser utilizado apresente boa viabilidade. De modo geral, grãos de pólen coletados de flores, em adequado estádio de desenvolvimento, dispensam testes de viabilidade (EINHARDT et al., 2006). Além disso é fundamental estudar a receptividade dos estigmas, a fim de determinar o melhor momento de deposição do pólen na flor. Os estigmas das plantas podem ser úmidos ou secos. As espécies de estigma úmido produzem substâncias viscosas que são responsáveis por promover a hidratação do pólen. A aderência e hidratação do grão de pólen, sobre uma flor compatível, são processos reprodutivos altamente seletivos que dependem do reconhecimento das superfícies do pólen e do estigma, o que contribui para o processo de fertilização, ocasionando, posteriormente, a formação dos frutos e das sementes (ALMEIDA, 2007). Desta

forma, o sucesso em cruzamentos controlados intra e/ou interespecíficos entre pais selecionados necessita de conhecimento sobre a amplitude de variação da viabilidade do pólen, assim como o período em que o estigma floral esteja receptivo ao grão de pólen (ARENAS-DE-SOUZA et al., 2016). Por isso, trabalhos que indicam o melhor momento de coleta do pólen para a obtenção de maior porcentagem de viabilidade polínica são de extrema importância, pois fornecem informações a respeito do melhor momento para realizar hibridações artificiais (COSTA et al., 2009).

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo estimar a viabilidade e germinabilidade de grãos de pólen, bem como a receptividade estigmática em espécies de *Physalis* (*P. ixocarpa*, variedade verde e roxa, e *P. philadelphica*), ao longo do dia, a fim de determinar o melhor período para a realização de hibridações artificiais.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, no laboratório de Genética Molecular e no laboratório de Germinação de Sementes, pertencentes à unidade experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana (12° 16’ 087”S; 38° 56’ 346”W; 243 m) de altitude. Aproximadamente 50 sementes, de cada uma das espécies: *P. ixocarpa*, variedades verde e roxa, e *P. philadelphica* foram semeadas em copos com capacidade de 200 ml, contendo substrato comercial [*Techns Vivato*® (casca de pinus bio-estabilizada, vermiculita, moinha de carvão vegetal, água e espuma fenólica) na proporção 3:1]. As bandejas com os copos foram acondicionadas em casa de vegetação e, cerca de 30 dias após a semeadura, as mudas foram transplantadas para vasos com capacidade de 10 litros com terra vegetal.

Quando as plantas atingiram a floração foi determinada a viabilidade dos grãos de pólen por meio do método colorimétrico e através da germinação “*in vitro*” dos grãos. Para ambos os métodos, flores, em antese, foram coletadas ás 8 h, 11 h, 14 h e 17 h. Em seguida, as anteras foram removidas com auxilio de uma pinça, e seu conteúdo foi depositado sobre o corante e meio de cultura. O teste colorimétrico foi realizado utilizando o corante carmim acético 1% utilizando três lâminas para cada espécie, sendo contabilizados quatro campos por lâmina, totalizando 12 repetições. As lâminas foram observadas em microscópio e a

viabilidade do pólen foi determinada de acordo com o nível de coloração: pólen corado de vermelho, foi considerado como viável e incolor foi considerado como não viáveis.

Para a avaliação da germinação foram testados três meios de cultura, sendo um meio composto de 20% de sacarose, 0,5% ágar e com o pH de 6,5. Os demais meios foram propostos por Brewbacker e Kwack (1963) (0,5% ágar, 0,01% H_3BO_3, 0,03% $Ca(NO_3)_2$, 0,02% $Mg(SO_4)_1$, 0,01% KNO_3, 20% sacarose e pH 7.3) e Silva (2017) (ágar 8 g L^{-1}, pH do meio 5.4, sacarose 154,01 g L^{-1}, nitrato de cálcio - $Ca(NO_3)_2$ 460,14 mg L^{-1}e ácido bórico - H_3BO_3 481,13 mg L^{-1}. Após o preparo, as lâminas foram acondicionadas em BOD, em temperatura de 27 ºC, sob condição de luz por 24 horas. Decorrido este período, com o uso do microscópio, foram contabilizados os grãos de pólen germinados, sendo considerado germinado o grão cujo tamanho do tubo polínico tenha sido maior que o seu diâmetro. Foram confeccionadas três lâminas por espécie para cada horário avaliado, sendo contabilizado quatro campos em cada lâmina, totalizando 12 repetições por espécie a cada horário.

A receptividade estigmática (%) foi determinada por meio do método do peróxido de hidrogênio a 3%. Para isso, estigmas florais foram coletados de três plantas por espécie e depositado em lâmina contendo o peróxido. Então, com o auxílio do microscópio, observou-se a quantidade de bolhas formadas na superfície do estigma floral, sendo a intensidade desta emissão quantificada em 0, 25, 50, 75 e 100% de atividade de reação da peroxidase (ARENAS-DE-SOUZA et al., 2016; DAFNI, 1992).

Os experimentos foram estabelecidos em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial. A porcentagem de grãos de pólen viáveis foi determinada de acordo com a fórmula: Viabilidade do pólen (%) = N° de grãos de pólen corados / N° de grãos pólen total x 100. Para avaliar a germinação "*in vitro*", considerou-se três espécies, dois meios de cultura e quatro horários de observação (3 x 2 x 4). Foi realizada análise de variância e teste de média (Tukey, 1%), e regressão dos dados obtidos, por meio do software estatístico SISVAR, para a realização da avaliação da germinação "*in vitro"*, os dados foram transformados pela $\sqrt{x} + 1$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Viabilidade Polínica

Para todos os horários de observação, as taxas de viabilidade foram consideradas elevadas, pois na literatura estima-se que para a viabilidade polínica ser considerada alta, seus

valores, deve estar acima de 70%, ratificando que esses percentuais não causariam danos em trabalhos de melhoramento das espécies (SOUZA et al., 2002). A comparação das taxas de viabilidade polínica entre as espécies, por meio do teste de média, revelou que a *P. ixocarpa* verde e *P. ixocarpa* roxa não diferiram estatisticamente em relação a esta característica, entretanto a *Physalis philadelphica* apresentou taxa de viabilidade inferior as demais (Tabela 1, Figura 2).

A análise da viabilidade ao longo do dia apresentou resultados distintos de período de maior viabilidade entre as espécies, sendo que para as avaliações realizadas às 8 h, o teste de média não revelou diferença entre as espécies *P. ixocarpa* verde e roxa e *P. philadelphica*. No horário das 11 h, a *P. ixocarpa* roxa apresentou média de viabilidade superior a *P. ixocarpa* verde e *P. philadelphica*. As 14 h, as espécies *P. ixocarpa* roxa e *P. philadelphica* não apresentaram diferenças estatísticas entre si, porém foi superiores a *P. ixocarpa* verde. Para o horário de 17 h constatou-se que não houve diferença entre as P. philadelphica e *P. ixocarpa* roxa, entretanto a *P. ixocarpa* verde apresentou média distinta e abaixo das demais (Tabela 1).

Em *P. ixocarpa* verde observou-se que, em todos os períodos avaliados, o grão de pólen apresentou boa viabilidade, sendo o horário de 11 h o de menor taxa, com 84%. A *P. ixocarpa* roxa manteve taxas de viabilidade elevada ao longo de todo o dia, e *P. philadelphica* apresentou melhor viabilidade no inicio da manhã, com taxa de 92%. Os demais horários apresentaram médias inferiores a 90%, entretanto, os valores apresentados também são considerados satisfatórios, pois para Ruggiero et al. (1996) taxas de viabilidade acima de 70% confirmam alto percentual de viabilidade.

Tabela 1: Resultados médios (%) dos testes de viabilidade de pólen via carmim acético 1%, de duas espécies de *Physalis* (*P. ixocarpa* variedades verde e roxa e *P. philadelphica*) testados em diferentes horários de observação (8, 11, 14 e 17 h), Feira de Santana, 2017.

Espécie	% Viabilidade Carmim			
	8 h	11 h	14 h	17 h
Physalis Philadelphica	93,00 Aa	84,00 Bb	95,00 Aa	94,00 Aa
Physalis ixocarpa roxa	94,00 Aa	96,00 Aa	95,00 Aa	95,00 Aa
Physalis ixocarpa verde	92,00 Aa	84,00 Bb	79,00 Bb	81,00 Bb
CV (%)	10,50			
Média Geral	90,34			

*Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Souza et al. (2002) constatou em seus estudos, que a medida em que o tempo avança, a viabilidade do grão de pólen é reduzida, e assim diminui a taxa de fertilidade da planta. Desta forma, é importante estabelecer o melhor horário para coleta dos grãos de pólen, pois estes precisam ser capazes de fertilizar a planta receptora e ter a capacidade de formar o tubo polínico.

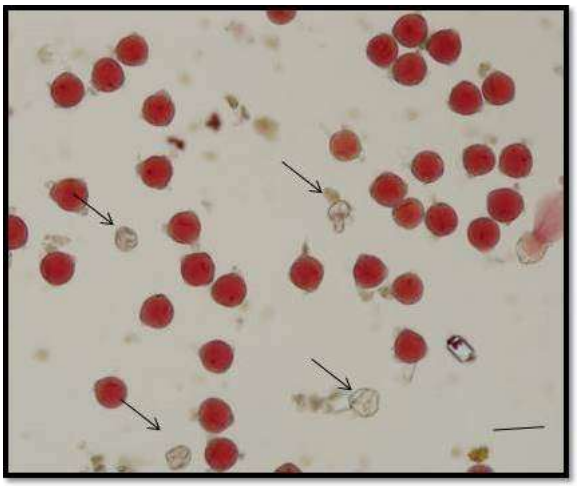

Figura 2: Grãos de pólen de *Physalis* corados com Carmim acético 1%. Setas indicam grãos inviáveis. Barra = 1cm.

Germinação "*in vitro*" de Grãos de Pólen

Ao se comparar as três espécies, por meio do teste de média, observou-se que todas apresentaram resultado semelhante, apresentando maior taxa de germinação pela manhã, com declínio ao longo do dia. Para a espécie *P. ixocarpa* verde, o meio composto por sacarose (20%) apresentou maior germinação com valores entre 2,2 e 1,6%, no inicio da manhã e final da tarde, respectivamente. Para a *P. ixocarpa* roxa, o meio que apresentou melhor germinação foi o composto de 20% de sacarose, variando entre 2 e 1,2%, ao longo do dia, e para *P. philadelphica*, o meio que apresentou melhor germinação foi o composto por sacarose (20%), com taxas compreendidas entre 5,0 e 1,3%, ao longo do dia de observação (Tabela 2). Os resultados obtidos corroboram com Ferreira et al. (2007) que estudando a viabilidade de pólen em milho observou diferenças significativas nos valores de germinação de grãos de pólen coletados nos diferentes horários (9, 14 e 16 h), e constatou que no horário de 9 h foram observados os maiores valores de germinação 60, 47,1 e 36,6%, respectivamente. Já no trabalho realizado por Costa et al. (2009), onde foi avaliada a influência do momento de coleta sobre a germinação de grãos de pólen de maracujá-doce observou-se que a viabilidade do pólen de *Passiflora alata* foi relativamente constante durante todo o período da antese floral e até um dia após a mesma, sendo que, no período de antese, as taxas de germinação foram elevadas ao longo de todo o dia, nos horários de 8h:40, 10h:45 e as 16 h, com médias de 61,94, 62,65 e 55,88, respectivamente.

Tabela 2: Resultados médios (%) dos testes de germinação "*in vitro*" de grãos de pólen utilizando dois meios de cultura, meio 1: Brewbaker e Kwack e meio 2: 20% de sacarose, de duas espécies de *Physalis* (*P. ixocarpa* variedades verde e roxa e *P. philadelphica*) testados em diferentes horários de observação (8, 11, 14 e 17 h), Feira de Santana, 2017.

	Espécie	% Germinação "*in vitro*"			
		8 h	11 h	14 h	17 h
Meio 1	*Physalis Philadelphica*	2,0 Aa	2,0 Aa	2,0 Aa	1,1 Ab
	Physalis ixocarpa roxa	1,9 Aa	1,8 Aa	1,6 Aa	1,1 Ab
	Physalis ixocarpa verde	2,0 Aa	1,6 Aa	1,8 ABa	1,3 Ab
		8 h	11 h	14 h	17 h
Meio 2	*Physalis Philadelphica*	5,0 Aa	1,3 Bb	1,3 Ab	1,7 Ab
	Physalis ixocarpa roxa	2,0 Ba	1,5 ABa	1,2 Ab	1,2 Ab
	Physalis ixocarpa verde	2,2 Ba	2,0 Aa	1,7 Aa	1,6 Aa
	CV (%)	32,55			
	Média Geral	1,71			

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pelo teste de Tukey a 5% de significância.

O meio proposto por Brewbaker e Kwack (1963) e o meio composto por 20% de Sacarose foram capazes de promover a germinação dos grãos de pólen de *P. ixocarpa* verde e roxa *e P. philadelphica*. Já o meio proposto Silva et al. (2017), estabelecido para a *P. ixocarpa* verde não foi capaz de promover a germinação dos grãos de pólen em nenhuma das três espécies estudadas. Lorenzon e Almeida (1997) avaliaram a viabilidade via germinação "*in vitro*", em linhagem híbrida de cebola, cultivadas em lgarapé, Zona Metalúrgica do Estado de Minas Gerais no ano de 1990, e observou que em período não experimental (abril), apresentaram taxas de germinação acima de 90% em meio de cultura com ácido bórico, em condições ambientais. Entretanto, a mesma linhagem foi cultivada em maio e, neste período, apresentou germinação não superior a 30% em todos os meios estudados. Assim, os autores constataram que existem fatores extrínsecos à flor que interferem na fertilidade do pólen.

O meio proposto por Brewbaker e Kwack foi desenvolvido para testar grãos de pólen de espécies com dificuldades de germinação *in vitro* em relação aos meios convencionais, contendo apenas diferentes concentrações de sacarose e/ou do ácido bórico. A distinção

básica do meio BK está na adição de íons inorgânicos (Ca^{2+}, Mg_2^{+}, K^{+}, Na^{+} e H^{+}), além do boro, que são elementos indispensáveis à germinação do pólen (BHOJWANI e BATHNAGAR, 1974; STANLEY e LINSKENS, 1974). Como se pode observar no presente estudo, a concentração dos constituintes dos meios de cultura influenciou diretamente no potencial de germinação dos grãos de pólen, pois foi observado que o meio de cultura contendo ágar, ácido bórico, nitrato de potássio, nitrato de cálcio, sulfato de magnésio e sacarose (20%), assim como o pH do meio, também pode ter afetado a germinação, pois nota-se que no meio proposto por Silva et al. (2017) o pH foi mais baixo com relação aos demais. Assim, novos estudos devem ser realizados no sentido de estabelecer o meio de cultura que promova maiores taxas de germinação do tubo polínico nas espécies de *Physalis*.

Apesar de o meio Brewbaker e Kwack (1963) ter apresentado germinação do tubo nas espécies em estudo, também se pode observar que o meio, composto por 20% de sacarose, foi capaz de promover a germinação dos tubos polínicos. Este resultado corrobora com Zambon et al. (2014), que ressaltaram que a adição de sacarose ao meio de cultura tem por finalidade fornecer energia aos processos biossintéticos que envolvem o crescimento, a diferenciação e a morfogênese celular. Dessa forma, a adição de sacarose promoveu a maior porcentagem de germinação à medida que se aumenta a concentração da mesma, o que justifica uma maior oferta de energia, com favorecimento do crescimento do tubo polínico.

Segundo Albuquerque Jr. et al. (2010), que realizou um trabalho com a germinação de pólen de diferentes cultivares de macieira, taxas de germinação superiores a 30% são suficientes para assegurar boa fecundação e frutificação da espécie estudada. Assim como no trabalho realizado por Zambon et al. (2014), onde a análise estatística dos resultados revelou diferença significativa entre as cultivares, com taxas de germinação superior entre 77,62% e 82,23% para as cultivares Alaranjado e Cheldow, respectivamente. Estudos realizados com espécies de passiflora demonstraram que o meio M3 (0,03% $Ca(NO_3).4H_2O$, 0,02% $Mg(SO_4).7H_2O$, 0,01% KNO_3 , 0,01% H_3BO_3, 15% sacarose, solidificado com 0,8% ágar e pH 7.0.) promoveu elevadas taxas de germinação para *Passiflora edmundoi*, com 59,24% grãos de pólen germinados. Além disso, observaram-se as taxas de germinação mais baixas em *Passiflora galbana* (8,53%) quando inoculado neste mesmo meio de cultura (M3) (SOARES et al., 2013). De acordo com Ferreira et al., (2007) a técnica de germinação *in vitro*, em meio de cultura, simula as condições do estilo-estigma, induzindo a germinação do tubo polínico. Assim, para cada espécie deve-se estabelecer um protocolo específico de meio de cultura para

a obtenção de boas taxas de germinação do grão de pólen, sendo que o constituinte sacarose é indispensável na composição do meio, enquanto ácido bórico e o cálcio di-hidratado, parecem ter o efeito de maximizar a eficiência do meio. A utilização do ágar, geralmente, promove a consistência ao meio e evitando danos ao tubo polínico, durante a avaliação.

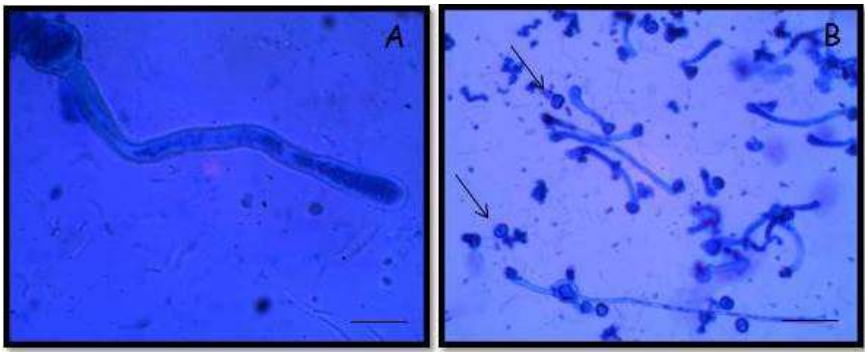

Figura 3: Germinação "*in vitro*" grãos de pólen de espécies de *Physalis* (A) Grão de pólen germinado; (B) Grão de pólen germinado e não germinado (setas).

Receptividade dos Estigmas

Foi detectada diferença de receptividade entre as espécies. No horário de 8 h, *P. philadelphica* apresentou menor receptividade, diferindo da *P. ixocarpa* roxa e verde, que obtiveram as maiores receptividades para este horário. No segundo horário de observação (11 h), a *P. ixocarpa* verde e *P. philadelphica* foram superiores a *P. ixocarpa* roxa, porém não diferiram entre si. Nas observações nos horários de 14 h e 17 h, as espécies não diferiram estatisticamente entre si para a receptividade, apresentando resultados de receptividade considerados elevados (Tabela 3).

Tabela 3: Resultados médios (%) dos testes de receptividade de estigma via peróxido de hidrogênio, de duas espécies de *Physalis* (*P. ixocarpa* variedades verde e roxa e *P. philadelphica*) testados em diferentes horários de observação (8, 11, 14 e 17h), Feira de Santana, 2017.

Espécie	% Receptividade de Estigma			
	8 h	11 h	14 h	17 h
Physalis Philadelphica	58 Bb	50 ABb	100 Aa	100 Aa
Physalis ixocarpa roxa	83 ABb	33 Bc	100 Aa	92 Aa
Physalis ixocarpa verde	92 Aa	75 Ab	92 Aa	100 Aa
CV (%)	17,76			
Média Geral	81,25			

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para que o sucesso da fertilização seja alcançado é desejável que o grão de pólen seja transferido para o estigma de outra flor quando este estiver receptivo. Entretanto, a fecundação também pode acontecer quando o grão de pólen for depositado antes do período receptivo dos estigmas, para isto é necessário que o pólen permaneça viável por período suficiente para germinar assim que a flor se tornar receptiva (RAMOS et al., 2008). Assim, entender o sistema reprodutivo das espécies é de fundamental importância para a compreensão da biologia reprodutiva e funciona como base para subsidiar programas de melhoramento genético (ZEN e ACRA, 2005). Deste modo, a interação entre o pólen e o estigma esta intimamente ligada ao estudo da viabilidade dos grãos dos grãos de pólen, da receptividade estigmática e das relações genéticas entre eles (DAFNI, 1992).

Arenas-de-Souza et al. (2016), estudaram a receptividade estigmática e viabilidade polínica em *theobroma subincanum*, ao longo do período de antese, e observou que os estigmas desta espécie apresentaram-se receptivos em todos os momentos de avaliação. O autor ressaltou que o conhecimento da receptividade estigmática é fator essencial, uma vez que o sucesso da fertilização ocorrerá somente quando o pólen consegue desenvolver seu tubo polínico sob a superfície estigmática receptiva. Souza et al. (2010) também utilizou a metodologia do peróxido de hidrogênio 3%, em seus estudos, e observou que houve borbulhamento na cavidade estigmática, indicando a atividade da peroxidase, tanto para as avaliações com flores em estádio de pré-antese, quanto em flores completamente abertas. Foi

observado que, geralmente, em flores a partir da antese ocorreu maior número de estigmas receptivos.

Em estudos de receptividade estigmática em meloeiro pode-se observar que o estigma esteve receptivo em todos os horários de coletas, demonstrando que ao fim da tarde ainda era possível realizar os cruzamentos, apesar da viabilidade do grão de pólen estar reduzida (ABREU et al., 2008). Ramos et al. (2008) ressaltam, em seu estudo, que apesar da atividade enzimática da peroxidase ser maior em flores abertas, fato que pode afetar positivamente no sucesso da fertilização, por outro lado, também pode ser indicativo de contaminações por polinização natural, então recomenda-se que cada flor seja protegida individualmente ate o momento da fertilização.

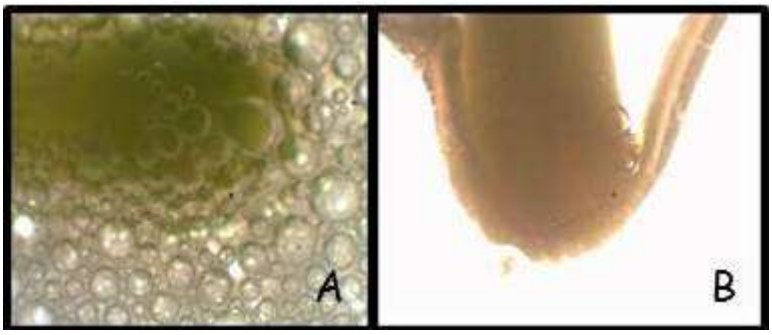

Figura 4: Receptividade de estigma em espécies de *Physalis*. (A) Estigama receptivo; (B) Estigma não receptivo.

CONCLUSÕES

- Os grãos de pólen das duas espécies estudadas apresentaram boa viabilidade ao longo dia;
- Novos estudos devem ser realizados para determinar o meio de cultura mais eficiente para a germinação do tubo polínico em espécies de *Physalis*;
- A hibridação para *P. ixocarpa* verde pode ser realizada em qualquer momento do dia, e em *P philadelphica* e *P. ixocarpa* roxa recomenda-se que a hibridação seja realizada no período da tarde.

REFERÊNCIAS

ABRÊU, F. L. G.; CAZETTA, J. O.; XAVIER, T. F. Adubação fosfatada no meloeiro-amarelo: reflexos na produção e qualidade dos frutos. Revista Brasileira Fruticultura, v. 33, n. 4, p. 1266-1274, 2011.

ALBUQUERQUE JR., C. L. J.; DENARDI, F.; DANTAS, A. C. M.; NODARI, R. O. Número de anteras por flor, grãos de pólen por antera e capacidade germinativa do pólen de diferentes cultivares de macieiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.4, p.1255-1260, 2010.

ALMEIDA, O. S. **Biologia floral. Tendências reprodutivas e efeito alelopático da tulase (Ocimum sanctum L.)**. Dissertação (Mestrado -Curso de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista. 2007. 88p.

ARENAS-DE-SOUZA, M. D.; ROSSI, A. A. B.; VARELLA, T. L.; SILVEIRA, G. F.; SOUZA, S. A. M. Stigmatic receptivity and pollen viability of theobroma subincanum mart.: fruit species from the amazon region. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 4: (e-757), 2016).

BHOJWANI, S. S.; BHATNAGAR, S. P. **The embryology of angiosperms**. New Delhi, Sylark Painters, 368p, 1974.

BREWBAKER, J. L.; KWACK, B. H. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. **American Journal of Botany**, V. 50, p. 859-865, 1963.

COSTA, R. S.; MÔRO, F. V.; OLIVEIRA, J. C. Influência do momento de coleta sobre a viabilidade de grão de pólen em maracujá-doce (Passifl ora alata Curtis). **Revista Brasileira Fruticultura,** v. 31, n. 4, p. 956-961, 2009.

DAFNI, A. Pollination ecology: a pratical approach. **[S.1]: Oxford University Press**, p. 250, 1992.

EINHARDT, P. M.; CORREA, E. R.; RASEIRA, M. C. B. Comparação entre métodos para testar a viabilidade de pólen de pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.28, n.1, p.5-7, 2006.

FEREIRA, C. A., PINHO, E. V. R. V., ALVIM, P. O., ANDRADE, V., SILVA, T. T. A.; CARDOSO, D. L. Conservação e determinação da viabilidade de grão de pólen de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, V. 6, p. 159-173, 2007.

LORENZON, M. C.; ALMEIDA, E. C. Viabilidade e germinação do pólen de linhagens parentais de cebola híbrida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, V. 32, p. 345-349, 1997.

MARTÍNEZ, M. Revision of *Physalis* section *epeteiorhiza*. **Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México, Série Botânica**, v. 69, n. 2, p. 71-117, 1998.

MUNIZ, M.; MOLINA, A. R.; MUNIZ, J. Physalis: Panorama produtivo e econômico no Brasil. **Horticultura brasileira**, V. 33, n. 2, 2015.

POZZOBON, M. T.; SOUZA, K. R. R.; CARVALHO, S. I. C.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. Meiose e viabilidade polínica em linhagens avançadas de pimenta. **Horticultura brasileira**, v. 29, n. 2, 2011.

RAMOS, J. D.; Moacir, P.; Salles, L. A.; Chagas, E. A.; Pio, R.Stigma receptivity and in vitro citrus pollen grains germination protocol and adjustment**. Interciencia**, v.33, n.1, p.51-55, 2008.

RUGGIERO, C.; SÃO JOSÉ, A. R.; VOLPE, C. A.; OLIVEIRA, J. C.; DURINGAN, J. F.; BAUMGARTNER, J. G.; SILVA, J. R.; NAKAMURA, K.; FERREIRA, M. E.; KAVATI, R.; PEREIRA, V. P. Maracujá para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília, DF: EMBRAPA. SPI, Publicações Técnicas Frupex,19. 1996.64p

SILVA, D. F.; PIO, R.; NOGUEIRA, P. V.; SILVA, P. A. O.; FIGUEIREDO, A. L. Viabilidade polínica e quantificação de grãos de pólen em espécies de fisális. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 2, p. 365-373, 2017.

SOARES, T. L.; JESUS, O. N.; SANTOS-SEREJO, J. A.; OLIVEIRA, E. J. In vitro pollen germination and pollen viability in passion fruit (Passiflora spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, V. 35, n. 4, p. 1116-1126, 2013.

SOUZA, M. M.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Ciência e Agrotecnologia** 26: 1209-1217, 2002.

STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. F. **Pollen biology biochemistry management**. Berlin, Springer-Verlag, 307p. 1974.

ZAMBON, C. R.; SILVA, L. F. O.; PIO, R.; FIGUEIREDO, M. A.; SILVA, K. N. Estabelecimento de meio de cultura e quantificação da germinação de grãos de pólen de cultivares de marmeleiros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 400-407, 2014.

ZEN, D. M.; ACRA, L. A. Biologia floral e reprodutiva de Apaganthus africanus (L.). Hoffmanns (LILIACEAE). **Revista Estudos Biologia**, v. 27, n. 59, p. 35-39, 2005.

CAPÍTULO 3

Variabilidade genética em *Physalis* com base em características físico-químicas de frutos

Variabilidade genética em *Physalis* com base em características físico-químicas de frutos

Resumo: O presente estudo teve como objetivo estimar parâmetros genéticos, estabelecer análise de correlações fenotípicas e divergência genética, por meio de caracteres físico-químicos de frutos de *physalis*, visando fornecer informações que possam auxiliar futuros trabalhos de melhoramento do gênero. Foram avaliados descritores físicos e químicos dos frutos das duas espécies, sendo eles: PMF (peso médio de frutos), SS °Brix (sólidos solúveis), DL (diâmetro longitudinal do fruto), DT (diâmetro transversal do fruto), PTF (peso total de frutos), NF (número de frutos), AR (açucares redutores) e AT (açucares totais). O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados, com três tratamentos, seis repetições e parcela experimental composto por seis plantas. Foram estimados os parâmetros genéticos, as correlações e divergência genética. No que tange a herdabilidade, as características PMF (peso médio de frutos), DLF (diâmetro longitudinal do fruto), DTF (diâmetro transversal do fruto) e AT (açucares totais) apresentaram os valores mais elevados, demonstrando possibilidades de ganhos na seleção. Para as análises de correlações fenotípicas, foram observadas correlações positivas, pelo teste t e teste de Mantel, baseado em 5.000 simulações, para as características: PMF (peso médio do fruto) x DLF (diâmetro longitudinal do fruto), PMF (peso médio do fruto) x DTF (diâmtro transversl do fruto), DLF (diâmetro longitudinal do fruto) x DTF (diâmtro transversl do fruto), PTF (peso total de frutos) x NF (número de furtos), PTF (peso total de frutos) x AT (açucares totais) e NF (número de frutos) x AT (açucares totais). Na análise de divergência o método de Toucher foi mais sensível que o UPGMA para a discriminação das espécies. Por meio da avaliação da contribuição relativa para a divergência observou-se que os caracteres DTF (diâmtro transversl do fruto), AT (açucares totais) e DLF (diâmetro longitudinal do fruto) apresentaram as maiores contribuições. As características avaliadas: peso médio do fruto, diâmetro longitudinal do fruto, diâmetro transversal do fruto e açucares total, demonstraram-se promissoras para desenvolvimento de trabalhos que visem a obtenção de ganhos na seleção, bem como em análise de divergência genética, a fim de selecionar genótipos superiores.

Palavras-chave: Herdabilidade; dissimilaridade; seleção; melhoramento.

Genetic parameters, correlations phenotypic and genetic divergence based on physical-chemical characteristics of *Physalis* fruits

Abstract:

The present study aimed to estimate genetic parameters, to establish analysis of phenotypic correlations and genetic divergence, using physicochemical characters of fruits of physalis, aiming to provide information that may help future work of improving the genus. The physical and chemical descriptors of the fruits of the two species were evaluated: PMF (mean fruit weight), SS ° Brix (soluble solids), DL (longitudinal fruit diameter), DT total number of fruits), NF (number of fruits), AR (reducing sugars) and AT (total sugars). The experimental design was randomized blocks, with three treatments, six replications and experimental plot of six plants. Genetic parameters, correlations and genetic divergence were estimated. Regarding heritability, the PMF, DLT, DTF and AT characteristics presented the highest values, demonstrating possibilities of selection gains. For the analyzes of phenotypic correlations, positive correlations were observed by the t test and Mantel test for the characteristics: PMF x DL, PMF x DT, DL x DT, PTF x NF, PTF x AT and NF x AT. In the analysis of divergence the Toucher method was more sensitive than the UPGMA for the discrimination of the species. By evaluating the relative contribution to the divergence it was observed that the DTF, AT and DLF characters presented the greatest contributions. The evaluated characteristics: average fruit weight, fruit longitudinal diameter, fruit cross-sectional diameter and total sugars, were shown to be promising for the development of studies aimed at gaining selection, as well as genetic divergence analysis, in order to select superior genotypes.

Keywords: Heritability; dissimilarity; selection; improvement.

INTRODUÇÃO

Originário do México, o tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) também conhecido como tomate verde ou tomatillo é uma hortaliça amplamente utilizada no ramo alimentício (PEÑA-LOMELÍet al., 2014). A *Physalis philadelphica* Lam. (Solanaceae), anteriormente denominada *Physalis ixocarpa*, também possui origem no México e seu uso vem crescendo amplamente em muitos países. Seus frutos são verdes e azedos, quando maduros, e são utilizados como ingrediente culinário na preparação de muitos molhos. Esta espécie, também, vem sendo utilizada na medicina tradicional para aliviar febre, tosse e amigdalite (MALDONADO et al., 2011). Apesar da importância dessas espécies, tanto do ponto de vista comercial, quanto medicinal, poucas e dispersas são as informações a seu respeito (MONTES HERNÁNDEZ e AGUIRRE RIVERA, 1994).

As flores de *Physalis ixocarpa* são hermafroditas, entretanto esta espécie é considerada alógama obrigatória, pois possui um sistema de autoincompatibilidade (PANDEY, 1957). Nesta planta, do total de flores que apresenta, apenas 40% são fecundadas e, destas, aproximadamente 30% chegam a formação de frutos maduros (SANTIAGUILLO HERNÁNDEZ et al., 2012; PEÑA LOMELÍ et al., 2004).

Estudos de caracterização morfológica de plantas são úteis para identificar acessos de germoplasma, em coleção, e como ferramenta auxiliar no melhoramento genético (VEIGA et al., 1996). Avaliar as características físicas e químicas de frutos é de grande importância para a sua comercialização e manuseio. A aparência externa dos frutos, tais como tamanho, consistência, espessura, forma e coloração da casca são fatores importantes para a aceitabilidade pelos consumidores (COSTA et al., 2004). Os constituintes responsáveis pela qualidade dos frutos recebem a influência direta da cultivar, condições climáticas, solo, tratos culturais e estádios de maturação (HULME, 1970).

A expressão do potencial de rendimento observado, nos cultivos, advém do genótipo, do ambiente e da interação entre o genótipo x ambiente. Desta forma, é importante estudar, de forma simultânea, diferentes variedades em cada sistema de produção, a fim de determinar qual a melhor variedade em cada sistema. Em tomate de cáscara, o sistema de produção de irrigação laminada é o mais frequente. Entretanto, podem-se encontrar áreas comerciais onde a irrigação por gotejamento é utilizada, em condições de céu aberto (PEÑA-LOMELÍ et al., 2008). A prática agrícola em cultivos do tomate de cáscara requer a geração de cultivares, com melhoria dos seus atributos químicos e físicos, que atendam às necessidades do mercado

nacional e internacional. Dentre as características a serem melhoradas estão: o desempenho, o hábito de crescimento, a distribuição da produção, assim como a cor, a forma e o tamanho de fruto. Alem disso, concentrar a produção em tempo reduzido deve ser uma estratégia a ser priorizada, devendo estar elencados entre um dos objetivos para o aprimoramento genético da espécie (PEÑA e MÁRQUEZ, 1990; PEÑA et al., 2008).

Na seleção de materiais genéticos superiores faz-se necessário que os indivíduos a serem selecionados reúnam, ao mesmo tempo, uma sequência de atributos favoráveis que lhes confiram maior rendimento, satisfazendo às exigências do consumidor. Sendo assim, uma forma de conseguir aumentar o êxito de um programa de melhoramento é a realização de experimentos confiáveis, a partir dos quais se consegue obter grandes volumes de dados experimentais. E, com base na manipulação adequada destes dados, é possível estimar os parâmetros genéticos e interpretar os fenômenos biológicos. Entretanto, para a realização das análises e interpretação dos resultados é indispensável a utilização de recursos computacionais e aplicativos eficientes à disposição do cientista (CRUZ, 1998). O crescente aumento no uso de técnicas multivariadas para fins de quantificação dos parâmetros genéticos e da divergência genética tem sido verificado, já que essas análises permitem considerar simultaneamente inúmeras características (SUDRÉ et al., 2007).

As estimativas de parâmetros genéticos podem ser utilizadas, além de seu uso tradicional, como subsídio para o planejamento de estratégias eficientes de melhoramento, pois esta se encontra na própria predição de valores genéticos (RESENDE et al., 2001). No melhoramento genético, a seleção de genótipos superiores tem por finalidade identificar, simultaneamente, vários caracteres e realizando-se o estudo das correlações fenotípicas poderá auxiliar a seleção do tipo de planta mais adequada às exigências de uma agricultura moderna e competitiva (COIMBRA et al., 2000; SANTOS e VENCOVSKY (1986). Técnicas que auxiliem na escolha da melhor estratégia de seleção, tais como as análises de correlação tornam-se importantes ferramentas para uma melhor compreensão das relações genéticas entre os caracteres (SILVA et al., 2007).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo estimar parâmetros genéticos, estabelecer análise de correlações genéticas e divergência, por meio de caracteres físico-químicos de frutos de *Physalis*, visando fornecer informações que possam auxiliar futuros trabalhos de melhoramento do gênero.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no campo experimental do Horto Florestal, situados na unidade experimental da Universidade Estadual de Feira de Santana (12° 16’ 087”S; 38° 56’ 346”W; 243 m), no período de maio a julho de 2017. De acordo com a Köppen e Geiger o clima é classificado como Aw. Com temperatura média de 23.0 °C e pluviosidade média anual de 888 mm.

Sementes de *Physalis ixocarpa*, variedades verde e roxa, e de *Physalis philadelphica* foram semeadas em copos contendo Terra vegetal e o substrato comercial TechnsVivato® (casca de pinus bio-estabilizada, vermiculita, moinha de carvão vegetal, água e espuma fenólica) na proporção 3:1 e acondicionadas em casa de vegetação. Após 15 dias as mudas foram transplantadas para campo experimental.

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados completos, com três tratamentos (espécies), seis repetições e parcela experimental de seis plantas.

Frutos maduros foram coletados e avaliados com base nos seguintes descritores físicos e químicos dos frutos das duas espécies:

- Peso médio do fruto (PMF): obtido pela média de cinco frutos colhidos ao acaso, em g.
- Diâmetro longitudinal do fruto (DLF): obtido pela média de cinco frutos colhidos ao acaso, em mm.
- Diâmetro transversal do fruto (DTF): obtido pela média de cinco frutos colhidos ao acaso, em mm.
- Peso total de frutos por planta (PTF): pesagem, em g, de todos os frutos da planta.
- Número de frutos por planta (NFP): unidadescontagem do número de frutos por planta.
- Sólidos solúveis (SS): obtidos em °Brix, oriundos de cinco frutos colhidos ao acaso.
- Açúcares redutores (AR): obtido em microgramas por grama de massa fresca, oriundos de cinco frutos colhidos ao acaso (MILLER, 1959).
- Açúcares totais (AT): obtido em microgramas por grama de massa fresca pelo método da Antrona, (YEMM e WILLIS, 1954), oriundos de cinco frutos colhidos ao acaso.

Adicionalmente, as avaliações dos frutos foi realizada no laboratório de genética molecular (LAGEM) e laboratório de germinação de sementes (LAGER) da UEFS.

Inicialmente, os dados os dados que necessitaram foram transformados e avaliou-se as pressuposições da ANOVA, então os dados foram submetidos à análise de variância, a fim

de se verificar a existência de variabilidade genética entre as espécies, sendo que suas médias foram agrupadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os parâmetros genéticos e seus estimadores foram analisados para cada característica, utilizando-se as seguintes expressões (CRUZ, 2006):

- Variância fenotípica: $\sigma_F^2 = QMg/r$
- Variância ambiental média: $\sigma_A^2 = QMr/r$
- Variância genotípica média: $\sigma_G^2 = (QMg - QMr)/r$
- Coeficiente de variação genético: $CVg = 100(\sqrt{\sigma^2 g/m})$
- Coeficiente de variação experimental: $CVe = 100(\sqrt{QMe/m})$
- Quociente: razão = CVg/CVe
- Herdabilidade no sentido amplo: $h_a^2 = \sigma_G^2/\sigma_F^2$.

A matriz de correlação fenotípica entre os caracteres foi definida por meio da análise de variância dos dados originais, aplicando o estimador do coeficiente de correlação de Pearson. As significâncias das estimativas das correlações foram verificadas pelo teste de Mantel, com base em 5.000 simulações (CRUZ, 2006).

As estimativas dos componentes de variância, parâmetros genéticos e correlações foram obtidos utilizando-se o aplicativo computacional GENES (CRUZ, 2013).

Na análise da divergência genética foram empregados métodos multivariados, onde foram aplicadas técnicas de agrupamento. Foi utilizada a distância generalizada de Mahalanobis como medida de dissimilaridade, a partir da qual se realizou o agrupamento dos diferentes genótipos por meio do método hierárquico UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) e de otimização proposto por Tocher, citado por Rao (1952). As análises genético-estatísticas foram realizadas com o auxílio do software GENES (CRUZ, 2013). No método UPGMA realizou-se a validação dos agrupamentos, determinada pelo coeficiente de correlação cofenético, de acordo com Sokal e Rohlf (1962). A significância dos coeficientes de correlação cofenético foi calculado pelo teste de Mantel com 5.000 permutações (MANTEL, 1967). O ponto de corte foi definido pelo método de Mojena (1977), obtido com o auxílio do pacote “NbClust” do programa computacional R (CHARRARD et al., 2014) e a contribuição relativa dos caracteres para a divergência genética foi determinada utilizando o critério proposto por Singh (1981).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de média, comparando as espécies estudadas, revelou apenas o descritor PMF foi capaz de diferenciar as espécies, sendo que *P. ixocarpa* (variedade verde) apresentou média de peso superior em relação às demais (74,21 kg), a 5% de significância .

Os descritores físico-químicos utilizados detectaram variabilidade genética entre as espécies estudadas (*P. Philadelphica, P. ixocarpa* (variedades verde e roxa)). O caractere PMF apresentou significância de 1%, enquanto DLF, DTF e AT apresentaram diferenças a 5% de significância (Tabela 1). O Coeficiente de Variação (CV) expressa uma medida de variabilidade que mensura, em percentual, a relação entre o desvio padrão (s) e a média aritmética, apresentando a vantagem de fornecer um valor adimensional, independentemente da unidade de medida utilizada. Trabalhos utilizando esses indicadores de precisão, obtidos com base no maior número de experimentos semelhantes possíveis, são necessários para a avaliação da qualidade da pesquisa, tendo em vista a obtenção de progresso genético (FERREIRA, 1991; LEITE et al., 2015). Os coeficientes de variação experimental, para todos os descritores utilizados foi calculado, sendo que o menor valor observado foi de 11,03 para a característica DLF, e o maior valor de 68,48, para a característica PTF (Tabela 2). Os resultados obtidos estão de acordo com Silva (2007) que desenvolveu um trabalho de seleção e variabilidade genética para caracteres qualitativos e quantitativos em progênies de *Physalis angulata* e considerou que o coeficiente de variação experimental para características do fruto alcançou valores médios para os caracteres: diâmetro transversal (12,04), diâmetro longitudinal (10,62) e teor de sólidos solúveis totais (14,08), o que indica boa precisão experimental para estes caracteres. Porém a característica peso do fruto foi a exceção, apresentando o coeficiente de variação alto (48,09).

Tabela 1: Resumo da análise de variância dos caracteres peso médio do fruto (PMF), Sólidos solúveis (SS), diâmetro longitudinal do fruto (DLF), diâmetro transversal do fruto (DTF), peso total de frutos (PTF), numero de frutos (NF), açucares redutores (AR) e açucares totais (AT), das duas espécies de *physalis* avaliadas, em Feira de Santana, BA.

		Quadrado médio							
FV	GL	PMF	SS	DL	DT	PTF	NF	AR	AT
Bloco	5	899,51	0,279	22,49	43,94	99476,79	400,67	11,64	91,94
Trat.	2	1887,1**	0,11ns	40,41*	62,76 *	14562,29 ns	337,49ns	10,83ns	330,91 *
Resíduo	10	229,93	0,2736	7,4088	10,974	37105,82	161,366	5,638	45,682
Média		54,31	4,01	24,67	26,48	281,28	20,05	7,36	27,92
CV (%)		27,92	13,04	11,03	12,51	68,48	63,36	32,27	24,21

** e * significativos a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste F
ns não-significativo; pelo teste F

A análise de parâmetros genéticos foi realizada para os descritores que apresentaram resultados significativos, como demonstrados na Tabela 2. Pôde-se observar que, para as características PMF, DLF, DTF e AT, a contribuição genotípica foi superior a ambiental, demonstrando, assim, uma maior influência genética em detrimento do ambiente. Fato comprovado pelos valores do coeficiente de variação genética CVg (%) que, segundo LEITE et al. (2015), são empregados para demonstrar a variabilidade genética existente na população para cada caráter avaliado. Assim, quanto maior a estimativa do coeficiente de variação genético, mais efetiva a seleção e maior a possiblidade de ganho genético na população. No presente estudo, observou-se uma amplitude de variação de 9,51 a 30,60, com destaque para as características PMF e AT (Tabela 2). Os menores CVg (%) foram apresentados pelo DLF e DTF (Tabela 2). Os resultados de CVg encontrados no presente estudo, apresentaram semelhança aos relatados por Silva (2007), para *Physalis angulata*, onde o autor também observou que as características Diâmetro longitudinal do fruto e Diâmetro transversal do fruto apresentaram valores considerados baixos de CVg, com 5,94 e 7,28, respectivamente, quando comparados ao valor obtido para a cararcteristica peso médio do fruto, que neste trabalho apresentou CVg de 30,60, enquanto que em *Physalis angulata* o valor obtido foi de 48,84.

Tabela 2: Parâmetros genéticos para as características que apresentaram significância, com os valores de média, mínimos e máximos, DMS-Tukey (1% e 5%), variâncias: fenotípica (σ_F^2), genotípica (σ_G^2) e ambiental (σ_A^2), herdabilidade média (ha^2), coeficiente de variação genética (CVg) e razão CVg/CVe para espécies de Physalis. Feira de Santana-BA.

Parâmetros	PMF	DLF	DTF	AT
Mínimo	24,31	17,79	19,05	9,56
Máximo	108,91	33,06	39,12	46,89
σ_F^2	314,52	6,73	10,45	55,14
σ_A^2	38,32	1,23	1,82	7,61
σ_G^2	276,20	5,50	8,63	47,53
CVg (%)	30,60	9,51	11,10	24,69
CVg/CVe	1,10	0,86	0,89	1,02
h^2 (%)	87,82	81,67	82,52	86,19

PMF (peso médio de frutos); DLF (diâmetro longitudinal do fruto; DTF (diâmetro transversal do fruto) e AT (açucares totais dos frutos).

Outro parâmetro de grande relevância em programas de melhoramento genético é a relação CVg/CVe, tendo em vista ser um indicativo de superioridade dos componentes genéticos em relação aos componentes ambientais. Para Vencovsky (1987) quando a relação CVg/CVe tende a 1,0 ou maior que 1,0 mostrando um indicativo de obtenção de ganhos na seleção, sugerindo que a característica pode ser facilmente trabalhada no melhoramento. Neste estudo, foram observados valores acima de um para as características PMF (1,10) e AT (1,02), entretanto os valores obtidos para as características DLF (0,86) e DTF (0,89) alcançaram valores próximos a unidade (Tabela 2).

O coeficiente de herdabilidade constitui caráter de extrema importância para um programa de melhoramento genético, pois prediz o ganho com a seleção antes que ela seja realizada (RAMALHO et al. 2012). A herdabilidade (h^2) é uma grandeza que quantifica a influência genética e expressa que parte da variação da população, observada em um fenótipo, pode ser atribuída à variação no genótipo, possibilitando estimativas como o ganho genético esperado com a seleção (ALLARD, 1999). Observou-se para as características avaliadas, PMF, DLT, DTF e AT, valores de herdabilidade elevados, superiores a 80%, corroborando com Stansfield (1974), que classifica como alto valores de herdabilidade maiores que 0,7. As estimativas elevadas para h^2 estão relacionadas à variância genética inerente aos genótipos testados, em razão de cada um deles contribuir com uma identidade genética distinta

(TEIXEIRA et al., 2007). Silva (2007), ao avaliar caracteres de frutos (DL, DT, PF e SS) em progênies de *Physalis angulata*, identificou valores altos de herdabilidade, com amplitude de 0,48 a 0,75. Peña-Lomelíet et al. (2008) observou, em uma variedade de *Physalis ixocarpa* (CHF1 CHAPINGO), valores de herdabilidade para características do fruto (peso, rendimento, número de frutos por planta) variando de 37,5 e 57,8.

Outro parâmetro de grande importância para o melhoramento é o estudo de correlação. Essa associação entre os caracteres são, em geral, avaliadas por meio das correlações fenotípicas, genotípicas e de ambiente, entretanto somente as correlações genotípicas que envolvem uma associação de natureza herdável apresenta maior interesse para o melhoramento (NOGUEIRA et al., 2012). As correlações observáveis são as fenotípicas, ou seja, são estimadas diretamente de medidas fenotípicas, sendo necessários distinguir suas duas causas: a genética e a ambiental (CRUZ et a., 2004; FERREIRA et al., 2003).

A estimativa do coeficiente de correlação pode variar teoricamente de -1 a +1. Quando positivo, o coeficiente de correlação indica a tendência de uma variável aumentar quando a outra aumenta, correlações negativas indicam tendência de uma variável aumentar enquanto a outra diminui (FALCONER, 1987; RAMALHO et al., 2012; NOGUEIRA et al., 2012). Tendo em vista essas informações, foram observadas correlações positivas, altamente significativas, para os caracteres PMF x DTF, e positiva e significativa para as características DLF x DTF, pelo teste t. Por meio do teste de correlação de Mantel, baseado em 5.000 simulações, observou-se correlações positivas, altamente significativas, para as características PMF x DL, PMF x DT,DL x DT, PTF x NF, PTF x AT e NF x AT. Correlações positivas de alta magnitude e altamente significativas indicam uma relação favorável ao melhoramento genético, indicando que plantas com maior peso médio de frutos, consequentemente, expressarão maior diâmetro longitudinal e transversal do fruto. Assim como, plantas com maior peso total de frutos resultará em plantas com maior número de frutos e com maior quantidade de açucares totais.

Foram observadas correlações negativas, significativas, de alta magnitude, para as características DLF x PTF e DTF x PTF, pelo teste t. Para o teste de Mantel, foram observadas correlações negativas para as características: PMF x PTF, PMF x NF, PMF x AT, DL x PTF, DL x NF, DL x AT, DT x PTF, DT x NF e DT x AT. Segundo Singh et al. (2002) quando as correlações apresentarem valores negativos, com significância, demonstra que o efeito positivo em uma característica provocará nos seus pares um efeito oposto. Os

resultados obtidos por Silva (2007) demonstram que a maioria das características do fruto apresentaram fortes correlações positivas com o caráter número de frutos, indicando ganhos de produtividades sem perdas para as principais características do fruto. Para as características referentes ao tamanho do fruto (comprimento e diâmetro), foram observadas estimativas positivas e fortemente correlacionadas com o peso, sugerindo que frutos maiores estão associados com o volume da polpa, o que já era previsível e desejável. Rodrigues et al. (2014) avaliaram caracteres físico-químicos de frutos de *Physalis peruviana*, e observaram que ao se correlacionar as características diâmetros longitudinal e transversal com a massa do fruto, foram observadas correlações signifcativas e positivas de 0,915 e 0,896, respectivamente, podendo-se concluir que os diâmetros longitudinal e transversal correlacionaram-se de forma direta em relação à massa do fruto.

Tabela 3: Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson para as características peso médio de frutos (PMF), sólidos solúveis (SS), diâmetro longitudinal do fruto (DLF), diâmetro transversal do fruto (DTF), peso total de frutos (PTF), número de frutos por planta (NFP), açucares redutores (AR) e açúcares totais (AT) em espécies do gênero *Physalis*.

Variáveis	PMF	SS	DL	DT	PTF	NF	AR	AT
PMF	1	$0,8825^{ns}$	$0,9983^{*++}$	$0,9999^{**++}$	$-0,9965^{++}$	$-0,6940^{++}$	$0,6694^{ns}$	$-0,7622^{++}$
SS			$0,8538^{ns}$	$0,8783^{ns}$	$-0,8401^{ns}$	$-0,2739^{ns}$	$0,2415^{ns}$	$-0,3683^{ns}$
DL				$0,9988^{*++}$	$-0,9996^{*++}$	$-0,734^{++}$	$0,7113^{ns}$	$-0,7984^{++}$
DT					$-0,9972^{*++}$	$-0,7345^{++}$	$0,6760^{ns}$	$-0,7679^{++}$
PTF						$0,7518^{++}$	$-0,7292^{ns}$	$0,8137^{++}$
NF							$-0,9994^{*}$	$0,9950^{++}$
AR								$-0,9911^{ns}$
AT								1

** * : Significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste t
++ + : Significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste de Mantel baseado em 5000 simulações

Para a análise de divergência genética, por meio do método de otimização de Tocher, utilizando como medida de dissimilaridade a distância generalizada de Mahalanobis, com base nas oito características de frutos avaliadas, constatou-se que ocorreu a formação de 2 grupos (Tabela 4). Observa-se que o grupo 1 contém a espécie *P. ixocarpa* e suas variedades verde e roxa, e o grupo 2 foi representado pela espécie *P. philadelphica*. As distâncias observadas intergrupos (1 x 2) foi de 28,127 e intragrupo foi de 5,7756.

Tabela 4: Grupos estabelecidos pelo método de otimização de Tocher, com base na distância generalizada de Mahalanobis, obtidas de oito características, em duas espécies de *Physalis*.

Grupo	Indivíduos
1	*P. ixocarpa* (variedade verde) – *P. ixocarpa* (variedade roxa)
2	*P. philadelphica*

O agrupamento utilizando o UPGMA, método de ligação média entre grupos, , permitiu a confecção do dendograma hierárquico, com índice de correlação cofenética (CCC) igual a 0,99 (Figura 1). Levando-se em consideração que este coeficiente mede o ajuste entre a matriz de dissimilaridade e a matriz de simplificação, em decorrência do método de agrupamento, este índice aumenta a confiabilidade das conclusões frente à interpretação dos dendrogramas (CRUZ et al., 2012). Desse modo, com base no ponto de corte estimado de 36,71 as três espécies ficaram concentradas no mesmo grupo. A utilização do método, também permitiu inferir as distâncias estimadas entre as espécies, sendo de 28,31 e 27,94, a distância entre *P. philadelphica* e *P.* ixocarpa, var. verde e roxa, respectivamente. As distâncias entre *P. ixocarpa*, var. verde e roxa, foi estimada em menor magnitude (5.77). Tendo em vista os resultados apresentados no dendograma, pode-se inferir que o método de Toucher foi mais sensível para a discriminação das espécies, pois provavelmente avaliações físicas e químicas de frutos de *Physalis* não foram suficientes, pelo método UPGMA, para discriminar as espécies.

Faria et al. (2012), estudando métodos de agrupamento para estimar a divergência genética em pimentas, observaram que pelo método de Toucher houve a formação de quatro grupos, sendo que o primeiro grupo apresentou 46 dos 49 acessos avaliados. Entretanto as avaliações de divergência pelo método UPGMA, com base na distância euclidiana média, permitiu inferir na formação de sete grupos, com 24 acessos sendo agrupados pelo grupo de maior representatividade. De acordo com os resultados obtidos, os autores sugerem que um método mais sensível para determinação do número de grupos deve ser utilizado, com o intuito de captar mais eficientemente a existência de acessos discrepantes.

Estudos mais refinados devem ser adotados a fim de determinar a real distância estabelecida entre estas espécies, pois estudos prévios com as espécies *P. ixocarpa* e *P. philadelphica* relatam conflitos taxonômicos entre elas. Para Waterfall (1967), as diferenças

entre *P. ixocarpa* e *P. philadelphlca* são comuns, e por esta razão o autor adotou o nome de *P. philadelphica* (o mais antigo) para incluir os tomates mexicanos. Santiaguillo Hernández e Blas Yáñez (2009), em seu estudo, também fazem referência a essas espécies como sinônimas. Entretanto, Fernandes (1974) constatou que, do ponto de vista, morfológico e citológico, *P. ixocarpa e P. philadelphica* são duas espécies distintas, e, desta forma, não devem ser consideradas sinônimas. Medina-Medrano et al. (2016) avaliou o potencial do marcador ISSR para discriminar espécies de *Physalis* (Solanaceae) e concluiu que, estes marcadores mostraram uma alta capacidade para revelar a variabilidade genética dentro e entre espécies de *Physalis*. A variabilidade encontrada foi tão alta nas espécies cultivadas de *P. peruviana* como nas espécies selvagens. O autor ressalta que a alta variação genética encontrada nas espécies selvagens mexicanas oferece uma oportunidade para o desenvolvimento da domesticação e programas de conservação.

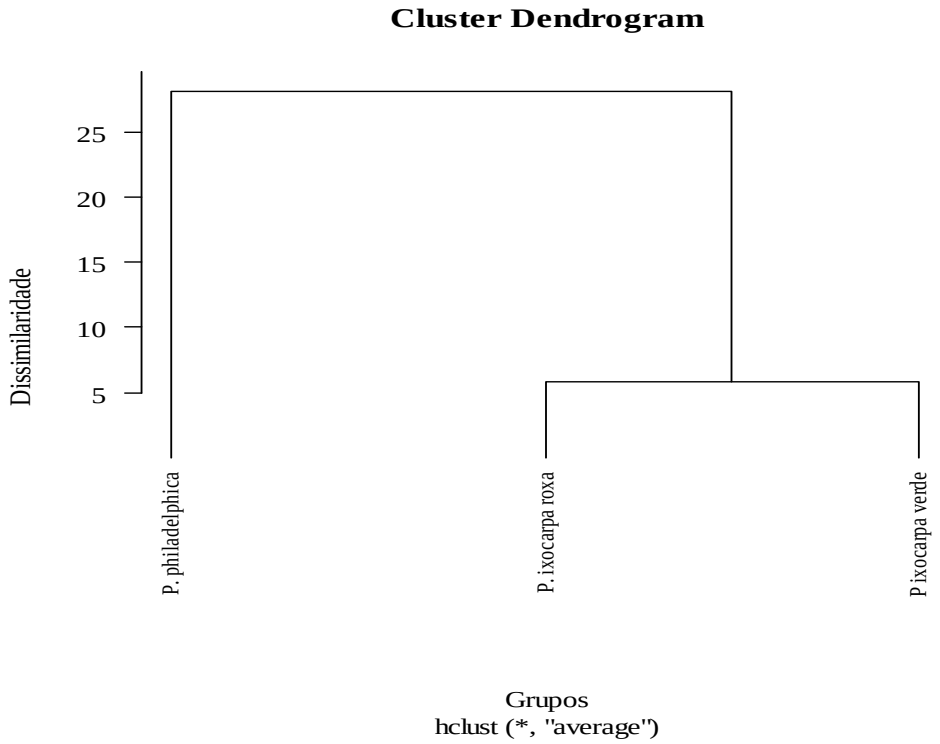

Figura 1: Dendrograma de dissimilaridades genéticas entre 2 espécies de *Physalis*, obtido pelo método UPGMA, utilizando a distância generalizada de Mahalanobis (com base em 8 características de frutos) como medida de distância genética.

Na tabela 5, são apresentadas a contribuição relativa dos caracteres para a divergência, entre as duas espécies de *Physalis*. Pode-se observar que as variáveis DTF, AT e DLF apresentaram as maiores contribuições para a divergência, representando 28,81%, 25,34% e 17,35%, respectivamente. As demais características (PMF, SS, PT, NF e AR) apresentaram pouca contribuição, com amplitude de valor entre 1,06% e 10,33%. Rodrigues et al. (2017) constatou, em maracujazeiro-azedo, que das variáveis, de produção de semente, que apresentaram as maiores contribuições relativas para a divergência genética as mais expressivas foram massa de polpa e massa de fruto. Rocha et al. (2009) avaliou descritores quantitativos na determinação da divergência genética, entre acessos de tomateiro do grupo cereja, e observou que dentre as características mais importantes, os diâmetros longitudinal (19,35%) e equatorial (14,02%) foram as mais decisivas para a discriminação.

Tabela 5: Contribuição relativa dos caracteres para a diversidade genética de duas espécies de *Physalis*, segundo Singh (1981). Feira de Santana-BA.

Variável	S.j	%
PMF	7,64	5,74
SS	1,41	1,06
DL	23,11	17,35
DT	38,36	28,81
PT	4,80	3,60
NF	10,30	7,74
AR	13,76	10,33
AT	33,74	25,34

S.j - valor da contribuição relativa dos caracteres

CONCLUSÕES

- Os maiores CVg (%) foram obtidos para peso médio do fruto e açucares totais.

- As características peso médio do fruto, diâmetro longitudinal do fruto, diâmetro transversal do fruto e açucares total apresentaram valores de herdabilidade elevados, possibilitando ganhos na seleção;

- As correlações positivas entre o diâmetro transversal do fruto e as características peso médio dos frutos e diâmetro longitudinal do fruto, apresenta correlação altamente significativa, e significativa, respectivamente, pelo teste t.

- As correlções entre peso médio do fruto, diâmetros longitudinal e transversal, peso total de frutos com número de frutos e açucares totais e número de frutos com açúcar total, apresentou correlação positiva pelo teste de Mantel.

- O método de Toucher foi mais sensível para a discriminação das espécies, pois permitiu isolar a *P. philadelphlca* da *P. ixocarpa*.

- As variáveis diâmetro transversal do fruto, diâmetro longitudinal do fruto e açucares totais apresentaram as maiores contribuições para a divergência genética.

REFERÊNCIAS

ALLARD, R. W. **Principles of plant breeding**. John Wiley & Sons, 1999.

Analytical Biochemistry, New York, v. 31, p. 426-428, 1959.

COIMBRA, J. L. M. et al. Correlações canônicas: II - análise do rendimento de grãos de feijão e seus componentes. **Ciência Rural**, V.30 no.1, 2000.

COSTA, C. C. et al. Concentração de potássio na solução nutritiva e a qualidade e o número de frutos de melão por planta em hidroponia. **Ciência Rural**, V. 34, p. 731-736, 2004.

CRUZ, C. D. Programa GENES - Aplicativo Computacional em Estatística Aplicada à Genética (GENES - Software for Experimental Statistics in Genetics). **Genetics and Molecular Biology**, vol. 21, n. 1, 1998.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. – **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4ª ed. Editora UFV, Viçosa-MG, Brasil, 2012,514 p.

CRUZ, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v.35, n.3, p.271-276, 2013.

CRUZ, C.D. **Programa Genes: biometria**. Viçosa: Editora UFV, 2006. 377p.

FALCONER, D. S. **Introdução à genetica quantitative**. 2. Ed. Viçosa: UFV, 1987, 279p.

FARIA, P. N. et al. Métodos de agrupamento em estudo de divergência genética de pimentas. **Horticultura brasileira**, v. 30, n. 3, 2012

FERNANDES, R. B. Sur I'identification d'une espece de Physalis souspontanée au Portugal. **Boletim da Sociedade Broteriana**, V. 44, p. 343-367, 1974.

FERREIRA, P. V. **Estatística experimental aplicada à agronomia**. Maceió, EDUFAL. 437p, 1991.

HULME, A. C. The biochemistry of fruits and their products. **Academic Press**, V. 2. 1970.

LEITE, L. F. C. et al. Variabilidade espacial das frações da matéria orgânica do solo em área degradada sob recuperação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.19, n.4, p.394–401, 2015.

MALDONADO, E. et al. Philadelphica lactones C and D and other cytotoxic compounds from *Physalis philadelphica*. **Steroids**, v.76, n.7, p.724–728, 2011.

MANTEL, N. The detection of disease clustering and generalized regression approach. **Cancer Research**, v. 27, n. 2, p. 209 - 220, 1967.

MEDINA-MEDRANO, J. R. et al. Potential of ISSR to discriminate among species of *Physalis* (Solanaceae). **Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences**, Vol.6, No.4, p. 1184-1195, 2016.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar.

MOJENA R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. **The Computer Journal**, V. 20, p. 359-363, 1977.

MONTES HERNÁNDEZ, S.; AGUIRRE RIVERA, A. R. Etnobotánica del tomate mexicano (*Physalis philadelphica* Lam.). **Revista de Geografía Agrícola**, p. 163-172, 1994.

NOGUEIRA, A. P. O. et al. Análise de trilha e correlações entre caracteres em soja cultivada em duas épocas de semeadura. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 6, p.877-888, 2012.

PANDEY, K. K. Genetics of Self-Incompatibility in Physalis ixocarpa Brot. - A New System. **American Journal of Botany**, Vol. 44, No. 10, pp. 879-887, 1957.

PEÑA L.; A.; MÁRQUEZ S.; F. Mejoramiento genético de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). **Revista Chapingo**, V. 71/72, p. 85-88, 1990.

PEÑA LOMELÍ, A. et al. Parámetros genéticos de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* brot.) variedad verde puebla. **Revista de Fitotecnia Mexicana**, Vol. 27 (1), p. 1 – 7, 2004.

PEÑA-LOMELÍ, A. et al. Parámetros genéticos en la variedad chf1 chapingo de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) **Revista Chapingo: Serie Horticultura**, V. 14(1), p. 5-11, 2008.

PEÑA-LOMELÍ, A. et al. Desempeño agronómico de variedades de tomate de cáscara en invernadero y campo abierto. **Revista Fitotecnia Mexicana**, V. 37, p. 381-391, 2014.

RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; OLIVEIRA, A. C. de**. Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. 2. Ed. Lavras: UFLA, 2012, 305p.

RAO C. R. **Advanced statistical methods in biometric research.** New York: John Wiley & Sons; 1952. 390p.

RESENDE, M. D.V. et al.Estimativas de parâmetros genéticos e predição de valores genotípicos no melhoramentodo cafeeiro pelo procedimento reml/blup. **Bragantia**, V. 60(3), p. 185-193, 2001.

ROCHA, M. C. et al. Descritores quantitativos na determinação da divergência genética entre acessos de tomateiro do grupo cereja. **Ciência Rural**, v.39, n.3, p.664-670, 2009.

RODRIGUES, D. L. et al. Contribuição de variáveis de produção e de semente para a divergência genética em maracujazeiro-azedo sob diferentes disponibilidades de nutrientes. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.52, n.8, p.607-614, 2017.

RODRIGUES, F. A. et al. Caracterização física, química e físico-químicade physalis cultivada em casa de vegetação. **Ciência Rural**, v.44, n.8, p.1411-1414, 2014.

SANTIAGUILLO-HERNÁNDEZ, J. F. et al. Diagnóstico del Tomate de cáscara. SNICS, SAGARPA, SINAREFI., Guadalajara, Jalisco. México, 46 p. 2012.

SANTIAGUILLO-HERNÁNDEZ, J.F., y S. BLAS-YÁÑEZ. Aprovechamiento tradicional de las especies de Physalis en México. **Revista de Geografia Agrícola**. 43:81-86, 2009.

SANTOS, J. B.; VENCOVSKY, R. Correlação fenotípica e genética entre alguns caracteres agronômicos do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Ciência e Prática, São Paulo, v.10, n.3, p.265-272, 1986.

SILVA, G. O. et al. Correlações entre caracteres de aparência e rendimento eanálise de trilha para aparência de batata. **Bragantia**, vol. 66, n. 3, p. 381-388, 2007.

SINGH, B. et al. Correlation studies in carrot (Daucus carota L.). **Progressive Agriculture**, V. 2, p. 84-85, 2002.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F.J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, Berlin, v.11, n.1, p.30-40, 1962.

STANSFIELD, W. D. **Genética**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1974. 958p.

SUDRÉ, C. P. et al. Genetic resources of vegetable crops: a survey in the Brazilian germplasm collections pictured through papers published in the journals of the Brazilian Society for Horticultural Science. **Horticultura Brasileira**, v.25, n.4, p.496-503, 2007.

TEIXEIRA N. J. P. et al. Produção, componentes de produção e suas inter- relações em genótipos de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] de porte ereto. **Revista Ceres**, 54:374-382. 2007.

VEIGA, R. F. A. et al. Caracterização morfológica de acessos de amendoim: avaliação da sensibilidade de alguns descritores. **Bragantia**, vol.55, n.1, p.45-56, 1996.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E. (ed). **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. 2. ed. Fundação Cargil. p.122-201. 1987.

WATERFALL, U. T. Physalis in Mexico, Central America and West Indies. **Rhodora**, V, 69, p. 82–120, 1967.

YEMM, E. W.; WILLIS, A.J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **The Biochemical Journal**, v.57, p. 508-514, 1954.

CONCLUSÃO GERAL

- Diante da importância das espécies que compõem o gênero *Physalis*, torna-se importante o desenvolvimento de pesquisas do ponto de vista molecular, a fim de estabelecer combinações de acessos contrastantes com o intuito de explorar a heterose para a seleção de indivíduos superiores.

- As espécies de *Physalis* (*P. ixocarpa* (variedades verde e roxa), *P. peruviana* e *P. philadelphica*) encontram-se meioticamente estáveis. Com a presença de 24 cromossomos, observados em *Physalis ixocarpa*, variedade verde e *Physalis philadelphica*.

- As espécies de *Physalis* (*P. ixocarpa* (variedades verde e roxa) e *P. philadelphica*), apresentam boa viabilidade e receptividade de estigma ao longo do dia, sendo que ao relacinar a viabilidade de pólen com a receptividade estigmática conclui-se que a hibridação para *P. ixocarpa* verde pode ser realizada em qualquer momento do dia, e em *P philadelphica* e *P. ixocarpa* roxa recomenda-se que a hibridação seja realizada no período da tarde.

- Na analise de parâmetros genéticos observa-se que as características peso médio do fruto e açucares totais apresentaram os maiores valores de CVg (%), demonstrando que estas características são promissoram para detectar a variabilidade genética, para características de fruto. As características peso médio do fruto, diâmetro longitudinal do fruto, diâmetro transversal do fruto e açucares total apresentaram valores de herdabilidade elevados, atestando que ao selecionar acessos, com base nestas características de fruto, existe uma grande possibilidade de se obter ganhos na seleção. Observou-se que existem correções positivas entre as características peso médio do fruto e os diâmetros transversal e longitudinal, entre os diâmetros longitudinal e transversal, peso total de frutos com número de frutos e açucares totais e número de frutos com açúcar total, assegurando que existe uma relação favorável ao melhoramento genético. Na análise de divergência genética, baseada nos caracteres de fruto, as variedades verde e roxo de *P. ixocarpa* formaram um grupo e *P. philadelphica* formou outro grupo, sendo que a maior distância estabelecida entre esta espécie, foi de 28,31 e 27,94, da P. ixocarpa, variedades verde e roxa, respectivamente. As características diâmetro transversal do fruto, diâmetro longitudinal do fruto e açucares totais apresentaram as maiores contribuições para a divergência genética.

ANEXO