

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
MELHORAMENTO DE PLANTAS**

JOELSON DE OLIVEIRA BARROS

**Caracterização citogenética, comportamento meiótico e
viabilidade polínica de plantas triploides de *Passiflora foetida* L.**

TANGARÁ DA SERRA
MATO GROSSO - BRASIL
JULHO - 2021

JOELSON DE OLIVEIRA BARROS

**Caracterização citogenética, comportamento meiótico e
viabilidade polínica de plantas triploides de *Passiflora foetida* L.**

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO “Carlos Alberto Reyes Maldonado” - UNEMAT, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maurecilne Lemes da Silva Carvalho

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Aryane Campos Reis.

TANGARÁ DA SERRA
MATO GROSSO – BRASIL
JULHO - 2021

CIP – CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

B277c Barros, Joelson de Oliveira.

Caracterização citogenética, comportamento meiótico e viabilidade polínica de plantas triploides de *Passiflora foetida* L. / Joelson de Oliveira Barros – Alta Floresta/Cáceres/Tangará da Serra, 2021.

85 f.; 30 cm. (ilustrações) Il. color. (sim).

Trabalho de Conclusão de Curso (Dissertação/Mestrado) – Curso de Pós-graduação *Stricto Sensu* (Mestrado Acadêmico) Genética e Melhoramento de Plantas, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Multicampi, Universidade do Estado de Mato Grosso, 2021.

Orientadora: Dra. Maurecilne Lemes da Silva Carvalho.

Coorientadora: Dra. Aryane Campos Reis.

1. Triploide. 2. Comportamento Meiótico. 3. Viabilidade Polínica. 4. Citogenética. 5. *Passiflora foetida* L. I. Carvalho, M. L. da S., Dra. II. Reis, A. C., Dra. III. Título.

CDU 575

Caracterização citogenética, comportamento meiótico e viabilidade polínica de plantas triploides de *Passiflora foetida* L.

JOELSON DE OLIVEIRA BARROS

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO Carlos Alberto Reyes Maldonado, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas para a obtenção do título de Mestre.

Aprovado em 14 de junho de 2021.

Comissão Examinadora



Prof^a. Dr^a. Maurecilne Lemes da Silva Carvalho
Orientadora – UNEMAT- Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos
Alberto Reyes Maldonado



Prof^a. Dr^a. Aryane Campos Reis
UFJF- Universidade Federal de Juiz de Fora
Coorientadora



Prof. Dr. Saulo Marçal de Sousa
UFJF- Universidade Federal de Juiz de Fora

A ciência humana de maneira nenhuma nega a existência de Deus. Quando considero quantas e quão maravilhosas coisas o homem compreende, pesquisa e consegue realizar, então reconheço claramente que o espírito humano é obra de Deus, e a mais notável.

Galileu Galilei

A Deus, a inteligência suprema, causa primeira de todas das coisas, pela oportunidade deste aprendizado e por estar presente em todos os momentos da minha vida, sendo fonte de inspiração, proteção e exemplo de amor.

OFEREÇO

Dedico este trabalho “in memoriam” aos meus avós Joel e Palmira, aos meus pais, Pedro e Maria Lúcia Barros, pela construção da nossa família consolidada nas bases do amor, caridade e dos valores humanos que burilam meu carácter.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS, por fazer-se presente em todos os momentos da minha vida e pela oportunidade deste aprendizado.

Meus eternos agradecimentos, *“in memoriam”*, aos meus avós Joel e Palmira, aos meus pais Pedro e Maria Lúcia Barros pelos ensinamentos e valores humanos, com quem aprendi que o maior legado de um homem é sua honestidade, sua “palavra dada”, que a vida nunca foi e jamais será fácil, e, ao cair, a única decisão sensata a tomar é levantar, enxugar as lágrimas, cicatrizar as feridas e continuar... por eles, estou aqui. Aos meus irmãos Joelza, Joelda e Joelton pelas palavras de carinho, incentivo e alegria que revigoram meus dias. Aos sobrinhos carinhosos, que perpetuam a esplendorosa herança da responsabilidade mútua como prática mais simples do amor, puro e feliz.

Ao meu companheiro de jornada, Vitor Freaza, um anjo que Deus colocou em meu caminho, que me incentiva e me dar asas para voar e viver meus sonhos, a quem devoto com os mais profundos sentimentos todos os meus dias.

Às grandes profissionais da escola Dr. Hélio Palma de Arruada: Greiciane (diretora), Gisele (coordenadora) e aos demais colegas de trabalho que me incentivaram e deram força para trilhar os caminhos dessa empreitada.

Aos professores que se esmeraram para trazer a *“lumen scientiae”* (luz do conhecimento científico) a todos nós. Tenham certeza de que muitos dos senhores me servirão de exemplo a ser seguido; e por isso, são merecedores das minhas reverências e refenda de sinceras estimas.

Gratidão a minha orientadora, Professora Dra. Maurecilne Lemes da Silva pela disponibilidade e dedicação prestadas à orientação deste trabalho. A senhora tem meu respeito e admiração.

Agradecimento especial a minha coorientadora Aryane Campos Reis, por sua valorosa contribuição a este trabalho, mesmo em períodos de descanso. O meu muito obrigado e que Deus lhe pague.

Aos colegas do Laboratório de Cultura de Tecido Vegetal, em especial ao Marcelo, Claudinei e Inaria. O apoio de vocês foi fundamental para a execução dos experimentos no laboratório e na casa de vegetação.

À Thatielen Furini e Leonícia Goulart, amigas e parceiras de todas as horas, de estudos, trabalhos e momentos de descontração. Passamos por momentos

difíceis, mas com vocês os fardos se tornaram mais leves. Choramos, mas também compartilhamos muitas risadas, fomos felizes. Levarei vocês em meu coração por toda a vida. Contem comigo, sempre.

Agradeço, igualmente, à UNEMAT, à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas por contribuir para esta formação profissional e oportunizarem a realização dos meus sonhos.

A todos vocês os meus sinceros votos de gratidão. Muito obrigado!

BIOGRAFIA

JOELSON DE OLIVEIRA BARROS, filho de Pedro e Maria Lúcia Barros, nasceu do dia 19 de junho de 1974, em Castanhal, Estado do Pará.

Em janeiro de 2005, através do PROUNI ingressou no Curso de Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas no Centro de Ensino Superior São Lucas, campus de Porto Velho-RO. Graduação concluída em dezembro de 2009.

Em fevereiro de 2019, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, a nível de mestrado, da Universidade Estadual de Mato Grosso – UNEMAT, concentrando seus estudos na área de Biotecnologia e Recursos Genéticos Vegetais. Em 14 de julho de 2021, submeteu-se à defesa de sua dissertação.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Gênero <i>Passiflora</i>	3
2.2 Importância do gênero <i>Passiflora</i> L.	4
2.3 <i>Passiflora foetida</i> L.	6
2.4 Potencial ornamental do gênero <i>Passiflora</i> L.	7
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	9
CAPÍTULO I - Citogenética como ferramenta estratégica para caracterização de poliploides de <i>Passiflora</i> L. – revisão geral.	17
1. INTRODUÇÃO	17
2. Citogenética de <i>Passiflora foetida</i>	19
3. Formação natural de plantas triploides	20
4. Produção de plantas triploides a partir do cultivo in vitro de endosperma	21
5. O uso de substâncias antimitóticas na produção de poliploides	23
6. Desequilíbrio meiótico em triploides	24
7. Barreira reprodutiva das plantas triploides	26
8. Caracterização citogenética de <i>Passiflora</i> triploides formadas a partir de cultura de endosperma.	27
9. Bandeamento cromossômico	28
10. Hibridização Fluorescente In Situ em <i>Passiflora</i>	28
11. Poliploidia e alteração da expressão gênica	29
12. O efeito “giga” e sua importância para a agricultura	30
13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
CAPÍTULO II - Caracterização citogenética, comportamento meiótico e viabilidade polínica de plantas triploides de <i>Passiflora foetida</i> L.	46
1. INTRODUÇÃO	46
2. MATERIAL E MÉTODOS	49
2.1 Obtenção de plantas triploides	49
2.2 Caracterização do cariótipo	49
2.2.1 Bandeamento cromossômico com fluorocromos base específicos	50
2.3 Análise do comportamento meiótico de <i>Passiflora foetida</i>	50
2.4 Análise da viabilidade polínica	51
3. RESULTADOS	51

3.1 Caracterização cariotípica de plantas diploides e triploides de <i>P. foetida</i>	51
3.2 Comparação cariotípica entre diploide e triploide de <i>P. foetida</i>	55
3.3 Comportamento meiótico de <i>P. foetida</i> triploide	58
3.4 Viabilidade polínica de <i>P. foetida</i>	59
4. DISCUSSÃO	60
5. CONCLUSÃO	64
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

- Figura 1. Metáfase representativa do citótipo do diploide de *P. foetida*: cromossomos corados com o fluorocromo DAPI (A); cromossomos corados com o fluorocromo CMA3 (B), setas indicam sítios CMA3+. Cariograma representando os pares cromossômicos corados com o fluorocromo DAPI (C), e corados com o fluorocromo CMA3 (D), destacado nos pares cromossômicos 2 e 3. 52
- Figura 2. Metáfase representativa do citótipo do triploide de *P. foetida*: cromossomos corados com o fluorocromo DAPI (A); cromossomos corados com o fluorocromo CMA3 (B), setas indicam sítios CMA3+. Cariograma representando os conjuntos cromossômicos corados com o fluorocromo DAPI (C), e corados com o fluorocromo CMA3+ (D), destacado nos trios cromossômicos 2 e 3. 54
- Figura 3. Idiograma representativo do complemento monoploide de *P. foetida* diploide (2x) e triploide (3x). As marcas CMA3+ são destacadas em amarelo nos cromossomos 2 e 3; cromossomo metacêntrico (m) e submetacêntrico (sm). 56
- Figura 4. Comportamento meiótico de triploide de *P. foetida*. As pontes de setas indicam: presença de cromossomos uni e trivalentes em diacinese (A); cadeia cromossômica em prófase I (B); cromossomos retardatários (C, D) e migração cromossômica precoce em metáfase I (E); segregação atrasada durante anáfase I (G); fragmentos de pontes cromossômicas em terminação na telófase I (F); citomixia entre micrósporos adjacentes (H); formação de tríade em telófase II (I). A barra mede 5 μm 58
- Figura 5. Análise de viabilidade polínica de botões florais de *P. foetida* triploide. As setas indicam grãos de pólen viáveis: núcleos corados com diacetato de fluoresceína - FDA (A); grão de pólen viável de planta triploide (B); comparação entre grão de pólen triploide (maior) e diploides (menor), produzidos pelo triploide de *P. foetida* (C). Os grãos de pólen inviáveis: menores, não-florescentes e núcleos não-corados. A barra mede 10 μm 59

LISTA DE TABELA

CAPÍTULO II

Tabela 1. Morfometria dos cromossomos de plantas de <i>P. foetida</i> diploide.	53
Tabela 2. Morfometria dos cromossomos de <i>P. foetida</i> triploide.	55
Tabela 3. Comparação das médias morfométricas de homólogos entre diploide e triploide de <i>P. foetida</i>	57
Tabela 4. Viabilidade polínica de plantas de <i>P. foetida</i> diploide e triploide.	60

RESUMO

BARROS, Joelson de Oliveira. M. Sc. Universidade do Estado de Mato Grosso. Julho de 2021. **Caracterização citogenética, comportamento meiótico e viabilidade polínica de plantas triploides de *Passiflora foetida* L.** Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maurecilne Lemes da Silva Carvalho. Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Aryane Campos Reis.

O trabalho teve como objetivo realizar a caracterização citogenética, comportamento meiótico e viabilidade polínica de plantas triploides de *Passiflora foetida* regeneradas in vitro, a partir de tecido endospermico via organogênese de novo. A análise cariotípica demonstrou que plantas de *P. foetida* diploide apresentaram oito pares de cromossomos metacêntricos, sendo os cromossomos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 e dois pares submetacêntricos, cromossomos 9 e 10. A mesma classificação foi observada para o citótipo triploide, sendo oito trios metacêntricos e dois trios submetacêntricos. Os cariótipos das plantas diploides e triploides demonstraram cromossomos de tamanho pequeno de morfologia ligeiramente simétrica com $FC = 8m + 2sm$. O comprimento relativo (CR) de *P. foetida* diploide revelou que o maior cromossomo representou 13,35% do cariótipo e o menor 7,90%. Na planta triploide o maior correspondeu a 13,62% e o menor 6,46%. O lote cromossômico monoploide para o citótipo diploide de *P. foetida* foi estimado em 16,14 μm e na planta triploide mediu 14,44 μm . Com relação à microsporogênese, o citótipo triploide apresentou configurações meióticas anormais com formação de cromossomos uni e trivalentes, assim como cadeias cromossômicas que resultaram no desequilíbrio sináptico e na ocorrência de cromossomos não congressados, retardatários ou de migração precoce. A presença de pontes cromossômicas, citomixias e tríades também foram observadas. Na análise de viabilidade polínica de *P. foetida* diploide aproximadamente 75,77% grãos de pólen foram classificados como viáveis e 24,23% considerados inviáveis, já para as plantas triploides apenas 29,25% dos grãos foram viáveis e 70,75% dos pólenes analisados foram inviáveis. A dupla coloração diferencial com os fluorocromos DAPI/CMA₃ revelou a presença de quatro bandas CMA⁺ nas plantas diploides, nos cromossomos 2 e 3; e seis marcações no citótipo triploide, nos mesmos cromossomos. Os estudos citogenéticos de plantas poliploides produzem informações relevantes sobre a morfometria e o comportamento cromossômico que influenciam as taxas de fertilidade das plantas e permitem a seleção de genótipos com características fenotípicas superiores. Conhecimentos que podem subsidiar novas estratégias nos programas de melhoramento genético para a espécie *Passiflora foetida*.

Palavras-chave: Triploide, comportamento meiótico, viabilidade polínica, citogenética, *Passiflora foetida*.

ABSTRACT

BARROS, Joelson de Oliveira. M. Sc. University of the State of Mato Grosso. July 2021. **Cytogenetic characterization, meiotic behavior and pollen viability of triploid plants of *Passiflora foetida* L.** Adviser: Profa. Dra. Maurecilne Lemes da Silva Carvalho. Co-Adviser: Profa Dra. Aryane Campos Reis

The study aimed to perform the cytogenetic characterization and to analyze the meiotic behavior and pollen viability of triploid *Passiflora foetida* plants regenerated from in vitro endosperm culture. *P. foetida* diploid plants presented eight pairs of metacentric chromosomes, being 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, and 8, and two submetacentric pairs, chromosomes 9 and 10. Triploid plants presented eight chromosome trios with the same karyomorphological as their respective diploids. Karyotypes of diploid and triploid plants demonstrated small size chromosomes with slightly symmetrical morphology determined, with karyotype formulae $KF = 8m + 2 sm$. In diploid plants the highest chromosome represented 13.35% of the karyotype and the lowest 7.90%. In the triploid plant the highest corresponded to 13.62% and the lowest 6.46%. The monoploid set of the diploid karyotype was estimated at 16.14 μm and, while in the triploid plant measured 14.42 μm . Abnormal triploid plants presented meiotic configurations with formation of uni and trivalent chromosomes, as well as chromosomal chains that resulted in the synaptic imbalance and the occurrence of non-congressional, laggard or early chromosomes. The presence of chromosomal, cytomyx, and triads was observed. In the pollen viability analysis of *P. foetida* diploid, approximately 75.77% pollen grains were classified as viable and 24.23% considered unviable, while for triploid plants only 29.25% of the grains were viable and 70.75% of the pollens analyzed were unviable. The double differential staining with the DAPI/CMA3 fluorochromes revealed the formation of four CMA+ bands in diploid plants, on chromosomes 2 and 3 and, six marks on triploid cytotypes on the same chromosomes. Cytogenetic studies of polyploid plants produce relevant information on morphometry and chromosomal behavior that influence fertility rates of knowledge plants that can support new strategies in the breeding for the of *P. foetida* species.

Keywords: Polyploid, triploid, meiotic behavior, pollen viability, cytogenetics, *Passiflora foetida*.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O gênero *Passiflora* apresenta um grande potencial ornamental (Peixoto et al., 2005). A beleza exótica das flores e a perenidade da floração têm atraído consumidores e constituído projetos paisagísticos e de jardinagem no mundo inteiro, principalmente na Europa e América do Norte (Vanderplank, 2000; Peixoto et al., 2005; Mikovski et al., 2019).

No gênero *Passiflora* a poliploidia natural é rara e ocorre com maior frequência no subgênero *Decaloba* (Melo e Guerra, 2003). Sader et al. (2019) relatam que os processos de poliploidização são restritos a algumas linhagens do subgênero *Astrophea* e *Deidamoides*. Na literatura os registros são escassos, mas existem citações de tetraploides de *P. exsudans* $2n = 4x = 24$ (Snow e MacDougal, 1993; Soares et al., 2018); e *P. jilekii* $4x = 36$ (Melo et al., 2001); espécies heptaploide de *P. lutea* $2n = 7x = 84$ (Bowden, 1940; 1945); octaploides de *P. coccinea* com $2n = 8x = 72$ (Soares et al., 2018) e *P. racemosa* $2n = 8x = 72$ cromossomos (Melo et al., 2001).

Os avanços biotecnológicos dos últimos anos e o aprimoramento das técnicas de melhoramento genético de indução artificial de poliploidia têm elevado a produção de plantas com características agrônômicas superiores, sobretudo de flores ornamentais, para atender ao mercado cada vez mais exigente e em franca expansão (Sun et al., 2011; Alexander, 2017; Neumann, et al., 2020). Várias culturas importantes como as frutas cítricas, banana, maçã, melancia e uva sem sementes também são produzidas por indução triploide (Thomas e Chaturvedi, 2008; Wang et al., 2016; Manzoor et al., 2019; Ahmed et al., 2020).

Entre os métodos de produção à base de plantas poliploides, destaca-se os protocolos estabelecidos para obtenção de triploides pelo cultivo de endosperma de diploides (Chaturvedi et al., 2003; Sun et al., 2011; Wang et al., 2016). Procedimento biotecnológico eficiente, rápido e direto para produzir plantas triploides a exemplo das obtidas para espécies de maracujazeiros, *P. edulis* (Antoniazzi et al., 2018), *P. cincinnata* (Silva et al., 2020) e *P. foetida* (Mikovski et al., 2021).

Apesar das vantagens da produção das características agrônômicas desejáveis, plantas triploides apresentam irregularidades na meiose e desbalanceamento cromossômico nos gametas formados que podem causar inviabilidade das sementes e abortamento dos frutos (Aleza et al., 2010).

Neste contexto a citogenética surge como importante ferramenta para realização da análise quantitativa, morfológica e comportamental dos cromossomos durante as fases da meiose e mitose celular (Singh, 2018; Ahmed et al., 2020). A observação do comportamento meiótico produz informações capazes de determinar a viabilidade polínica e a fertilidade das plantas (Coelho et al., 2016; Lavinsky et al., 2017, 2021; Reis et al., 2021).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Gênero *Passiflora*

O gênero *Passiflora* pertencente à família Passifloraceae, apresenta distribuição pantropical e possui cerca de 575 espécies catalogadas (Killip, 1938; Ulmer e MacDougal, 2004). A maioria é formada por ervas ou lianas, raramente árvores e são cultivadas em todas as regiões do Brasil (Killip, 1938; Souza e Lorenzi, 2019).

As passifloras possuem flores perfeitas, preferencialmente alógamas. Mas, algumas espécies podem fazer autopolinização caso não ocorra fecundação cruzada, a exemplo do que acontece com *P. edulis*, *P. quadrangularis* e *P. foetida* (Knight e Sauls, 1994; Bruckner et al., 1995; Esashika et al., 2018).

As flores dos maracujazeiros apresentam características destacadas pela coloração vibrante, folhagens distintas e aromas atrativos. Fenótipos que têm conquistado espaço no crescente mercado mundial de flores ornamentais, sobretudo nos países Europeus e da América do Norte (Faleiro et al., 2005, 2019; Esashika et al., 2018; Sader et al., 2019; Mikovski et al., 2019).

No que se refere ao sistema de classificação, um dos estudos taxonômicos mais completos para a família Passifloraceae foi realizado por Killip (1938) que organizou o gênero *Passiflora* em 22 subgêneros com base em caracteres florais e vegetativos. Atualmente, estudos filogenéticos com marcadores plastidiais e nucleolares, associados à caracterização morfológica, permitiram a divisão do gênero em seis subgêneros: *Astrophea* (DC.) Mast., *Deidamioides* (Harms) Killip, *Decaloba* (DC.) Rchb., *Tetrapathea* (DC.) P.S. Green, *Tryphostemmatoides* (Harms) Killip, e *Passiflora* (MacDougal & Feuillet, 2004; Krosnick et al., 2009; Buitrago et al., 2018; Imig, 2018).

Análise filogenética realizada por Sader et al. (2019) com 102 taxa das Passifloras, cerca de 20% das plantas catalogadas, sugere que as disploidias ascendentes, formadas a partir do número básico cromossômico ancestral $n = 6$ cromossomos, foram os eventos mais importantes para evolução e diversificação genética das espécies. O trabalho indica que o subgênero *Decaloba* foi gerado por três vias: por poliploidia do ancestral $n = 6$, que deu origem às linhagens com $n = 12$ cromossomos; por processos de poliploidia, seguidos de disploidia descendente, que

formaram as plantas com $n = 11$ cromossomos; e por disploidia ascendente que geraram as espécies com $n = 9$ cromossomos. Os subgêneros *Astrophea*, *Tetraphathea* e *Deidamioides*, formaram-se pela poliploidia do ancestral $n = 6$, gerando espécies com $n = 12$ cromossomos. No entanto, o subgênero *Passiflora* formou-se a partir de casos de disploidia ascendente.

Segundo Mayrose et al. (2010) e Schubert e Lysak (2011) o número básico cromossômico de uma espécie aumenta quando há disploidia ascendente via processo de fissão, quebra de um cromossomo na altura do centrômero, formando dois cromossomos acrocêntricos. No entanto, a redução do número de cromossomos também é possível, pela disploidia descendente via processo de fusão Robertsoniana, onde dois cromossomos acrocêntricos, perdem os braços curtos e fundem-se pelo centrômero, contribuindo para diversificação das espécies.

Faleiro et al. (2017) destacam que o gênero *Passiflora* L. apresentam alta diversidade genética e as espécies criam infinitas oportunidades comerciais. Mas a utilização destes recursos fitogenéticos ainda carecem de estudos básicos para caracterização pré e pós-melhoramento genético que possibilitem a conservação do genótipo, ou a criação de novas variedades mais produtivas.

A diversidade, beleza original e a rusticidade das espécies silvestres de maracujazeiros têm atraído a atenção dos melhoristas, sobretudo por serem consideradas repositórios de genes que expressam características fenotípicas de interesse, de resistência a doenças, pragas e características de importância agrônômica (Junqueira et al., 2006; Souza et al., 2008; Meletti, 2011; Esashika et al., 2018).

2.2 Importância do gênero *Passiflora* L.

O gênero *Passiflora* L. possui inúmeros princípios ativos utilizados na indústria farmacêutica e fitocosmética. As espécies apresentam compostos fitoquímicos de diferentes tipos e concentrações como é o caso dos alcaloides indólicos, de ação tranquilizante, sobretudo nas formas passiflorina, harmana, harmina, harmol, harmalina, harmalol; alguns tipos de flavonoides C-glicosídeos, de ação antioxidante e anti-inflamatória, caracterizados pela presença de orientina, homoorientina, isovitexina, vitexina e saponina; assim como compostos flavonoides O-glicosídeos, como o caso da rutina (Pereira e Vilegas, 2000; Patel et al., 2011; He et al., 2020).

Os maracujás também apresentam compostos carotenoides, glicosídeos cianogênicos, ácidos graxos, aminoácidos, derivados de ácido clorogênicos e proantocianidinas; sendo que, as favonas C-glicosidas presentes em maior concentração nas folhas e frutos, e os alcaloides, extraídos principalmente dos caules e folhas são os compostos essenciais mais estudados por despertar interesse e exploração industrial (Costa e Tupinambá, 2005; Pertuzatti et al., 2015; Farag et al., 2016; Amaral et al., 2020).

Muitas espécies do gênero *Passiflora* L. apresentam indicações sedativas e ansiolíticas, bem como tratam vários distúrbios do sistema nervoso central (Farag et al., 2016). *P. foetida*, por exemplo, possui grande potencial farmacêutico e alimentício funcional por portar galacturonanos, polissacarídeos de efeito imunomoduladores (Song et al., 2020).

Os frutos do maracujá, principalmente a polpa e casca, apresentam substâncias com atividades antioxidante, anti-hipertensivo e podem contribuir para a diminuição da taxa de glicose e colesterol no sangue; as sementes possuem teores de ácidos graxos essenciais (ácido linoleico 55%-66%, ácido oleico 18%-20% e ácido palmítico 10%-14%), importantes insumos das indústrias alimentícia e cosmética (Zeraik et al., 2010).

No entanto, o conhecimento da constituição bioquímica deste táxon provém, principalmente, das espécies *P. incarnata* e *P. edulis*, apesar do gênero *Passiflora* L. apresentar múltiplos potenciais (Costa e Tupinambá, 2005). Mais de 110 constituintes fitoquímicos foram encontrados e identificados nas diferentes partes da planta de *P. edulis*, nas quais flavonoides e triterpenoides foram as principais substâncias encontradas (Amaral et al., 2020).

A espécie *P. edulis* é responsável por cerca de 90% da produção comercial de maracujás no Brasil (Oliveira et al., 2017). Mas, o mercado está mudando, e ao longo dos anos outras espécies têm conquistado espaço na comercialização de produtos fabricados de passifloras como é o caso do *P. setaceae*, a *P. cincinnata*, *P. alata* (Faleiro et al., 2019).

Quanto ao valor nutricional, os frutos possuem baixo teor calórico (41-53 kcal /100 g) e são importantes fontes de vitaminas A, B1, B2, C, E, bem como cálcio, fósforo e ferro (Patel et al., 2009; Pertuzatti et al., 2015). Além de ser consumido *in natura*, o maracujá também é apreciado na forma de doces, geleias e néctares, ou pode servir

de matéria prima para a fabricação industrial de sucos destinados à exportação (Faleiro et al., 2016). As cascas podem ser processadas na forma de farinha para uso terapêutico (Claro et al., 2018) ou enriquecer pratos com fontes de fibras e minerais (Costa et al., 2018).

Os maracujazeiros são cultivados em pomares nos quintais ou pequenas propriedades familiares, tradição que têm contribuído para significativa preservação desses recursos genéticos, localmente domesticados, a exemplo do que acontece com a *P. edulis* (maracujá roxo nativo), *P. nitida* (maracujá suspiro, maracujá do cerrado), *P. quadrangularis* (maracujá gigante, 'badea', maracujá de quilo) e *P. maliformis* (cholupa, granadilla de piedra) (Bernacci et al., 2005; Faleiro et al., 2017, 2019). Geralmente, a produção envolve a mão-de-obra eminentemente familiar, onde apresenta-se como uma importante fonte de diversificação de cultura e geração de renda aos pequenos agricultores (Meletti, 2011; Zacharias et al., 2020).

2.3 *Passiflora foetida* L.

Passiflora foetida, conhecida popularmente como maracujá-de-estalo (Nunes e Queiroz, 2006), é uma planta silvestre de características morfológicas únicas, pertencente ao subgênero *Dysosmia* (DC.) Rchb, taxa que aloca plantas com características fenotípicas intermediárias entre o subgênero *Decaloba* e *Passiflora* (Melo et al., 2001; Yockteng e Nadot, 2004). É uma espécie muito utilizada na agricultura como porta enxerto por ser resistente a pragas e doenças como a fusariose (Faleiro et al., 2016, 2019), além do uso farmacêutico e alimentício funcional por portar galacturonanos, polissacarídeos de efeito imunomoduladores (Song et al., 2020).

P. foetida possui características diferenciadas atraentes, produz flores brancas com a região central arroxeadas, protegidas por três longas brácteas pinatissectadas e glandulares, que permanecem durante o estágio da frutificação encapsulando o fruto (Cervi, 1990; Garcia e Hoc, 1998; Braglia et al., 2010; Soares et al., 2011; Borges et al., 2020).

Esses atributos de *P. foetida* despertam grande interesse nos programas de melhoramento genético vegetal que visam à criação e lançamento de novos cultivares de melhor desempenho agrônômico (Meletti et al., 2005; Soares et al., 2011).

2.4 Potencial ornamental do gênero *Passiflora* L.

O cultivo das passifloras como planta ornamental na Europa, remonta ao século XVII. Por volta de 1625, mudas de *P. caerulea* e *P. incarnata* foram levadas das Américas pelo forte mito religioso estabelecido pelos jesuítas durante a catequização dos índios. Para os missionários os maracujás poderiam ser considerados “frutos da paixão de Cristo” porque as folhas trilobadas representariam as lanças dos soldados romanos e as cinco anteras fariam referência as chagas de Cristo (Peixoto, 2005). De acordo com referido autor, em 1819, Thomas Milne, cruzou espécies e obteve o primeiro híbrido (“*Passiflora violacea*”) para fins ornamentais.

Atualmente, o valor paisagístico dos maracujazeiros está relacionado com a beleza exuberante das flores, de coloração variada, perfume atraente e pela variação de formas das folhas (Abreu et al., 2009). Para Mikovski et al. (2019), além das peculiaridades das flores, a perenidade da floração inclui os maracujás no grupo das plantas ornamentais.

Entre as espécies com maior potencialidade ornamental pode-se destacar a *Passiflora coccinea*, *P. actinia*, *P. auriculata*, *P. jara*, *P. kermesina*, *P. murucuja*, *P. racemosa*, *P. sanguinolenta*, *P. seemannii*, *P. sidaefolia*, *P. serrulata*, *P. triloba*, *P. tulae* e o híbridos *P. ‘Lady Margret’* (Peixoto, 2005). No entanto, há também registro de levantamentos de outras espécies: *P. alata*, *P. cincinnata* e *P. setacea* (Oliveira e Ruggiero, 2005); *P. caerulea* (Conceição et al., 2011); *P. capsularis* e *P. rubra* (Amorim et al., 2014); *P. morifolia*, *P. suberosa litoralis*, *P. palmeri* var. *sublanceolata* (Pires et al., 2012); e *P. mucronata* (Meletti, 2011).

O potencial ornamental do gênero *Passiflora* tem incentivado trabalhos de melhoramento genético por poliploidia (Antoniazzi et al., 2018; Silva et al., 2020; Mikovski et al., 2021), visando a produção de plantas com atributos florais melhorados (cores das flores variadas, fragrâncias mais agradáveis, maior tempo de floração e vida útil na pós-colheita) e geração de novas variedades (Vichiato et al., 2014; Liao et al., 2016; Basumatari e Das, 2017; Liqin et al., 2019). Entre os métodos de poliploidização destaca-se a produção de plantas triploides regeneradas pela tecnologia da cultura de endosperma in vitro com as espécies *P. edulis* (Antoniazzi et al., 2018), *P. cincinnata* (Silva et al., 2020) e *P. foetida* (Mikovski et al., 2021).

Mikovski et al. (2019), ressaltam a importância da cultura de tecidos como ferramenta biotecnológica para produção de plantas ornamentais em larga escala e

alta qualidade, aplicável tanto na clonagem de genótipos elites, como produção de novas variedades com características interessantes ao mercado.

As espécies nativas também desempenham um papel importante nos programas de melhoramento por serem, na maioria das vezes, portadoras de genes de características vantajosas e de interesse paisagístico. Recursos genéticos passíveis de serem submetidos a processos biotecnológicos de melhoramento através da indução de poliploidia por bloqueadores mitóticos e cultura de tecidos; assim como, via hibridação sexual intervarietal ou interespecífica, com cultivares comercialmente exploradas (Junqueira et al., 2007; Conceição et al., 2011; Ocampo, 2016; Mikovski et al., 2019). Para Cerqueira-Silva et al. (2014) a hibridação intra e interespecífica também é indispensável para o aumento da diversidade.

Faleiro et al. (2017) e Fonseca et al. (2017) destacam a importância dos cultivares híbridos de *Passiflora*, produzidos para atender à crescente demanda do mercado de flores ornamentais como: BRS Estrela-do-cerrado, híbrido de flor vermelha, obtido pelo cruzamento entre *P. cetacea* x *P. coccinea*; BRS Rosa Púrpura, de flores rosadas, resultado do cruzamento de *P. quadrifaria* x *P. incarnata*; e BRS Céu-do-cerrado, de flores azuis, obtido pelo do cruzamento entre *P. incarnata* x *P. edulis*.

Oliveira et al. (2015), obtiveram as variedades “*P. mellus*”, “*P. sunshine*”, “*P. early morning*”, “*P. pink shine*”, “*P. purple shine*” com características florais superiores para tamanho e intensidade da coloração púrpura, rosa e brancas a partir do cruzamento interespecífico de genitores de *P. subanceolata* x *P. foetida*.

O cultivo de espécies do gênero *Passiflora*, como planta ornamental mostrou-se viável, tanto no aspecto paisagístico como econômico (Peixoto, 2005). Mas, apesar do grande potencial ainda são poucos os estudos para este recurso genético (Zeraik et al., 2010). Menos de 60 espécies foram estudadas e a maior parte das pesquisas se concentraram em *Passifloras* de interesse comercial estabelecido (Cerqueira-Silva et al., 2014). Muitos germoplasmas de potencial ornamental sequer passaram por caracterização agrônômica que subsidiem programas de melhoramento genético (Mikovski et al., 2019).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, P.P.; SOUZA, M.M.; SANTOS, E.A.; PIRES, M.V.; PIRES, M.M.; ALMEIDA, A.A. Passionflower hybrids and their use in the ornamental plant market: perspectives for sustainable development with emphasis on Brazil. **Euphytica**. 166:307-315, 2009. <https://doi.org/10.1007/s10681-008-9835-x>.

AHMED, D.; CURK, F.; EVRARD, J.C.; FROELICHER, Y.; OLLITRAULT, P. Preferential disomic segregation and *C. micrantha* / *C. medica* Interspecific recombination in tetraploid 'Giant Key' lime; outlook for triploid lime breeding. **Frontiers in Plant Science**. 11:939, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00939>.

ALEXANDER, L. Production of Triploid *Hydrangea macrophylla* via unreduced gamete breeding. **American Society for Horticultural Science**. 52(2):221-224, 2017. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI11358-16>.

ALEZA, P.; JUÁREZ, J.; CUENCA, J.; OLLITRAULT, P.; NAVARRO, L. Recovery of citrus triploid hybrids by embryo rescue and flow cytometry from 2x × 2x sexual hybridization and its application to extensive breeding programs. **Plant Cell Reports**. 29:1023-1034, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00299-010-0888-7>.

AMARAL, R.G.; GOMES, S.; ANDRADE, L.N.; SANTOS, S.A.; SEVERINO, P.; ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R.; SOUTO, E.B.; BRANDÃO, G.C.; SANTOS, S.L.; DAVID, J.M.; CARVALHO, A.A. Cytotoxic, antitumor and toxicological profile of *Passiflora alata* leaf extract. **Molecules**. 25(20):4814, 2020. <https://doi.org/10.3390/molecules25204814>.

AMORIM, J.S.; SOUZA, M.M.; VIANA, A.J.C.; CORRÊA, R.X.; ARAÚJO, I.S.; AHNERT, D. Cytogenetic, molecular and morphological characterization of *Passiflora capsularis* L. and *Passiflora rubra* L.. **Plant Systematics and Evolution**. 300:1147-1162, 2014. <https://doi.org/10.1007/s00606-013-0952-1>.

ANTONIAZZI, C.A.; FARIA, R.B.; CARVALHO, P.P.; MIKOVSKI, A.I.; CARVALHO, I.F.; MATOS, E.M.; REIS, A.C.; VICCINI, L.F.; PINTO, D.L.P.; ROCHA, D.I.; OTONI, W.C.; SILVA, M.L. In vitro regeneration of triploid plants from mature endosperm culture of commercial passionfruit (*Passiflora edulis* Sims). **Scientia Horticulturae**. 238:408-415, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.001>.

BERNACCI, L.C.; MELETTI, L.M.M.; SOARES-SCOTT, M.D.; PASSOS, I.R.S. Espécies de maracujá: caracterização e conservação da biodiversidade. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Ed.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p.559-586.

BASUMATARI, M.; DAS, B.N. Karyomorphological studies in two species of *Bauhinia Linn.* and induction of polyploidy in *Bauhinia acuminata* Linn. **International Journal of Life Sciences Research**. 3:123-1229, 2017. <https://doi.org/10.21276/ijlssr.2017.3.4.20>.

BORGES, K.F.; LORENZONI, R.M.; FONTES, M.M.P.; MILWARD-DE-AZEVEDO,

M.A. The family Passifloraceae sensu stricto from Espírito Santo, Brazil. **Rodriguésia**. 71: 2020. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202071084>.

BOWDEN, W.M. The chromosome complements and its evolutionary relationship to cold resistance in the higher plants. **Chronica Botanica**. 6:123-125, 1940.

BOWDEN, W.M. A List of Chromosome Numbers in Higher Plants. II. Menispermaceae to Verbenaceae. **American Journal of Botany**. 32:(4):191-201, 1945. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1945.tb05108.x>.

BRAGLIA, L.; BENEDETTI, L.; GIOVANNINI, A.; NICOLETTI, F.; BIANCHINI, C.; PIPINO, L.; MERCURI, A. In vitro plant regeneration as a tool to improve ornamental characters in *Passiflora* species. **Acta Horticulturae**. 855(855):47-52, 2010. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.855.5>.

BRUCKNER, C.H.; CASALI, V.W.D.; DE MORAES, C.F.; REGAZZI, A.J. AND DA SILVA, E.A.M. Self-incompatibility in passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). **Acta Horticulturae**. 370:45-58, 1995. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1995.370.7>.

BUITRAGO, M.A.A.; MACDOUGAL, J.M.; COCA, L.F. *Passiflora kumandayi* (Passifloraceae), a new species from the Colombian Andes in a new section within subgenus *Decaloba*. **Phytotaxa**. 344(1):013-023, 2018. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.344.1.2>.

CERQUEIRA-SILVA, C.B.; JESUS, O.N.; SANTOS, E.S.; CORRÊA, R.X.; SOUZA, A.P. Genetic breeding and diversity of the genus *Passiflora*: progress and perspectives in molecular and genetic studies. **International Journal of Molecular sciences**. 15(8):14122-14152, 2014. <https://doi.org/10.3390/ijms150814122>.

CERVI, A.C. Estudo sobre Passifloraceae I: ocorrência de *Passiflora foetida* L. Var. *nigelliflora* (Hooker) Masters e *Passiflora Warmingii* Masters, no Paraná, Brasil. **Acta Biológica Paranaense**. 19:(1,2,3,4):159-169, 1990. <http://dx.doi.org/10.5380/abpr.v19i0.783>.

CHATURVEDI, R.; RAZDAN, M.K.; BHOJWANI, S.S. An efficient protocol for the production of triploid plants from endosperm callus of neem, *Azadirachta indica* A. Juss. **Journal of Plant Physiology**. 160(5):557-64, 2003. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00884>.

CLARO, M.L.; RODRIGUES, G.P.; TEIXEIRA, S.A. Propriedades funcionais da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis*) na síndrome metabólica. **Demetra: Alimentação, Nutrição e Saúde**. 13(1):181-194, 2018. <https://doi.org/10.12957/demetra.2018.28957>.

COELHO, M.S.E.; BORTOLETI, K.C.A.; ARAÚJO, F.P.; MELO, N.F. Cytogenetic characterization of the *Passiflora edulis* Sims x *Passiflora cincinnata* Mast. interspecific hybrid and its parents. **Euphytica**. 210:93-104, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10681-016-1704-4>.

CONCEIÇÃO, L.D.H.C.S.; SOUZA, M.M.; BELO, G.O.; SANTOS, S.F.; FREITAS,

J.C.O. Hybridization among wild passionflower species. **Revista Brasileira de Botânica**. 34:2, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042011000200011>.

COSTA, A.M.; TUPINAMBÁ, D.D. O Maracujá e Suas Potencialidades Mediciniais – Estado da Arte. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (ed.). **Maracujá: Germoplasma e Melhoramento Genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005, p.475-506.

COSTA, B.F.; LIZ, F.R.; FERREIRA, J.G.S.; SANTOS, R.C.; GONÇALVES, T.H.; BALBI, M.E. Use of passion fruit peel flour (*Passiflora edulis* f. *Flavicarpa* Deg. – family Passifloraceae) in homemade pasta Recife. **Visão Acadêmica**. 19:4, 2018.

ESASHIKA, D.A.S.; FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V. Phenology of the production of flowers and fruits of wild and hybrid species of the genus *Passiflora*. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 40:2, 2018. <https://doi.org/10.1590/0100-29452018188>.

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.; PEIXOTO, J.R. Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro – desafios da pesquisa. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: Germoplasma e Melhoramento Genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005, p.187-209.

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V. **Maracujá: o Produtor Pergunta, a Embrapa Responde**. Brasília, DF: Embrapa Cerrados, 2016. 341p.

FALEIRO, F.G. JUNQUEIRA, N.T.V.; COSTA, A.M.; JESUS, C.F. Maracujá. In: BURLE, M. L.; FALEIRO, F.G. (ed). **Maracujá: *Passiflora* spp. Argentina: IICA, PROCISUR**, 2017. Disponível em 26.05.2021 em: https://www.procisur.org.uy/adjuntos/procisur_maracuja_506.pdf.

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; JUNGHANS, T.G.; JESUS, O.N.; MIRANDA, D.; OTONI, W.C. Advances in passion fruit (*Passiflora* spp.) propagation. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 41(2):155. 2019. <https://dx.doi.org/10.1590/0100-29452019155>.

FARAG, M.A.; OTIFY, A.; PORZEL, A.; MICHEL, C.G.; ELSAYED, A.; WESSJOHANN, L. A. Comparative metabolite profiling and fingerprinting of Genus *Passiflora* leaves using a multiplex approach of UPLC-MS and NMR analyzed by chemometric tools. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. 408(1):3125-3143, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9376-4>.

FONSECA, K.G.; FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BARTH, M.; FELDBERG, N.P. Morphoagronomic and molecular characterization of ornamental passion fruit cultivars. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 52(10):849-860, 2017. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2017001000004>.

GARCIA, M.T.A.; HOC, P. Biología floral de *Passiflora foetida* (Passifloraceae). **Revista de Biología Tropical**. 46(2):191-202, 1998. <https://doi.org/10.15517/rbt.v46i2.19427>.

HE, X.; LUAN, F.; YANG, Y.; WANG, Z.; ZHAO, Z.; FANG, J.; WANG, M.; ZUO, M.;

LI, Y. *Passiflora edulis*: An insight into current researches on phytochemistry and pharmacology. **Frontiers in pharmacology**. 11:617, 2020. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00617>.

IMIG, D.C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A.; CERVI, A.C. Passifloraceae *sensu stricto* de Minas Gerais, Brasil. **Rosdriguésia**. 69(4):1701-1735, 2018. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201869415>.

JUNQUEIRA, N.T.V.; LAGE, D.A.C.; BRAGA, M.F.; PEIXOTO, J.R.; BORGES, T.A.; ANDRADE, S.R.M. Reação a doenças e produtividade de um clone de maracujazeiro-azedo propagado por estaquia e enxertia em estacas herbáceas de passiflora silvestre. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 28(1):97-100, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452006000100027>.

JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F. G.; RAMOS, J. D.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. K. Variabilidade genética de acessos de maracujá-suspiro com base em marcadores moleculares. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 29:571-575, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452007000300030>.

KILLIP, E.P. The American species of Passifloraceae. Field Museum of Natural History Publication. **Botanical Serie**. 19:613, 1938. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.2269>.

KNIGHT, R.J.; SAULS, J.W. Passion fruit. In: **Horticulture Series (60)**, Horticultural Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. p.1-5. 1994.

KROSNICK, S.E.; FORD, A.J.; FREUDENSTEIN, J.V. Taxonomic revision of *Passiflora* subgenus *Tetrapathea* Including the monotypic genera *Hollrungia* and *Tetrapathea* (Passifloraceae), and a new species of *Passiflora*. **Systematic Botany**. 34:375-385, 2009. <https://doi.org/10.1600/03634409788606343>.

LAVINSCKY, M.P.; SOUZA, M.M.; SILVA, G.S.; MELO, C.A.F. Contributions of classical and molecular cytogenetic in meiotic analysis and pollen viability for plant breeding. **Genetics and Molecular Research**. 16:3, 2017. <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16039582>.

LAVINSCKY, M.P., SOUZA, M.M., SILVA, G.S.; SOUZA, V.O.; MELO, C.A. Meiotic analyses of *Passiflora* L. parents and interspecific F1 hybrids (HD15 progeny). **Euphytica**. 217:68, 2021. <https://doi.org/10.1007/s10681-021-02802-2>.

LIAO, T., CHENG, S., ZHU, X.; MIN, Y.; KANG, X. Effects of triploid status on growth, photosynthesis, and leaf area in *Populus*. **Trees**. 30:1137-1147, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00468-016-1352-2>.

LIQIN, G.; JIANGUO, Z.; XIAOXIA, L.; GUODONG, R. Polyploidy-related differential gene expression between diploid and synthesized allotriploid and allotetraploid hybrids of *Populus*. **Molecular Breeding**. 39:69, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11032-019-0975-6>.

MACDOUGAL, J.M. & FEUILLET, C. **Systematic**. In: ULMER, T. & MACDOUGAL, J.

M. Passion flowers of the world. Timber Press, Portland, Oregon, 2004, p. 27-31.

MANZOOR, A.; AHMAD, T.; BASHIR, M.A.; HAFIZ, I.A.; SILVESTRI, C. Studies on Colchicine Induced Chromosome Doubling for Enhancement of Quality Traits in Ornamental Plants. **Plants (Basel, Switzerland)**. 8(7):194, 2019. <https://doi.org/10.3390/plants8070194>.

MAYROSE, I.; MICHAEL S. BARKER, M.S.; OTTO, S.P. Probabilistic models of chromosome number evolution and the Inference of polyploidy. **Systematic Biology**. 59(2):132-144, 2010. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syp083>.

MELETTI, L.M.M.; SOARES-SCOTT, M.D.; BERNACCI, L.C.; PASSOS, I.R.S. Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M. F. (Ed.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina Distrito Federal: Embrapa Cerrados, p.55-78, 2005.

MELETTI, L.M.M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 33:(1):83-91, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000500012>.

MELO, N.F.; CERVI, A.C.; GUERRA, M. Karyology and cytotaxonomy of the genus *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Plant Systematics and Evolution**, 226:68-84, 2001. <https://doi.org/10.1007/s006060170074>.

MELO, N.F.; GUERRA, M. Variability of 5S and 45S rDNA sites in *Passiflora* L. species with distinct base chromosome numbers. **Annals of Botany**. 92(2):309-316, 2003. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg138>.

MIKOVSKI, A.I.; SILVA, N.T.; SOUZA, C.S.; MACHADO, M.D.; OTONI, W.C.; CARVALHO, I.F.; ROCHA, D.I.; SILVA, M.L. Tissue culture and biotechnological techniques applied to passion fruit with ornamental potential: an overview. **Ornamental Horticulture**. 25(2):189-199, 2019. <https://doi.org/10.14295/oh.v25i2.2036>.

MIKOVSKI, A.I.; SILVA, N.T.; SILVA, L.A.S.; SILVA, L.A.S.; MACHADO, M.; BARBOSA, L.C.S.; REIS, A.C.; MATOS, E.M.; VICCINI, L.F.; SOUZA, C.S.; MACHADO, M.D.; OTONI, W.C.; CARVALHO, I.F.; ROCHA, D.I.; SILVA, M.L. From endosperm to triploid plants: a stepwise characterization of the de novo shoot organogenesis and morpho-agronomic aspects of an ornamental passion fruit (*Passiflora foetida* L.). **Plant Cell Tissue and Organ Culture**. 2021. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02120-4>.

MOHANASUNDARI, C.; NATARAJAN, D.; SRINIVASAN, K.; UMAMAHESWARI, S.; RAMACHANDRAN, A. Antibacterial properties of *Passiflora foetida* L. – a common exotic medicinal plant. **African Journal of Biotechnology**. 6(23):2650-2653, 2007. <https://doi.org/10.5897/AJB2007.000-2426>.

NEUMANN, K.H.; KUMAR, A.; IMANI, J. Genetic problems and gene technology. In: **Plant Cell and Tissue Culture – A Tool in Biotechnology**. 337-435, 2020.

https://doi.org/10.1007/978-3-030-49098-0_13.

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

OCAMPO, J.; ARIAS, J.C.; URREA, R. Interspecific hybridization between cultivated and wild species of genus *Passiflora* L. **Euphytica**. 209:395-408, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10681-016-1647-9>.

OLIVEIRA, J.C.; RUGGIERO, C. Espécies de maracujá com potencial agrônomo. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Ed.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 143-158.

OLIVEIRA, O.L.S.; MELO, C.A.F.; SOUZA, M.M.; CORRÊA, R.X. Híbridos ornamentais de *Passiflora* obtidos através do método de retrocruzamento. In 8º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, Goiânia, GO, 2015, **Anais**. Disponível em: <http://www.sbmp.org.br/8congresso/anais/resumos/resAnexo1-0355-0075.pdf>, acesso: 28.06.2021.

OLIVEIRA, J.S.; FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V. A Importância dos maracujás (*Passiflora* L. spp.) e seu uso comercial. **Revista RG News - Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos**. 3:3, 2017.

PATEL, S.S.; SALEEM, M.; RAVI, V.; SHRESTHA, B.; VERMA, N.K.; GAUTHAMAN, K. *Passiflora incarnata* Linn: A phytopharmacological. **International Journal of Green Pharmacy**. 3:277–280, 2009. <https://doi.org/doi:10.4103/0973-8258.59731>.

PATEL, S. S.; MISHRA, H. S. K.; SINGHAI, A. K. Recent updates on the genus *Passiflora*: a review. **International Journal of Research in Phytochemistry & Pharmacology**. 1 (1)1-16, 2011.

PEIXOTO, M. Problemas e perspectivas do maracujá ornamental. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. (Ed.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 457-463.

PEREIRA, C.A.M.; VILEGAS, J.H.Y. Constituintes Químicos e Farmacologia do Gênero *Passiflora*, com Ênfase a *P. alata* Dryander., *P. edulis* Sims. e *P. incarnata* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. 3(1):1-12, 2000.

PERTUZATTI, P.B.; SGANZERLA, M.; JACQUES, A.C.; BARCIA, M.T.; ZAMBIAZI, C. Carotenoids, tocopherols and ascorbic acid content in yellow passion fruit (*Passiflora edulis*) grown under different cultivation systems. **LWT – Food Science and Technology**. 64(1):259-263, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.031>.

PIRES, M. V.; ALMEIDA, A. A. F.; FIGUEIREDO, A. L.; GOMES, F. P.; SOUZA, M. M. Germination and seedling growth of ornamental species of *Passiflora* under artificial shade. **Acta Scientiarum Agronomy**. 34(1)67-75, 2012. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v34i1.11623>.

REIS, A.C.; CHESTER, M.; SOUSA, S.M.; CAMPOS, V.R. NACIMENTO, L.S.Q.;

PACHECO-JUNIOR, S.; FRANCO, A.L.; VICCINI, L.F. Chromosomal view of *Lippia alba*, a tropical polyploid complex under genome stabilization process. **PROTOPLASMA**. 2021. [HTTPS://DOI.ORG/10.1007/S00709-021-01636-Y](https://doi.org/10.1007/S00709-021-01636-Y).

SADER, M.A.; AMORIM, B.S.; COSTA, L.; SOUZA, G.; PEDROSA-HARAND, A. The role of chromosome changes in the diversification of *Passiflora* L. (Passifloraceae), **Systematics and Biodiversity**. 17(1):1-15, 2019. <https://doi.org/10.1080/14772000.2018.1546777>.

SCHUBERT, I.; LYSAK, M.A. Interpretation of karyotype evolution should consider chromosome structural contains. **Trends in Genetics**. 27(6):207-216, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2011.03.004>.

SILVA, N.T.; SILVA, L.A.S.; REIS, A.C.; MACHADO, M.; MATOS, E.M.M.; VICCINI, L.F.; OTONI, W.C.; CARVALHO, I.F.; ROCHA, D.I.; SILVA, M.L. Endosperm culture: a facile and efficient biotechnological tool to generate passion fruit (*Passiflora cincinnata* Mast.) triploid plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 142:613-624, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01887-2>.

SIMÃO, M.J.; BARBOZA, T.J.S.; VIANNA, M.G.; GARCIA, R.; MANSUR, E.; IGNACIO, A.C.P.R.; PACHECO, G. A comparative study of phytoconstituents and antibacterial activity of in vitro derived materials of four *Passiflora* species. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**. 90(3):2805-2813, 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201820170809>.

SINGH, R.J. **Practical manual on plant cytogenetics - plant cytogenetics**. US: Boca Raton: CRC Press, 2018, 320p. ISBN9781498742979.

SNOW, N. e MACDOUGAL, J.M. New Chromosome reports in *Passiflora* (Passifloraceae). **Systematic Botany**. 18(2):261-273, 1993. <https://doi.org/10.2307/2419402>.

SOARES, W.S.; RÊGO, M.M.; RÊGO, E.R.; BARROSO, P.A.; MEDEIROS, R.N. Characterization of fruits and seeds of wild passion fruit (*Passiflora foetida* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. 13:569-573, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000500011>.

SOARES, C.A.; DANTAS, Y.T.; COELHO, P.B.; NEVES, R.O.; PESSOA, M.C.F.; CARMO, E.F.; CARVALHO, N.D.M. Descrição da composição de *Passiflora coccinea* Aubl. (Passifloraceae) do Campus da Universidade Federal do Amazonas - UFAM. **Scientia Amazonia**. 7:2, 2018.

SONG, Y.; WEN, P.; HAO, H.; ZHU, M.; SUN, Y.; ZOU, Y.; REQUENA, T.; HUANG, R.; WANG, H. Structural features of three hetero-galacturonans from *Passiflora foetida* fruits and their in vitro immunomodulatory effects. **Polymers**. 12(3):615, 2020. <https://doi.org/10.3390/polym12030615>.

SOUZA M.M., PEREIRA T.N.S., VIEIRA M.L.C. Cytogenetic studies in some species of *Passiflora* L. (Passifloraceae): A review emphasizing Brazilian species. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. 51:247-258, 2008.

<https://doi.org/10.1590/S1516-89132008000200003>.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG IV**. 4ª edição, Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2019, 704p.

SUN, D.Q.; LU, X.H.; LIANG, G.L.; GUO, Q.G.; MO, Y.W.; XIE, J.H.: Production of triploid plants of papaya by endosperm culture. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. 104:23–29, 2011. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9795-4>.

THOMAS, T.D.; CHATURVEDI, R. (2008): Endosperm culture: a novel method for triploid plant production. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. 93:1–14. 2008. <https://doi.org/10.1007/s11240-008-9336-6>.

ULMER T., MACDOUGAL, J.M. *Passiflora: passionflowers of the world*. Timber Press Portland, Oregon, 2004.

VANDERPLANK, J. **Passion flowers**. 3. Ed. Cambridge: The MIT Press, 2000. 224p.

VICHIATO, M.R.D.M.; VICHIATO, M.; PASQUAL, M.; RODRIGUES, F.A.; CASTRO, D.M.D. Morphological effects of induced polyploidy in *Dendrobium nobile* Lindl. (Orchidaceae). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. 14(3):154-159, 2014. <https://doi.org/10.1590/1984-70332014v14n3a23>

WANG X.; MING, CHENG Z.; ZHI, S.; XU, F. Breeding triploid plants: a review. **Czech Journal of Genetics and Plant Breeding**. 52:41-54, 2016. <https://doi.org/10.17221/151/2015-CJGPB>.

YOCKTENG, R.; NADOT, S. Phylogenetic relationships among *Passiflora* species based on the glutamine synthetase nuclear gene expressed in chloroplast (ncpGS). **Elsevier**. 31(1):379-396, 2004. [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(03\)00277-X](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(03)00277-X).

ZACHARIAS, A.O.; FALEIRO, F.G.; ALMEIDA, G.Q. Producers profile and the adoption of technologies in passion fruit cultivation in the Triângulo Mineiro region. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 42:5, 2020. <https://doi.org/10.1590/0100-29452020058>.

ZERAIK, M.L.; PEREIRA, A.M.; ZUIN, V.G.; YARIWAKE, J.H. Maracujá: um Alimento Funcional?. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 20(3):459-471, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2010000300026>.

CAPÍTULO I

Citogenética como ferramenta estratégica para caracterização de poliploides de *Passiflora* L. – revisão geral.

1. INTRODUÇÃO

Apesar da importância do gênero *Passiflora* e dos avanços promovidos nas últimas décadas, os estudos citogenéticos da morfologia e quantificação cromossômica ainda são insuficientes para uma caracterização robusta que permita abranger todo o número de espécies que compõe esse táxon (Snow e MacDougal, 1993; Melo et al., 2001; Melo e Guerra, 2003; Souza et al., 2008; Cerqueira-Silva et al., 2014, 2016), sendo que 20% das espécies do gênero têm o número de cromossomos reconhecidos (Soares-Scott et al., 2005).

Inicialmente, os estudos citogenéticos destinavam-se apenas à contagem cromossômica e os trabalhos mais amplos foram realizados por Bowden (1945), Beal (1969a,b), Storey (1950), Guerra (1986), MacDougal (1983) e Snow e MacDougal (1993) que identificaram o número de cromossomos de um total de 81 espécies de *Passiflora*, determinados em $2n = 6, 9, 12, 18, 20, 22, 24$ e 36 cromossomos.

Com uso das técnicas da citogenética clássica e fotomicrografia, Snow e MacDougal (1993) fizeram caracterização cariotípicas de 31 espécies de *Passiflora*. A partir dos caracteres morfométricos, definiram a existência de dois números básicos cromossômicos comuns para o gênero: $x = 6$, de morfologia menor e mais assimétrica, composto pelo subgênero *Plectostemma*; e $x = 9$, com cromossomos maiores, relativamente simétricos, compreendendo os subgêneros *Passiflora*, *Distephana* e *Tacsonia*.

Melo et al. (2001) aplicaram o método de coloração diferencial com os fluorocromos DAPI/CMA₃ e identificaram a variação morfológica e numérica dos cromossomos de 31 espécies de *Passiflora*. O trabalho resultou na reclassificação das plantas em 3 grupos cariotípicos distintos: o primeiro composto por citótipos $2n = 12, 24$ e 36 cromossomos, onde foram identificados poliploides de *P. suberosa* ($2n = 4x = 24$) e *P. pentagona* ($2n = 4x = 24$); o segundo grupo formado por plantas com $2n = 18$ e 72 cromossomos e o último composto por passifloras $2n = 2x = 20$ cromossomos.

A divisão das passifloras em grupos foi revisada por Melo e Guerra (2003) que adotaram a técnica de hibridização fluorescente *in situ* – FISH para identificar a

variabilidade a partir da localização dos sítios 5S e 45S do DNAr. As plantas analisadas foram distribuídas em quatro grupos de acordo com o número básico cromossômico sendo $x = 6$, $x = 9$, $x = 10$ e $x = 12$. Os resultados dos estudos indicaram que o número básico cromossômico principal para gênero *Passiflora* é $x = 6$ e os citótipos $x = 9$ e $x = 10$ foram considerados números básicos secundários.

Pela importância evolutiva e por fazer parte de outros gêneros da família $x = 12$ deixou de ser um número básico secundário e se tornou um número básico cromossômico principal (Melo et al., 2001; Melo e Guerra, 2003; Sader et al., 2019).

Os números básicos secundários são formados através de processos de poliploidização, seguido de frequentes disploidia ascendente ou descendentes, fenômenos apontados como a principal causa de variações cariotípicas intraespecíficas (Sader et al., 2019; Bugallo, et al., 2020; Jike et al., 2020).

Segundo Sader et al. (2019) os subgêneros *Astrophea*, *Tetraphathea* e *Deidamioides*, compostos por espécies de número básico $x = 12$ cromossomos, originaram-se pela poliploidia do ancestral $n = 6$ cromossomos. O subgênero *Passiflora*, onde estão alocadas as espécies de número básico $x = 9$ e $x = 10$, formou-se a partir de casos de disploidia ascendente do ancestral $x = 6$. No entanto, o subgênero *Decaloba* composto por espécies com número básico $x = 6$, $x = 9$, $x = 11$ e $x = 12$ cromossomos, formou-se por processos de poliploidia, poliploidia seguido de disploidia ascendente, ou apenas por disploidia ascendente do ancestral $x = 6$.

As diferenças cariotípicas do gênero *Passiflora*, que apresenta algumas espécies semelhantes, são destacadas por técnica de bandeamento que permitem identificar variações, sobretudo no padrão de heterocromatina (Viana & Souza, 2012; Brammer et al., 2015; Pinto-Maglio e Pierozzi, 2015). Ao analisar duas espécies muito próximas, Viana & Souza (2012) relatou que o fluorocromo CMA₃ respondeu a coloração de modo acentuado na heterocromatina nos braços curtos de dois pares de cromossomos de *P. edulis* e *P. cacaoensis*, mas em localizações diferentes. Enquanto, em *P. edulis* destacou os satélites do primeiro e quarto par cromossômico e em *P. cacaoensis* revelou constrições nos sétimos e oitavos pares de homólogos, indicando que essas regiões são constituídas principalmente por bases GC.

Além da morfologia, as análises dos cariótipos do gênero *Passiflora* permitiram a determinação do número e comprimento cromossômico a localização das constrições secundárias, e o posicionamento dos satélites, características

fundamentais para classificação dos citótipos a nível de subgêneros e seções (Snow e Macdougall, 1993; Mayeda, 1997; Vieira et al., 2004).

De modo geral, o gênero *Passiflora* é formado, predominantemente, por espécies diploides, com morfologia cromossômica relativamente simétrica, composta por cromossomos metacêntricos e submetacêntricos (Melo et al., 2001, 2014; Melo e Guerra 2003). Mas pode haver ocorrências de cromossomos acrocêntricos em algumas espécies (Leite et al., 2019).

Quanto ao tamanho, o cariótipo do gênero *Passiflora* é formado por cromossomos pequenos, com comprimento médio que varia de 1,63 a 3,73 μm (Soares-Scott et al., 2005).

No que se refere as estimativas de conteúdo de DNA nuclear Melo et al. (2014) relatam que as espécies do gênero *Passiflora* apresentam intervalos de dissimetria superior a 10x. Estudos de variação cromossômica realizados por Yotoko et al. (2011) determinaram que o menor e maior genoma do gênero *Passiflora* ocorre entre as espécies *P. organensis* ($1C = 0,212 \text{ pg}$), subgênero *Decaloba* e *P. quadrangularis* ($1C = 2,680 \text{ pg}$), subgênero *Passiflora*. Considerando apenas o subgênero *Passiflora* a variação genômica vai de $1C = 0,263\text{pg}$ (*P. palmieri*) a $1C = 2,680\text{pg}$ (*P. quadrangularis*).

2. Citogenética de *Passiflora foetida*

A *Passiflora foetida* é uma espécie pertencente ao subgênero *Passiflora*, de número básico cromossômico $x = 10$, derivado de um cariótipo $x = 12$ que sofreu disploidia descendente (Melo et al., 2001; Melo e Guerra, 2003; Sader et al., 2019).

A espécie apresenta variação no número de cromossomos, inicialmente registrada com $2n = 2x = 18$ (Janaki-Ammal, 1945), $2n = 2x = 20$ (Nishiyama e Kondo, 1942; Storey, 1950) e $2n = 2x = 22$ (Bowden, 1945; Harvey, 1966). No entanto, MELO et al. (2001) destaca que os citótipos podem exibir constrições secundárias proximais distendidas em um dos menores pares cromossômicos, durante a prófase ou prometáfase, o que poderia parecer conjuntos cromossomos distintos, e levar à interpretação incorreta de $2n = 2x = 22$ ao invés de $2n = 2x = 20$.

Estudos realizados por Melo et al. (2001) revelam que *P. foetida* responderam ao fluorocromo cromomicina - CMA_3^+ , mas não formaram bandas sob o efeito do 4,6-diamidil-2-fenilindol (DAPI). O CMA_3 destacou sítios na região terminal de um par

cromossômico e formou bandas nas regiões proximais de outros dois cromossomos, indicando a localização de constrições secundárias de heterocromatina ricas em guanina e citosina. No entanto, Melo e Guerra (2003) relataram que espécies de *P. foetida* apresentam constrições secundárias proximais em três pares de cromossomos.

A *P. foetida* apresenta $1C = 0,481\text{pg}$, um dos menores genótipos do gênero (Yotoko et al., 2011). Por conta destas características a espécie *P. foetida* forma um grupo único (Viana, 2003).

3. Formação natural de plantas triploides

A ocorrência de triploides naturais é rara (Kopecký et al., 2018). Plantas triploides são euploides e poliploides que apresentam um conjunto extra de cromossomos, completamente equilibrado para o estado diploide ($2n$) (Sellars, 2013). Na natureza os triploides são formados pelo cruzamento de um progenitor produtor de gametas não reduzidos ($2n$) com um reduzido (n). Em ambiente natural a formação de triploides pela não redução do número de cromossomos do megásporo (gameta feminino diploide) é mais comum que a causada pela não redução do micrósporo (gameta masculino). Isso porque há maior probabilidade de um óvulo ($2n$) ser fecundado por qualquer grão de pólen reduzido (n), do que um único grão de pólen ($2n$) fecundar um gameta feminino (n), por competir com outros milhares de pólenes (n) na natureza (Navarro et al., 2005; Handaji et al., 2008).

Em menor número de casos, também, pode haver formação de plantas triploides quando um dos progenitores é tetraploide ($4x$) e faz cruzamento com outro diploide ($2x$), ambos reduzidos ($2x \times x = 3x$) (Navarro et al., 2005; Zhu et al., 2009; Toda & Okamoto, 2016; Cardoso et al., 2018).

Embora o cruzamento entre genitores paterno diploide e materno tetraploide ($2x \times 4x$) apresente alta eficiência, por possibilitar o uso de grande número de gametas masculinos com meiose normal. O cruzamento envolvendo genitores paterno tetraploide e materno diploide ($4x \times 2x$) é o método mais utilizado nos cruzamentos naturais (Navarro et al., 2005; Alexander, 2020). Na fecundação entre os genitores materno ($4x$) e paterno ($2x$) de *Humulus lupulus* os neotriploides representam 83,8 % da população analisada (Trojak-Goluch e Skomra, 2020).

4. Produção de plantas triploides a partir do cultivo in vitro de endosperma

Plantas triploides podem ser produzidas artificialmente, através do uso de técnicas de cultura de tecidos vegetais in vitro que exploram a totipotência celular para a produção de plantas com características desejáveis pelas vias organogênica ou embriogênica, cultivados em meio nutritivo e ambiente controlado (Van et al., 2018; Du et al., 2020; Nakano et al., 2021).

A totipotência é a capacidade que as células vegetais diferenciadas apresentam de voltar ao estado meristemático e desenvolver órgãos ou indivíduos inteiros “*de novo*”, após processo de indução (Neumann et al., 2020). A organogênese somática corresponde à produção de primórdios vegetativos ou radiculares com um sistema vascular conectado de forma direta no explante de origem, ou indireta através da formação de calos (Otoni et al., 2013; Xu e Huang, 2014; Touchell et al., 2020).

O cultivo in vitro de plantas é um método biotecnológico eficiente, rápido e direto (Cardoso et al., 2018; Mikovski et al., 2019) que permite a inoculação e cultivo de explante endospermico, considerado uma estratégia promissora para a produção de plantas triploides (Antoniazzi et al., 2018; Faria et al., 2018; Silva et al., 2020) para espécies de *Passiflora* spp.

O endosperma é um tecido vegetal naturalmente triploide (3n) com função nutritiva para o embrião diploide (2n), composto por células aleurônicas e amiláceas, formado pela fusão do segundo núcleo haploide (n) do gameta masculino com dois núcleos polares também haploides (n + n) do megatófito feminino (Ramsey e Schesmke, 1998; Wang et al., 2016; Van et al., 2018; Ingram, 2020).

Para Thomas e Chaturvedi (2008) tanto o explante de endosperma imaturo como o maduro apresentam totipotência e pluripotência celular capazes de promover a regeneração “*de novo*” e produção de plantas em meio nutritivo in vitro; mas a diferença de maturação tecidual dos endospermas deve ser levada em consideração, uma vez que pode resultar em diferentes níveis de plasticidade responsivas.

Na fase inicial da cultura in vitro de endosperma as células dos explantes sofrem diferenciação celular na aquisição de competência e capacidade de produzir plantas triploides geneticamente estáveis (Wang et al., 2016; Faria et al., 2018; Fehér, 2019, Antoniazzi et al., 2018; Silva et al., 2020; Mikovski et al., 2021).

O primeiro relato de proliferação de tecidos a partir de cultivo de endosperma foi realizado por Lampe e Mills (1933) que inocularam sementes de *Z. mays*.

Rangaswamy e Rao (1963) inocularam endosperma de *Santalum album* em meios nutritivos contendo os reguladores de crescimento 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e cinetina (CIN), desencadeando a formação inicial de tecidos diferenciados. Johri e Bhojwani (1965) induziram a formação de calos, a proliferação de diferentes tipos de células e formação de tecidos vascularizados em endosperma in vitro de *Osyris wightiana* e *Exocarpos cupressiformis*.

Chaturvedi et al. (2003) estabeleceram protocolos para geração de plantas triploides de *Azadirachata indica* ($2n = 3x = 36$), utilizando explantes endospérmicos imaturos inoculados em diferentes concentrações de ácido naftalenoacético (ANA), 6-benziladenina e caseína hidrolisada. Atualmente, entre os hormônios reguladores de crescimento mais utilizados nos meios de cultura in vitro para a regeneração de plantas, destacam-se no grupo das auxinas, o 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), ácido naftalenoacético (ANA) e o ácido 3-indolilacético (AIA); na classe das citocininas é frequente a adição de 6-benziladenina, tidiazuron, zeatina e cinetina e, entre as giberelinas é comum o uso do ácido giberélico (Brasileiro e Carneiro, 2015).

Os primeiros experimentos indicados na literatura de cultivo in vitro de endosperma do gênero *Passiflora* e formação de tecidos diferenciados foram descritos por Mohamed et al. (1996) ao induzir brotações em explantes de endosperma via organogênese de novo de *P. foetida*. Guzzo et al. (2004) cultivando endospermas de várias espécies de maracujazeiros (*P. apetala*, *P. cincinnata*, *P. glandulosa*, *P. incarnata*, *P. mansii*, *P. nitida*, *P. sub-rotunda*) observaram a formação de calos.

Nos últimos anos, o potencial ornamental das passifloras tem incentivado trabalhos de melhoramento genético, sobretudo de espécies silvestres e levado o estabelecimento de protocolos de regeneração in vitro e obtenção de plantas geneticamente estáveis, sendo *P. edulis* ($2n=3x= 27$), *P. cincinnata* ($2n=3x= 27$) e em *P. foetida* ($2n=3x= 30$), de (Antoniuzzi et al., 2018; Silva et al., 2020; Mikovski et al., 2021).

Recentemente, Mikovski et al. (2021) produziram plantas triploides de *P. foetida*, com número cromossômico confirmado em $2n = 3x = 30$. A caracterização morfoagronômica identificou plantas mais vigorosas com aumento do tamanho das flores e folhas quando comparadas aos seus respectivos diploides, apresentando o efeito “gigas”, característica de plantas poliploides.

A produção de plantas triploides de *Passiflora* spp. representa uma importante ferramenta nos programas de melhoramento genético do gênero *Passiflora* com vistas à aquisição de características agronômicas desejáveis, mais vistosas e interessantes para o paisagismo (Silva et al., 2020).

5. O uso de substâncias antimitóticas na produção de poliploides

A indução de poliploidia *in vitro* é o método mais eficaz, mais rápido e o mais utilizado para a formação de poliploides (Niazian e Naloussi, 2020; Touchell et al., 2020), por apresentar alta taxa de duplicação cromossômica, baixa porcentagem de mixoploides ou quimeras (plantas com variações no número de cromossomos ou na ploidia no mesmo tecido ou órgão), reduzida mortalidade de explante e requer pequenos espaços para condução do experimento, bem como exige menos manutenção que o tratamento direto *in vivo* (Eng e Ho 2019; Fu et al., 2019).

No entanto, o sucesso da geração da poliploidia *in vitro* depende do desenvolvimento e utilização de protocolos responsivos que atendam às variações genéticas dos taxa com diferentes tratamentos, pois cada espécie exige condições exclusivas para crescimento e desenvolvimento. Também, há plantas de difícil regeneração, a exemplo do que ocorre com o grupo das lenhosas (Touchell et al., 2020).

Outros fatores críticos podem, igualmente, afetar os estudos de aumento da ploidia e regeneração de plantas *in vitro*, ou seja, o genótipo vegetal, a capacidade de regeneração e idade do explante, a concentração e tempo de exposição das plantas aos tratamentos com antimitóticos, assim como, a adoção do meio de cultura e escolha dos reguladores de crescimento vegetal e dos aditivos (Eng e Ho 2019; Zeng et al., 2019; Niazian e Nalouse, 2020).

A aplicação de agentes antimitóticos, sobretudo colchicina, orizalina e trifluralina (Esmaili et al., 2020; Touchell et al., 2020) pode ser considerada um marco para o avanço biotecnológico na indução de poliploidia em plantas (Skoog e Miller, 1957).

A colchicina é o principal mutagênico utilizado como bloqueador mitótico aplicado em tecidos vegetais. Seu mecanismo de ação inibe a polimerização das fibras do fuso acromático, causando a não-disjunção das cromátides irmãs durante a anáfase, resultando em não redução do nível de ploidia durante anáfase (Parra-Nunez

et al., 2020; Touchell et al., 2020). Alguns exemplos do uso da colchicina para a indução de poliploides podem ser vistos em *Chrysanthemum carinatum* (Kushwah et al., 2018), *Eucalyptus urophylla* (Yang et al., 2018), *Populus canescens* (Zhou et al. (2020), dentre outros.

No entanto, tratamentos com os herbicidas trifluralina, orizalina e 8-hidroxiquinolina, outras substâncias antimitóticas, têm sido cada vez mais frequentes pelo baixo teor de toxicidade e por apresentar maior afinidade com a proteína β -tubulina, mesmo que em baixas concentrações (Melloni et al., 2016; Manzoor et al., 2019; Parra-Nunez et al., 2020). Khosravi et al. (2008) testaram o potencial dos despolimerizantes de microtúbulos da orizalina, trifluralina e amiprospemetil (APM) para aumento no número de cromossomos de *Rosa hybrida* e constataram, estatisticamente, os mesmos efeitos em todos os tratamentos.

6. Desequilíbrio meiótico em triploides

Estudos de comportamento meiótico de plantas diploides, selvagens ou cultivadas, revelam que as espécies pertencentes ao gênero *Passiflora* são estáveis, com raros casos de anormalidade (Barbosa & Vieira, 1997; Melo et al., 2001; Souza, 2002; Souza et al., 2003).

A meiose é um processo dinâmico (Souza et al., 2008), altamente especializado de divisão celular, onde os cromossomos homólogos de organismos diploides realizam reconhecimento, sinapse, e recombinação alélica, pré-requisitos necessários para a correta segregação cromossômica na anáfase I e geração de progênies com metade do número de cromossomos dos genitores na anáfase II. (Dreissig et al., 2020; Prieto & Naranjo et al., 2020).

Apesar de muitas vezes triploides serem considerados estéreis e incapazes de gerar descendentes, devido aos erros de pareamento na meiose, muitos indivíduos $3x$ funcionam como “ponte triploide” por apresentar a capacidade de originar indivíduos tetraploides e hexaploides (Toda & Okamoto, 2016; Zhao et al., 2017; Jike et al., 2020). Esses poliploides podem ser produzidos, naturalmente, a partir do cruzamento e fusão dos diferentes tipos de gametas sendo n , $2n$, $3n$ gerados por progenitores triploides, ou destes com outros níveis de ploidia (Yahara, 1990; Ramsey e Schemske, 1998; Comai, 2005).

No entanto, a estabilidade da ploidia genômica depende da regularidade e precisão da segregação cromossômica e as variações ou defeitos são resultados de mutações geradoras de plantas aneuploides ou poliploides (Zamariola et al., 2014; Prieto & Naranjo, 2020).

A meiose de plantas autopoliploides tende a ser instável e apresentar mais casos de infertilidade quando comparada à meiose de indivíduos alopoliploides. Isso acontece devido ao maior número de homólogos, que pareiam entre si e terminam por formar cadeias bi, tri ou tetravalentes, resultando em desequilíbrio na segregação (Prieto & Naranjo, 2020). Em alopoliploides, no entanto, a presença de cromossomos homeólogos, de homologia parcial, contribui para maior regularidade no pareamento cromossômico, diferentemente dos autopoliploides (Bombliès et al., 2014, 2015; Lloyd e Bombliès, 2016; Neumann et al., 2020).

Durante a divisão meiótica de neotriploides é comum o desequilíbrio no pareamento cromossômico e isso normalmente gera progênies estéreis, aborto do zigoto após a fusão dos gametas masculino e feminino, ou a formação de frutos sem sementes (Aleza et al., 2010; Bourke et al., 2017; Wang et al., 2017; Reis et al., 2021). Na análise meiótica de triploides formados por híbridos interespecíficos é possível identificar a segregação desigual de cromossomos univalentes e bivalentes nas células na diacinese e no diplóteno (Thomas e Thomas, 1996; Kovalsky et al., 2017; Bourke et al., 2017). Kovalsky et al. (2017) relatou a formação de cadeias cromossômicas mono, bi e trivalentes, e configurações cromossômicas lineares, convergentes e indiferentes, durante as fases da diacinese e metáfase I na análise meiótica de progênies autotriploides de *Turnera*.

Além da univalência, o cruzamento entre híbridos alotriploide de *Populus* sp. apontou outras anomalias que evidenciam o desequilíbrio genético como algumas migrações cromossômicas precoces e outras atrasadas, formação de pontes entre cromossomos, surgimento de micronúcleos, antecipação de citocinese, assim como fusos paralelos fundidos e microfusos, durante a metáfase II (Wang et al., 2017).

Rocha et al. (2018) fizeram comparação de irregularidade meiótica entre diploide ($2n = 2x = 14$) e tetraploide ($2n = 4x = 28$) de *Lolium multiflorum*. Nos tetraploides a meiose foi mais irregular e apresentou distúrbios de formação das fibras do fuso, assim como cadeias cromossômicas monovalentes, bivalentes, multivalentes e formação de mixoploides.

A seleção natural de plantas triploides (Anderson, 1936; Nilsson-Ehle, 1936; Kopecký et al., 2018; Sun et al., 2020) e a hibridação sexual são fenômenos antigos. Rhoades (1936) produziu *Zea mays* triploide a partir da identificação e realização de cruzamento de gameta feminino naturalmente não reduzido ($2n$) com um masculino reduzido (n).

7. Barreira reprodutiva das plantas triploides

Nas plantas triploides a esterilidade é vista como um “bloco triploide” que funciona como barreira de isolamento reprodutivo, evitando que se produza novos progênies triploides ou pentaploides a partir do cruzamento entre diploides e tetraploides reduzidos (Schatlowski et al., 2012; Kopecký et al., 2018; Jike et al., 2020).

Segundo Köhler et al. (2010) o bloco triploide está relacionado a problemas na dosagem de contribuição do genoma masculino e feminino no processo de formação do endosperma. Para o autor, o tecido de reserva nutritiva do embrião, forma-se pela fusão de um gameta masculino (1 genoma paterno), com dois núcleos polares (2 genomas femininos). O resultado da proporção genômica 2:1 origina um tecido triploide, o endosperma. Na triploidia a dosagem (2:1) é alterada e causa defasagem do conteúdo de reserva.

Johnston et al. (1980) relata que a combinação de diferentes níveis de ploidia levam ao desenvolvimento anormal do endosperma, variação do tamanho ou aborto das sementes, e à infertilidade da planta, fatores que podem ser determinados através do balanço numérico do endosperma (EBN). Para os autores, o sistema EBN pode ser estimado previamente e permite analisar incompatibilidades, ou subsidiar intervenções para restabelecimento da fertilidade das plantas, através da indução de aumento da ploidia em um dos pais.

A nível celular, a esterilidade é causada pelo desbalanceamento cromossômico durante a divisão meiótica e pode ser total ou parcial, resultando na infertilidade das sementes ou abortamento dos frutos (Aleza et al., 2010; Wang et al., 2016; Parra-Nunez et al., 2020). No entanto, em algumas espécies de plantas, o bloco triploide não é completo e pode permitir fertilidade gamética, mesmo que reduzida e ocorrer produção de frutos com poucas ou nenhuma semente (Simone et al., 2006; Aleza et al., 2010; Cardoso et al., 2018; Kopecký et al., 2018).

A taxa de fertilidade em plantas triploides está relacionada com o grau de similaridade genômica intra e interespecíficas, mas depende da quantidade e tipo de conexões das cadeias trivalentes durante a meiose, assim como, da tolerância a gametas aneuploides (Neumann et al., 2020).

Neotriploides naturais de *Turnera* resultantes do cruzamento intraespecífico de gametas diploide-haploide ($2n \times n$) e diploide/tetraploide ($2n \times 4n$) geraram mais infertilidade do grão de pólen que nos cruzamentos híbridos, haja vista que apresentaram mais cromossomos monovalentes e trivalentes com problema de orientação e segregação de pareamento (Kovalsky et al., 2017).

8. Caracterização citogenética de *Passiflora* triploides formadas a partir de cultura de endosperma.

A citogenética de passifloras triploides teve início com a contagem dos cromossomos realizada por Mohamed et al. (1996) após induzir brotações organogênicas em explantes de endosperma de *P. foetida* ($2n = 3x = 30$).

Os avanços das pesquisas e tecnologias citogenéticas resultaram em uma abordagem mais ampla para os triploides do gênero *Passiflora*, permitindo melhor caracterização e comparação entre as plantas triploides com diploides, assim como possibilitou a verificação da similaridade morfométrica cromossômica (Antoniuzzi et al., 2018; Silva et al., 2020; Mikovski et al., 2021).

Antoniuzzi et al. (2018) produziram triploides de *P. edulis* ($2n = 3x = 27$) com quantidade de DNA $2C = 5,10$ pg a partir de explantes de endosperma de plantas diploide ($2n = 2x = 18$) com $2C = 3,35$ pg e estabeleceram um protocolo de aumento de ploidia pela indução organogênica de novo de tecido endospermico.

Silva et al. (2020) relatam a produção de plantas triploides de *Passiflora cincinnata* ($2n = 3x = 27$), regeneradas in vitro via cultivo de explantes de endospermico proveniente de genitores diploides com 18 cromossomos. Análises de citometria de fluxo apontaram que o neopoliploide apresenta genoma 100% triploide e corresponde a 1,5 vezes o tamanho do parental diploide.

Utilizando a mesma técnica Mikovski et al. (2021) produziu plantas triploides de *P. foetida*, com quantificação cromossômica confirmada em $2n = 3x = 30$. A caracterização morfoagronômica identificou maior vigor destacado pelo aumento do tamanho das flores e folhas quando comparado às plantas diploides.

9. Bandejamento cromossômico

A caracterização e contagem cromossômica dos triploides pode utilizar-se de técnicas citogenéticas convencionais para coloração uniforme dos cromossomos (Silva et al., 2020) ou optar pelo uso de corantes fluorescentes para destacar regiões cromossômicas específicas e formar “bandas” (Pinto-Maglio e Pierozzi, 2015; Lavinsky et al., 2017, 2021). Os fluorocromos mais utilizados nas práticas citogenéticas são o 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI), e a cromomicina A₃ (CMA₃) (Brammer et al., 2015).

A dupla coloração com DAPI/CMA₃ formam padrões diferenciais com bandas fluorescentes em regiões de constrição secundária, o que permite a contagem e a distinção de variações estruturais entre cromossomos homólogos e permite uma análise mais refinada do cariótipo (Brammer et al., 2015; Singh, 2017). O DAPI destaca regiões ricas em sequências nucleotídicas repetitivas compostas por adenina (A) e timina (T); enquanto o CMA₃ fluoresce regiões ricas em guanina (G) e citosina (C), frequentemente regiões de constrição secundária (Soares-Scott et al., 2005; Singh, 2018).

Para Viana & Souza (2012) *P. edulis* e *P. cacaoensis* apresentaram respostas positivas para CMA₃ destacando bandas na cromatina nos braços curtos de dois pares de cromossomos, mas em cromossomos diferentes. Enquanto em *P. edulis* destacou os satélites do primeiro e quarto par cromossômico, em *P. cacaoensis* o bandejamento revelou constrições nos sétimo e oitavo pares de homólogos.

Silva et al. (2018) observaram que a coloração CMA₃ e DAPI, além de permitir a contagem de cromossomos e a identificação das constrições secundárias, destacaram os satélites nos cromossomos de híbridos do gênero *Passiflora*, progênies formadas pelo cruzamento entre *P. gardneri* e *P. gibertii*.

10. Hibridização Fluorescente *In Situ* em *Passiflora*

O avanço das técnicas da biologia molecular tem expandido os estudos da citogenética, sobretudo pela marcação de genes ou de sequências de DNA *in tandem* de regiões específicas, através da hibridização fluorescente *in situ* – FISH, assim como marcação de genomas inteiros pela hibridização genômica *in situ* – GISH, em casos de híbridos e alopoliploides (Soares-Scott et al., 2005; Singh et al., 2018).

Em espécies de *Passiflora*, as técnicas de FISH e GISH têm sido frequentemente utilizadas para a identificação da variabilidade de sítios DNAr 5S e 45S (Melo e Guerra, 2003), análise comparativa de cariótipos (Cuco et al., 2005; Silva et al., 2018), aspectos morfológicos (Praça et al., 2008) e identificação e caracterização de genomas parentais em híbridos (Belo et al., 2018).

Silva et al. (2018) realizaram a caracterização cariotípicas de híbridos de *Passiflora spp.* a partir das técnicas de FISH e GISH, identificaram os sub genomas parentais e os sítios específicos de DNAr, confirmando o processo de hibridação.

A técnica de FISH destaca sequências de DNAr que codificam o RNAr 5S e os precursores dos RNAs ribossomais 28S, 18S e 5,85S (Guerra et al., 2004). E o número de cópias do RNAr 5S e 45S pode variar entre as plantas, assim como a localização dos sítios onde estão inseridos (Ovalle et al., 2011; Volkov et al., 2017).

Para Melo e Guerra (2003) as passifloras de número básico cromossômico $x = 9$ são plantas com dois sítios de DNAr 5S e seis sítios DNAr 45S (*P. actinia*, *P. amethystina*, *P. edmundoi*, *P. elegans*, *P. galbana*, *P. glandulosa* e *P. mucronata*), assim como plantas com quatro sítios de DNAr 45S (*P. alata*, *P. edulis* e *P. laurifolia*); *P. cincinnata* está classificada no grupo de 2 sítios DNAr 5S e 4 sítios DNAr 45S e *P. foetida* destaca-se como a única espécie do estudo com quatro sítios de DNAr 5S e seis sítios de DNAr 45S.

Além da marcação dos genes ribossomais, outros métodos de sequências tandem muito utilizados na hibridização fluorescente *in situ* são aqueles que sondam as regiões teloméricas e centroméricas. Essas marcações permitem identificar alterações estruturais nos cromossomos como por exemplo: deleções, inversões ou translocações de sequências nucleotídicas, que poderiam causar modificações na localização das sondas (Soares-Scott et al., 2005). O mapeamento destas regiões demonstra ser uma ferramenta indispensável para a caracterização das espécies (Ovalle et al., 2011; Volkov et al., 2017).

11. Poliploidia e alteração da expressão gênica

A poliploidia tem desempenhado um importante papel no melhoramento de plantas. Enquanto os autopoliploides são formados por duplicação de um mesmo genoma (AAAA), os alopóliploides são originados pela hibridação de duas espécies

de genoma A e B, formando geração F1 híbridos (AB) estéreis pela falta de homologia cromossômica (Singh, 2017).

O aumento no número de cromossomos eleva a transcrição de RNAs e ativação ou silenciamento de genes, conseqüentemente, novos padrões de expressão e regulação gênica podem ser estabelecidos (Song e Chen, 2015; Iannicelli et al., 2020).

No entanto, os efeitos da duplicação genômica (Niazian e Nalousi, 2020) variam drasticamente entre os taxa, de acordo com as especificidades de cada mecanismo epigenético de silenciamento, regulação e efeitos de dose e interação gênica, bem como pelo grau de dominância em homo ou heterozigose dos alelos e do próprio nível de ploidia (Ranney, 2006; Fasano et al., 2016).

Além disso, mudanças no metabolismo primário e secundário também podem ocorrer (Xu et al., 2014; Li et al., 2019; Drapal et al., 2020). Hu et al. (2012) realizaram a comparação da expressão gênica entre diploides e triploides de *Populus euroamericana* pelo método “microarray” e constataram que folhas jovens das plantas com três conjuntos de cromossomos apresentaram maior expressão de genes vinculados ao metabolismo primário, notadamente aqueles relacionados a biossíntese de microfibras de celulose, carboidratos, lipídios, nitrogenados e, principalmente, de aminoácidos ou derivados de aminoácidos; assim como de genes ligados à regulação metabólica desses compostos como a glutamina e o aspartato.

O aumento do genoma amplia a área foliar e expande a quantidade, tamanho dos estômatos e das células-guarda que também passam a apresentar mais cloroplastos (Fu et al., 2019; Li et al., 2019; Kurtz, et al., 2020). O incremento desses caracteres fenotípicos favorece a elevação da taxa fotossintética e potencializa a energia para produção dos metabólitos vegetais (Li et al., 2019).

12. O efeito “giga” e sua importância para a agricultura

As características fenotípicas das plantas triploides têm despertado grande interesse agrônomo e já desempenham um importante papel na agricultura, por resultar em aumento de produtividade e gerar frutos de qualidade, com poucas ou nenhuma semente, fenótipos que atendem aos mercados consumidores mais exigentes (Thomas e Chaturvedi, 2008; Brugnara et al., 2008; Cardoso et al., 2018; Rouiss et al., 2018; Acharya et al., 2020). Muitas culturas economicamente relevantes

como a banana, uva, melancia, inhame, cítricos e sobretudo, plantas ornamentais, apresentam genótipos triploides de alta qualidade (Wang et al., 2016; Manzoor et al., 2019; Ahmed et al., 2020).

A triploidia pode favorecer aspectos fenotípicos, como por exemplo, o efeito “gigas”, em que plantas apresentam o aumento de órgãos vegetativos e reprodutivos, como caule, folhas e flores. Além disso, o tempo de floração pode tornar-se mais duradouro e as flores podem apresentar a coloração mais intensa (Jaskani et al., 2005; Manzoor et al., 2019; Alexander, 2020; Khalili et al., 2020). Os órgãos maiores são resultado do aumento do tamanho das células vegetais pelo acréscimo no número de conjuntos cromossômicos e do conseqüente incremento das expressões gênicas que elevam os níveis de síntese de proteínas (Hassan et al., 2020; Niazi e Nalouji, 2020).

Plantas triploides têm sido criadas para atender ao mercado consumidor, sobretudo de flores ornamentais. Liu et al. (2017) produziram híbrido alotriploide a partir do cruzamento artificial interespecífico entre diploides cultivados de *Helianthus annuus* ($2n = 2x = 34$) com espécies selvagens diploides, tetraploides ($2n = 4x = 68$), hexaploides ($2n = 6x = 102$) e mixoploides de girassóis, para promover melhoramento genético e introduzir gene de resistência nos cultivares. Alexander (2017) obteve autotriploides de hortênsias ao fazer cruzamento artificial entre variedades de *Hydrangea macrophylla*. Zhang et al. (2018) formaram híbridos, com três conjuntos completos de cromossomos, ao fazer cruzamento interploide com gametas reduzidos de *Lilium* sp. diploide ($2n = 2x = 24$) com um espécime tetraploide ($2n = 4x = 48$). Plantas triploides de *P. edulis* ($2n = 3x = 27$), *P. cincinnata* ($2n = 3x = 27$) e *P. foetida* ($2n = 3x = 30$) foram obtidas através do cultivo de endosperma para melhoramento das características fenotípicas de interesse ornamentais (Antoniazzi et al., 2018; Silva et al., 2020; Mikovski et al., 2021).

Liao et al. (2016) registraram superioridade fenotípica de triploides de *Populus* por apresentar acelerado crescimento vegetativo, maior diâmetro de área foliar e indicar taxas de produção fotossintética mais eficiente que seu respectivo diploide. Em alotriploide de *Populus*, Du et al. (2020) relataram que a maioria dos genes expressos estavam vinculados à sinalização hormonal e à elevação das taxas fotossintéticas, fatores que contribuem diretamente para a intensificação da fixação de carbono, síntese de sacarose e de amido. Resultando na diminuição do início do ciclo

reprodutivo (Yang et al., 2018; Zhang et al., 2020). Para Antoniazzi et al. (2018) a frequência dos estômatos, bem como as medidas de comprimento e largura das células-guarda podem ser utilizadas como parâmetros para identificação de triploides em plantas poliploides. Silva et al. (2020) identificaram que, em triploides de *P. cincinnata*, os estômatos são maiores e em menor número quando comparados aos seus respectivos diploides.

A alteração da ploidia afeta, igualmente, a nível celular o perfil metabólico vegetal, pois as plantas triploides produzem mais compostos orgânicos e voláteis (Lourkisti et al., 2020). Algumas estratégias das plantas triploides estão relacionadas à economia de recursos. A redução no número de sementes é um bom exemplo, além de poupar a energia fotossintética que seria gasta na produção das sementes é redirecionada para biossíntese de metabólitos estruturais ligadas ao desenvolvimento e adaptação da planta (Miyashita et al., 2009; Razdan et al., 2014). No entanto, as plantas triploides podem ser amplamente exploradas na cultura onde a reprodução por sementes não se faz necessária (Johri e Bhojwani, 1977). A esterilidade pode ser superada pela adoção dos diversos métodos de propagação vegetativa.

O aumento dos conjuntos de cromossomos também confere às plantas triploides melhores respostas ao estresse ambiental, maior tolerância à seca e à salinidade (Chao et al., 2013; Del-Pozo e Ramirez-Parra, 2014; Gaebelein et al., 2019).

13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHARYA, P.; JAYAPRAKASHA, G.K.; CROSBY, K.M.; JIFON, J.L.; PATIL, B.S. Nanoparticle-Mediated Seed Priming Improves Germination, Growth, Yield, and Quality of Watermelons (*Citrullus lanatus*) at multi-locations in Texas. **Scientific Reports**. 10:5037, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61696-7>.
- AHMED, D.; CURK, F.; EVRARD, J.C.; FROELICHER, Y.; OLLITRAULT, P. Preferential Disomic Segregation and *C. micrantha* / *C. medica* Interspecific Recombination in Tetraploid 'Giant Key' Lime; Outlook for Triploid Lime Breeding. **Frontiers in Plant Science**. 11:939, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00939>.
- ALEXANDER, L. Production of Triploid *Hydrangea macrophylla* via Unreduced Gamete Breeding. **American Society for Horticultural Science**. 52(2):221-224, 2017. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI11358-16>.
- ALEXANDER, L. Ploidy Level Influences Pollen Tube Growth and Seed Viability in Interploidy Crosses of *Hydrangea macrophylla*. **Frontiers in plant science**. 11:100, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00100>.
- ALEZA, P.; JUÁREZ, J.; CUENCA, J.; OLLITRAULT, P.; NAVARRO, L. Recovery of citrus triploid hybrids by embryo rescue and flow cytometry from 2x × 2x sexual hybridisation and its application to extensive breeding programs. **Plant Cell Reports**. 29:1023-1034, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00299-010-0888-7>.
- ANDERSON, E. A Morphological Comparison of Triploid and Tetraploid Interspecific Hybrids in *Tradescantia*. **Genetics**. 21(1):61-5, 1936.
- ANTONIAZZI, C.A.; FARIA, R.B.; CARVALHO, P.P.; MIKOVSKI, A.I.; CARVALHO, I.F.; MATOS, E.M.; REIS, A.C.; VICCINI, L.F.; PINTO, D.L.P.; ROCHA, D.I.; OTONI, W.C.; SILVA, M.L. In vitro regeneration of triploid plants from mature endosperm culture of commercial passionfruit (*Passiflora edulis* Sims). **Scientia Horticulturae**. 238:408-415, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.001>.
- BARBOSA, L., VIEIRA, M. Meiotic behavior of passion fruit somatic hybrids, *Passiflora edulis* F. *Flavicarpa degener* + *P. amethystina mikan*. **Euphytica**. 98:121-127, 1997. [HTTPS://DOI.ORG/10.1023/A:1003099709021](https://doi.org/10.1023/A:1003099709021).
- BEAL, P.R. Cytology of the native Australian *Passiflora* species. 1. Chromosome number and horticultural value. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**. 26(3):407-421, 1969a.
- BEAL, P.R. Chromosome numbers of the exotic *Passiflora* species in Australia. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**. 26 (1): 407-421, 1969b.
- BELO, G.O.; SOUZA, M.M.; SILVA, G.S.; LAVINSCKY, M.P. Hybrids of *Passiflora*: *P. gardneri* versus *P. gibertii*, confirmation of paternity, morphological and cytogenetic characterization. **Euphytica**. 214:2, 2018. [HTTPS://DOI.ORG/10.1007/S10681-017-2021-2](https://doi.org/10.1007/S10681-017-2021-2).

BOMBLIES, K. & MADLUNG, A. Polyploidy in the arabidopsis genus. **Chromosome Research**. 22:117-134, 2014. [HTTPS://DOI.ORG/10.1007/S10577-014-9416-X](https://doi.org/10.1007/S10577-014-9416-X).

BOMBLIES, K.; HIGGINS, J.D.; YANT, L. Meiosis evolves: adaptation to external and internal environments. **New Phytologist**. 208(2):306-23, 2015. <https://doi.org/10.1111/nph.13499>.

BOURKE, P.M.; ARENS, P.; VOORRIPS, R.E.; ESSELINK, G.D.; KONINGBOUCOIRAN, C.F.S.; VAN'T W.P.C. Partial preferential chromosome pairing is genotype dependent in tetraploid rose. **The Plant Journal**. 90(2):330-343, 2017. <https://doi.org/10.1111/tpj.13496>. Erratum in: **The Plant Journal**. 97(3):616, 2019.

BRAMMER, S.P.; TONIAZZO, C.; POERSCH, L.B. Corantes comumente empregados na citogenética vegetal. **Arquivo do Instituto Biológico**. 82:1-8, 2015. <https://doi.org/10.1590/1808-1657000192013>.

BRASILEIRO, A. M. M; CARNEIRO, V. T. C. **Manual de Transformação Genética de Plantas**. 2 ed., rev. amp., Brasília, DF: editora técnicas, 2015, 453p.

BOWDEN, W. M. The chromosome complements and its evolutionary relationship to cold resistance in the higher plants. **Chronica Botanica**. 6:123-125, 1940.

BOWDEN, W.M. A List of Chromosome Numbers in Higher Plants. II. Menispermaceae to Verbenaceae. **American Journal of Botany**. 32:(4):191-201, 1945. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1945.tb05108.x>.

BRUGNARA, E.C.; WINTTMANN, M.T.S.; WEILER, R.L.; SCHWARZ, S.F. Ploidia e fertilidade de pólen em progênes de citros. **Bragantia**. 67(3):599-602, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052008000300007>.

BUGALLO, V.L.; REALINI, M.F.; FACCIUTO, G.R.; POGGIO, L. Karyotypic analyses and genomic affinity among Argentinean species of *Passiflora*. **Rodriguésia**. 71:e03532018, 2020. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202071110>.

CARDOSO, J.C.; SHENG, GERALD L.T.; TEIXEIRA DA SILVA J.A. Micropropagation in the twenty-first century. **Plant Cell Culture Protocols** - methods in molecular biology. 1815:17-46, 2018. [HTTPS://DOI.ORG/10.1007/978-1-4939-8594-4_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8594-4_2).

CERQUEIRA-SILVA, C.B.; JESUS, O.N.; SANTOS, E.S.; CORRÊA, R.X.; SOUZA, A.P. Genetic breeding and diversity of the genus *Passiflora*: progress and perspectives in molecular and genetic studies. **International Journal of Molecular sciences**. 15(8):14122-14152, 2014. <https://doi.org/10.3390/ijms150814122>.

CERQUEIRA-SILVA, C.B.M.; FALEIRO, F.G.; DE JESUS, O.N.; DOS SANTOS, E.S.L.; DE SOUZA, A.P. The Genetic Diversity, Conservation, and Use of Passion Fruit (*Passiflora* sp.). **Genetic Diversity and Erosion in Plants**. 8:215-231, 2016. https://doi.org/10.1007/978-3-319-25954-3_5.

CHAO, D.Y.; DILKES, B.; LUO, H.; DOUGLAS, A.; YAKUBOVA, E.; LAHNER, B.; SALT, D.E. Polyploids exhibit higher potassium uptake and salinity tolerance in

Arabidopsis. **Science (New York, N.Y.)**. 341(6146):658-659, 2013. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1240561>.

CHATURVEDI, R.; RAZDAN, M.K.; BHOJWANI, S.S. An efficient protocol for the production of triploid plants from endosperm callus of neem, *Azadirachta indica* A. Juss. **Journal of Plant Physiology**. 160(5):557-64, 2003. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00884>.

COMAI, L. The advantages and disadvantages of being polyploid. **Nature Reviews Genetics**. 6:836-846, 2005. <https://doi.org/10.1038/nrg1711>.

CUCO S.M.; VIEIRA, M.L.C. MONDIN, M.; AGUIAR-PERECIN, M.L.R. Comparative karyotype analysis of three *Passiflora* L. species and cytogenetic characterization of somatic hybrids. **Caryologia**. 58(3):220-228, 2005. <https://doi.org/10.1080/00087114.2005.10589454.4>

DEL-POZO, J.C.; RAMIREZ-PARRA, E. Deciphering the molecular bases for drought tolerance in *Arabidopsis* autotetraploids. **Plant, Cell & Environment**. 37(12):2722-2737, 2014. <https://doi.org/10.1111/pce.12344>.

DIAS, L.L.C.; SANTA-CATARINA, C.; RIBEIRO, D.M.; BARROS, R.S.; FLOH, E.I.S.; OTONI, W.C. Ethylene and polyamine production patterns during in vitro shoot organogenesis of two passion fruit species as affected by polyamines and their inhibitor. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**. 99:199–208, 2009. <https://doi.org/10.1007/s11240-009-9594-y>.

DRAPAL, M.; AMAH, D.; SCHÖNY, H.; BROWN, A.; SWENNEN, R.; FRASER, P.D. Assessment of metabolic variability and diversity present in leaf, peel and pulp tissue of diploid and triploid *Musa* spp. **Elsevier**. 176:112388, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112388>.

DREISSIG, S.; FUCHS, J.; HIMMELBACH, A.; MASCHER, M.; HOUBEN, A. Quantification of Recombination Rate and Segregation Distortion by Genotyping and Sequencing of Single Pollen Nuclei. **Plant Meiosis: Methods in Molecular Biology**. 2061, 2020. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9818-0_20.

DU, Y.; CHENG, F.; ZHONG, Y. Induction of direct somatic embryogenesis and shoot organogenesis and histological study in tree peony (*Paeonia* sect. *Moutan*). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**. 141:557–570, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01815-4>.

ESMAEILI, G.; VAN, LAERE, V.K.; MUYLLE, H.; LEUS, L. (2020). Artificial Chromosome Doubling in Allotetraploid *Calendula officinalis*. **Frontiers in plant science**. 11:622, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00622>.

ENG, W.H.; HO, W.S. Polyploidization using colchicine in horticultural plants: a review. **Scientia Horticulturae**. 246:604–617, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.11.010>.

FARIA, R.B.; DE CARVALHO, I.F.; ROSSI, A.A.B.; MATOS, E.M.; ROCHA, D.I.;

PINTO, D.L.P.; OTONI, W.C.; SILVA, M.L. High responsiveness in de novo shoot organogenesis induction of *Passiflora cristalina* (Passifloraceae), a wild Amazonian passion fruit species. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**. 54:166-174, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11627-017-9881-y>.

FASANO, C.; DIRETTO, G.; AVERSANO, R.; D'AGOSTINO, N.; DI MATTEO, A.; FRUSCIANTE, L.; GIULIANO, G.; CARPUTO, D. Transcriptome and metabolome of synthetic *Solanum* autotetraploids reveal key genomic stress events following polyploidization. **New Phytologist**. 210(4):1382-1394, 2016. <https://doi.org/10.1111/nph.13878>.

FEHÉR, A. Callus, Dedifferentiation, Totipotency, Somatic Embryogenesis: What These Terms Mean in the Era of Molecular Plant Biology. **Frontiers in Plant Science**. 10:536, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00536>.

FU, L.; ZHU, Y.; LI, M.; WANG, C.; SUN, H. Autopolyploid induction via somatic embryogenesis in *Lilium distichum* Nakai and *Lilium cernuum* Komar. **Plant Cell Tissue Organ Culture**. 139:237-248, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01671-x>.

GAEBELEIN, R.; ALNAJAR, D.; KOOPMANN, B.; MASON, A. Hybrids between *Brassica napus* and *B. nigra* show frequent pairing between the B and A/C genomes and resistance to blackleg. **Chromosome Research**. 27:221–236, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10577-019-09612-2>.

GUERRA, M. Citogenética de angiospermas coletadas em Pernambuco - I. **Revista Brasileira de Genética**. 9:21- 40, 1986.

GUERRA, M. Hibridização in situ: princípios básicos. In: GUERRA, M. (Ed.). **FISH: conceitos e aplicações na citogenética**. 1. ed. Brasil: Sociedade Brasileira de Genética, 176p., 2004.

GUZZO, F.; CEOLDO, S.; ANDRETTA, F.; LEVI, M. In vitro culture from mature seeds of *Passiflora* species. **Scientia Agricola**. 6(1):108-113, 2004. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162004000100018>.

HANDAJI, N.; ARSALANE, N.; BENYAHIA, H.; IBRIZ, M. Identification de l'origine de gamètes parentaux diploïdes et mode de restitution nucléaire des hybrides spontanément triploïdes de mandariniers. **Alawamia**. 123-124, 2008.

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

HASSAN, J.; MIYAJIMA, I.; OZAKI, Y.; MIZUNOE, Y.; SAKAI, K.; ZALAND, W. Tetraploid Induction by Colchicine Treatment and Crossing with a Diploid Reveals Less-Seeded Fruit Production in Pointed Gourd (*Trichosanthes dioica* Roxb.). **Plants (Basel)**. 9(3):370, 2020. <http://dx.doi.org/10.3390/plants9030370>.

HU, B.; WANG, B.; WANG, C.; SONG, W; CHEN, C. Microarray Analysis of Gene Expression in Triploid Black Poplar. **Silvae Genetica**. 61(4):148-157, 2012. <https://doi.org/10.1515/sg-2012-0019>.

IANNICELLI, J.; GUARINIELLO, J.; TOSSI, J.J.; REGALADO, L.; DI-CIANCCIO, L.; VAN-BAREN, C.M.; PITTA ALVAREZ, S.I.; ESCANDÓN, A.S. The “polyploid effect” in the breeding of aromatic and medicinal species. **Scientia Horticulturae**. 260, 2020, 108854, ISSN 0304-4238. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108854>.

INGRAM, G.C. Family plot: the impact of the endosperm and other extra-embryonic seed tissues on angiosperm zygotic embryogenesis. **F1000Research**. 14:92020. <https://doi.org/10.12688/f1000research.21527.1>.

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

JASKANI, M.J.; KWON, S.W.; KIM, D.H. Comparative study on vegetative, reproductive and qualitative traits of seven diploid and tetraploid watermelon lines. **Euphytica**. 145:259-268, 2005. <https://doi.org/10.1007/s10681-005-1644-x>.

JIKE, W.; LI, M.; ZADRA, N.; BARBARO, E.; SABLOK, G.; BERTORELLE, G.; ROTA-STABELLI, O.; VAROTTO, C. Phylogenomic proof of Recurrent Demipolyploidization and Evolutionary Stalling of the “Triploid Bridge” in *Arundo* (Poaceae). **International Journal of Molecular Sciences**. 21(15):5247, 2020. <https://doi.org/10.3390/ijms21155247>.

JOHRI, B.M.; BHOJWANI, S.S. Growth responses of mature endosperm. in **Cultures Nature**. 208:1345-1347, 1965. <https://doi.org/10.1038/2081345a0>.

JOHRI, B.M.; BHOJWANI, S.S. Triploid plants through endosperm culture. In "**Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture**", 398-411, 1977.

JOHNSTON, S.A.; DEN-NIJS, T.P.M.; PELOQUIN, S.J.; HANNEMAN JR, R.E. The significance of genic balance to endosperm development in interspecific crosses. **Theoretical and Applied Genetics**. 57:5–9, 1980. [HTTPS://DOI.ORG/10.1007/BF00276002](https://doi.org/10.1007/BF00276002).

KHALILI, S.; NIAZIAN, M.; ARAB, M.; NOROUZE, M. In vitro chromosome doubling of African daisy, *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Mini Red. **The nucleus**. 63:59-65, 2020. <https://doi.org/10.1007/s13237-019-00282-3>.

KHOSRAVI, P.; KERMANI, M.J.; NEMATZADEH, G.A.; NEMATZADEH, G.; BIHAMTA, M.R.; YOKOYA, K. Role of mitotic inhibitors and genotype on chromosome doubling of rosa. **Euphytica**. 160:267–275, 2008. [HTTPS://DOI.ORG/10.1007/S10681-007-9571-7](https://doi.org/10.1007/S10681-007-9571-7).

KOPECKÝ, D.; FELDER, T.; SCHUBIGER, F.X.; MAHELKA, V.; BARTOS, J. Frequent occurrence of triploid hybrids *Festuca pratensis* × *F. apennina* in the Swiss. **Alpine Botany**. 128:121-132. 2018. <https://doi.org/10.1007/s00035-018-0204-7>.

KÖHLER, C.; SCHEID, O.M.; ERILOVA, A. The impact of the triploid block on the origin and evolution of polyploid plants. **Trends in Genetics**. 26(3):142-148, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2009.12.006>.

KOVALSKY, I.E.; ROGGERO, LUQUE, J.M.R.; ELÍAS, G; FERNÁNDEZ, S.A.; SOLÍS, N.V.G. The role of triploids in the origin and evolution of polyploids of *Turnera sidoides* complex (Passifloraceae, Turneroideae). **Journal of Plant Research**. 131(1):77-89, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10265-017-0974-9>.

KURTZ, L.E.; BRAND, M.H.; LUBELL-BRAND, J.D. Production of Tetraploid and Triploid Hemp. **American Society for Horticultural Science**. 55(10):1703-1707, 2020. <https://journals.ashs.org/hortsci/view/journals/hortsci/55/10/article-p1703.xml>.

KUSHWAH, K.S.; VERMA, R.C.; PATEL, S.; JAIN, K.K. Colchicine Induced Polyploidy in *Chrysanthemum carinatum* L. **Journal of Phylogenetics & Evolutionary Biology**. 6:1, 2018. <https://doi.org/10.4172/2329-9002.1000193>.

LAMPE, L.; MILLS, C.O. **Growth and development of isolated endosperm and embryo of maize**. Botanical Society of American. Boston, 1933.

LAVINSCKY, M.P.; SOUZA, M.M.; SILVA, G.S.; MELO, C.A.F. Contributions of classical and molecular cytogenetic in meiotic analysis and pollen viability for plant breeding. **Genetics and Molecular Research**. 16:3, 2017. gmr16039582. <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16039582>.

LAVINSCKY, M.P., SOUZA, M.M., SILVA, G.S.; SOUZA, V.O.; MELO, C.A. Meiotic analyses of *Passiflora* L. parents and interspecific f1 hybrids (hd15 progeny). **Euphytica**. 217:68, 2021. [HTTPS://DOI.ORG/10.1007/S10681-021-02802-2](https://doi.org/10.1007/s10681-021-02802-2).

LEITE, C.T.; FERREIRA, D.A.T.; VIEIRA, A.T.; PRAÇA-FONTES, M.M.; FERREIRA, A.; CARVALHO, C.R.; CLARINDO, W.R. In vitro responses in *Passiflora* species with different chromosome numbers, ploidy levels and nuclear 2c values: revisiting and providing new insights. **Plant Cell Tissue Organ Culture**. 136:549–560, 2019. [HTTPS://DOI.ORG/10.1007/S11240-018-01536-9](https://doi.org/10.1007/s11240-018-01536-9).

LI, Y.; YANG, J.; SONG, L.; QI, QI.; DU, K.; HAN, Q.; KANG, X. Study of variation in the growth, photosynthesis, and content of secondary metabolites in *Eucommia* triploids. **Trees**. 33:817-826, 2019. [HTTPS://DOI.ORG/10.1007/S00468-019-01818-5](https://doi.org/10.1007/s00468-019-01818-5).

LIAO, T., CHENG, S., ZHU, X.; MIN, Y.; KANG, X. Effects of triploid status on growth, photosynthesis, and leaf area in *Populus*. **Trees**. 30:1137-1147, 2016. [HTTPS://DOI.ORG/10.1007/S00468-016-1352-2](https://doi.org/10.1007/s00468-016-1352-2).

LIU, Z.; SEILER, G.J.; GULYA, T.J.; FENG, J.; RASHID, K.Y.; CAI, X.; JAN, C.C. Triploid Production from Interspecific Crosses of Two Diploid Perennial *Helianthus* with Diploid Cultivated Sunflower (*Helianthus annuus* L.). **G3 Bethesda**. 7(4):1097-1108, 2017. <https://doi.org/doi:10.1534/g3.116.036327>.

LLOYD, A.; BOMBLIES, K. Meiosis in autopolyploid and allopolyploid *Arabidopsis*. **Current Opinion in Plant Biology**. 30:116-122, 2016. <https://doi.org/doi:10.1016/j.pbi.2016.02.004>.

LOURKISTI, R.; FROELICHER, Y.; HERBETTE, S.; MORILLON, R.; Tomi, F.; Gibernau, M.; Giannettini, J.; Berti, L.; Santini, J. Triploid *Citrus* Genotypes Have a

Better Tolerance to Natural Chilling Conditions of Photosynthetic Capacities and Specific Leaf Volatile Organic Compounds. **Frontiers in Plant Science**. 11:330, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00330>.

MACDOUGAL, J. M. **Revision of *Passiflora* L. section *Pseudodysosmia* (Harms) Killip emend. J. MacDougal, the hooked trichome group (Passifloraceae)**. Duke: University, Durham, North Carolina, 1983, 646p. (Ph.D. dissertation).

MANZOOR, A.; AHMAD, T.; BASHIR, M.A.; HAFIZ, I.A.; SILVESTRI, C. Studies on Colchicine Induced Chromosome Doubling for Enhancement of Quality Traits in Ornamental Plants. **Plants (Basel, Switzerland)**. 8(7):194, 2019. <https://doi.org/10.3390/plants8070194>.

MAYEDA, L. Y. **Estudo citogenético em dez taxons do gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae)**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo – ESALQ, 1997, 89p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

MELLONI, M.N.G.; MELLONI, M.L.G.; NEUBER, A.C.; PERECIN, D.; LANDELL, M.G.A.; PINTO, L.R. Efficiency of Different Antimitotics in Cytological Preparations of Sugarcane. **Sugar Tech**. 18:222-228, 2016. <https://doi.org/10.1007/s12355-015-0381-2>.

MELO, N.F.; CERVI, A.C.; GUERRA, M. Karyology and cytotaxonomy of the genus *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Plant Systematics and Evolution**, 226:68-84, 2001. <https://doi.org/10.1007/s006060170074>.

MELO, N.F.; GUERRA, M. Variability of 5S and 45S rDNA sites in *Passiflora* L. species with distinct base chromosome numbers. **Annals of Botany**. 92(2):309-316, 2003. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg138>.

MELO, C.A.F.; SOUZA, M.M.; ABREU, P.P.; VIANA, A.J.C. Karyomorphology and GC-rich heterochromatin pattern in *Passiflora* (Passifloraceae) wild species from *Decaloba* and *Passiflora* subgenera. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**. 209(11):620-631, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2014.08.009>.

MIKOVSKI, A.I.; SILVA, N.T.; SOUZA, C.S.; MACHADO, M.D.; OTONI, W.C.; CARVALHO, I.F.; ROCHA, D.I.; SILVA, M.L. Tissue culture and biotechnological techniques applied to passion fruit with ornamental potential: an overview. **Ornamental Horticulture**. 25(2):189-199, 2019. <https://doi.org/10.14295/oh.v25i2.2036>.

MIKOVSKI, A.I.; SILVA, N.T.; SILVA, L.A.S.; SILVA, L.A.S.; MACHADO, M.; BARBOSA, L.C.S.; REIS, A.C.; MATOS, E.M.; VICCINI, L.F.; SOUZA, C.S.; MACHADO, M.D.; OTONI, W.C.; CARVALHO, I.F.; ROCHA, D.I.; SILVA, M.L. From endosperm to triploid plants: a stepwise characterization of the de novo shoot organogenesis and morpho-agronomic aspects of an ornamental passion fruit (*Passiflora foetida* L.). **Plant Cell Tissue and Organ Culture**. 2021. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02120-4>.

MIYASHITA, T.; OHASHI, T.; SHIBATA, F.; ARAKI, H.; HOSHINO, Y. Plant regeneration with maintenance of the endosperm ploidy level by endosperm culture in *Lonicera caerulea* var. *emphylocalyx*. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**. 98:291-301, 2009. <https://doi.org/10.1007/s11240-009-9562-6>.

MOHAMED, M.E.; HICKS, R.G.T.; BLAKESLEY, D. Shoot regeneration from mature endosperm of *Passiflora foetida*. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**. 46:161-164, 1996. <https://doi.org/10.1007/BF00034851>.

NAKANO, A.; MII, M.; HOSHINO, Y. Simultaneous production of triploid and hexaploid plants by endosperm culture with colchicine treatment in diploid *Haemanthus albiflos*. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**. 144:661-669, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01974-4>.

NAVARRO, L.; JUÁREZ, J.; ALEZA, P.; PINA, J.A.; OLIVARES-FUSTER, O.; CUENCA, J.; NJULVE, J.M. Programa de obtención de híbridos triploides de mandarina en España. **Phytoma**. 170:36-41, 2005.

NEUMANN, K.H.; KUMAR, A.; IMANI, J. Genetic Problems and Gene Technology. **Plant Cell and Tissue Culture – a tool in biotechnology**. 337-435, 2020. [HTTPS://DOI.ORG/10.1007/978-3-030-49098-0_13](https://doi.org/10.1007/978-3-030-49098-0_13).

NIAZIAN, M.; NALOUSHI, A.M. Artificial polyploidy induction for improvement of ornamental and medicinal plants. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**. 142:447-469, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01888-1>.

NILSSON-EHLE, V.H. (1936): Über eine in der Natur gefundene Gigasform von *Populus tremula*. **Hereditas**. 21:379–393, 1936. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1936.tb03205.x>.

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

OTONI, W.C.; PAIM, P.D.L.; ROCHA, D.I.; VIEIRA, L.M.; DIAS, L.L.C.; SILVA, M.L.; SILVA, C.V.; LANI, E.R.G.; SILVA, L.C.; TANAKA, F.A. Organogenesis and somatic embryogenesis in passion fruit (*Passifloras* sp.). In: ASLAM, J.; SRIVASTAVA, O.S.; SHARMA, M.P. (eds). **Somatic embryogenesis and gene expression**. 1nd, ed. Narosa Publishing House, New Delhi, 2013, p. 1-17.

OVALLE, F.R. **Análise da distribuição dos sítios de DNA ribossomal 5S e 45S em cariótipos de espécies vegetais**. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2011, 203p., (Tese – doutorado em Biologia Vegetal).

PARRA-NUNEZ, P.; PRADILLO, M.; SANTOS, J.L. How to Perform an Accurate Analysis of Metaphase I Chromosome Configurations in Autopolyploids of *Arabidopsis thaliana*. In: PRADILLO, M. & HECKMANN S. (eds). **Plant Meiosis - Methods in Molecular Biology**. 2061, ed. Humana, New York, NY, 2020, p. 25-36. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9818-0_3.

PINTO-MAGLIO, C. A. F.; PIEROZZI, N. I. Caracterização Citogenética. In: VEIGA, R.

F. A; QUEIRÓZ, M. A. **Recursos Fitogenéticos: a Base da Agricultura Sustentável do Brasil**. Viçosa: UFV, 2015, p. 204-2013.

PRAÇA, M.M.; CARVALHO, R.C.; MARCELINO, F.C.; MEDONÇA, M.A.C. Morphological aspects of *Passiflora edulis f. flavicarpa* chromossomes using acridine orange bading and rDNA-FISH tools. **Caryologia**. 61:154-159, 2008 <https://doi.org/doi:10.1080/00087114.2008.10589623>.

PRIETO P.; NARANJO, T. Analytical methodology of meiosis in autopolyploid and allopolyploid plants. IN: PRADILLO, M. & HECKMANN S. (EDS). **Plant Meiosis - Methods in Molecular Biology**. 2061, Ed. Humana, New York, NY, 2020, P. 141-168. [HTTPS://DOI.ORG/10.1007/978-1-4939-9818-0_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9818-0_11).

RAMSEY, J.; SCHEMSKE, D.W. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**. 29:467-501, 1998. <https://doi.org/10.11146/annurev.ecolsys.29.1.467>.

RANGASWAMY, N.S.; RAO, P.S. Experimental studies on *Santalum album* L. - establishment of tissue culture of endosperm. **Phytomorphology**. 13:450-454,1963.

RANNEY, T.G. **Polyploidy: From Evolution to New Plant Development**. Combined Proceedings International Plant Propagators Society. 56, 2006.

RAZDAN TIKU, A.; RAZDAN, M.K.; RAINA, S.N. Production of triploid plants from endosperm cultures of *Phlox drummondii*. **Biologia Plantarum**. 58:153-158, 2014. [HTTPS://DOI.ORG/10.1007/S10535-013-0372-7](https://doi.org/10.1007/S10535-013-0372-7).

REIS, A.C.; CHESTER, M.; SOUSA, S.M.; CAMPOS, V.R. NACIMENTO, L.S.Q.; PACHECO-JUNIOR, S.; FRANCO, A.L.; VICCINI, L.F. Chromosomal view of *Lippia alba*, a tropical polyploid complex under genome stabilization process. **Protoplasma**. 2021. [HTTPS://DOI.ORG/10.1007/S00709-021-01636-Y](https://doi.org/10.1007/S00709-021-01636-Y).

RHOADES, M.M. Note on the origin of triploid in maize. **Journal of Genetics**. 33:355-357, 1936. <https://doi.org/10.1007/BF02982891>.

ROCHA, D.I.; VIEIRA, L.M.; TANAKA, F.A.O.; SILVA, L.C.; OTONI, W.C. Somatic embryogenesis of a wild passion fruit species *Passiflora cincinnata* Masters: histocytological and histochemical evidence. **Protoplasma**. 249:747-758, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00709-011-0318-x>.

ROCHA, L.C.; LOPES, L.S.; VITORIANO, M.B.Z.; MITTELMANN, A.; TECHIO, V. Miotic irregularities in diploid and tetraploid plants of *Lolium multiflorum* Lam. **Biologia**. 73:1145-1152, 2018. <https://doi.org/10.2478/s11756-018-0120-8>.

ROUISS, H.; BAKRY, F.; FROELICHER, Y.; NAVARRO, L.; ALEZA, P.; OLLITRAULT, P. Origin of *C. latifolia* and *C. aurantiifolia* triploid limes: the preferential disomic inheritance of doubled-diploid 'Mexican' lime is consistent with an interploidy hybridization hypothesis. **Annals of botany**. 121(3):571-585, 2018. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx179>.

SADER, M.A.; AMORIM, B.S.; COSTA, L.; SOUZA, G.; PEDROSA-HARAND, A. The role of chromosome changes in the diversification of *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Systematics and Biodiversity**. 17(1):1-15, 2019. <https://doi.org/10.1080/14772000.2018.1546777>.

SELLARS, M.J. Triploidy. **Brenner's Encyclopedia of Genetics**. 2:187-188, 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.01582-5>.

SILVA, M.L.; PINTO, D.L.P.; GUERRA, M.P.; FLOH, E.L.S.; BRUCKNER, C.H.; OTONI, W.C. A novel regeneration system for a wild passion fruit species (*Passiflora cincinnata* Mast.) based on somatic embryogenesis from mature zygotic embryos. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**. 99:47-54, 2009. <https://doi.org/10.1007/s11240-009-9574-2>.

SILVA, C.V.; OLIVEIRA, L.S.; LORIATO, V.A.P.; SILVA, L.C.; CAMPOS, J.M.S.; VICCINI, L.F.; OLIVEIRA, E.J.; OTONI, W.C. Organogênese de explantes de raízes de populações comerciais de *Passiflora edulis* Sims e uma espécie de maracujá selvagem, *P. cincinnata* Masters. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**. 107:407-416, 2011. <https://doi.org/10.1007/s11240-011-9991-x>.

SILVA, G.S.; SOUZA, M.M.; DE MELO, C.; URDAMPILLETA, J.D.; FORNI-MARTINS, E.R. Identification and characterization of karyotype in *Passiflora* hybrids using FISH and GISH. **BMC Genetics**. 19(1):26, 2018. <https://doi.org/10.1186/s12863-018-0612-0>.

SILVA, N.T.; SILVA, L.A.S.; REIS, A.C.; MACHADO, M.; MATOS, E.M.M.; VICCINI, L.F.; OTONI, W.C.; CARVALHO, I.F.; ROCHA, D.I.; SILVA, M.L. Endosperm culture: a facile and efficient biotechnological tool to generate passion fruit (*Passiflora cincinnata* Mast.) triploid plants. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**. 142:613-624, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01887-2>.

SIMONE, C.; SCHIFINO-WITTMANN, M.T.; DALL'AGNOL, M. Sexual Polyploidization in Red Clover. **Scientia Agricola**. 63(1):26-31, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162006000100005>.

SINGH, R.J. **Plant cytogenetics**. USDA-Agricultural Research Service, Soybean/Maize Germplasm, Pathology, and Genetics Research Unit, Department of Crop Sciences, University of Illinois, Urbana-Champaign, Urbana, Illinois, USA, Boca Raton: CRC Press, 2017. <https://lccn.loc.gov/2016017670>.

SINGH, R.J. **Practical manual on plant cytogenetics - plant cytogenetics**. US: Boca Raton: CRC Press, 2018, 320p. ISBN9781498742979.

SCHATLOWSKI, N.; KÖHLER, C. Tearing down barriers: understanding the molecular mechanisms of interploidy hybridizations, **Journal of Experimental Botany**. 63(17):6059–6067, 2012. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers288>.

SKOOG, F.; MILLER, C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. **Symposia of the Society for Experimental Biology**. 11:118-30, 1957. PMID: 13486467.

SNOW, N. AND MACDOUGAL, J.M. New Chromosome Reports in *Passiflora* (Passifloraceae). **Systematic Botany**. 18(2):261-273, 1993. <https://doi.org/10.2307/2419402>.

SOARES-SCOTT, M.D.S.; MELETTI, L.M.M.; BERNACCI, L.C.; PASSOS, I.R.S. Citogenética Clássica e Molecular em *Passifloras*. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. **Maracujá: Germoplasma e Melhoramento Genético**. Planaltina, DF: EMBRAPA Cerrados, 2005, p. 212-239.

SONG, Q.; CHEN, Z.J. Epigenetic and developmental regulation in plant polyploids. **Current Opinion in Plant Biology**. 24:101-9, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.02.007>.

SOUZA, M.M. **Estudos genômico e reprodutivo em espécies de Passiflora**. Campos dos Goytacazes: UENF, 2002. 162p. (Tese de doutorado em produção vegetal).

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; SILVA, L.C.; REIS, D.S.S.; SUDRÉ, C.P. Karyotype of Six *Passiflora* Species Collected in the State of Rio de Janeiro. **Cytologia**. 68:165-171, 2003. <https://doi.org/10.1508/cytologia.68.165>.

SOUZA, M.M.; PALOMINO, G.; PEREIRA, T.N.S.; PEREIRA, M.G.; VIANA, A.P. Flow cytometric analysis of genome size variation in some *Passiflora* species. **Hereditas**. 141(1)31-38, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.2004.01739.x>.

SOUZA, M.M.; PEREIRA T.N.S.; VIEIRA M.L.C. Cytogenetic studies in some species of *Passiflora* L. (Passifloraceae): A review emphasizing Brazilian species. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. 51:247-258, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132008000200003>.

STOREY, W.B. Chromosome numbers of some species of *Passiflora* occurring in Hawaii. **Pacific Science**. 4(1):37-42,1950. <http://hdl.handle.net/10125/8988>.

SUN, J.; SHIMIZU-INATSUGI, R.; HOFHUIS, H.; SHIMIZU, K.; HAY, A.; SHIMIZU, K. K.; SESE, J.A. Recently Formed Triploid *Cardamine insueta* Inherits Leaf Vivipary and Submergence Tolerance Traits of Parents. **Frontiers in Genetics**. 11:567262, 2020. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.567262>.

THOMAS, H.M.; & THOMAS, B.J. Meiosis of triploid *Lolium*. III. Synaptonemal complex formation in the two inverse autoallotriploids of *L. temulentum* and *L. multiflorum*, TTM and TMM. **Heredity**. 76:28-35, 1996. <https://doi.org/10.1038/hdy.1996.4>.

THOMAS, T.D.; CHATURVEDI, R. (2008): Endosperm culture: a novel method for triploid plant production. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. 93:1–14. 2008. <https://doi.org/10.1007/s11240-008-9336-6>.

TODA, E. & OKAMOTO, T. Formation of triploid plants via possible polyspermy. **Plant Signaling & Behavior**. 11(9):1218107, 2016. <https://doi.org/10.1080/15592324.2016.1218107>.

TOUCHELL, D.H.; PALMER, I.E.; RANNEY, T.G. In vitro Ploidy Manipulation for Crop Improvement. **Frontiers in Plant Science**. 11:722, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00722>.

TROJAK-GOLUCH, A.; SKOMRA, U. Ploidy variation and agronomic performance of F₁ hybrids of tetraploid and diploid forms of *Humulus lupulus* L. **Breeding science**. 70(2):176–182, 2020. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.19102>.

VAN, T.B.; VAN, V.N., NAM, V.Q. Triploid plant regeneration from immature endosperms of *Melia azedach*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**. 133:351-357, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11240-018-1387-8>.

VIANA, A.P.; PEREIRA, T.N.S.; PEREIRA, M.G.; SOUZA, M.M.G.; MALDONADO, J.F.M.; AMARAL-JÚNIOR, A.T. Diversidade genética entre genótipos comerciais de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e entre espécies de passifloras nativas determinada por marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 25(3)489-493, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452003000300032>.

VIANA, A.J.C.; SOUZA, M.M. Comparative cytogenetics between the species *Passiflora edulis* and *Passiflora cacaoensis*. **Plant Biology**. 14:820-827, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2011.00557.x>.

VIEIRA, M.L.C.; BARBOSA, L.V.; MAYEDA, L.Y. Citogenética dos maracujazeiros. In: LIMA, A.A.; CUNHA, M.A.P. **Maracujá: Produção e Qualidade na Passicultura**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004, p. 47-65.

VIEIRA, L.M.; SILVA, P.O.; FERNANDES, A.M.; ROCHA, D.I.; OTONI, W.C. Protocol for somatic embryogenesis in *Passiflora cincinnata* mast. (Passifloraceae). In: JAIN, S.; GUPTA, P. Step wise Protocols for Somatic Embryogenesis of Important Woody Plants. **Springer**. 85, 2018 [HTTPS://DOI.ORG/10.1007/978-3-319-79087-9_21](https://doi.org/10.1007/978-3-319-79087-9_21).

VOLKOV, R.A.; PANCHUK, I.I.; BORISJUK, N.V.; HOSIAWA-BARANSKA, M.; MALUSZYNSKA, M.; HEMLEBEN, V. Evolutional dynamics of 45S and 5S ribosomal DNA in ancient allohexaploid *Atropa belladonna*. **BMC Plant Biology**. 17:21 2017. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-0978-6>.

WANG X.; MING, CHENG Z.; ZHI, S.; XU, F. Breeding triploid plants: a review. **Czech Journal of Genetics and Plant Breeding**. 52:41-54, 2016. <https://doi.org/10.17221/151/2015-CJGPB>.

WANG, J.; HUO, B.; LIU, W.; LI, D.; LIAO, L. Abnormal meiosis in an intersectional allotriploid of *Populus L.* and segregation of ploidy levels in 2x x 3x progeny. **PLoS ONE**. 12(7):0181767, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181767>.

XU, L.; HUANG, H. Genetic and epigenetic controls of plant regeneration. **Current Topics in Developmental Biology**. 108:1-33, 2014. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-391498-9.00009-7>.

YAHARA, T. Evolution of Agamosperous Races-in *Boehmeria* and *Eupatorium*. **Plant Species Biology**. 05:(1):183-196, 1990. <https://doi.org/10.1111/j.1442->

1984.1990.tb00203.x.

YANG, J.; WANG, J.; LIU, Z.; XIONG, T.; LAN, J.; HAN, Q.; LI, Y.; KANG, X. Megaspore Chromosome Doubling in *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake Induced by Colchicine Treatment to Produce Triploids. **Forests**. 9(11):728, 2018. <https://doi.org/10.3390/f9110728>.

YOTOKO, K.S.; DORNELAS, M.C.; TOGNI, P.D.; FONSECA, T.C.; SALZANO, F.M.; BONATTO, S.L.; FREITAS, L.B. Does variation in genome sizes reflect adaptive or neutral processes? New clues from *Passiflora*. **Plos One**. 6(3):18212, 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018212>.

ZAMARIOLA, L.; TIANG, C.L.; STORME, N.; PAWLOWSKI, W.; GEELEN, D. Chromosome segregation in plant meiosis. **Frontiers in Plant Science**. 17, 2014. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00279>.

ZENG, Q.; HAN, Z.; KANG, X. Adventitious shoot regeneration from leaf, petiole and root explants in triploid (*Populus alba* × *P. glandulosa*) × *P. tomentosa*. **Plant cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**. 138:121-130, 2019. [HTTPS://DOI.ORG/10.1007/S11240-019-01608-4](https://doi.org/10.1007/S11240-019-01608-4).

ZHANG, W., WANG, C., XUE, L.; ZHENG, Y.; LEI, J. Produção de híbridos triploides de lírio sem pólen de *Lilium pumilum* dc. × 'Brunello'. **Euphytica**. 214:171, 2018. [HTTPS://DOI.ORG/10.1007/S10681-018-2248-6](https://doi.org/10.1007/S10681-018-2248-6).

ZHANG, Y.; REN, Y.; KANG, X. Study on Gene Differential Expression in Tetraploid *Populus* Leaves. **Forests**. 11(11):1233, 2020 <https://doi.org/10.3390/f11111233>.

ZHAO, L.; GERALD, J. S.; THOMAS, J.G.; JIUHUAN, F.; KHALID, Y.R.; XIWEN, C.; CHAO-CHIEN, J. Triploid Production from Interspecific Crosses of Two Diploid Perennial *Helianthus* with Diploid Cultivated Sunflower (*Helianthus annuus* L.), **G3 Genes, Genomes, Genetics**. 7(4):1, 2017. <https://doi.org/10.1534/g3.116.036327>.

ZHOU, Q.; WU, J.; SANG, Y.; ZHAO, Z.; ZHANG, P.; LIU, M. Effects of Colchicine on *Populus canescens* Ectexine Structure and 2n Pollen Production. **Frontiers in Plant Science**. 11:295, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00295>.

ZHU, S.; SONG, J.; HU, Z.; TAN, B.; XIE, Z.; HI, H.; Deng, X. Ploidy variation and genetic composition of open-pollinated triploid *citrus* progenies. **Botanical Studies**. 50(3):319-324, 2009.

CAPÍTULO II

Caracterização citogenética, comportamento meiótico e viabilidade polínica de plantas triploides de *Passiflora foetida* L.

1. INTRODUÇÃO

A poliploidia corresponde a uma das principais forças evolutivas em plantas e contribui para o aumento da riqueza de espécies vegetais em todo o globo (Jiao et al., 2011, Van de Peer et al., 2021). Estudos recentes estimam que todas as Angiospermas já passaram por pelo menos um evento de duplicação genômica ao longo da sua história evolutiva (Jiao et al., 2011).

Os mecanismos de formação de poliploides envolvem duas rotas. A primeira passa pela duplicação de células somáticas com uso de bloqueadores antimitóticos e regeneração “de novo” in vitro, pelas vias organogênicas e embriogênicas (Ramsey e Schemske, 1998; Manzoor et al., 2019; Touchell et al., 2020). A segunda rota correspondente à fusão de gametas não reduzidos ($2n$) durante a divisão meiótica, causada principalmente por falhas na segregação cromossômica na anáfase I e na não disjunção das cromátides irmãs na anáfase II (Ramsey e Schemske, 1998; Dreissig et al., 2020; Prieto & Naranjo et al., 2020).

O sucesso dos indivíduos poliploides está atrelado ao valor adaptativo e à tolerância a condições adversas. Frequentemente, poliploides se adaptam com mais facilidade nos ambientes severos, a princípio, não ocupados por progenitores diploides (Ramsey e Schemske, 1998; Sader et al., 2019). Isso ocorre porque o aumento de cromossomos ativa ou silencia genes por conta da maior combinação de alelos duplicados, criando padrões de expressão gênica capazes de interagir e evoluir com os ambientes (Song e Chen, 2015; Iannicelli et al., 2020; Rutland et al., 2021).

Com a duplicação cromossômica, as cópias gênicas podem continuar mantendo a função anterior à multiplicação e resultar em redundância fenotípica; mas também podem sofrer subfuncionalização, ao dividir a função gênica do ancestral e formar cópias especializadas; ou promover neofuncionalização, quando um dos alelos adquire novas funções sem comprometer a função primária da cópia ancestral (Adams & Wendel, 2005; Rutland et al., 2021).

A poliploidia também beneficia às espécies quando alelos deletérios sofrem efeito de tamponamento e são mascarados pelas múltiplas cópias alélicas de efeito adaptativo (Soltis e Soltis, 2000; Adams & Wendel, 2005; Comai, 2005).

As vantagens da poliploidia têm atraído programas de melhoramento genético que estudam os processos de poliploidização artificial a fim de obter fenótipos agronomicamente desejáveis, de maneira rápida e eficiente (Wang et al., 2016; Antoniazzi et al., 2018; Silva et al., 2020, Mikovski et al., 2021). Dentre os benefícios da indução da poliploidia, podemos citar a restauração da fertilidade de híbridos, pois a duplicação dos genomas herdados de cada parental produz alopoliploides com conjuntos cromossômicos homólogos duplicados, capazes de emparelhar e formar gametas equilibrados. E o aumento do número de cromossomos eleva o vigor e adaptação ambiental, por meio da ampliação da heterozigosidade (Soltis e Soltis, 2000; Comai, 2005; Ranney, 2006).

Além disso, a poliploidia causa efeito “*gigas*” (gigantismo) nos órgãos vegetais, resultando na obtenção de plantas com caracteres agrônômicos superiores (Sattler et al., 2016). Segundo Mikovski et al. (2021) a análise morfométrica dos órgãos vegetativos e reprodutores de plantas triploides de *P. foetida* apresentaram folhas mais longas e estruturas florais maiores que a contraparte diploide. Para Sattler et al. (2016) isto ocorre devido ao aumento do tamanho celular causado pelas múltiplas cópias do conjunto cromossômico da espécie, incluindo sequências codificantes e não codificantes. Conseqüentemente, indivíduos poliploides podem apresentar órgãos maiores quando comparado aos respectivos diploides.

Em plantas ornamentais, a poliploidização artificial tem possibilitado a criação de novos cultivares, por exemplo, com flores maiores (Khalili et al., 2020; Iannicelli et al., 2020), pétalas com cores intensas (Ghanbari et al., 2019) e plantas com período de floração mais longo (Levin, 2002; Adams & Wendel, 2005).

Em *Passiflora*, estudos recentes têm estabelecido protocolos eficientes para a regeneração de plantas triploides a partir de tecido endospermico cultivado in vitro (Antoniazzi et al., 2018; Silva et al., 2020, Mikovski et al., 2021). Além da regeneração de indivíduos 3x, os estudos visam caracterizar citogeneticamente os cariótipos 2x e 3x, possibilitando uma comparação cariotípica além de assegurar a estabilidade do sistema de regeneração de triploides.

Neste contexto, a citogenética torna-se uma ferramenta eficiente por permitir a seleção de poliploides de número cromossômico compatível com o nível de ploidia esperado, além de possibilitar um estudo refinado do cariótipo, evidenciando o padrão de heterocromatina da espécie e possíveis alterações cromossômicas estruturais e numéricas que possam surgir após a poliploidização (Melo et al., 2003, 2014; Viana e Souza, 2012). Dentre as técnicas utilizadas para a caracterização, o bandeamento cromossômico com fluorocromos base-específicos DAPI/CMA consiste em uma abordagem simples que permite detectar o perfil de bandas ao longo dos cromossomos e investigar possíveis alterações morfológicas entre indivíduos (Brammer et al., 2015; Silva et al., 2018; Silva et al., 2020).

Até o momento, são poucos os estudos que relataram a regeneração de plantas triploides de maracujá a partir do cultivo *in vitro* de endosperma (Antoniuzzi et al., 2018; Faria et al., 2018; Silva et al., 2020; Mikovski et al., 2021), embora o primeiro relato tenha sido feito nos anos noventa para *P. foetida* L. (Mohamed, 1996), uma conhecida espécie ornamental e medicinal de maracujazeiro. Antoniuzzi et al. (2018) estabeleceram protocolo de regeneração de plantas triploide ($2n = 3x = 27$) pela via organogênica para *P. edulis* (FB300) ($2n = 2x = 18$), a mais importante espécie comercial do gênero, e observaram que as plantas triploides obtidas eram geneticamente estáveis. Plantas triploides de *P. cincinnata* também foram obtidas por Silva et al. (2020) via cultivo do tecido endospermico, trabalho que constatou incremento de 1,5 vezes na quantidade dos cromossomos diploide ($2n = 2x = 18$), na formação de plantas triploides ($2n = 3x = 27$). Mikovski et al. (2021) realizaram a quantificação cromossômica de plantas triploides *P. foetida* regeneradas via cultivo de endosperma e identificaram número de cromossomos 1,5 vezes maior que o respectivo diploide, confirmando a geração de triploides verdadeiros com $2n = 3x = 30$ cromossomos, a partir de genótipo diploide $2n = 2x = 20$. No entanto, estudos citogenéticos para caracterização morfonumérica cromossomos dessas plantas não haviam sido realizados.

Assim, este trabalho teve como objetivo realizar a caracterização cariotípica, a análise do comportamento meiótico e da viabilidade polínica de diploides e triploides de *P. foetida*, obtidos a partir da cultura de explantes de endosperma. A análise comparativa de ambos os citótipos contribui para o conhecimento sobre morfologia e comportamento cromossômico, que influenciam na reprodução e fertilidade das

plantas, aspectos importantes que podem subsidiar novas estratégias nos programas de melhoramento genético. Uma vez que, a descrição de cariótipos permite identificar e selecionar possíveis materiais com características fenotípicas desejáveis, sobretudo de plantas ornamentais que passaram por processos de poliploidização.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção de plantas triploides

As amostras foram coletadas de plantas adultas de *P. foetida* diploides, germinadas de sementes, e as plantas triploides obtidas pela regeneração de endosperma in vitro (Mikovski et al., 2021). Todas as plantas foram cultivadas em casa de vegetação do Laboratório de cultura de tecidos vegetais da Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, Campus de Tangará da Serra. Parte dos estudos citogenéticos foram realizadas no Laboratório de Genética e Biotecnologia da Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF.

2.2 Caracterização do cariótipo

Para a análise citogenética meristemas radiculares de plantas triploides, regeneradas a partir do endosperma e cultivadas in vitro, e de plantas diploides originada de sementes, foram pré-tratados com o bloqueador mitótico 8-hidroxiqiloneína (HQ) 0,003M, por 8 horas, a 4 °C. Decorrido o bloqueio, os meristemas foram lavados em água purificada e, devidamente, fixados em etanol e ácido acético (3:1), por no mínimo 24 horas, a 4 °C. A remoção da parede celular ocorreu a partir da solução enzimática Pectinase (Sigma) e Celulase (Serva-Onozuka R-10), nas concentrações de 20% e 2%, respectivamente, por cerca de 4 horas, a 37 °C. As lâminas foram confeccionadas a partir da técnica de dissociação celular por maceração e secas ao ar livre (Carvalho e Saraiva, 1993; 1997) e coradas com 4-6-diamidino-2-fenilindol (DAPI, Sigma, EUA). As análises foram realizadas em microscopia de fluorescência Olympus BX51, acoplado a uma câmera Olympus BX51, onde 30 metáfases foram avaliadas e fotografadas.

As medidas cromossômicas foram produzidas usando o software Image J ProPlus (Media Cybernetics™). O idiograma foi montado com base na observação de 10 metáfases e organizado em ordem decrescente do comprimento do braço curto. Os cromossomos foram classificados de acordo com a razão entre os braços, usando

a nomenclatura de Levan et al. (1964). Além disso, foi calculado o comprimento relativo dos cromossomos ($CR = \text{comprimento total} / \text{complemento monoploides} \times 100$) e complemento monoploide ($\text{comprimento total de todos os cromossomos} / \text{pelo número da ploidia}$).

2.2.1 Bandeamento cromossômico com fluorocromos base específicos

Para a caracterização de heterocromatina foi realizado o bandeamento cromossômico com os fluorocromos DAPI (4,6-diamidino-2-phenilindole) e CMA₃ (Cromomicina A3). O bandeamento foi realizado de acordo com o protocolo de Schweizer (1976). Aproximadamente, 30 µL de CMA (0,1mg mL) foram adicionados às lâminas, que foram incubadas em câmara escura por uma hora. Decorrido o tempo de incubação, as lâminas foram lavadas com água destilada e em seguida foram adicionados 30 µL de distamicina (DA), por 30 minutos, contracorante que aumenta o contraste ligando-se as bases AT (Zanela, 2009). Sequencialmente, as lâminas foram coradas com DAPI (1µg mL), incubadas durante 30 minutos e montadas em meio Antifade. As análises foram realizadas em microscopia de epifluorescência Olympus BX51. Pelo menos 30 metáfases bandeadas foram avaliadas.

2.3 Análise do comportamento meiótico de *Passiflora foetida*

Para a análise do comportamento meiótico foram coletados 30 botões florais de *P. foetida*, em estágio inicial de desenvolvimento, com tamanho estimado entre 5 mm e 8 mm. As amostras foram fixadas em solução Carnoy (etanol: ácido acético 3:1) e conservadas em freezer a -20 °C, até o momento das análises.

As lâminas foram confeccionadas de acordo com a técnica de esmagamento. Após o procedimento de fixação, os botões umedecidos com ácido acético 45%, foram abertos para a retirada das anteras, com auxílio de microscópio estereoscópico e agulhas. As anteras foram maceradas para a expulsão dos meiócitos. Em seguida, foi adicionada uma gota de orceína acética 5%, e o material foi esmagado entre lâmina e lamínula. Figuras representativas das irregularidades foram fotografadas por meio de uma câmera Olympus DP72 de vídeo acoplada ao microscópio e digitalizadas por meio do software Image Pro Plus 4.5 (Media Cybernetics). Foram realizadas as análises do comportamento meiótico das plantas diploides e triploide para

estabelecimento do número cromossômico na condição haploide e verificação de irregularidades nas divisões meióticas I e II.

2.4 Análise da viabilidade polínica

Para a avaliação de viabilidade polínica adotou-se o teste com diacetato de fluoresceína (FDA) (Heslop-Harrison e Heslop-Harrison, 1970). Botões florais em pré-antese, coletados no período matinal, foram abertos com agulhas para retirada das anteras e dissecados para a liberação dos pólenes. Em seguida, uma gota da solução de diacetato de fluoresceína, dissolvida em acetona 2mg mL, e combinada com sacarose a 10%, foi adicionada aos grãos. O material biológico foi comprimido entre lâmina e lamínula, e selado com esmalte incolor. Após 15 minutos no abrigo de luz, os grãos foram analisados em microscopia de epifluorescência (Olympus BX 51). No total, foram avaliados 1000 grãos de pólenes, 200 em cada uma de um conjunto de cinco lâminas, pelo método de observação e varredura em cinco campos aleatórios.

3. RESULTADOS

3.1 Caracterização cariotípica de plantas diploides e triploides de *P. foetida*

A análise citogenética do cariótipo de *P. foetida* produzida através da germinação de sementes confirmou que o citótipo pertence ao grupo com número básico haploide $x = 10$ e apresenta natureza diploide com $2n = 2x = 20$ cromossomos.

No bandeamento cromossômico convencional utilizando a dupla coloração com fluorocromos DAPI e CMA₃, foi possível observar que o corante DAPI corou os cromossomos, mas não destacou bandas específicas ricas em AT (Figuras 1A e C); já o CMA₃ apresentou resultado positivo, fluorescendo em regiões de constrição secundárias, constituídas principalmente por bases CG, na região proximal do braço longo do par cromossômico 2 e na região proximal dos braços curtos do par cromossômico 3 (Figura 1B e D).

A análise morfométrica do cariótipo permitiu a classificação de oito pares de cromossomos metacêntricos (cromossomos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8) e dois pares submetacêntricos (9 e 10), caracterizado por cromossomos pequenos de morfologia simétrica. A fórmula cariotípica (FC) observada neste citótipo foi $FC = 8m + 2sm$.

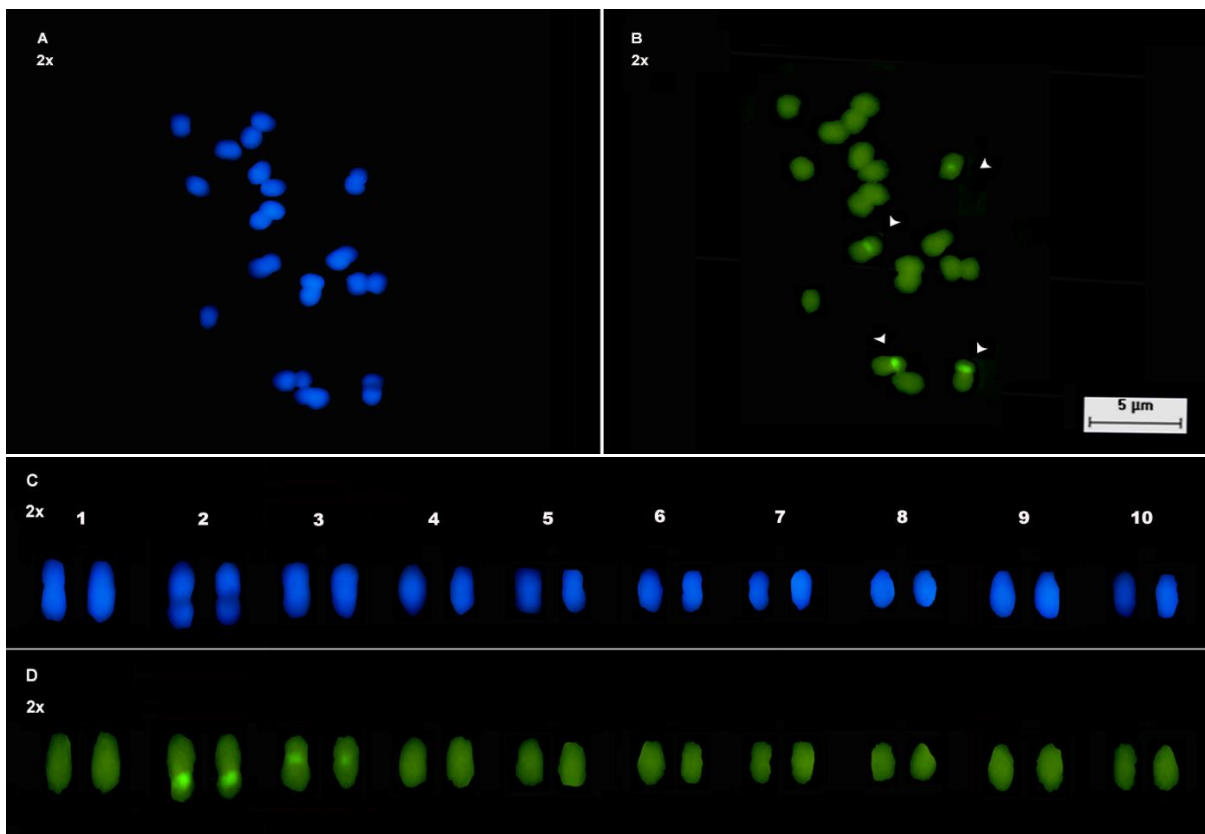


Figura 1. Metáfase representativa do citótipo do diploide de *P. foetida*: cromossomos corados com o fluorocromo DAPI (A); cromossomos corados com o fluorocromo CMA3 (B), setas indicam sítios CMA3+. Cariograma representando os pares cromossômicos corados com o fluorocromo DAPI (C), e corados com o fluorocromo CMA3 (D), destacado nos pares cromossômicos 2 e 3

O maior cromossomo observado mediu 2,19 µm e teve o comprimento relativo estimado em 6,77% da soma total de todo o cariótipo. O menor cromossomo observado mediu 1,25 µm e apresentou comprimento relativo de 3,86% da medida total dos cromossomos.

A maior razão entre braços foi medida no cromossomo 9 com 2,04, caracterizando um cromossomo submetacêntrico, enquanto a menor razão foi registrada nos cromossomos 4 que apresentaram a relação braço longo pelo braço curto de 1,10.

O cariótipo diploide de *P. foetida* apresentou um comprimento absoluto cromossômico de 32,28 µm, o lote haploide apresentou 16,14 µm. As quantificações consideraram as medidas das constrições secundárias.

Tabela 1. Morfometria dos cromossomos de plantas de *P. foetida* diploide

Cromossomo	Comprimento (μm)			Razão	Classificação	Comprimento relativo (%)
	Braço curto	Braço longo	Total			
1	0,91	1,03	1,94	1,13	m	6,02
1'	0,91	1,03	1,93	1,13	m	5,98
2	0,90	1,29	2,19	1,43	m	6,77
2'	0,87	1,25	2,12	1,44	m	6,58
3	0,75	1,14	1,89	1,52	m	5,84
3'	0,74	1,12	1,86	1,52	m	5,76
4	0,71	0,79	1,50	1,10	m	4,64
4'	0,71	0,79	1,50	1,11	m	4,64
5	0,68	0,80	1,48	1,19	m	4,58
5'	0,67	0,80	1,46	1,19	m	4,54
6	0,64	0,80	1,44	1,25	m	4,45
6'	0,63	0,79	1,42	1,25	m	4,41
7	0,63	0,75	1,38	1,19	m	4,27
7'	0,63	0,75	1,37	1,19	m	4,26
8	0,62	0,69	1,30	1,11	m	4,04
8'	0,59	0,66	1,25	1,11	m	3,86
9	0,53	1,07	1,60	2,03	sm	4,96
9'	0,52	1,06	1,58	2,04	sm	4,90
10	0,51	1,04	1,56	2,03	sm	4,82
10'	0,50	1,01	1,51	2,01	sm	4,69
Total			32,28 μm			100%

A análise do cariótipo confirmou a natureza triploide de *P. foetida* regeneradas a partir do cultivo in vitro do tecido endospermico. O citótipo apresentou número básico cromossômico $x = 10$ e na forma triploide $2n = 3x = 30$ cromossomos.

Do mesmo modo que no diploide, os citótipos triploides não apresentaram sítios positivos para a coloração com DAPI (Figuras 2A e C), mas responderam positivamente à coloração com o fluorocromo CMA3, marcando 6 bandas em regiões heterocromáticas mais condensadas, representadas pelas constrições secundárias, ricas em citosina (C) e guanina (G), onde foram identificados os satélites (segmentos cromossômicos afastados), situados na região proximal dos braços longos do cromossomo 2 e na região proximal dos braços curtos do cromossomo 3 (Figuras 2 B e D).

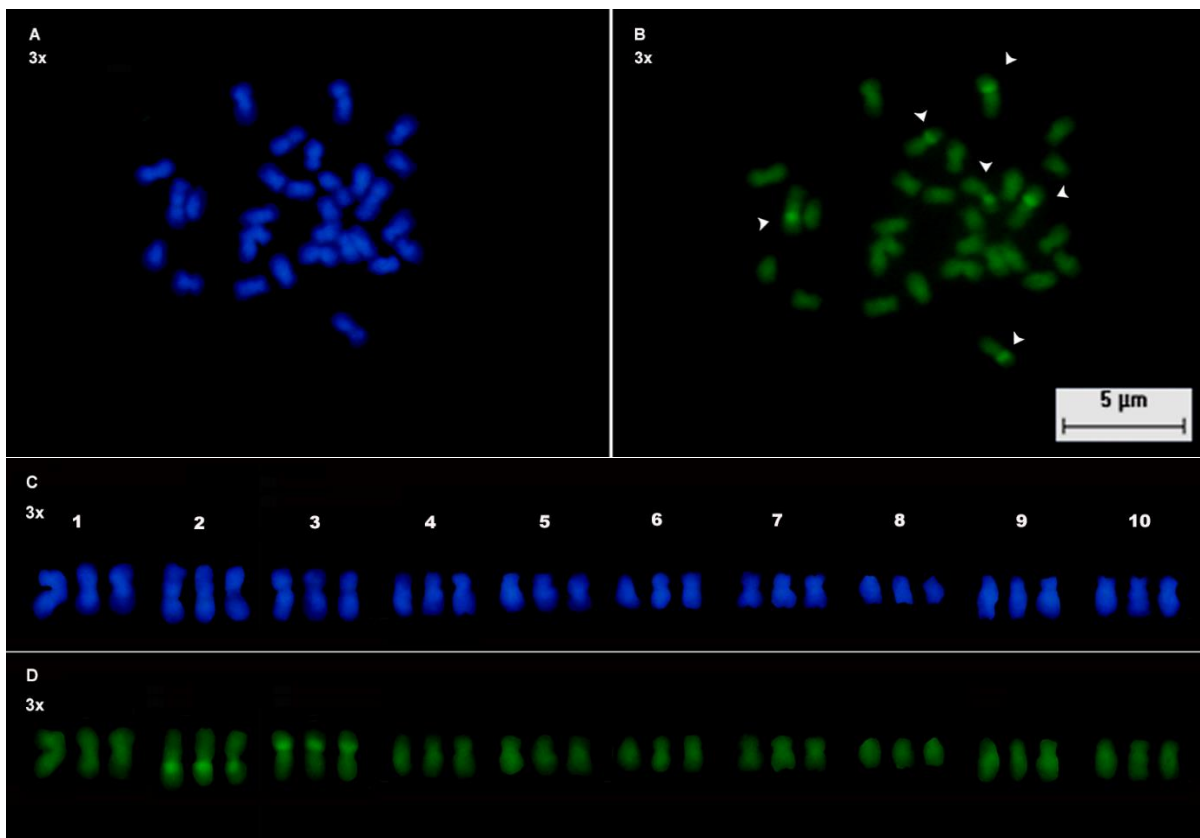


Figura 2. Metáfase representativa do citótipo do triploide de *P. foetida*: cromossomos corados com o fluorocromo DAPI (A); cromossomos corados com o fluorocromo CMA3 (B), setas indicam sítios CMA3+. Cariograma representando os conjuntos cromossômicos corados com o fluorocromo DAPI (C), e corados com o fluorocromo CMA3+ (D), destacado nos trios cromossômicos 2 e 3

A análise morfométrica do cariótipo permitiu a classificação dos cromossomos em metacêntricos (cromossomos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8) e dois trios submetacêntricos (cromossomos 9 e 10). A espécie *Passiflora foetida* possui cromossomos pequenos, de morfologia relativamente simétrica. O maior cromossomo mediu 1,99 µm e o menor 0,93 µm. O comprimento relativo observado para estes cromossomos foi de 4,59% e 2,15%, respectivamente. O comprimento do lote monoploide encontrado neste citótipo foi de 14,44 µm.

Do mesmo modo, a maior razão entre os braços foi registrada no cromossomo 9, onde a razão do braço longo pelo braço curto correspondeu a 2,24, caracterizando um cromossomo submetacêntrico. A menor razão mensurada foi observada no cromossomo 8, correspondente a 1,02.

Tabela 2. Morfometria dos cromossomos de *P. foetida* triploide.

Cromossomo	Comprimento (μm)			Razão	Classificação	Comprimento relativo (%)
	Braço curto	Braço longo	Total			
1	0,88	1,05	1,93	1,19	m	4,45
1'	0,88	0,90	1,78	1,03	m	4,12
1''	0,88	0,90	1,78	1,03	m	4,10
2	0,83	1,16	1,99	1,40	m	4,59
2'	0,82	1,15	1,97	1,40	m	4,55
2''	0,81	1,13	1,94	1,40	m	4,48
3	0,73	1,02	1,75	1,39	m	4,04
3'	0,73	1,02	1,75	1,39	m	4,04
3''	0,72	1,00	1,72	1,39	m	3,97
4	0,56	0,82	1,38	1,46	m	3,19
4'	0,56	0,82	1,38	1,46	m	3,19
4''	0,55	0,82	1,37	1,49	m	3,16
5	0,55	0,76	1,31	1,38	m	3,02
5'	0,55	0,76	1,31	1,38	m	3,02
5''	0,55	0,77	1,32	1,39	m	3,05
6	0,54	0,72	1,26	1,34	m	2,91
6'	0,53	0,74	1,27	1,39	m	2,93
6''	0,53	0,74	1,27	1,39	m	2,93
7	0,53	0,68	1,21	1,28	m	2,79
7'	0,53	0,66	1,19	1,25	m	2,75
7''	0,53	0,66	1,19	1,25	m	2,75
8	0,46	0,48	0,94	1,04	m	2,17
8'	0,46	0,47	0,93	1,02	m	2,15
8''	0,46	0,47	0,93	1,02	m	2,15
9	0,45	1,01	1,46	2,24	sm	3,37
9'	0,45	0,99	1,44	2,20	sm	3,32
9''	0,45	0,99	1,44	2,20	sm	3,32
10	0,44	0,94	1,38	2,14	sm	3,19
10'	0,44	0,93	1,37	2,10	sm	3,16
10''	0,44	0,93	1,37	2,10	sm	3,16
Total			43,32 μm			100%

3.2 Comparação cariotípica entre diploide e triploide de *P. foetida*

A comparação morfológica dos cariótipos de *P. foetida* permitiu confirmar que os genótipos estudados correspondem aos citótipos diploides, com $2n = 2x = 20$ cromossomos, e triploides, $2n = 3x = 30$. Também permitiu observar pequenas variações na quantificação das médias dos cromossomos.

Os lotes monoploides de *P. foetida* diploide ($2x$) e triploide ($3x$) foram representados na forma de idiogramas (Figura 3). Os cromossomos foram distribuídos

em ordem decrescente do braço curto e alinhados pela região centromérica. Cada cromossomo foi determinado pelas médias das medidas dos braços curtos (BC), braços longos (BL), comprimento total (CT) e razão entre braços (R) dos conjuntos homólogos (Tabela 4). Nos idiogramas também foram destacadas as regiões de constrição secundária que fluoresceram sob a ação do CMA, facilmente identificadas nos dois níveis de ploidia na região proximal do braço longo do cromossomo 2 e do braço curto do cromossomo 3.

A razão entre os braços permitiu a identificação e classificação de oito cromossomos metacêntricos (m) e 2 submetacêntricos (sm) para ambos os citótipos, quando analisado o complemento monoploide.

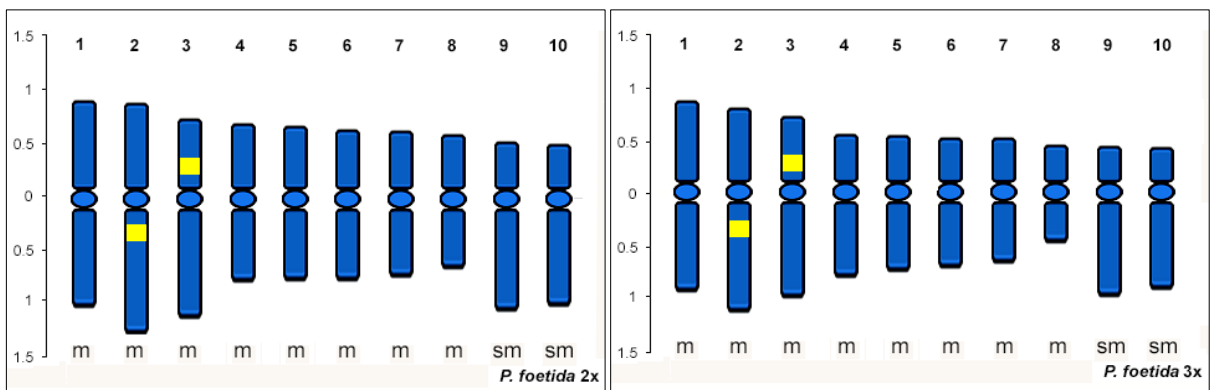


Figura 3. Idiograma representativo do complemento monoploide de *P. foetida* diploide (2x) e triploide (3x). As marcas CMA3+ são destacadas em amarelo nos cromossomos 2 e 3; cromossomo metacêntrico (m) e submetacêntrico (sm)

Em *P. foetida* diploide, a maior média de comprimento do braço curto (BC) foi registrada no cromossomo 1, que mediu 0,91 μm ; a menor média foi observada no cromossomo 10, calculada em 0,51 μm de comprimento. No cariótipo triploide a maior média de braço curto (BC) também foi determinada no cromossomo 1, mas correspondeu a 0,88 μm ; e a menor média foi observada no cromossomo 10, quantificada em 0,44 μm .

A maior média de tamanho braço longo (BL) de *P. foetida* diploide foi quantificada no cromossomo 2, estimada em 1,27 μm e a menor média foi calculada no cromossomo 8, calculada em 0,67 μm . No triploide, esses resultados foram observados nos mesmos cromossomos, mas com valores diferentes, com maior média do braço longo, correspondente a 1,15 μm e a menor medida 0,47 μm .

A média do comprimento total (CT) do maior cromossomo de *P. foetida* diploide foi determinada no cromossomo 2, com a medida de 2,16 μm (13,35%) e a menor média foi observada no cromossomo 8, calculada em 1,28 μm (7,90%). Em *P. foetida* triploide a média do comprimento total foi igualmente registrada no cromossomo 2, calculada em 1,97 μm (13,62%); a menor média foi estimada no cromossomo 8, correspondente a 0,93 μm , cerca de 6,46% do cariótipo.

Tabela 3. Comparação das médias morfométricas de homólogos entre diploide e triploide de *P. foetida*

Pares	Média cromossômica (μm)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Diploide										
BC	0,91	0,88	0,74	0,71	0,67	0,64	0,63	0,61	0,52	0,51
BL	1,03	1,27	1,13	0,79	0,80	0,80	0,75	0,67	1,07	1,03
CT	1,94	2,16	1,87	1,50	1,47	1,43	1,38	1,28	1,59	1,54
R	1,13	1,44	1,52	1,10	1,19	1,25	1,19	1,11	2,04	2,02
CL	m	m	m	m	m	m	m	m	sm	sm
CR	12,00%	13,35%	11,60%	9,28%	9,11%	8,86%	8,53%	7,90%	9,86%	9,51%
Triploide										
BC	0,88	0,82	0,73	0,56	0,55	0,53	0,53	0,46	0,45	0,44
BL	0,95	1,15	1,01	0,82	0,76	0,73	0,67	0,47	1,00	0,93
CT	1,83	1,97	1,74	1,38	1,31	1,27	1,20	0,93	1,45	1,37
R	1,08	1,40	1,39	1,47	1,38	1,37	1,26	1,03	2,21	2,11
CL	m	m	m	m	m	m	m	m	sm	sm
CR	12,67%	13,62%	12,05%	9,53%	9,09%	8,77%	8,29%	6,46%	10,02%	9,51%

Legenda. Braço curto (BC), braço longo (BL), comprimento total (CT), razão entre os braços (R), classificação (CL), comprimento relativo (CR), cromossomos metacêntrico (m), submetacêntrico (sm).

As maiores médias da razão entre braços (R) em *P. foetida* diploide foram verificadas nos cromossomos submetacêntricos 9 e 10, correspondentes a 2,04 e 2,02; e a menor média foi registrada no cromossomo 4, equivalente a 1,10. No citótipo triploide, a maior média da razão entre braços (R) também ocorreu nos cromossomos 9 e 10 (submetacêntricos), mesurados em 2,21 e 2,11, mas a menor razão foi identificada no cromossomo 8, medida em 1,03.

A comparação do comprimento relativo (CR) de *P. foetida* revelou que nas plantas diploides o maior cromossomo representa 13,35% do cariótipo e o menor 7,90%; enquanto no triploide o maior cromossomo corresponde a 13,62% e o menor 6,46% do cariótipo.

3.3 Comportamento meiótico de *P. foetida* triploide

A análise do comportamento meiótico de triploides de *P. foetida* ($2n = 3x = 30$), regenerada através do cultivo in vitro do tecido endospermico apresentou irregularidades cromossômicas demonstrando configurações dessinápticas e formação de cromossomos monovalentes e/ou composição de cadeias trivalentes, em prófase I. Adicionalmente, irregularidades relacionadas à segregação cromossômica também foram observadas ao longo da formação das células-mãe do grão de pólen (CMP) durante todo o processo de microsporogênese (Figura 4A-H).

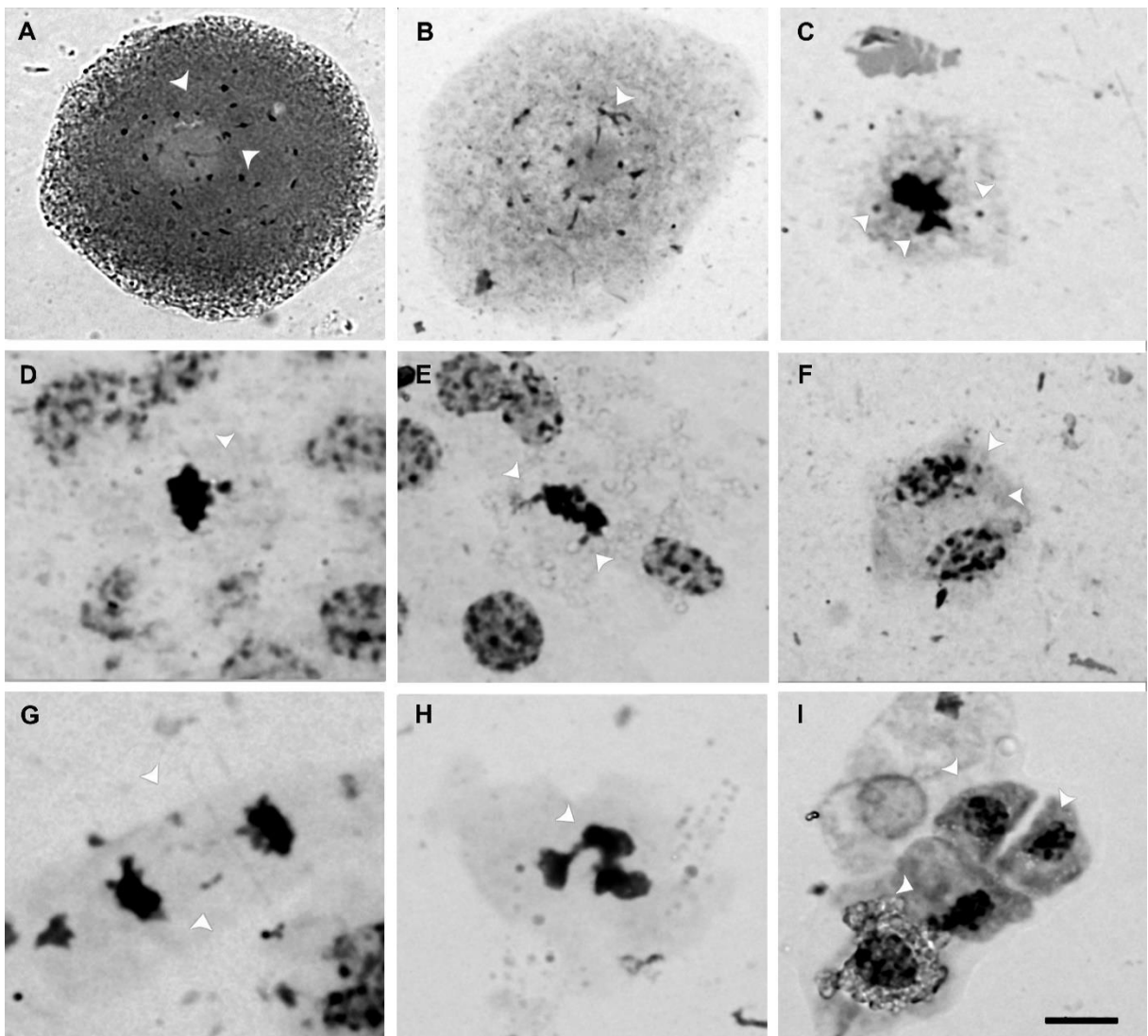


Figura 4. Comportamento meiótico de triploide de *P. foetida*. As pontes de setas indicam: presença de cromossomos uni e trivalentes em diacinese (A); cadeia cromossômica em prófase I (B); cromossomos retardatários (C, D) e migração cromossômica precoce em metáfase I (E); segregação atrasada durante anáfase I (G); fragmentos de pontes cromossômicas em terminação na telófase I (F); citomixia entre micrósporos adjacentes (H); formação de tríade em telófase I (I). A barra mede 5 μ m

Durante a diacinese, na prófase da meiose I, foi possível identificar anormalidades com formação de cadeias cromossômicas uni e trivalentes (Figura 4A) e cadeias cromossômicas (Figura 4B).

Na metáfase I, foi possível identificar cromossomos não incorporados ao conjunto congressado, alinhados pelo centrômero, na placa equatorial meiótica e cromossomos retardatários (Figuras 4C e D). Do mesmo modo, foram registrados cromossomos em processo de migração precoce na direção dos polos (Figura 4E).

Na anáfase I foram registrados cromossomos retardatários (Figura 4F). Na telófase I foram identificados fragmentos cromossômicos remanescentes de pontes, em processo de terminação (Figura 4G).

Durante a divisão também foi possível observar a ocorrência de citomixia (Figura 4H) e ao final da divisão foi registrada a formação de tríade (Figura 4I).

3.4 Viabilidade polínica de *P. foetida*

Na análise de viabilidade polínica os grãos de pólen responderam à coloração com diacetato de fluoresceína (FDA).

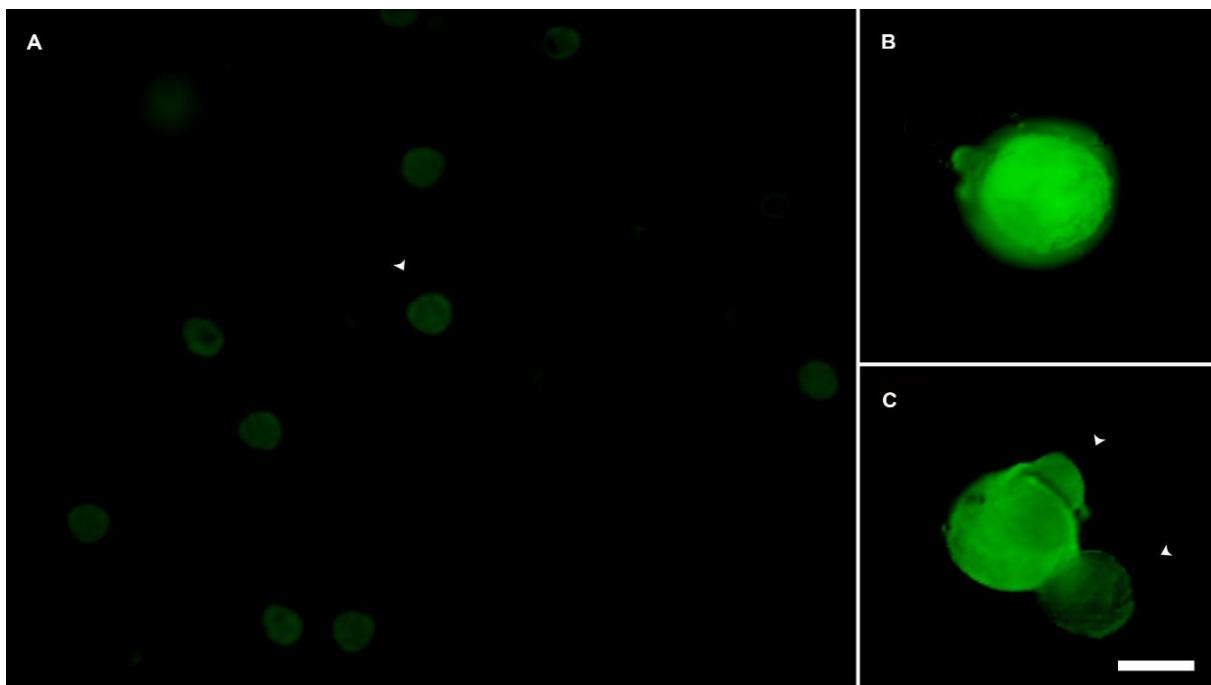


Figura 5. Análise de viabilidade polínica de botões florais de *P. foetida* triploide. As setas indicam grãos de pólen viáveis: núcleos corados com diacetato de fluoresceína - FDA (A); grão de pólen viável de planta triploide (B); comparação entre grão de pólen triploide (maior) e diploides (menor), produzidos pelo triploide de *P. foetida* (C). Os grãos de pólen inviáveis: menores, não-florescentes e núcleos não-corados. A barra mede 10 μ m

A quantificação dos grãos de pólen coletados do botão floral em pré-antese de *P. foetida* diploide somaram um total de 1.102 grãos, sendo 887 (75,77%) classificados como viáveis e 215 (24,23%) identificados como inviáveis. Nas plantas triploides, foram estimados 1.034 grãos de pólen, destes 800 (70,75%) foram considerados inviáveis (Figura 5A-C) e apenas 234 (29,25%) foram tidos como viáveis.

Os grãos de pólen inviáveis permaneceram opacos ou translúcidos em microscopia fluorescente.

Tabela 4. Viabilidade polínica de plantas de *P. foetida* diploide e triploide.

Viabilidade Polínica	<i>P. foetida</i> 2x		<i>P. foetida</i> 3x	
	No. Grão de Pólen	Frequência %	No. Grão de Pólen	Frequência %
Grãos de pólen viáveis	887	75.77 %	234	29,25 %
Grãos de pólen inviáveis	215	24.23 %	800	70,75 %
	1.102	100	1.034	100

4. DISCUSSÃO

A caracterização citogenética confirmou a natureza triploide de *P. foetida* ($2n = 3x = 30$) produzida a partir do cultivo de explantes de endosperma coletados de plantas diploides ($2n = 2x = 20$). A quantificação cromossômica corrobora com Mikovski et al. (2021) ao determinar que plantas regeneradas de tecido de reserva de *P. foetida* são triploides verdadeiros. Conclusões semelhantes foram relatadas por Antoniazzi et al. (2018), em estudo de triploides de *P. edulis*; e Silva et al. (2020), em trabalho com *P. cincinnata*.

A análise do cariótipo permitiu classificar os conjuntos monoploides da *P. foetida* no grupo $x = 10$ (Melo et al., 2001) e definir os cromossomos como pequenos, ligeiramente simétricos. Melo e Guerra (2003) relatam que a espécie *P. foetida* apresenta cromossomos de tamanhos reduzidos, de comprimento maiores que os cromossomos do grupo $x = 6$, mas menores que os da classe $x = 9$.

Os cromossomos das plantas diploides e triploides de *P. foetida* responderam à dupla coloração DAPI/CMA₃; porém, apenas cromomicina-A₃ formou bandas, destacando as regiões de constrição secundárias, ricas em citosina e guanina. Respostas fluorescentes foram relatadas para plantas diploides e híbridas do gênero *Passiflora*, mas em diferentes sítios cromossômicos. Segundo Viana e Souza (2012)

a coloração a CMA₃+ destacou as zonas de constrição e satélites nos cromossomos 1 e 4 em *P. edulis* e *P. cacaoensis*. Para Coelho et al. (2016) o CMA₃+ formou bandas nos braços longos dos cromossomos 6 e 8 em híbridos de *P. cincinnata* x *P. edulis*.) O bandeamento CMA₃+ em híbridos resultantes do cruzamento entre *P. gardneri* x *P. gibertii*, permitiram a contagem cromossômica e a observação dos satélites, o que não seria possível através da coloração convencional (Silva et al., 2018).

A coloração diferencial CMA₃+ formou quatro bandas no diploide e seis no triploide de *P. foetida*, resultando na marcação fluorescente da constrição secundária e identificação dos satélites nas regiões proximais dos braços longos do cromossomo 2 e braços curtos do cromossomo 3. Entretanto, Melo et al. (2001) relataram a formação de bandas CMA₃+ em três pares cromossômicos em *P. foetida* diploide, sendo um em região terminal e dois pares em região proximal. Melo e Guerra (2003) destacaram que indivíduos 2n de *P. foetida* apresentaram constrições secundárias proximais em três pares de cromossomos.

Tanto no citótipo diploide como no triploide os cariótipos apresentaram oito cromossomos metacêntricos e dois submetacêntricos. De modo geral, o gênero *Passiflora* é formado, predominantemente, por espécies diploides, com morfologia cromossômica relativamente simétrica, composta por cromossomos metacêntricos e submetacêntricos (Melo et al., 2001, 2014; Melo e Guerra 2003). Mas, pode haver ocorrências de cromossomos acrocêntricos (Leite et al., 2019).

O comportamento meiótico da *P. foetida* (Melo et al., 2001), assim como da maioria das espécies do gênero *Passiflora*, apresenta regularidade na divisão meiótica acima de 90% (Souza et al., 2008). A exemplo do que ocorre com *P. cincinnata* (Souza et al., 2002; Coelho et al., 2016), *P. edulis* (Barbosa & Vieira, 1997; Coelho et al., 2016). No entanto, Souza e Pereira (2011) identificaram irregularidades meióticas de cromossomos atrasados ou com migração precoce em 14 espécies nativas e domesticadas de maracujás.

Os raros casos de anormalidades são resultados de orientação irregular do fuso acromático ou formação de pontes cromossômicas, fragmentos de cromatina remanescente da disjunção metafásica, observadas durante a anáfase (Barbosa & Vieira, 1997; Kiihl et al., 2011; Pereira et al., 2017).

A análise de comportamento meiótico de *P. foetida* triploide (2n = 3x = 30) identificou a formação de univalentes, trivalentes e cadeias cromossômicas, durante

a diacinese na prófase da meiose I. As configurações univalentes e tetravalente também já foram observadas em maracujazeiros nativos (Souza e Pereira, 2011). Esses resultados corroboram com Reis et al. (2021) ao relatar a formação de dessinapses e pareamento multivalentes em diacinese de triploides naturais de *L. alba*. Kovalsky et al. (2017) observaram a formação de cadeias cromossômicas uni, bi e trivalentes em autotriploides de *Turnera* durante as fases de diacinese e metáfase I.

Na meiose anormal a quantidade de cromossomos nas cadeias é variável (Barbosa et al., 2007) e a formação de cromossomos monovalentes ou cadeias trivalentes ocorre porque os genótipos poliploides apresentam duas ou mais cópias de cromossomos homólogos como parceiros potenciais, capazes de emparelhar, formar sinapses e realizar recombinação de sequências cromossômicas durante o paquíteno, na prófase I (Morgan e Wegel, 2020; Prieto & Naranjo, 2020). A alta frequência de cromossomos monovalentes e trivalentes com orientações não convergente durante a citocinese, influência nas demais fases da meiose e pode resultar na formação de gametas desbalanceados e não viáveis (Morgan e Wegel, 2020; Prieto & Naranjo, 2020).

O comportamento meiótico de *P. foetida* triploide exibiu cromossomos atrasados e não incorporados ao conjunto congressados na placa equatorial meiótica durante a metáfase I, como consequência do desequilíbrio iniciado na prófase I (Souza e Pereira, 2011). Configuração semelhante foi relatada para a espécie *Passiflora serrato digitata* (Kiihl et al., 2011) e diferentes percentuais para as espécies *P. gibertii* (34%), *P. suberosa* (24,9%), *P. mucronata* (16,2%), *P. pentagona* (12,5%) e *P. edulis* (11%) (Souza e Pereira, 2011). Durante a metáfase I também foram observados cromossomo com migração precoce em direção aos polos.

Na anáfase I foram observados cromossomos tardios resultado semelhante ao encontrado por Kiihl et al. (2011) em *P. serrato digitata* e em híbridos de espécies do gênero *Passiflora* que resultaram na formação de micrósporos anormais (Soares-Scott et al., 2003). Os tardios da anáfase I são os cromossomos univalentes não-pareados na diacinese ou que apresentaram terminações tardias dos quiasmas. Na anáfase regular, os cromossomos sofrem disjunção ao ser arrastados para os polos celulares pela força motora do encurtamento dos microtúbulos em processo de degradação movida pelo cinetócoro (proteína que ancora e despolimeriza os

microtúbulos) (Souza-Kaneshima et al., 2010; Potapova e Gorbsky, 2017; Singh, 2018).

A análise do comportamento meiótico de *P. foetida* triploide apresentou citomixia. Configuração cromossômica também observada durante o zigóteno, na prófase I, da meiose de *L. alba* (Reis et al., 2021). O processo de citomixia corresponde a canais de comunicação entre células para transferência de cromatina, o que pode resultar em desbalanceamento cromossômico e formação de gametas não reduzidos e desbalanceados. As citomixias são mais comuns no final da prófase 1, no zigóteno e paquíteno, mas também podem ocorrer na meiose II, entre a citocinese e a formação das tétrades (Baquar e Afaq-Husain, 1969; Mursalimov et al., 2013, 2020; Devi e Sharma, 2021).

No produto pós-meiótico a formação de tríade ao invés de tetrade no final da meiose II é um indicador da formação de gametas não reduzidos. Algumas espécies como a *P. pentagona* e *P. suberosa*, podem apresentar comportamento meiótico incomum e formar díade e tríade no produto pós-meiótico (Souza et al., 2003). Souza e Pereira (2011) relatam que a formação de tríades foram irregularidades observadas em quase todas as espécies nativas ou domesticadas do gênero *Passiflora*, em proporções que variaram de 1,6% em *P. amethystina* a 9,9% em *P. suberosa*. O acúmulo ou redução da quantidade de cromatina na formação do produto pós-meiótico pode contribuir para variação de tamanho e número do micrósporo e resultar na redução da viabilidade polínica e, conseqüentemente, na redução da fertilidade dos genótipos (Soares-Scott, 2003; Pozzobon et al., 2011; Shin et al., 2021).

Durante a divisão meiótica de plantas triploides é comum o desequilíbrio no pareamento cromossômico e isso, normalmente, gera progênies estéreis, com aborto do zigoto após a fusão dos gametas masculino e feminino, ou a formação de frutos sem sementes (Aleza et al., 2010; Bourke et al., 2017; Wang et al., 2017; Prieto & Naranjo, 2020). Reis et al. (2021) relata que a maior frequência de anormalidades meióticas em plantas triploides de *Lippia alba* contribui para elevação dos níveis de infertilidade dos grãos de pólen.

Conforme o esperado, a comparação da análise de viabilidade polínica entre *P. foetida* triploide ($2n = 3x = 30$) com a planta diploide ($2n = 2x = 20$), produtora do endosperma utilizado como explante na cultura de tecidos, permitiu observar que as plantas com dois conjuntos cromossômicos apresentaram elevada taxa de viabilidade

de grãos de pólen, cerca de 75,77%; enquanto os triploides apenas 29,25% dos grãos de pólen demonstraram ser viáveis. Esses resultados explicam o fato de as plantas triploides analisadas estarem produzindo frutos e sementes, embora em pequena quantidade, e cria perspectivas para novos trabalhos de melhoramento de *Passiflora foetida*.

5. CONCLUSÃO

A análise do cariótipo permitiu verificar que, morfológicamente, os cromossomos tanto das *P. foetida* germinadas por semente, como das plantas regeneradas de tecido endospermico, não apresentaram diferenças significativas entre si. Os cariótipos de ambos os citótipos destacaram bandas CMA⁺ nos cromossomos 2 e 3. Além disso, os cariótipos 2x e 3x apresentaram oito cromossomos metacêntricos e dois submetacêntricos.

A única variação observada foi a numérica, pois as plantas originadas de sementes apresentaram natureza diploide com $2n = 2x = 20$ cromossomos e as desenvolvidas pelo cultivo de endosperma possuíam $2n = 3x = 30$ cromossomos. Um incremento de 50% no complemento haploide, pois as duas plantas tiveram o número básico cromossômico quantificados em $x = 10$. Sendo, portanto, factível determinar a formação de um triploide verdadeiro.

O estudo do comportamento meiótico de *P. foetida* triploide revelou que o aumento do número de cromossomos homólogos produziu configurações cromossômicas irregulares que resultaram na redução da taxa de fertilidade dos grãos de pólen, mas não causaram alterações no perfil cromossômico.

A análise citogenética de plantas triploides, obtidas a partir da cultura de explantes de endosperma, produziram informações inéditas e importantes sobre morfologia e comportamento cromossômico de *Passiflora foetida*. Uma vez que, a descrição de cariótipos poliploides permite identificar e selecionar materiais com caracteres agrônômicos desejáveis. Além disso, a compreensão do comportamento meiótico e dos mecanismos que influenciam na fertilidade da espécie nos processos de poliploidização, podem subsidiar a adoção de novas estratégias aos programas de melhoramento genético para produzir plantas ornamentais com características fenotípicas desejáveis.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, K.L.; WENDEL, J.F. Polyploidy and genome evolution in plants. **Current Opinion in Plant Biology**. 8:135-141, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2005.01.001>.
- ALEZA, P.; JUÁREZ, J.; CUENCA, J.; OLLITRAULT, P.; NAVARRO, L. Recovery of citrus triploid hybrids by embryo rescue and flow cytometry from 2x x 2x sexual hybridization and its application to extensive breeding programs. **Plant Cell Reports**. 29:1023-1034, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00299-010-0888-7>.
- ANTONIAZZI, C.A.; FARIA, R.B.; CARVALHO, P.P.; MIKOVSKI, A.I.; CARVALHO, I.F.; MATOS, E.M.; REIS, A.C.; VICCINI, L.F.; PINTO, D.L.P.; ROCHA, D.I.; OTONI, W.C.; SILVA, M.L. In vitro regeneration of triploid plants from mature endosperm culture of commercial passionfruit (*Passiflora edulis* Sims). **Scientia Horticulturae**. 238:408-415, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.001>.
- BAQUAR, S.R.; AFAQ-HUSAIN, S. Cytoplasmic Channels and Chromatin Migration in the Meiocytes of *Arnebia hispidissima* (Sieb.) DC. **Annals of Botany**. 33(4):821-831, 1969. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a084327>.
- BARBOSA, L., VIEIRA, M. Meiotic behavior of passion fruit somatic hybrids, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener x *P. amethystina* Mikan. **Euphytica**. 98:121–127, 1997. <https://doi.org/10.1023/A:1003099709021>.
- BARBOSA, L.V.; MODIN, M.; OLIVEIRA, C.A.; SOUZA, C.A.; VIEIRA, M.L.C. Cytological behaviour of the somatic hybrids *Passiflora edulis*, F. *flavicarpa* + *P. cincinnata*. **Plant Breeding**. 126:323-328, 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2007.01362.x>.
- BOURKE, P.M.; ARENS, P.; VOORRIPS, R.E.; ESSELINK, G.D.; KONINGBOUCOIRAN, C.F.S.; VAN'T W.P.C. Partial preferential chromosome pairing is genotype dependent in tetraploid rose. **The Plant Journal**. 90(2):330-343, 2017. <https://doi.org/10.1111/tpj.13496>. Erratum in: **The Plant Journal**. 97(3):616, 2019. PMID: 28142191.
- BRAMMER, S.P.; TONIAZZO, C.; POERSCH, L.B. Corantes comumente empregados na citogenética vegetal. **Arquivo do Instituto Biológico**. 82:1-8, 2015. <https://doi.org/10.1590/1808-1657000192013>.
- CARVALHO, C.R.; SARAIVA, L. S. A new heterochromatin banding pattern revealed by modified hkg banding technique in maize chromosomes. **Heredity**. 70:515-519, 1993. [HTTPS://DOI.ORG/10.1038/HDY.1993.74](https://doi.org/10.1038/HDY.1993.74).
- CARVALHO, C.R.; SARAIVA, L.L. High-resolution HKG-banding in maize mitotic chromosomes. **Journal of Plant Research**. 110:417-420, 1997. <https://doi.org/10.1007/BF02506801>.
- COELHO, M.S.E; BORTOLETI, K.C.A.; ARAÚJO, F.P.; MELO, N.F. Cytogenetic characterization of the *Passiflora edulis* Sims x *Passiflora cincinnata* Mast. interspecific hybrid and its parents. **Euphytica**. 210:93-104, 2016.

<https://doi.org/10.1007/s10681-016-1704-4>.

COMAI, L. The advantages and disadvantages of being polyploid. *Nature Reviews Genetics*. 6:836-846, 2005. <https://doi.org/10.1038/nrg1711>.

DEVI, A.; SHARMA, G. Cytomixis-Associated Meiotic Anomalies in Diploid *Mentha longifolia* (L.) L. and their Impact on Pollen Viability and Size. *National Academy Science Letters*. 2021. <https://doi.org/10.1007/s40009-021-01053-y>.

DREISSIG, S.; FUCHS, J.; HIMMELBACH, A.; MASCHER, M.; HOUBEN, A. Quantification of Recombination Rate and Segregation Distortion by Genotyping and Sequencing of Single Pollen Nuclei. *Plant Meiosis: Methods in Molecular Biology*. 2061, 2020. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9818-0_20.

FARIA, R.B.; DE CARVALHO, I.F.; ROSSI, A.A.B.; MATOS, E.M.; ROCHA, D.I.; PINTO, D.L.P.; OTONI, W.C.; SILVA, M.L. High responsiveness in de novo shoot organogenesis induction of *Passiflora cristalina* (Passifloraceae), a wild Amazonian passion fruit species. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*. 54:166-174, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11627-017-9881-y>.

GHANBARI, M.A.; JOWKAR, A.; SALEHI, H.; ZAREI, M. Effects of polyploidization on petal characteristics and optical properties of *Impatiens walleriana* (Hook.). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 138:299-310, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01625-3>.

HESLOP-HARRISON, J.; HESLOP-HARRISON, Y. Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence: intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate. *Stain Techn*. 45:115-120, 1970. <https://doi.org/10.3109/10520297009085351>.

IANNICELLI, J.; GUARINIELLO, J.; TOSSI, J.J.; REGALADO, L.; DI-CIANCCIO, L.; VAN-BAREN, C.M.; PITTA ALVAREZ, S.I.; ESCANDÓN, A.S. The “polyploid effect” in the breeding of aromatic and medicinal species. *Scientia Horticulturae*. 260:108854, 2020, ISSN 0304-4238. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108854>.

JIAO Y.; WICKETT, N.J.; AYYAMPALAYAM, S.; CHANDERBALI, A.S.; LANDHERR, L.; RALPH, P.E.; TOMSHO, L.P.; HU, Y.; LIANG, H.; SOLTIS, P.S.; SOLTIS, D.E.; CLIFTON, S.W.; SCHLARBAUM, S.E.; SCHUSTER, S.C.; MA, H.; LEEBENS-MACK, J.; DEPAMPHILIS, C.W. Ancestral polyploidy in seed plants and angiosperms. *Nature*. 5:473(7345):97-100, 2011. <https://doi.org/10.1038/nature09916>.

KIIHL, P.R.P.; PEREIRA, A.R.A.; GODOY, S.M.; STENZEL, N.M.C.; RISSO-PASCOTTO, C. Chromosome stickiness during meiotic behavior analysis of *Passiflora serrato-digitata* L. (Passifloraceae). *Ciência Rural*. 41(6):1018-1023, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782011005000076>.

KHALILI, S.; NIAZIAN, M.; ARAB, M.; NOROUZE, M. In vitro chromosome doubling of African daisy, *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Mini Red. *The nucleus*. 63:59–65, 2020. <https://doi.org/10.1007/s13237-019-00282-3>.

KOVALSKY, I.E.; ROGGERO, LUQUE, J.M.R.; ELÍAS, G; FERNÁNDEZ, S.A.; SOLÍS,

N.V.G. The role of triploids in the origin and evolution of polyploids of *Turnera sidoides* complex (*Passifloraceae*, *Turneroideae*). **Journal of Plant Research**. 131(1):77-89, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10265-017-0974-9>.

LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDBERG, A. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas**. 52(2):201-220, 1964. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1964.tb01953.x>.

LEVIN, D.A. **The role of chromosomal change in plant evolution**. Oxford University Press, Oxford, 2002.

MANZOOR, A.; AHMAD, T.; BASHIR, M.A.; HAFIZ, I.A.; SILVESTRI, C. Studies on Colchicine Induced Chromosome Doubling for Enhancement of Quality Traits in Ornamental Plants. **Plants (Basel, Switzerland)**. 8(7):194, 2019. <https://doi.org/10.3390/plants8070194>.

MELO, N.F.; CERVI, A.C.; GUERRA, M. Karyology and cytotaxonomy of the genus *Passiflora* L. (*Passifloraceae*). **Plant Systematics and Evolution**. 226:68-84, 2001. <https://doi.org/10.1007/s006060170074>.

MELO, N.F.; GUERRA, M. Variability of 5S and 45S rDNA sites in *Passiflora* L. species with distinct base chromosome numbers. **Annals of Botany**. 92(2):309-316, 2003. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg138>.

MELO, C.A.F.; SOUZA, M.M.; ABREU, P.P.; VIANA, A.J.C. Karyomorphology and GC-rich heterochromatin pattern in *Passiflora* (*Passifloraceae*) wild species from *Decaloba* and *Passiflora* subgenera. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**. 209(11):620-631, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2014.08.009>.

MIKOVSKI, A.I.; SILVA, N.T.; SILVA, L.A.S.; SILVA, L.A.S.; MACHADO, M.; BARBOSA, L.C.S.; REIS, A.C.; MATOS, E.M.; VICCINI, L.F.; SOUZA, C.S.; MACHADO, M.D.; OTONI, W.C.; CARVALHO, I.F.; ROCHA, D.I.; SILVA, M.L. From endosperm to triploid plants: a stepwise characterization of the de novo shoot organogenesis and morpho-agronomic aspects of an ornamental passion fruit (*Passiflora foetida* L.). **Plant Cell Tissue and Organ Culture**. 2021. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02120-4>.

MOHAMED, M.E.; HICKS, R.G.T.; BLAKESLEY, D. Shoot regeneration from mature endosperm of *Passiflora foetida*. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**. 46:161-164 1996. <https://doi.org/10.1007/BF00034851>.

MORGAN, C.; WEGEL, E. Cytological Characterization of *Arabidopsis arenosa* Polyploids by SIM. **Plant Meiosis - Methods in Molecular Biology**. 2061, 2020. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9818-0_4.

MURSALIMOV, S.R.; SIDORCHUK, Y.V.; DEINEKO, E.V. New insights into cytomixis: specific cellular features and prevalence in higher plants. **Planta**. 238:415-423, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00425-013-1914-0>.

MURSALIMOV, S.R.; SIDORCHUK, Y.V.; DEINEKO, E.V. Cytological Techniques to

Study Cytomixis in Plant Male Meiosis. **Plant Meiosis - Methods in Molecular Biology**. 2061, 2020. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9818-0_9.

PEREIRA, T.N.S.; GERONIMO, I.G.C.; ROSSI, A.A.B.; PEREIRA, M.G. *Passiflora cristalina* and *Passiflora miniata*: meiotic characterization of two wild species for use in breeding. **Cropp Breeding and Applied Biotechnology**. 17(3):273-279, 2017. <https://doi.org/10.1590/1984-70332017v17n3n41>.

POTAPOVA, T.; GORBSKY, G.J. The Consequences of Chromosome Segregation Errors in Mitosis and Meiosis. **Biology**. 6(1):12, 2017. <https://doi.org/10.3390/biology6010012>.

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**. 29(2):212-216, 2011. <https://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362011000200013>.

PRIETO, P.; NARANJO, T. Analytical Methodology of Meiosis in Autopolyploid and Allopolyploid Plants. **Plant Meiosis – Methods in Molecular Biology**. 2061, 2020. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9818-0_1.

RAMSEY, J.; SCHEMSKE, D.W. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**. 29:467-501, 1998. <https://doi.org/10.11146/annurev.ecolsys.29.1.467>.

RANNEY, T.G. **Polyploidy: From Evolution to New Plant Development**. Combined Proceedings International Plant Propagators Society. 56, 2006.

REIS, A.C.; CHESTER, M.; SOUSA, S.M.; CAMPOS, V.R. NASCIMENTO, L.S.Q.; PACHECO-JUNIOR, S.; FRANCO, A.L.; VICCINI, L.F. Chromosomal view of *Lippia alba*, a tropical polyploid complex under genome stabilization process. **Protoplasma**, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00709-021-01636-y>.

RUTLAND, CA.; HALL, N.D.; MACELROY, J.S. The Impact of Polyploidization on the Evolution of Weed Species: Historical Understanding and Current Limitations. **Frontiers in Agronomy**. 626454 (3):1-12, 2021. <https://doi.org/10.3389/fagro.2021.626454>

SADER, M.A.; AMORIM, B.S.; COSTA, L.; SOUZA, G.; PEDROSA-HARAND, A. The role of chromosome changes in the diversification of *Passiflora* L. (Passifloraceae), **Systematics and Biodiversity**. 17(1):1-15, 2019. <https://doi.org/10.1080/14772000.2018.1546777>.

SATTLER, M.C.; CARVALHO, C.R.; CLARINDO, W.R. The polyploidy and its key role in plant breeding. **Planta**. 243(2):281-96, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00425-015-2450-x>.

SCHWEIZER, D. Reverse Fluorescent Chromosome banding with chromomycin and DAPI. **Chromosoma**. 58:307-324, 1976. <https://doi.org/10.1007/BF00292840>.

SHIN, H.; PARK, H.R.; PARK, J.E.; YU, S.H.; YI, G.; KIM, J.H.; KOH, W.; KIM, H.H.; LEE, S.S.; HUH J.H. Reduced fertility caused by meiotic defects and micronuclei formation during microsporogenesis in *xBrassicoraphanus*. **Genes & Genomics**. 43(3):251-258, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13258-021-01050-x>.

SILVA, G.S.; SOUZA, M.M.; DE MELO, C.; URDAMPILLETA, J.D.; FORNI-MARTINS, E.R. Identification and characterization of karyotype in *Passiflora* hybrids using FISH and GISH. **BMC genetics**. 19(1):26, 2018. <https://doi.org/10.1186/s12863-018-0612-0>.

SILVA, N.T.; SILVA, L.A.S.; REIS, A.C.; MACHADO, M.; MATOS, E.M.M.; VICCINI, L.F.; OTONI, W.C.; CARVALHO, I.F.; ROCHA, D.I.; SILVA, M.L. Endosperm culture: a facile and efficient biotechnological tool to generate passion fruit (*Passiflora cincinnata* Mast.) triploid plants. **Plant Cell Tissue Organ Culture**. 142:613-624, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01887-2>.

SINGH, R.J. **Practical manual on plant cytogenetics - plant cytogenetics**. US: Boca Raton: CRC Press. 2018. 320p. ISBN9781498742979.

SOARES-SCOTT, M. D.; MELETTI, L. M. M.; RECCO-PIMENTEL, S. M. Meiotic behaviour and pollen fertility in sexual and somatic hybrids of *Passiflora* species. **Caryologia**. 56(1):129-138, 2003. <https://doi.org/10.1080/00087114.2003.10589315>.

SOLTIS E.D.; SOLTIS P.S. Contributions of plant molecular systematics to studies of molecular evolution. **Plant Molecular Biology**. 42(1):45-75, 2000.

SONG, Q.; CHEN, Z.J. Epigenetic and developmental regulation in plant polyploids. **Current Opinion in Plant Biology**. 24:101-9, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.02.007>.

SOUZA, M.M. **Estudos genômico e reprodutivo em espécies de *Passiflora***. Campos dos Goytacazes: UENF, 2002. 162p. (Tese de Doutorado), 2002.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; SILVA, L.C.; REIS, D.S.S.; SUDRÉ, C.P. Karyotype of Six *Passiflora* Species Collected in the State of Rio de Janeiro. **Cytologia**. 68:165-171, 2003. <https://doi.org/10.1508/cytologia.68.165>.

SOUZA, M.M., PEREIRA, T.N.S., VIEIRA, M.L.C. Cytogenetic studies in some species of *Passiflora* L. (Passifloraceae): A review emphasizing Brazilian species. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. 51:247-258, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132008000200003>.

SOUZA-KANESHIMA, A.M.; SIMONI, C.; FELISMINO, M.F.; BONATO-MENDES, A.B.; RISSO-PASCOTTO, C.; PESSIM, C.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Meiotic behaviour in the first interspecific hybrids between *Brachiaria brizantha* and *Brachiaria decumbens*. **Plant Breeding**. 129:186-191, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2009.01674.x>.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S. Meiotic behavior in wild and domesticated species of *Passiflora*. **Brazilian Journal of Botany**. 34(1):63-72,

2011<https://doi.org/10.1590/S0100-84042011000100007>.

TOUCHELL, D.H.; PALMER, I.E.; RANNEY, T.G. In vitro Ploidy Manipulation for Crop Improvement. **Frontiers in Plant Science**. 11:722, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00722>.

VAN DE PEER, Y.; ASHMAN, T.L.; SOLTIS, P.S.; SOLTIS, D.E. Polyploidy: an evolutionary and ecological force in stressful times. **The Plant Cell**. 33:11-26, 2021. <https://doi.org/10.1093/plcell/koaa015>.

VIANA, A.J.C.; SOUZA, M.M. Comparative cytogenetics between the species *Passiflora edulis* and *Passiflora cacaoensis*. **Plant Biology**. 14:820-827, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2011.00557>.

WANG X.; MING, CHENG Z.; ZHI, S.; XU, F. Breeding triploid plants: a review. **Czech Journal of Genetics and Plant Breeding**. 52:41-54, 2016. <https://doi.org/10.17221/151/2015-CJGPB>.

WANG, J.; HUO, B.; LIU, W.; LI, D.; LIAO, L. Abnormal meiosis in an intersectional allotriploid of *Populus* L. and segregation of ploidy levels in 2x × 3x progeny. **PLoS ONE**. 12(7):0181767, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181767>.

ZANELA, L. **Caracterização cariotípica de quatro espécies brasileiras de Alstroemeria (Alstroemeriaceae) com as técnicas de FISH, CMA, DAPI e AgNOR**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas – IAC, 2009, 96p. (Dissertação - Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical).