DOI: 10.4025/actasciagron.v30i4.5315

Germinação *in vitro* de grãos de pólen e efeito da proteção das plantas na frutificação de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal)

Cristiane Leonardi da Luz[1], Adilson Ricken Schuelter[1,2*], Cristiana Leonardi da Luz[1], Alexandre Dal'Maso[1], Elisa Serra Negra Vieira[3] e Rafael Reccanello Barreto[4]

*[1]Curso de Ciências Biológicas, Universidade Paranaense, Toledo, Paraná, Brasil. [2]Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Universidade Paranaense, Praça Mascarenhas de Moraes, 87502-210, Umuarama, Paraná, Brasil. [3]Cooperativa Central de Desenvolvimento Tecnológico e Econômico Ltda., Cascavel, Paraná, Brasil. [4]Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: adilson@unipar.br*

RESUMO. O tipo de reprodução sexuada da planta cubiu é ainda discutido entre os pesquisadores. O trabalho teve como objetivos: avaliar o controle da polinização na frutificação de cubiu, verificar o efeito do estádio de desenvolvimento do botão floral e do horário na receptividade do estigma e na germinação *in vitro* de grãos de pólen. Anteras de flores de plantas cultivadas em casa-de-vegetação foram maceradas e os grãos de pólen inoculados em placas Petri para avaliação do efeito da concentração de sacarose, do horário de coleta e do estádio das flores na germinação *in vitro*. DNA de amostras de folhas jovens foram purificadas, amplificados por marcadores RAPD. Os resultados indicaram que o ambiente de cultivo interferiu na formação de flores, inflorescências e frutos. O emprego de diferentes concentrações de sacarose não promoveu modificações no número médio de grãos de pólen germinados. Pela análise dos estigmas, verificou-se que a receptividade independe dos horários de coleta e do estádio das flores. Pelas análises de marcadores RAPD, verificou-se a ocorrência de variabilidade genética intra-varietal. Assim, conclui-se que o cubiu é uma planta alógama, porém pelas taxas de germinação dos grãos de pólen e pela receptividade do estigma há indícios de ocorrência de autofecundação.

Palavras-chave: reprodução sexuada, receptividade do estigma, RAPD.

ABSTRACT. *In vitro* germination of pollen and effect of plant covering in the cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) frutification. The type of sexual reproduction of the species amazonic named cubiu is until discussed among researchers. Thus, the present work had the goal to evaluate the control of pollination in the fruiting of cubiu, to verify the influence of the developmental stage of the floral buds and time of pollination on the stigma receptivity, and *in vitro* germination of the pollen grain. Anthers from the flowers grown in the greenhouse were grinded and the pollen grains were placed in Petri dishes to evaluate the influence of sucrose, time of harvest and stage of flower development on the germination. A DNA sample from young leaves was purified, amplified by the RAPD technique. The results pointed out that the environment of growth interfered in the flower formation, inflorescences and fruiting. The use of different concentrations of sucrose did not affect the number of germinated pollen grain. The stigma analyses showed that its receptivity was inde-pendent from the time of harvest and stage of flower development. The RAPD analysis showed occurrence of intra-variety genetic variability. Thus, the cubiu is alogamic plant, but based on the rate of pollen germination and stigma receptivity the plant may have occurrence of self pollination.

Key words: sexual reproduction, stigma receptivity, RAPD.

Introdução

Solanum sessiliflorum Dunal é uma planta nativa da Amazônia pertencente à família Solanaceae, conhecida popularmente no Brasil como cubiu, tomate de índio e maná (Silva Filho *et al*., 1998), e que vem apresentando potencial para a agroindústria moderna, pela sua rusticidade e alta produção de frutos (Silva Filho *et al*., 1996). Os frutos do cubiu caracterizam-se por conter elevados teores de niacina (Villachica, 1996; Marx *et al*., 1998) e ferro (Silva Filho *et al*., 2005), podendo ser utilizados *in natura* ou ingeridos nas formas de sucos, doces, geléias, sorvetes, molhos, cosméticos (Silva Filho *et al*., 1996; Silva Filho *et al.*,1999) e, na medicina popular, como

agente hipoglicemiante e hipocolesterolêmico (Silva Filho *et al*., 2002; Pardo, 2004).

O cubiu é uma planta semi-lenhosa e apresenta crescimento rápido, constituída por flores completas, dispostas em inflorescências (Whalen e Anderson, 1981). De acordo com Storti (1988), cada planta possui em média nove inflorescências, sendo que cada uma apresenta de cinco a nove flores, e em uma mesma inflorescência é encontrado tanto flores estaminadas quanto hermafroditas e estas não apresentam diferenças morfológicas predominantes, a não ser o estilete reduzido e ovário rudimentar nas flores estaminadas. A abertura das flores é de forma assincrônica, pois abrem de uma a duas flores por dia em cada inflorescência.

O cubiu pode ser considerado uma planta autógama pela boa produção de frutos quando cultivadas isoladamente, porém não pode ser descartada a ocorrência de taxa de cruzamentos naturais pela presença de abelhas sociais e solitárias que visitam e carregam pólen (Pahlen, 1977). No entanto, Storti (1988) considera o cubiu como uma planta alógama, pois este apresenta características que favorecem a polinização cruzada como a presença de anteras poricidas e floração assincrônica de plantas individuais, levando o polinizador a visitar flores de plantas diferentes de uma população.

Em estudo realizado por Storti (1988), constatou-se que os grãos de pólen do cubiu são de baixa fertilidade, sendo na maioria inviáveis, ou seja, sem atividade de respiração protoplasmática. Segundo Judd *et al.* (1999), a variação da umidade e temperatura do ambiente tende a alterar a viabilidade dos grãos de pólen, contudo podem ocorrer modificações, conforme o grupo taxonômico.

De acordo com Peñaloza (1995), a viabilidade do pólen é importante na investigação das causas que levam à infertilidade das plantas, bem como o conhecimento do potencial de reprodução e dos problemas de fertilidade que possam ocorrer em uma população. Nesse sentido, em experimentos preliminares com cubiu, no município de Toledo, Estado do Paraná, constatou-se baixa taxa de pegamento de frutos e ausência de sementes em plantas cultivadas em condições de casa-de-vegetação. Além disso, em experimento executado em condições de campo, verificou-se aborto completo das flores, sendo com isso necessário o conhecimento dos fatores que possam interferir na formação de frutos de cubiu.

Além da biologia floral, marcadores moleculares têm sido empregados para verificar a estrutura genética de pópulações (Ferreira e Grattapaglia, 1998) e certificação de cruzamentos (Borém e Caixeta, 2006) destacando-se as técnicas de isoenzimas (Brown e Allard, 1970; Shaw e Allard, 1982), RAPD (Isoda *et al.*, 2000; Borém e Caixeta, 2006) e microssatélites (Seoane *et al.,* 2005; Guimarães, 2004). No entanto, em *Solanum sessiliflorum,* não são disponíveis trabalhos que visem elucidar o tipo de reprodução da espécie por meio da análise dos polimorfismos moleculares.

Assim, o presente trabalho teve como objetivos avaliar o controle da polinização na frutificação de cubiu, a ocorrência de variabilidade genética intravarietal e verificar o efeito do estádio de desenvolvimento do botão floral e do horário na recep-tividade do estigma e na germinação *in vitro* de grãos de pólen.

Material e métodos

Material vegetal e plantio

As plantas de cubiu das variedades Santa Luzia e Thaís foram cultivadas em vasos em condições de casa-de-vegetação e em ambiente desprotegido (condições de campo) na Universidade Paranaense – Campus Toledo, Estado Paraná, de setembro/2004 a abril/2005.

As mudas com 41 dias de cultivo, obtidas por meio de semeadura em bandejas preenchidas com substrato para hortaliças, foram transferidas para sacos de polietileno e após 75 dias plantadas em vasos plásticos, contendo três partes de solo agrícola para uma parte de areia (3:1). A adubação de plantio consistiu na aplicação de 5 g de NPK e 5 g de uréia por vaso. A adubação de cobertura comsistiu de 5 g de uréia a cada 30 dias até o início do florescimento. As plantas foram irrigadas duas vezes ao dia e a aplicação de defensivos ocorreu no início da floração.

Dos 64 vasos empregados, 32 permaneceram na casa-de-vegetação e os demais foram cultivados em ambiente externo. Em cada ensaio, foi mantida uma bordadura de duas filas em cada lateral da área experimental, sendo uma planta no início e outra no final de cada fileira do experimento. No início da floração, metade das plantas de cada variedade foi coberta com tecido tipo organza (Figura 1).

O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado, no qual os tratamentos foram dispostos em esquema de parcela subdividida.

As parcelas foram constituídas pelos locais de cultivo e controle de polinização e as sub-parcelas pelas variedades Santa Luzia e Thaís.

A avaliação do experimento consistiu na anotação do número de flores, de flores abortadas e frutos para ambas as variedades nos diferentes tratamentos.

Amplificação de DNA por marcadores RAPD

A extração de DNA e amplificação pela técnica de RAPD foi realizada no Laboratório de Biotecnologia da Coodetec/Cascavel. O DNA de folhas jovens de plantas de cubiu das variedades Santa Luzia e Thaís, com aproximadamente 90 dias de cultivo, foi purificado empregando-se o protocolo descrito por Doyle e Doyle (1990).

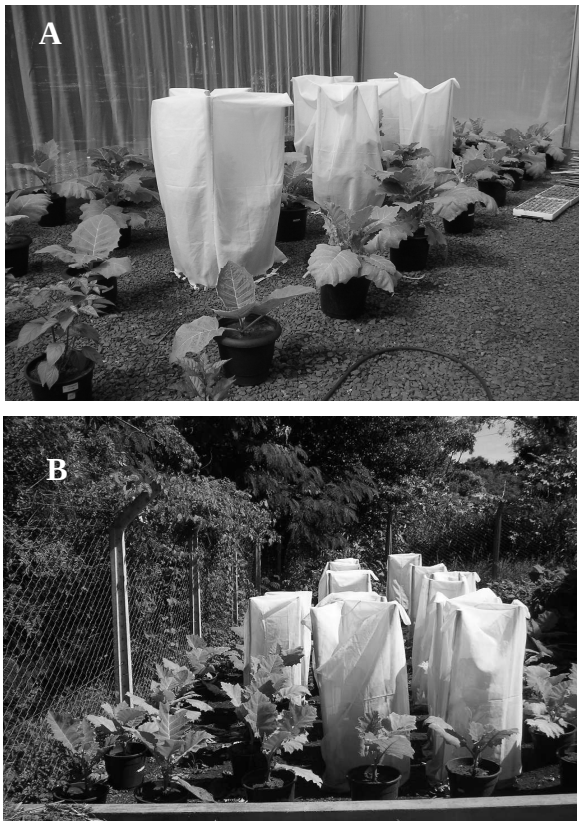

Figura 1. Plantas cobertas com tecido organza, localizadas em casa-de-vegetação (A) e ambiente externo (B).

As reações de amplificação foram conduzidas para sete e cinco indivíduos da variedade Santa Luzia e Thaís, respectivamente, em tubos de PCR (0,2 mL) em termo-ciclador da marca Termo-Hybaid Express (Ashford, Mi-ddlesex, Reino Unido), contendo 10 mM de Tris-HCl (pH 8,3); 50 mM de KCl; 2,8 mM de $MgCl_2$; 0,2 mM de cada um dos deoxinucleotídeos (dATP, dTTP, dGTP, dCTP), 0,2 μM de primer decâmero, 5-10 ng de DNA genômico e uma unidade de Taq DNA polimerase por reação. O volume final da reação foi de 25 μL.

Cinquenta primers (Invitrogen) foram testados, dos quais 25 deles apresentaram boa resolução. O programa utilizado para amplificação consistiu de uma etapa de desnaturação a 92ºC, por 30 segundos, uma de pareamento com o DNA molde a 37ºC por 45 segundos e uma etapa de extensão a 72ºC por 1 min. Os produtos de 40 ciclos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose (1,2%), contendo 0,2 mM de brometo de etídio, em tampão TBE 1%. Os fragmentos amplificados foram visualizados mediante o emprego de luz ultravioleta e as imagens obtidas em sistema de fotodocumentação da marca Vilber Lourmat (Marne-la-Vallée Cedex 1 – France).

Os dados de marcadores RAPD foram empregados para o cálculo do complemento aritmético do coeficiente de Jaccard e submetidos ao agrupamento pelo método de otimização de Tocher.

Germinação *in vitro* de grãos de pólen

Para o estabelecimento da concentração ótima de asca-rose e o tempo de germinação, foram coletadas flores das plantas de cubiu das variedades Santa Luzia e Thaís, cultivadas na casa-de-vegetação da Universidade Paranaense – Campus de Toledo, Estado do Paraná, no período de julho a novembro de 2005.

O meio de cultura empregado para a germinação de pólen foi composto por diferentes concentrações de sacarose (0, 50, 100, 150 e 200 g L^{-1}) suplementados por 0,03 g 100 mL^{-1} de nitrato de cálcio, 0,01 g 100 mL^{-1} de ácido bórico e 6,5 g L^{-1} de ágar. O pH dos meios de cultura foi ajustado para 5.8, autoclavados a 121°C por 15 min., e, em seguida, vertidos em placas de Petri com 7 cm de diâmetro, em câmara de fluxo laminar.

Anteras de flores colhidas no dia posterior à antese foram submetidas à maceração em relógio de vidro empregando-se 1 mL de água destilada. Em seguida, com um pincel, distribuíram-se os grãos de pólen em forma de Z nas placas de Petri, as quais foram levadas para sala de crescimento com um fotoperíodo de 16h de luz a uma temperatura de 24 ± 2°C. Após 10h a germinação dos grãos de pólen foi avaliada em lupa binocular pela contagem em quatro campos de observação ao acaso.

O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado com três repetições, no qual os tratamentos foram dispostos no esquema fatorial 2 x 5 (Santa Luzia e Thaís) e (0, 50, 100, 150 e 200 g L^{-1}). A unidade experimental foi composta por uma placa de Petri com os grãos de pólen oriundos de flor para o respectivo tratamento.

Horário de coleta e estádio do desenvolvimento da flor na germinação *in vitro* de grãos de pólen e receptividade do estigma

Foi avaliada a viabilidade dos grãos de pólen em diferentes horários de coleta (8, 10, 12, 14 e 16h) e diferentes estádios da flor (pré-antese e pós-antese – 24h após a antese).

Após a coleta das flores, cinco anteras de cada flor fo-ram maceradas em relógio de vidro juntamente com 1 mL de água destilada. Com um pincel, os grãos de pólen foram inoculados em forma de Z em placas de Petri, e, em seguida, levados para sala de crescimento com um fotoperíodo de 16h a uma temperatura de 24 ± 2°C.

Adotou-se o delineamento inteiramente ao acaso com três repetições, no qual os tratamentos foram dispostos em parcelas subdivididas. A parcela foi constituída pelo estádio da flor (pré-antese e pós-antese) e as subparcelas corresponderam aos diferentes horários de coleta (8, 10, 12, 14 e 16h). A unidade experimental foi composta por uma placa de Petri com os grãos de pólen oriundos de flor para o respectivo tratamento.

A avaliação foi realizada utilizando-se lupa binocular com contagem em quatro campos de observação ao acaso, após 10h da inoculação.

As receptividades de estigmas de flores coletadas, em diferentes horários de coleta e nos dois estádios de desenvolvimento da flor, foram testadas mediante o tratamento dos estigmas com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 3%. Duas gotas de peróxido de hidrogênio a 3% foram colocadas em cada estigma, verificando-se após 1 min., o surgimento ou não de bolhas de ar.

Análise estatística dos dados experimentais

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o Programa Sisvar (Ferreira, 2003).

Resultados e discussão

Efeito da cobertura das plantas no pegamento de frutos e análise de marcadores RAPD

Os resultados da análise de variância revelaram diferenças significativas para ambientes ($p < 0,05$) (Tabela 1). No entanto, optou-se pelo desdobramento da interação e os resultados estão apresentados na Tabela 2. Verifica-se que o cultivo de plantas da variedade Thaís, em casa-de-vegetação, cobertas e descobertas, apresentou maior número de flores e inflorescências do que o cultivo em ambiente externo com plantas cobertas e descobertas. Não houve diferenças significativas da cultivar Santa Luzia nos ambientes testados. Além disso, detectou-se elevado índice de aborto e a formação de apenas um fruto sem sementes na variedade Thaís.

As plantas descobertas em ambiente externo apresentaram em média dez e nove frutos para as variedades Thaís e Santa Luzia, respectivamente. Nesse contexto, Silva Filho *et al*. (2005), estudando 29 etnovariedades de cubiu cultivadas em condições da Amazônia, verificaram uma variação de quatro a 89 frutos por planta, sendo dependentes do genótipo e da interação genótipo vs ambiente. Entretanto, naquelas cobertas apenas um fruto sem sementes foi obtida na variedade Santa Luzia, o que indicou a ocorrência de partenocarpia. Segundo Raven *et al.* (2001), frutos partenocárpicos são aqueles que se desenvolvem sem a fusão de gametas, não havendo, consequentemente, a produção de sementes.

Nas condições da Amazônia, Storti (1988) constatou que o cubiu foi visitado por sete espécies de abelhas, classificadas em abelhas polinizadoras (*Eulaema nigrita*), polinizadoras eventuais (*Paratrigona impunctata* Duck) e as pilhadoras (*Trigona* sp.). No presente trabalho, observou-se apenas a presença de mamangavas em número restrito e visitação esporádica. Contudo, a visitação das mamangavas ocorreu predominantemente em plantas da bordadura, resultando em maior número de frutos em relação aos do experimento.

Tabela1. Resumo da análise de variância para o efeito cobertura das plantas de cubiu no número de flores e inflorescências.

		Quadrados médios	
FV	GL	Flores	Inflorescências
Ambiente (A)	3	2353,48**	63,44**
Erro a	8	361,12	5,25
Variedade (V)	1	651,04 ns	24,0 ns
V x A	3	248,04 ns	8.55 ns
Erro b	8	164,04	9,17
C.V. (V)%		41,96	29,25
C.V. (A)%		28,28	38,65

*significativo a 5% de probabilidade; **significativo a 1% de probabilidade; ns não-significativo.

Tabela 2. Efeito do ambiente de cultivo e da cobertura das plantas de cubiu na produção de flores e inflorescências das variedades Santa Luzia (SL) e Thaís (TH).

Ambientes	Flores		Inflorescências	
	SL	TH	SL	TH
1 - EC	33,67a	29,33b	6,00a	5,67b
2 - EC	22,67a	29,00b	3,67a	5,00b
3 - CVC	54,00a	80,33a	8,33a	13,67a
4 - CVD	50,00a	63,33a	9,33a	11,00a

Letras iguais, nas colunas, correspondem a médias iguais pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. EC - cultivo em ambiente externo com plantas cobertas, EC - cultivo em ambiente externo com plantas descobertas, CVC - cultivo em casa-de-vegetação com plantas cobertas, CVD - cultivo em casa-de-vegetação com plantas descobertas.

Análise dos marcadores RAPD

Pela análise dos 25 primers RAPD, detectou-se que variedades Thaís e Santa Luzia apresentaram em

média 6,3 e 6,2 bandas por primer, respectivamente. Os primers OPAB-19, OPB-06, OPB-10 e OPN-20 revelaram individualmente uma banda polimórfica, enquanto que para OPC-07 foram observadas duas bandas polimórficas. Os fragmentos de DNA polimórficos permitiram evidenciar a ocorrência de polimorfismo intravarietal.

Pelo método de otimização de Tocher (Tabela 3), indivíduos da variedade Santa Luzia e Thaís foram separados em dois grupos. O grupo I foi representado pela maioria dos indivíduos, divididos em cinco subgrupos, enquanto que no grupo II constatou-se apenas a presença de indivíduos da variedade Santa Luzia, não possibilitando com isso a discriminação das variedades. Contudo, deve-se ressaltar que, provavelmente as variedades Santa Luzia e Thaís apresentaram reduzido número de locos polimórficos para os marcadores RAPD devido a sua origem comum de população etno-botânica da Amazônica selecionada pela Estação Santa Luzia/Guareí/São Paulo. Enfim, os resultados da avaliação do efeito da cobertura das plantas no pegamento de frutos e das análises de marcadores RAPD indicam a ocorrência de fecundação cruzada e a importância de agentes polinizadores no processo de frutificação. Além do que, a formação de fruto partenocárpico evidencia a ocorrência de mecanismos alternativos de frutificação. Porém, deve-se ressaltar que o fruto destituído de sementes apresenta polpa pequena e mesocarpo bastante pronunciado, características que são indesejáveis para a preparação de sucos.

Tabela 3. Agrupamento dos genótipos de cubiu, das variedades Santa Luzia (SL) e Thaís (TH) obtidos pelo método de Otimização de Tocher, utilizando as estimativas de dissimilaridades a partir do complemento do coeficiente de Jaccard para 12 indivíduos.

Grupos	Subgrupos	Genótipos
I	A	TH1, TH4, SL2, SL3, SL5
	B	TH2, TH3
	C	TH5
	D	SL33
	E	SL35
II		SL1, SL4

Germinação *in vitro* de grãos de pólen e receptividade do estigma

Após 5h da inoculação dos grãos de pólen, iniciou-se a germinação, cessando a emissão dos tubos polínicos passadas 10h. Os resultados da análise de variância (Tabela 4) e da regressão (não apresentado) revelaram que não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) para nenhuma fonte de variação para a característica germi-nação *in vitro* de grãos de pólen (%). Nas concentrações de 100 a 200 g L^{-1}, os grãos de pólen apresentaram os tubos polínicos maiores, facilitando a visualização. Já os tubos polínicos formados em concentrações de 0 e 50 g L^{-1} mostraram-se pouco nítidos devido à semelhança com a coloração do meio de cultura.

Tabela 4. Resumo da análise de variância e médias para o efeito das concentrações de sacarose na germinação *in vitro* de grãos de pólen.

FV	GL	Quadrados médios
Concentração de sacarose(C)	4	$62,73^{ns}$
Variedade (V)	1	$7,30^{ns}$
V x C	4	$33,84^{ns}$
Erro	20	68,15
C.V. (%)	-	16,75
Concentração de sacarose (g L^{-1})	% de germinação *in vitro* de grãos de pólen	
	Santa Luzia	Thaís
0	48,07	54,50
50	48,40	42,94
100	49,03	47,50
150	51,50	56,03
200	46,90	47,87

ns não-significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Segundo Galletta (1983), um dos fatores que define a integridade dos grãos de pólen é a sustentação do equilíbrio osmótico entre o meio de cultura e o conteúdo dos grãos. Esse equilíbrio pode ser determinado pela relação entre a concentração de sacarose e as concentrações de nitrato de cálcio e de ácido bórico, e o excesso ou a deficiência destes componentes poderá causar o rompimento dos grãos de pólen. Contudo, os resultados desse trabalho evidenciaram que as concentrações estudadas não interferiram no percentual de germinação de grãos de pólen.

Os resultados das análises de variância permitiram verificar que o horário de coleta e o estádio de desenvolvimento das flores são dependentes e interferem na taxa de germinação de grãos de pólen para as variedades Santa Luzia e Thaís (Tabela 5). Em relação à variedade Santa Luzia, detectou-se que o percentual de germinação de grãos de pólen após antese foi superior antes da abertura das flores para os horários de coleta 8, 12 e 16h (Tabela 6). Em relação à variedade Thaís, verificou-se que flores em pós-antese apresentaram percentual médio para germinação de grãos de pólen superiores para os horários de coleta 8, 12 e 14h.

Pela análise da receptividade dos estigmas, verificou-se que praticamente todos se apresentaram receptivos em ambas as variedades, para os horários de coleta e estádios das flores estudados (Tabela 7). Além do que, estigmas de flores coletadas em pré-antese foram receptivos em sua totalidade e com a formação de bolhas mais intensas.

Almeida *et al*. (2004) observaram que em *Ocimum officinalis* L, o estigma encontrava-se receptivo desde a fase de antese até a pós-antese. Em trabalho

realizado por Souza *et al.* (2004), para avaliar estigmas de flores de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener, coletadas de 2 a 3h antes da antese, no mês de dezembro, constataram que o tempo interferia diretamente na redução da receptividade.

Tabela 5. Resumo da análise de variância para o efeito do horário de coleta e do estádio de flores na germinação *in vitro* de grãos de pólen das variedades Santa Luzia e Thaís.

Fonte de Variação	GL	Quadrados Médios	
		Santa Luzia	Thaís
Estádio da Flor (EF)	1	5058,17**	4448.13**
Erro a	8	238,51	315,43
Horário de Coleta (HC)	4	867,99**	1056.34**
EF x HC	4	542,49 ns	1262.22**
Erro b	32	284,21	286.02
C.V. (EF)%		52,79	40,88
C.V. (HC)%		57,63	38.93

* significativo a 5% de probabilidade; **significativo a 1% de probabilidade; ns não-significativo.

Tabela 6. Efeito do estádio de desenvolvimento das flores na taxa de germinação *in vitro* de grãos de pólen a cada horário de coleta para as variedades Santa Luzia e Thaís.

Horário de Coleta (h)	Santa Luzia		Thaís	
	Pré-antese	Pós-antese	Pré-antese	Pós-antese
8	23,0 b	44,72 a	20,28 b	46,1 a
10	9,5 a	22,88 a	62,5 a	48,14 a
12	12,3 b	35,4 a	11,48 b	53,04 a
14	39,52 a	40,6 a	29,62 b	63,42 a
16	11,66 b	52,96 a	46,16 a	53,66 a

Tabela 7. Avaliação da receptividade do estigma em pré e pós-antese de flores de cubiu das variedades Santa Luzia e Thaís.

Horário (h)	Santa Luzia		Thaís	
	Pré-antese#	Pós-antese#	Pré-antese#	Pós-antese#
8	4/5	4/5	2/5	2/5
10	5/5	4/5	4/5	3/5
12	5/5	4/5	5/5	4/5
14	4/5	4/5	3/5	3/5
16	3/5	5/5	2/5	3/5

estigma receptivo/total flores.

Pelos resultados obtidos neste trabalho, pode-se sugerir que o cubiu deve ser alógama, devido à ausência de frutos com sementes produzidos em plantas cobertas com organza. Contudo, a detecção de que os estigmas encontram-se receptivos e os grãos de pólen germinam quando as flores encontram-se fechadas permitem sugerir a possibilidade da ocorrência de autofecundação. Além do que, a ausência de frutos com sementes pode indicar a ocorrência de auto-incompatibilidade. Assim, torna-se necessário realizar novos estudos que visem testar a ocorrência de auto-incompatibilidade.

Conclusão

- O plantio de cubiu em ambiente de casa-de-vegetação e/ou na falta de polinizadores interfere no pegamento de frutos.

As variedades Santa Luzia e Thaís apresentam variabilidade intravarietal.

As concentrações de sacarose não influenciam no número de grãos de pólen germinados *in vitro*.

O estádio de desenvolvimento e do horário de coleta da flor interferem no percentual de germinação para as variedades Santa Luzia e Thaís.

Os estigmas são receptivos desde a pré-antese até a pós-antese, em todos horários de coleta.

Referências

ALMEIDA, O.S. *et al.* Estudo da biologia floral e mecanismos reprodutivos do alfavacão (*Ocimum officinalis* L.) visando o melhoramento genético. *Acta Sci. Biol. Sci.*, Maringá, v. 26, n. 3, p. 343-348, 2004.

BORÉM, A.; CAIXETA, E.T. *Marcadores moleculares.* Viçosa: Editora UFV, 2006.

BROWN, A.H.D.; ALLARD, R.W. Estimation of the mating system in open-pollinated maize populations using isozyme polymorphisms. *Genetics*, Baltimore, v. 66, n. 1, p. 133-145, 1970.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, Rockville, v. 12, n. 27, p. 13-15, 1990.

FERREIRA, D.F. *Sisvar versão 4.2.* Lavras: DEX/UFLA, 2003.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética.* 3. ed. Brasília: Embrapa/Cenargen, 1998.

GALLETTA, G.J. Pollen and seed management. *In:* MOORE, J.N.; JANICK, J. (Ed.). *Methods in fruits breeding.* Indiana: Purdue University Press, 1983. p. 23-47.

GUIMARÃES, C.T. *et al. Fingerprinting molecular de linhagens de milho.* Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2004. (Comunicado Técnico, 92)

ISODA, K. *et al.* Molecular evidence of natural hybridization between *Abies veitchii* and *A. homolepis* (Pinaceae) revealed by chloroplast, mitochondrial and nuclear DNA markers. *Molecular Ecology*, Loughborough, v. 9, n. 12, p. 1965-1974, 2000.

JUDD, W.S. *et al. Plant systematics:* a phylogenetic approach.Sunderland: Sinaver Associates, 1999.

MARX, F. *et al.* Chemical composition of the fruit of *Solanum sessiliflorum*. *Z Lebensm Unters Forsch*, Berlin, v. 206, n. 5, p. 364-366, 1998.

PAHLEN, A.V.D. Cubiu (*Solanum topiro* Humbl. & Bonpl.), uma fruteira da Amazônia. *Acta Amazônica*, Manaus, v. 7, n. 1, p. 301-307, 1977.

PARDO, M.A. Efecto de *Solanum sessiliflorum* Dunal sobre el metabolismo lipídico y de la glucosa. *Ciencia e Investigación*, Lima, v. 7, n. 2, p. 43-48, 2004.

PEÑALOZA, A.P.S. *Caracterização de componentes biológicos da produção de sementes de Arachis pintoi (Leguminosae).* 1995. Dissertação (Mestrado em Agronomia)–Universidade de Brasília, Brasília, 1995.

RAVEN, P.H. *et al. Biologia Vegetal*. 6 ed. Rio de Janeiro:

Guanabara Koogan, 2001.

SEOANE, C.E.S. *et al.* Sistema de reprodução em duas populações naturais de *Euterpe edulis* M. sob diferentes condições de fragmentação florestal. *Sci. Forest.*, Piracicaba, v. 69, p. 13-24, 2005.

SHAW, D.V.; ALLARD, R.W. Estimation of outcrossing rates in Douglas-fir using isozymes markers. *Theor. Appl. Gen.*, Berlin, v. 62, n. 4, p. 321-325, 1982.

SILVA FILHO, D.F. *Discriminação de etnovariedades de cubiu (Solanum sessiliflorum Dunal, Solanaceae) da Amazônia, com base em suas características morfológicas e químicas*. 2002. Tese (Doutorado em Biologia Tropical e Recursos Naturais)– Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2002.

SILVA FILHO, D.F. *et al.* Variabilidade genética em populações naturais de cubiu da Amazônia. *Horticult. Bras.,* Brasília, v. 14, n. 1, p. 9-15, 1996.

SILVA FILHO, D.F. *et al*. Estimativas de herdabilidades e correlações entre caracteres em populações de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) da Amazônia. *Rev. Bras. Fruticult.,* Cruz das Almas, v. 20, n. 1, p. 60-67, 1998.

SILVA FILHO, D.F. *et al.* Correlações fenotípicas, genéticas e ambientais entre descritores morfológicos e químicos em frutos de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) da Amazônia. *Acta Amazônica*, Manaus, v. 29, n. 4, p. 503-511, 1999.

SILVA FILHO, D.F. *et al.* Cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal): uma planta medicinal nativa da Amazônia em processo de seleção para o cultivo em Manaus, Amazonas, Brasil. *Rev. Bras. Plantas Med.*, Botucatu, v. 5, n. 2, p. 65-70, 2003.

SILVA FILHO, D.F. *et al.* Caracterização e avaliação do potencial agronômico e nutricional de etnovariedades de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) da Amazônia. *Acta Amazônica,* Manaus, v. 35, n. 4, p. 399-406, 2005.

SOUZA, M.M. *et al.* Flower receptivity and fruit characteristics associated to time of pollination in the yellow passion fruit *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener (Passifloraceae) *Sci. Horticult.*, Amsterdam, v. 101, n. 4, p. 373-385, 2004.

STORTI, E.F. Biologia Floral de *Solanum sessiliflorum* Dun. var. *sessiliflorum,* na região de Manaus. *Acta Amazonica*, Manaus, v. 18, n. 3/4, p. 55-65, 1988.

VILLACHICA, H. *Frutales y hortalizas promisorios de la Amazonia.* Tratado de Cooperación Amazonica. Lima: Secretaria Pro Tempore, 1996.

WHALEN, M.D.; ANDERSON, G.J. Distribution of gametophytic self-incompatibility and intrageneric classification in Solanum. *Taxon,* Viena, v. 30, n. 4, p. 761-767, 1981.

Received on January 15, 2007.
Accepted on October 03, 2007.