



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* DEG.,  
*P. cincinnata* MAST. E SEU HÍBRIDO INTERESPECÍFICO**

**MARIA DO SOCORRO EVANGELISTA COELHO**

**AREIA - PB**

**2009**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* DEG.,  
*P. cincinnata* MAST. E SEU HÍBRIDO INTERESPECÍFICO**

**MARIA DO SOCORRO EVANGELISTA COELHO**

**AREIA – PB**

**2009**

**MARIA DO SOCORRO EVANGELISTA COELHO**

**CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* DEG.,  
*P. cincinnata* MAST. E SEU HÍBRIDO INTERESPECÍFICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Ecologia Vegetal e Meio Ambiente.

**ORIENTADOR: Leonardo Pessoa Felix**

**CO-ORIENTADOR: Nataniel Franklin de Melo**

**Areia - Paraíba**

**2009**

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da  
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.

C672c Coelho, Maria do Socorro Evangelista.  
Caracterização citogenética de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg., *P. cincinnata*  
Mast. e seu híbrido interespecífico. / Maria do Socorro Evangelista Coelho. - Areia:  
UFPB/CCA, 2010.  
80 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade  
Federal da Paraíba, Areia, 2010.

Bibliografia.

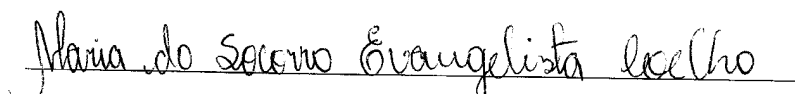
Orientador: Leonardo Pessoa Félix.

1. Passifloraceae 2. *Passiflora* - Hibridização 3. *Passiflora* - Citogenética I. Félix,  
Leonardo Pessoa (Orientador) II. Título.

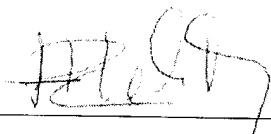
UFPB/CCA

CDU: 634.776.3(043.3)

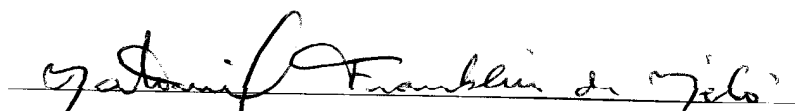
**CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* DEG.,  
*P. cincinnata* MAST. E SEU HÍBRIDO INTERESPECÍFICO**

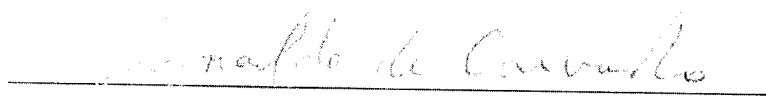
  
**MARIA DO SOCORRO EVANGELISTA COELHO**

**ORIENTADOR:**

  
**Prof. Dr. Leonardo Pessoa Felix - CCA/UFPB**

**EXAMINADORES:**

  
**Dr. Nataniel Franklin de Melo – Embrapa Semi-Árido**

  
**Prof. Dr. Reginaldo de Carvalho - UFRPE**

A meus sobrinhos

**Ofereço**

A minha família pelo constante incentivo,  
amor e carinho, em especial meus pais Afonso e Luiza!

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

A Deus todo poderoso pela oportunidade da vida, pelas pessoas maravilhosas que fazem parte dela e por mais uma etapa concretizada.

A meus pais Afonso Zeferino Coelho e Luiza Evangelista Coelho, por todo amor, compreensão e apoio incondicional em todos os momentos da minha vida.

A meus irmãos e irmãs, em especial a Edna, Evanilde, Evanete, Evaldo e Evani pelo amor e constante incentivo. E a todos meus familiares.

Aos meus sobrinhos pelos momentos de descontração.

À coordenação, professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal da Paraíba que tanto se dedicaram em prol do nosso crescimento pessoal e profissional.

À Embrapa Semi-Árido por disponibilizar as instalações do Laboratório de Biotecnologia Vegetal para realização dos trabalhos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa.

Ao Prof. Dr. Leonardo Pessoa Felix pela orientação, compreensão, profissionalismo e por todo ensinamento e apoio.

Ao Dr. Nataniel Franklin de Melo pela oportunidade oferecida desde a graduação, profissionalismo, compreensão, apoio, incentivo e co-orientação recebida.

Ao Dr. Francisco Pinheiro de Araújo pela atenção, doação do material vegetativo e reprodutivo para realização deste estudo e informações sobre o maracujazeiro.

Ao Dr. Viseldo pelo apoio no Laboratório de Biotecnologia.

A Flávia Cartaxo, obrigada por todo apoio e informações prestadas.

Aos colegas do Laboratório de Citogenética Vegetal: Bruno, Geórgia, Juliana Gomes, Marlene, Socorro, Saulo e Winston por terem me recebido tão bem, em especial as amigas Juliana Castro, Lânia e Marcela pela amizade e ajuda mútua.

A todos os amigos do Laboratório de Biotecnologia Vegetal: Adriano Márcio, Arlindo Bento, Eduardo Oliveira, Eyrienne Fonseca, Faubeany Micheline, Ivanice Lemos, João Ricardo e Suellen Jaiane pela amizade e todos os momentos que passamos juntos. Em especial a Ângela Katiussia, Maria Tereza e Thiago Morais.



Ao pessoal da Ecoteca, em especial a Tamires Silva pelo apoio no herbário.

A todos os amigos da Pós-Graduação em Agronomia, especialmente a Maria Rocha, Camila, Emmanuelle Rodrigues, Ivanildo, Leandro, Luciano, Raquel e Ozimar.

A grande amiga Eliene Matos pela amizade verdadeira cultivada durante esses anos e por está presente nos momentos primordiais da minha vida.

A grande amiga Kyria Cilene pela amizade conquistada, apoio, todo ensinamento e ajuda nas correções, serei eternamente grata.

A grande amiga e irmã Noelma Miranda pela convivência, amizade e apoio em todos os momentos.

Aos amigos Catarina Medeiros e Klerton Xavier, especialmente a Felipe Nollet, obrigada por tudo. Por todos os momentos que passamos juntos e principalmente, por mostrarem que as dificuldades podem ser superadas. Vocês foram e serão importantíssimos em minha vida pessoal e profissional.

A Antonio Pereira, Elenicio Gomes e Manoel Barbosa por todo apoio e ajuda essencial nas coletas de campo.

As amigas Adelaide Araújo, Francimara Rodrigues, Ires Cristina e Josciana Coelho por todo apoio e incentivo mesmo à distância.

A todos que direto ou indiretamente ajudaram na realização deste trabalho, minha eterna gratidão.

Muito Obrigada!

## SUMÁRIO

	Pág.
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	x
<b>LISTA DE TABELAS</b>	xi
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	xii
<b>RESUMO</b>	xiii
1. Introdução .....	01
2. Revisão de Literatura .....	04
2.1. Taxonomia .....	04
2.1.1. Família Passifloraceae Juss. ....	05
2.1.2. O gênero <i>Passiflora</i> L. e as espécies <i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Deg. e <i>Passiflora cincinnata</i> Mast. ....	06
2.2. Origem e Distribuição Geográfica .....	07
2.3. Importância Econômica .....	08
2.4. Contribuições da Citogenética Vegetal à Taxonomia e ao Melhoramento .....	09
2.4.1. Comportamento Meiótico .....	10
2.4.2. Viabilidade do Pólen .....	11
2.4.3. Bandejamento Cromossômico .....	12
2.4.4. Hibridização <i>in situ</i> .....	14
2.4.5. Hibridação em <i>Passiflora</i> L. ....	15
2.4.6. Citogenética do gênero <i>Passiflora</i> L. ....	16
3. Referências Bibliográficas .....	17
4. Manuscritos para publicação .....	20
4.1. Estudo da mitose, comportamento meiótico e viabilidade polínica em <i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Deg. e <i>P. cincinnata</i> Mast. e seu híbrido interespecífico .....	31
4.2. Localização de bandas CMA e DAPI e sítios de DNAr 45S em híbrido interespecífico de <i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Deg. e <i>P. cincinnata</i> Mast. ....	53

## LISTA DE FIGURAS

Pág.

### MANUSCRITOS

#### 4.1. Estudo da mitose, comportamento meiótico e viabilidade polínica em *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. e *P. cincinnata* Mast. e seu híbrido interespecífico

**Figura 1.** Idiogramas das espécies, acessos e indivíduos híbridos de *Passiflora*,  $2n=18$ . Acessos de *P. cincinnata*: A- C0701, B- J0812, C- F2220, D- A0425, E- T0336, F- B0549; G- *P. edulis* f. *flavicarpa*, H- indivíduo 1, I- indivíduo 2. Barra= 10  $\mu$ m. .... 46

**Figura 2.** Meiose em *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. cincinnata*. Indivíduo 1 (A, B, C); indivíduo 2 (D, E, F, G, H). Diplóteno (A e E); Diacinese (B, C, E, F); Metáfase I (G e H); Metáfase II (D). .... 47

**Figura 3.** Ilustrações dos progenitores e indivíduos híbridos de *Passiflora*. A-C- *P. edulis* f. *flavicarpa*, (D-F) acesso T0336, (G-I) indivíduo 1, (J-M) indivíduo 2. Setas indicam localização das glândulas nectaríferas. .... 48

#### 4.2. Localização de bandas CMA e DAPI e sítios de DNAr 45S em híbrido interespecífico de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. e *P. cincinnata* Mast.

**Figura 1.** DNAr 45S em espécies e indivíduos híbridos de *Passiflora*. Sobreposição de células e sítios de DNAr 45S de *P. edulis* f. *flavicarpa* (A e B), sobreposição de células e sítios de DNAr 45S no acesso A0425 (C e D) e no acesso J0812 (E e F), sobreposição de células, sítios de DNAr 45S e núcleo interfásico no indivíduo 1 (G, H e K) e no indivíduo 2 (I, J e L). Barra = 10  $\mu$ m. .... 63

**Figura 2.** Idiogramas das espécies e indivíduos híbridos de *Passiflora*. A- *P. edulis* f. *flavicarpa*, B- acesso J0812 de *P. cincinnata*, C- indivíduo 1, D- indivíduo 2. Barra em C mostrando o par heteromórfico para tamanho do sítio de DNAr 45S. ... 64

## LISTA DE TABELAS

Pág.

### MANUSCRITOS

#### **4.1. Estudo da mitose, comportamento meiótico e viabilidade polínica em *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. e *P. cincinnata* Mast. e seu híbrido interespecífico**

**Tabela 1.** Lista das espécies, acessos e híbrido de *Passiflora*, incluindo local de coleta e herbário, além de características citogenéticas avaliadas em células mitóticas e viabilidade polínica. NC= número cromossômico, mCL= comprimento cromossômico médio, FC= fórmulas cariotípicas, TCL= comprimento cromossômicos total, TF%= índice de assimetria, VP= viabilidade polínica..... 44

**Tabela 2.** Comprimentos médios ( $\mu\text{m}$ ) do braço curto (BC), braço longo (BL), comprimento absoluto (CA) e comprimento relativo (CR) em *P. edulis* f. *flavicarpa*, em acessos de *P. cincinnata* e no híbrido..... 45

#### **4.2. Localização de bandas CMA e DAPI e sítios de DNAr 45S em híbrido interespecífico de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. e *P. cincinnata* Mast.**

**Tabela 1.** Espécies, acessos e híbrido de *Passiflora* analisados com os respectivos números cromossômicos, distribuição da heterocromatina, número de sítios de DNAr 45S e par cromossômico, número de herbário e procedência. .... 62

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A	Acrocêntrico
AT	Adenina e Timina
BC	Braços Curtos
BL	Braços Longos
CA	Comprimento Absoluto
CCA	Centro de Ciências Agrárias
CG	Citosina e Guanina
CMA <sub>3</sub>	Cromomicina A <sub>3</sub>
CPATSA	Centro de Pesquisa do Trópico Semi-Árido
CR	Comprimento Relativo
DAPI	4',6-diamidino-2-fenilindol
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DNA <sub>r</sub>	DNA ribossomal
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FC	Fórmula Cariotípica
FISH	Hibridização Fluorescente <i>In Situ</i>
FITC	Fluoresceína Isotiocianato
GISH	Hibridização <i>In Situ</i> Genômica
HCl	Ácido Clorídrico
mCL	Comprimento Cromossômico Médio
M	Metacêntrico
NC	Número Cromossômico
RNA	Ácido Ribonucléico
SM	Submetacêntrico
T	Telocêntrico
TCL	Comprimento Cromossômico Total
TF	Índice de Assimetria
TRITC	Tetramil Rodamina Isotiocianato
TSAH	Herbário do Trópico Semi-Árido
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
VP	Viabilidade Polínica

COELHO, M. do S. E. **Caracterização citogenética de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* DEG., *P. cincinnata* MAST. e seu híbrido interespecífico.** Areia-PB. 2009. p. 80. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba.

## RESUMO

A maioria das espécies do gênero *Passiflora* possui interesse agrônômico, destacando-se *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* como a espécie comercial mais cultivada e *P. cincinnata* como uma espécie importante em programas de melhoramento genético. O presente trabalho objetivou caracterizar citogeneticamente a espécie *P. edulis* f. *flavicarpa*, diferentes acessos de *P. cincinnata* e dois indivíduos híbridos provenientes deste cruzamento através de métodos de coloração convencional, comportamento meiótico, viabilidade polínica, padrão de bandas CMA/DAPI e distribuição dos sítios de DNAr 45S por hibridização *in situ*. As espécies progenitoras e seu respectivo híbrido apresentaram  $2n=18$  cromossomos, cariótipo simétrico e núcleo interfásico semi-reticulado. O comportamento meiótico e a viabilidade polínica foram normais nas espécies progenitoras, porém o indivíduo híbrido 1 mostrou maior frequência de irregularidades meióticas e baixa viabilidade de pólen em comparação ao indivíduo 2, que apresentou comportamento meiótico normal, segregação regular e alta viabilidade polínica. Ambas as espécies mostraram dois pares de sítios de DNAr 45S e dois pares de bandas CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup>. Os indivíduos híbridos mantiveram o número e a posição dos sítios e bandas das espécies progenitoras, diferindo nos pares cromossômicos de localização e na ocorrência de heteromorfismo no tamanho dos sítios de DNAr 45S de um dos pares do indivíduo 1. Os resultados apresentados no híbrido mostraram estabilidade no número cromossômico.

**Palavras chave:** Passifloraceae, hibridização, FISH, heterocromatina e fluorocromos.

## 1. INTRODUÇÃO

---

## 1. Introdução

O gênero *Passiflora* L. apresenta cerca de 530 espécies, a maioria originária dos neotrópicos, compreendendo trepadeiras herbáceas ou lenhosas, assim como ervas ou arbustos, com gavinhas (Ulmer & MacDougal, 2004; Hansen et al., 2006), aproximadamente 140 delas nativas do Brasil (Cervi, 2006). *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg., conhecida como maracujá-amarelo ou maracujá-azedo, é uma espécie amplamente cultivada, representando cerca de 95% dos pomares de *Passiflora*, devido à qualidade dos seus frutos, vigor, produtividade e rendimento em suco (Meletti & Brückner, 2001). É uma espécie nativa e pode ser encontrada na borda das matas de florestas úmidas do litoral e brejos de altitude. Por outro lado, *Passiflora cincinnata* Mast., comumente denominada de maracujá verde, maracujá do mato ou maracujá de boi, ocorre principalmente em capoeiras e vegetação secundária das caatingas, agreste e brejos de altitude do Nordeste, principalmente Alagoas e Bahia (Cervi, 1997), e também em Pernambuco e Paraíba (Melo et al., 2001). Embora não tenha a importância comercial de *P. edulis*, a espécie é consumida como frutífera, sendo comercializado em feiras livres, principalmente no sertão de Pernambuco e na Bahia. As plantas são vigorosas, apresentando genes de resistência a estresses bióticos e abióticos.

As duas espécies são incluídas por Killip (1938), Cervi (1997) e Feuillet & MacDougal (2003) na série *Passiflora* do subgênero *Passiflora*, por apresentarem folhas simples, 3-5 lobadas, brácteas inteiras, flores grandes e coloridas, filamentos da corona formando duas ou mais séries, opérculo encurvado e ovário estreitando-se em direção ao ápice. De acordo com Melo & Guerra (2003), as duas espécies pertencem ao grupo cromossômico três, caracterizado por apresentar  $x=9$  e quatro sítios de DNAr 45S, sugerindo que as espécies são citologicamente próximas. Todavia, no citado trabalho foram estudadas apenas uma população de cada espécie o que não permite inferir a ocorrência de polimorfismos intraespecíficos para as duas espécies. Estudos envolvendo um maior número de populações de *Passiflora* (Melo et al. 2001; Melo, 2002) assim como em outros gêneros, como por exemplo, *Callisia* da família Commelinaceae (Ovalle, 2007), têm demonstrado que esse tipo de variabilidade cariológica não é raro. Esse tipo de informação é importante para se ter uma idéia da variabilidade cromossômica numérica e estrutural, contribuindo para o entendimento da evolução cromossômica, relações filogenéticas, bem como em programas de melhoramento envolvendo hibridizações interespecíficas (Brasileiro-Vidal et al. 2005).



A partir da década de 1980, as técnicas de coloração diferenciada têm permitido uma diferenciação longitudinal dos cromossomos através do bandeamento C, bandeamento com fluorocromos (revisado por Guerra, 2000) e a hibridização *in situ* com sondas de DNA, principalmente DNA ribossomal. As técnicas de bandeamento cromossômico permitem reconhecer a heterocromatina (principalmente DNAr e DNA satélite altamente repetitivo). A chamada heterocromatina constitutiva, ou heterocromatina total, é detectada através técnica do bandeamento C (Guerra, 1983), que consiste na eliminação parcial do DNA eucromático e retenção do DNA heterocromático, que após coloração com Giemsa, é marcada no cromossomo como bandas diferenciadamente coradas. Por outro lado, as técnicas de coloração com fluorocromos permitem diferenciar a heterocromatina em termos de composição de pares de base. Neste caso, o fluorocromo 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI), cora preferencialmente as regiões ricas nos pares de base AT, enquanto a cromomicina A<sub>3</sub> (CMA<sub>3</sub>), às regiões ricas em GC (Guerra, 2000).

Por outro lado, a hibridização *in situ* é uma das técnicas mais recentes na citogenética e tem sido aplicada na caracterização de espécies vegetais, localizando regiões específicas das mais variadas espécies silvestres ou cultivadas. De acordo com Guerra (2004) esta técnica permite o pareamento de sequências de DNA e RNA a ácidos nucléicos localizados no interior das células (sequência alvo). Para a detecção das sequências hibridizadas, os fragmentos de DNA ou de RNA são marcados, funcionando como uma sonda. Sendo assim, os híbridos sonda/alvo podem ser de DNA/DNA, DNA/RNA ou RNA/RNA. Em seu conjunto, essa técnica permite um maior detalhamento dos cariótipos, proporcionando distinguir estruturalmente citotipos algumas vezes com mesmo número e morfologia cromossômica como em *Citrus* (Carvalho et al., 2005) e grupos aparentemente monofiléticos, como em *Passiflora* (Melo e Guerra, 2003).

O presente trabalho visou investigar a variabilidade cromossômica em *P. edulis* f. *flavicarpa*, em seis acessos de *P. cincinnata* e dois indivíduos híbridos provenientes do cruzamento dessas duas espécies, através da coloração convencional com Giemsa em mitose e meiose, da viabilidade polínica, do padrão de bandas CMA/DAPI e distribuição dos sítios de DNAr 45S por hibridização *in situ*, visando reconhecer as relações genéticas.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

---

## 2.1- Taxonomia

### 2.1.1- A família Passifloraceae Juss.

A família Passifloraceae compreende trepadeiras herbáceas ou lenhosas, freqüentemente arbustos, com gavinhas axilares originadas de modificação das inflorescências; suas folhas são sempre alternas, espiraladas, simples ou raramente compostas, freqüentemente lobadas, com ou sem estípulas (Killip, 1938; Judd et al., 1999; Souza & Lorenzi, 2005). Em geral possuem glândulas nectaríferas no pecíolo ou lâmina, sendo que a sua forma, número e posição são características taxonômicas importantes na separação entre espécies e grupos de espécies (Vanderplank, 1996). As flores têm uma ampla gama de cores e são geralmente bissexuais, com simetria radial. A corona consiste de uma até várias linhas de filamentos, projeções ou membranas, e nasce no ápice da superfície interna do hipanto, sendo usualmente colorida, o que atrai polinizadores. Há um disco nectarífero na base do hipanto. Os frutos são do tipo cápsula ou baga, com arilos ao redor das sementes, geralmente sendo dispersas por pássaros (Killip, 1938; Judd et al., 1999).

Anteriormente, as passifloráceas pertenciam à ordem Violales, principalmente pela placentação parietal (Cronquist, 1988). Para outros autores pertenceria à ordem Passiflorales, tribo *Passiflorae* e família Passifloraceae, esta com 18 gêneros e 630 espécies, com distribuição principalmente nos trópicos da América, Ásia e África (Vanderplank, 1996; Barbosa, 1998). Atualmente a família integra a ordem Malphigiales, e com base em estudos filogenéticos, a mesma é considerada monofilética, perfazendo um total de 20 gêneros e cerca de 650 espécies (APG II, 2003). Judd et al. (1999) afirmaram que a monofilia de Passifloraceae é sustentada basicamente pela presença da corona nas flores.

A família Passifloraceae está dividida em duas tribos, *Paropsieae* e *Passiflorieae* (Escobar, 1988; Cervi, 1997; Cervi, 2006). As espécies da tribo *Paropsieae*, arbustos e árvores sem gavinhas, são considerados representantes de um complexo basal parafilético na família. *Passiflorieae*, ao contrário, é claramente monofilética, evidenciado por seu hábito escandente, gavinhas axilares e flores especializadas (Judd et al., 1999). Cervi (1997) descreveu a tribo *Paropsieae*, sendo composta por seis gêneros: *Androsphonia* Stapf, *Viridivia* J. H. Hemsl. e Verdc., *Smeathmannia* Sol. ex R. BR., *Barteria* Hook. f., *Paropsiopsis* Engl. E *Paropsia* Noronha ex Thouars. Segundo o mesmo autor, a tribo *Passiflorieae* é representada por

14 gêneros: *Adenia* Forssk, *Ancistrothyrsus* Harms, *Basananthe* Peyr., *Crossostemma* Planch. ex Hook., *Deidamia* E. A. Noronha ex Thouars, *Dilkea* Mast., *Hollurngia* K. Schum., *Efulensia* C. H. Wright, *Mitostemma* Mast., *Passiflora* L., *Schelecterina* Harms, *Tetrapathaea* (DC.) Rchb., *Tetrastylis* Barb. Rodr. e *Tryphostemma* Harv. Porém, Cervi (2006) relata que a tribo *Passiflorieae* está representada no continente americano por quatro gêneros, entre os quais se destaca o gênero *Passiflora*.

### **2.1.2- O gênero *Passiflora* L. e as espécies *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. e *Passiflora cincinnata* Mast.**

O gênero *Passiflora* L. apresenta cerca de 530 espécies, compreendendo trepadeiras herbáceas ou lenhosas, bem como ervas ou arbustos, com gavinhas axilares (Ulmer & MacDougal, 2004; Hansen et al., 2006). Possui hastes cilíndricas ou quadrangulares, muito ramificadas, angulosas, suberificadas, glabras, que em algumas espécies, podem apresentar-se pilosas e atingir de 5 a 10 m de comprimento (Killip, 1938). Especificamente no Brasil, a importância deste gênero se revela na representação de 140 espécies aproximadamente (Cervi, 2006). O mesmo autor, em sua revisão do gênero *Passiflora* para o Brasil, realizou 25 descrições de espécies e sinonimizações após o ano 1950.

As folhas são alternas, simples e de morfologia bastante variável (Judd et al., 1999; Ulmer & MacDougal, 2004; Farinazzo & Salimena, 2007). As flores de *Passiflora* possuem características marcantes do gênero e diferem dos demais gêneros por apresentarem cinco estames, cinco pétalas, cinco sépalas e androginóforo ereto com estames de extremidades livres e três estigmas (Cervi, 1997). Na maioria das espécies, as flores apresentam heterostilia, autoincompatibilidade, protandria, que favorecem a polinização cruzada (Ruggiero, 1987; Rego et al., 1999). Com isso, a polinização depende de agentes polinizadores, principalmente de grande porte, como as mamangavas, vespas, mariposas, borboletas e morcegos (Sazima & Sazima, 1978; Varassin et al., 2001). Os frutos são bagas e indeiscentes. As sementes são comprimidas, reticuladas, escavadas ou alveoladas (Farinazzo & Salimena, 2007).

Devido à relativa complexidade taxonômica do gênero, a literatura apresenta três classificações baseadas em características morfológicas, a de Killip (1938), Feuillet & MacDougal (1999) e a de Feuillet & MacDougal (2003) com pequenas modificações. No sistema de classificação de Killip (1938), são propostos doze gêneros, sendo quatro

no Novo Mundo (*Dilkea*, *Mitostemma*, *Tetrastylis* e *Passiflora*) e oito no Velho Mundo (*Adenia*, *Crossostemma*, *Deidamia*, *Hollrungia*, *Machadoa*, *Schlechterina*, *Tetrapathaea* e *Tryphostemma*), sendo esse sistema o mais aceito. O autor relata ainda que o gênero *Passiflora* é composto por 22 subgêneros e estes, subdivididos em seções e ou/séries.

A classificação proposta por Feuillet & MacDougal (1999), sugeriu alterações no sistema de classificação de Killip (1938), propondo uma nova classificação infragenérica para *Passiflora*, indicando a utilização de apenas quatro subgêneros no lugar dos 22 propostos anteriormente por Killip (1938). Estes autores relataram que a nova divisão define melhor as relações filogenéticas dentro do gênero *Passiflora*, sendo os subgêneros de Killip reorganizados da seguinte maneira: a) *Astrophea*, com cerca de 55 espécies e não modificado em relação a sua classificação original; b) *Deidamioides*, com 16 espécies agrupando três subgêneros, uma seção e o gênero *Tetrastylis*; c) *Decaloba*, com mais de 200 espécies incluindo sete dos subgêneros de Killip compreendendo principalmente espécies com  $x=6$ ; e d) *Passiflora*, com mais de 220 espécies pertencentes aos subgêneros *Adenosepala*, *Tacsoniopsis*, *Dysosmia* e *Dysosmioides* do sistema de Killip, e representadas principalmente por espécies com  $x=9$  cromossomos.

Outros estudos levaram a uma nova organização taxonômica do gênero *Passiflora*, propondo-se a utilização de apenas quatro subgêneros: *Astrophea*, *Deidamioides*, *Decaloba* e *Passiflora*. Estes subgêneros apresentam os seguintes números cromossômicos: *Decaloba*  $x=6$ , *Deidamioides*  $x=12$ , *Astrophea*  $x=12$  e *Passiflora*  $x=9$  (Feuillet & MacDougal, 2003; MacDougal & Feuillet, 2004).

Por outro lado, a espécie *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg., conhecida como maracujá-amarelo ou maracujá-azedo, caracteriza-se como trepadeira sub-lenhosa, glabra, com folhas trilobadas. As flores são axilares e solitárias, hermafroditas, brancas com franja roxa. Filamentos da corona são púrpura na base e brancos no ápice, que se abrem a partir do meio dia e fecham à noite. A baga é globosa, com numerosas sementes ovais, reticuladas e pretas (Lima & Cunha, 2004).

A espécie *P. cincinnata* Mast., comumente denominado de maracujá do mato (Cervi, 1997), é uma espécie perene e pode chegar até 4,5 m de comprimento, com gavinhas espiraladas com 6,0-12 cm de comprimento e 0,1 cm de diâmetro. Os frutos são bagas, ovóides com 5,0-6,0 cm de diâmetro. As sementes têm 0,6 x 0,3 cm de diâmetro, são ovais e negras (Nunes & Queiroz, 2001). A abertura das flores nos

acessos de *P. cincinnata* avaliados por Araújo (2007), iniciou a partir das 5 horas da manhã e permaneceram abertas até o final da tarde.

Conforme Oliveira & Ruggiero (2005), dentro dos acessos de *P. cincinnata*, tem-se plantas vigorosas, flores grandes que se impõem pela beleza e colorido vivo, em outros acessos, a folhagem e as flores não apresentam tanto brilho.

Para Araújo (2007) e Araújo et al. (2008), as passifloráceas apresentam expressiva variabilidade para vários caracteres de interesse agrônômico em uma única espécie. Dentre eles, pode-se observar que a viabilidade do pólen variou entre os acessos, assim como a produção de frutos, ambos os caracteres que devem ser considerados em programas de melhoramento de maracujazeiro. O mesmo autor relata os caracteres que mais contribuíram para a diversidade genética da espécie, foram: massa total de frutos (42,29%), viabilidade do pólen (8,62%), área foliar (7,17%), número de glândulas nas brácteas (5,88%), diâmetro das hastes (4,99%), massa dos frutos (4,03%), massa de 100 sementes (3,56%), número de glândulas foliares (2,82%) e comprimento das brácteas (2,64%), que juntos, representaram 82% da variabilidade existente entre os acessos avaliados.

## 2.2– Origem e Distribuição Geográfica

O gênero *Passiflora* é originário da região Neotropical, possuindo cerca de 530 espécies com distribuição desde a Argentina, ao longo da América Central e México, e sul dos Estados Unidos (Hansen et al., 2006), tendo no Centro-Norte do Brasil, o maior centro de distribuição geográfica (Lopes, 1991). Porém, no Brasil possui uma ampla variabilidade genética deste gênero, com aproximadamente 140 espécies (Cervi, 2006).

O gênero *Passiflora*, mais comum da família Passifloraceae na flora brasileira, pode ser encontrado principalmente em bordas de florestas por todo país (Souza & Lorenzi, 2005). No mundo, é encontrado nas áreas mais quentes da América com algumas espécies na Ásia e Austrália e uma espécie em Madagascar (Killip, 1938).

A espécie *P. edulis* é originária do Brasil, embora haja discordância quanto à origem da forma amarela. Esses materiais foram disseminados do Brasil para outras partes do mundo (Oliveira et al., 1994). Segundo Cunha & Krampe (1999) o maracujá amarelo (*P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) é uma planta de clima tropical com ampla distribuição geográfica, encontrando no Brasil excelentes condições ecológicas para seu

cultivo. Já a espécie *P. cincinnata* Mast., ocorre preferencialmente em capoeiras e vegetação secundária das caatingas, agreste e brejos de altitude do Nordeste, principalmente Alagoas e Bahia (Cervi, 1997), e também em Pernambuco e Paraíba (Melo et al., 2001).

### 2.3– Importância Econômica

Os cultivos comerciais de *Passiflora* em quase todo o país baseiam-se em uma única espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* - maracujá-amarelo ou azedo (Meletti et al., 2005). O Brasil destaca-se como o maior produtor mundial desse maracujá, representando 95% dos pomares, devido à qualidade dos seus frutos, vigor, produtividade e rendimento em suco (Meletti & Brückner, 2001; Ferreira, 2005). Em 1999, foram cultivados cerca de 35.000 ha com essa fruteira (Agrianual, 2002), o que faz do País o maior produtor mundial, sendo a região Nordeste do Brasil a produtora responsável por 44% da produção, com uma área cultivada de 17.306 ha e cerca de 214.467 t anuais, destacando-se os Estados da Bahia, Ceará e Sergipe como os maiores produtores (Agrianual, 2006).

Segundo Inglez de Souza & Meletti (1997), no gênero *Passiflora* destacam-se 50-60 espécies que produzem frutos comestíveis. Em menor escala, com importância bastante regionalizada e comercialização restrita, são cultivados o maracujá-doce (*P. alata* Dryand.), o maracujá-roxo (*P. edulis* Sims), o maracujá-melão (*P. quadrangularis* L.), o maracujá-suspiro (*P. nitida* Kunth.) e o maracujá de boi (*P. cincinnata*).

De acordo com Souza & Meletti (1997), muitas das espécies de *Passiflora* são cultivadas pelas propriedades alimentícias, medicinais e ornamentais, principalmente pela qualidade de seus frutos. E os frutos, além de consumidos in natura, são usados para fazer sucos, doces, refrescos e sorvetes. Segundo Bernacci et al. (2002) e Meletti & Maia (1999) o maracujá-amarelo tem maior importância comercial devido à qualidade dos frutos, à divulgação junto aos consumidores e aos rendimentos industriais. Já o maracujá-doce (*P. alata*), apesar da menor representatividade, atinge preços unitários mais expressivos no segmento de frutas frescas.

O maracujazeiro é cultivado, ainda, com fins medicinais, para extração de substâncias químicas de propriedades farmacêuticas como a passiflorina ou maracujina que é um calmante natural, sendo um sedativo encontrado nos frutos e folhas (Souza &

Meletti, 1997), nas propriedades como vermífugo e febrífugo e também nos efeitos diuréticos, antiblenorrágicos, hipnóticos e abortivos para o gado (Oliveira, 1987).

Além das propriedades alimentícias e medicinais, outro mercado que está em expansão é o da floricultura. Atribuindo o valor ornamental pelas belas flores que a planta produz que exercem atração pelo seu tamanho, pela exuberância de suas cores e pela originalidade de suas formas (Souza & Meletti, 1997). Com isso, diversas variedades e híbridos interespecíficos vêm sendo desenvolvidos no gênero *Passiflora* para fins ornamentais, despertando o interesse de muitos produtores, pelas belas flores (Vanderplank, 1996).

Segundo Araújo et al. (2006) os frutos de *P. cincinnata* e *P. setacea* DC., já são comercializados nas feiras livres nas cidades do interior, sendo estas espécies de ocorrência espontânea nas caatingas do Semi-Árido. A produção ainda é proveniente do extrativismo e de áreas cultivadas em escala doméstica. Este tipo de atividade começa a crescer com a produção de doces e geléias nas indústrias de beneficiamento instaladas nos municípios de Curaçá, Uauá e Canudos, no estado da Bahia.

Embora *P. cincinnata*, não tenha a importância comercial de *P. edulis*, a espécie é consumida como frutífera, sendo comercializado em feiras livres, principalmente no sertão de Pernambuco e na Bahia. É uma espécie potencialmente importante em programas de melhoramento genético, já que a mesma é resistente à seca e a *Epicauta atomaria*, uma bactéria, e aos nematóides do gênero *Meloidogyne* (Oliveira & Ruggiero, 1998).

## **2.4– Contribuições da Citogenética Vegetal à Taxonomia e ao Melhoramento**

As análises citogenéticas podem trazer contribuições indispensáveis no sentido de aumentar a eficiência das estratégias de conservação e mesmo de trabalhos de melhoramento com a espécie. Estas pesquisas têm contribuído para o estudo da evolução, principalmente porque os cromossomos constituem o próprio material genético, o que os torna significativos para o rumo evolutivo das espécies. Cada cromossomo ou par de cromossomos representa um papel decisivo no desenvolvimento de um indivíduo. Por isso, o número de cromossomos e as variantes que cada um deles apresenta, dentro de uma espécie, são dados importantes para a determinação da posição filogenética e taxonômica (Guerra, 1988), tanto dentro de táxons inferiores quanto em



níveis superiores (Guerra, 1990). A caracterização precisa do cariótipo tem fundamental importância quando o objetivo é comparar cariologicamente espécies diferentes ou analisar a variação entre indivíduos da mesma espécie. Um dos parâmetros mais utilizados para a caracterização citológica de uma espécie é o número cromossômico (Pedrosa et al., 1999). Para Sybenga (1998), a citogenética fornece informações indispensáveis para a manipulação das plantas. Neste contexto, o número cromossômico é um dos parâmetros mais utilizados para a caracterização citológica de uma espécie que, aliado a outros caracteres citológicos, fornece informações para o entendimento das alterações genéticas envolvidas.

#### **2.4.1- Comportamento Meiótico**

A meiose é considerada o mais importante evento entre os processos de diferenciação dos organismos, sendo o principal responsável pelo sucesso evolutivo da reprodução sexuada em eucariotos (Holliday, 1984). Na meiose, são produzidas células haplóides que permitem que, após a fecundação, o número de cromossomos permaneça igual ao dos pais. É durante a meiose que ocorre também a recombinação dos genes, evento de máxima importância na adaptação das populações e evolução dos seres vivos (Guerra, 1988).

O processo meiótico envolve duas divisões, sendo em geral a primeira caracterizada por uma fase e longa na prófase I e por ser reducional, ou seja, originando células com número cromossômico haplóide, mas com a quantidade de DNA ainda duplicada. Da segunda divisão, muito parecida com a divisão mitótica, resultam células haplóides com o conteúdo de DNA reduzido (Alberts et al., 2002). A análise do processo meiótico permite observar e identificar eventos que podem ser utilizados em estudos evolutivos e na construção de mapas citogenéticos. Por exemplo, rearranjos cromossômicos podem ser detectados por configurações resultantes do pareamento dos cromossomos homólogos e são importantes para verificar a viabilidade das células e detectar a origem poliplóide ou híbrida do material (Fukui & Nakayama, 1996).

Muitos dos genes relacionados à esterilidade têm ação pré-meiótica, pois podem induzir a formação de anteras sem pólen, enquanto outros têm ação pós-meiótica, ou seja, o pólen é formado, mas não se desenvolve (Alcochete, 2005). Como pode ser constatado por Moraes (2007), que o fenômeno da esterilidade masculina é dado por um complexo sistema de regulação gênica.

Palma-Silva et al. (2004) analisaram o comportamento meiótico e a viabilidade polínica de 15 espécies pertencentes aos gêneros *Vriesea* Beer e *Aechmea* Ruiz e Pav. (Bromeliaceae). Todos os taxa mostraram pareamento regular dos bivalentes, assim como, segregação regular cromossômica durante a meiose, o que pode ser confirmado pelo elevado índice de viabilidade polínica (88%). Porém, univalentes na metáfase I, cromossomos extras e divisão precoce dos centrômeros em metáfase II também foram observados.

Loguercio e Battistin (2004) estudando nove acessos de *Syzygium cumini* L., observaram que ambos os acessos possuem comportamento meiótico normal, com índice meiótico acima de 91%. As diferenças durante os eventos da meiose I, da meiose II, da formação de tétrades e da viabilidade do pólen refletem a ocorrência de variabilidade genética dentro da espécie. Por outro lado, Moraes (2007) analisando o comportamento meiótico no gênero *Hypericum* L. verificou irregularidades meióticas, como formação de multivalentes, cromossomos não alinhados na placa equatorial durante a metáfase I e de retardatários na anáfase.

Analisando a meiose em cultivares de *Manihot esculenta* Crantz, Carvalho e Guerra (2002) verificaram em seis delas (Pingaré, IPA 9602, Cruvela, Tucunaré, BGM 1159 e Maracanã) meiose normal, com 18 bivalentes na metáfase I e segregação regular dos cromossomos em anáfase I e II.

O estudo da estabilidade meiótica, juntamente com a análise da viabilidade do grão de pólen, permite indicar o potencial para cruzamentos da planta, fornecendo subsídios para usos futuros em programas de seleção, cruzamento e produção de sementes viáveis (Vargas et al. 2004).

#### **2.4.2- Viabilidade do Pólen**

A viabilidade do pólen é um parâmetro de grande importância no estudo de plantas, pois, além de evidenciar a potencialidade reprodutora masculina da espécie, contribui em estudos taxonômicos, ecológicos, palinológicos, fornecendo informações básicas para a aplicação prática na conservação genética, bem como na agricultura, para o planejamento de algum tipo de melhoramento ou cultivo (Alexander, 1980; Arroyo, 1981 e Guinet 1989). Para Peñaloza (1995) a determinação da viabilidade do pólen, é fundamental na investigação das causas da infertilidade das plantas, assim como para o conhecimento do potencial de reprodução de uma população e dos problemas de

fertilidade que possam ocorrer. Segundo Techio (2002), por meio de dados de viabilidade do pólen, é possível obter correlações com anormalidades meióticas, auxiliar na seleção de materiais genéticos e fazer inferências sobre os melhores cruzamentos, tornando-se uma ferramenta útil na condução de experimentos nas áreas agrícola e biotecnológica.

Por outro lado, Carvalho et al. (1999) analisaram a viabilidade de pólen do triplóide *Manihot esculenta* Crantz de ocorrência espontânea e verificaram grãos de pólen de vários tamanhos. Porém, a coloração dos grãos de pólen com carmim acético mostrou 100% dos grãos levemente corados sugerindo esterilidade total.

Pandolfi (1998) observou pela técnica de coloração com carmim acético 2%, aproximadamente 200 grãos de pólen por botão floral para as espécies de *Solanum commersonii commersonii* e um percentual de pólen viáveis com médias em torno de 78,93% e para *Solanum commersonii malmeanum* um percentual de pólen viáveis com médias em torno de 60,33%. Os resultados apresentados por Tomé (2004) vêm confirmar os dados de Mendes (1994) e Pandolfi (1998) que mostraram que as espécies selvagens normalmente produzem maior percentual de pólen viáveis, quando comparadas com espécies cultivadas.

Alta porcentagem de viabilidade de pólen, semelhante à encontrada em *P. edulis* f. *flavicarpa* que apresentou um valor médio superior 80% (Souza et al., 2002) e *P. edmundoi* Sacco com 97,91% (Souza et al., 2003), também foi observada em outras espécies nativas com características medicinais. Em cinco espécies da família Urticaceae (urtigas), procedentes do Rio Grande do Sul, Karsburg (2002), encontrou acima de 87% de pólen viável. Já em populações de *Baccharis trimera* (carqueja) apresentou um valor médio superior a 85% (Auler et al., 2006); em *Syzygium cumini* (Jambolão) da família Myrtaceae o percentual foi acima de 93,19% (Loguercio & Battistin, 2003). Entre outros gêneros de plantas nativas, de modo geral nas leguminosas, com características forrageiras destacam-se: gênero *Leucaena*, variando de 71 a 98% (Boff, 2002). Em 17 espécies do gênero *Adesmia*, a viabilidade foi superior a 90% para a maioria dos acessos estudados (Tedesco, 2000). Nos gêneros *Eriosema* e *Rhynchosia*, também nativas na Região Sul, foi encontrada uma porcentagem superior a 94%, demonstrando alto potencial de fertilidade dos gametas masculinos, com exceção de *E. glabrum*, que apresentou alta inviabilidade do pólen, 14 a 27%, (Biondo & Battistin, 2001).

Conforme Souza et al. (2002) *P. edulis* f. *flavicarpa* quando cruzada com outras espécies, ainda mantém a taxa de viabilidade do pólen superior a 70%. Em híbridos somáticos de *P. edulis* f. *flavicarpa* + *P. cincinnata* (Barbosa & Vieira, 1997a) e *P. edulis* f. *flavicarpa* – *P. amethystina* J.C. Mikan (Barbosa & Vieira, 1997b), o índice mais baixo de viabilidade polínica foi de 72,9%, em conseqüências de anormalidades meióticas observadas, como presença de univalentes, bivalentes, tetravalentes, e alterações, como a presença de cromossomos retardatários na placa metafásica e pontes anafásicas, que foram consideradas fatores causadores de grãos de pólen imperfeitos e conseqüentemente, inviáveis. Sendo assim, a regularidade meiótica e conseqüente viabilidade polínica dependem, principalmente, da homologia cromossômica entre as espécies envolvidas no cruzamento.

#### 2.4.3- Bandeamento Cromossômico

A caracterização dos cromossomos foi por muito tempo fundamentada unicamente em parâmetros morfológicos, a exemplo do tamanho dos braços, posição dos centrômeros e localização das constrições secundárias. Com a introdução das técnicas de bandeamento, possibilitou-se a visualização de blocos de coloração diferenciada (bandas), havendo um avanço significativo na caracterização dos cromossomos (Brasileiro-Vidal & Guerra, 2002).

Nesse caso, a heterocromatina é um dos caracteres mais importantes para caracterização cromossômica. A heterocromatina foi definida por Heitz (1928) como segmentos cromossômicos que permanecem condensados durante todo o ciclo celular, e Brown (1966) concluiu que existe pelo menos dois tipos de heterocromatina: a facultativa e a constitutiva. A primeira pode comportar-se como eucromatina ou como heterocromatina, enquanto a segunda permanece condensada durante todo o ciclo celular, caracterizando-se pela presença de seqüências de DNA curtas, altamente repetitivas e transcricionalmente inativas (Redi et al., 2001) e, para a sua detecção, a técnica empregada é, em geral, o bandeamento-C (Pardue & Gall, 1970).

Atualmente, novas técnicas empregadas nos estudos citogenéticos têm possibilitado uma análise mais detalhada dos cariótipos a partir de dados citomoleculares, como os bandeamentos com fluorocromos como 4'-6' diamidino-2-10-fenilindol (DAPI), que destaca regiões heterocromáticas ricas em bases AT, e a cromomicina A<sub>3</sub> (CMA<sub>3</sub>), que tem afinidade por regiões heterocromáticas ricas em

bases GC. A aplicação destes fluorocromos associada à distamicina-A (DA), que é um contrastante negativo, favorece a distinção das bandas. Os relatos mais recentes de análise de cromatina com auxílio de fluorocromos indicam que em diversos grupos vegetais a heterocromatina constitutiva é rica em AT (Schwarzacher & Schweizer, 1982; Felix & Guerra, 2000; Nakamura et al., 2001; Besendorfer et al., 2002). Já a heterocromatina constitutiva rica em CG, tem sido frequentemente associada às RONS (Schweizer, 1976; Deumling & Greilhuber, 1982; Moscone et al., 1996; Forni-Martins & Guerra, 1999; Guerra et al., 2000).

#### 2.4.4- Hibridização *in situ*

Com o advento das técnicas de hibridização molecular *in situ* é possível localizar diretamente nos cromossomos, sítios específicos de DNA, entre os quais, seqüências repetitivas arranjadas em tandem como as teloméricas, centroméricas e os genes ribossômicos. A localização de seqüências ribossomais vem sendo empregada no estudo dos cariótipos de *Passiflora* (Melo & Guerra, 2003) e milho (Aguiar-Perecin, 2000). Além disso, seqüências teloméricas têm sido localizadas em Alliaceae (Sykorová et al., 2006) e mesmo genes específicos têm sido mapeado para todos os cromossomos de *Phaseolus vulgaris* (Pedrosa et al., 2003).

A hibridização *in situ* (HIS) é um método empregado para a visualização de seqüências definidas de ácidos nucleicos, em preparações celulares, através da hibridação de seqüências complementares (sondas). Esse método, descrito por Pardue & Gall (1969), permite a detecção de seqüências específicas em cromossomos metafásicos, bem como em núcleos interfásicos. A técnica proporciona a interação entre conhecimento da biologia celular, citogenética clássica e genética molecular (Rogatto & Rainho, 2000) e consiste basicamente no pareamento, ou hibridização, de um determinado fragmento de DNA ou RNA complementar situado dentro da célula do organismo que está sendo estudado. O objetivo é verificar se a célula, ou tecido, possui essa seqüência de nucleotídeos e, em alguns casos, conhecer também a sua exata localização na célula ou no cromossomo (Guerra, 2004).

A técnica de hibridização *in situ* é muito usada no mapeamento de genomas de plantas, na detecção de seqüências únicas e, principalmente, de seqüências de DNA repetitivo. O padrão de HIS em cromossomos somáticos metafásicos usando seqüências

repetitivas em tandem é apontado como um excelente marcador físico para a identificação de cromossomos (Friebe et al., 1992; Brasileiro-Vidal & Guerra, 2002).

Brutovská et al. (2000a) apresentaram o número e a localização das seqüências de DNAr 5S e 45S por meio da técnica de hibridização *in situ*, para as espécies *Hypericum attenuatum*, *H. maculatum* e *H. perforatum*. Este estudo visava inferir a origem alotetraplóide de *H. perforatum* ( $2n=32$ ), sugerida por Campbell e Delfosse (1984). Segundo estes autores, a espécie teria se originado de uma antiga hibridização entre *H. attenuatum* ( $2n=16$ ) e *H. maculatum* ( $2n=16$ ), que são diplóides.

#### 2.4.5- Hibridação em *Passiflora* L.

A ênfase principal das hibridações interespecíficas é a transferência de caracteres de outras espécies de *Passiflora* para *P. edulis*. Nesse caso, *P. edulis* é considerado um bom progenitor por apresentar florescimento abundante e ininterrupto no final de outubro ao início de maio, nas condições paulistas, e nas regiões tropicais, de até onze meses por ano (Meletti & Bruckner, 2001). Por outro lado, Soares-Scott et al. (2003), relatam que a maioria dos híbridos interespecíficos apresenta problemas de desenvolvimento, macho-esterilidade, baixa viabilidade polínica ou dificuldade em florescer.

Tem-se registro de vários híbridos interespecíficos de *Passiflora* principalmente para fins ornamentais na Europa e na América (*Passiflora* Society International, 2001), os quais são propagados vegetativamente. Segundo Rego et al. (1999) embora a compatibilidade das espécies seja considerada alta, a esterilidade dos híbridos tem limitado o uso do germoplasma exótico para fins de melhoramento.

A hibridação interespecífica é também utilizada especialmente em programas que visam à transferência de genes de resistência a determinadas doenças encontradas nas espécies silvestres para a cultivada (Bruckner, 1997).

A freqüência de estudos citogenéticos em híbridos interespecíficos de *Passiflora*, tanto zigóticos ou somáticos ainda é baixa (Soares-Scott, 2005). Segundo Melo (2002), é importante considerar que todos os híbridos obtidos, mesmo os que não foram analisados citogeneticamente são originados de progenitores com  $2n=18$  cromossomos sempre envolvendo espécies de interesse agrônomico. Esses híbridos sexuais mostraram compatibilidade interespecífica, já que apresentaram alguma

fertilidade na parte masculina ou feminina, apesar de não produzirem frutos, sugerindo que podem ser espécies relacionadas e possivelmente de origem comum.

#### 2.4.6- Citogenética do gênero *Passiflora* L.

O gênero *Passiflora*, bem como os demais gêneros tem sido pouco estudado do ponto de vista citológico. Os mais amplos trabalhos foram realizados por Bowden (1945), Beal (1969ab, 1973), Storey (1950), Guerra (1986), Snow & MacDougal (1993), Mayeda & Vieira (1995), Barbosa & Vieira (1997), Soares-Scott (1998), Soares-Scott et al. (1999), Passos (1999), Melo et al. (2001), Melo (2002), Melo et al. (2003), Souza et al. (2003a, b), Souza et al. (2004), Soares-Scott et al. (2005), Hansen et al. (2006) e Souza et al. (2007). No entanto, estes trabalhos representam citogeneticamente 16,1% das espécies registradas (Melo et al., 2001), sendo que, parte destes trabalhos tem se limitado à contagem cromossômica.

As primeiras análises de cromossomos meióticos de algumas Passifloráceas foram realizadas por Storey (1950) e Beal (1969a, 1969b). Os estudos meióticos evidenciaram microsporócitos com 9 pares de cromossomos em *P. cincinnata* Mast., *P. coccinea* Aubl., *P. giberti* N.E. Brown, *P. nitida* Kunth e *P. setacea* DC. Em *P. foetida* L. var. *fluminensis* e *P. foetida* L. observou-se também pareamento normal de 10 bivalentes conforme relatos de Beal (1969) e Oliveira (1996), que também verificaram alta fertilidade dos grãos de pólen em *P. f. fluminensis*., usando coloração em azul de algodão. Melo et al. (2001) e Melo (2002) estudando o comportamento meiótico de quatro espécies de *Passiflora*, observaram que *P. cincinnata*, *P. racemosa* Brot. e *P. setacea* apresentaram 9 bivalentes e segregação normal na anáfase, enquanto em algumas células de *P. jilekii* Wawra foram observados tetravalentes.

Vieira et al. (2004) relataram que são bastante similares os cariótipos do subgênero *Passiflora*. A diferença mais evidente aparece em *P. incarnata* L. que mostrou dois pares de cromossomos grandes, com sítios de síntese de RNA ribossômico no final do braço longo, além daqueles nos pares 8 e 9. Beal (1973b) identificou quatro pares de cromossomos satelitados em *P. maliformes* L.

Por outro lado, Melo et al. (2001) identificaram satélites em *P. capsularis* L., *P. misera* Kunth, *P. morifolia* Mast., *P. coccinea* e *P. nitida* Kunth. Sendo que Souza et al. (2003) apontam satélites em seis espécies (*P. alata* Dryand., *P. malacophylla* Mast., *P. edmundoi*, *P. mucronata* Lam., *P. galbana* Mast. e *P. quadrangularis* L.).

Passos (2007) verificou a ocorrência de satélites nos braços curtos dos cromossomos 3 e 8 para *P. galbana* Mast. e nos braços longos dos cromossomos 1, 3 e 6 para *P. mucronata* Lam. A mesma autora observou que a coloração com fluorocromos em *P. mucronata* apresentou bandas DAPI, cinco bandas CMA<sup>+</sup> e CMA<sup>-</sup>. Em *P. galbana* revelou quatro bandas CMA<sup>+</sup>.

De acordo com Melo & Guerra (2003) que estudaram um número significativo de *Passiflora* para o Brasil, as duas espécies *P. edulis* e *P. cincinnata* pertencem ao grupo cromossômico três, caracterizado por apresentar  $x=9$  e quatro sítios de DNAr 45S, sugerindo que as espécies são citologicamente compatíveis. Todavia, no citado trabalho, foram estudadas apenas uma população de cada espécie, o que não permite inferir a ocorrência de polimorfismos intraespecíficos no gênero. Estudos envolvendo um maior número de populações de *Passiflora* (Melo et al. 2001), têm demonstrado que esse tipo de variabilidade cariológica não é raro. Esse tipo de informação é importante para se ter uma idéia da variabilidade cromossômica numérica e estrutural, contribuindo para o entendimento da evolução cromossômica, relações filogenéticas, bem como em programas de melhoramento envolvendo hibridizações interespecíficas.

Utilizando a técnica de hibridização *in situ* (Melo & Guerra, 2003), investigaram a variabilidade dos sítios de DNAr 5S e 45S em 20 espécies de *Passiflora*, visando verificar relações entre os diferentes complementos haplóides existentes no gênero e identificar o provável ancestral haplóide do mesmo.

A utilização da hibridização *in situ* em espécies progenitoras e híbridos vem sendo realizado por Soares-Scott et al. (2005), observando no híbrido *P. edulis* x *P. incarnata* dois sinais fluorescentes de DNAr 45S. No híbrido *P. edulis* x *P. setacea*, foi observado de quatro a seis sinais fluorescentes de DNAr 45S. Pôde-se verificar que algumas marcações dos sítios de DNAr 45S envolveram apenas parte das constrições secundárias. Em *P. incarnata* L., observaram apenas dois sinais. As espécies *P. setacea* e *P. coccinea* mostraram 4 sinais. Já a espécie *P. edulis*, mostrou quatro sinais, resultado que corrobora com os dados de Melo & Guerra (2003) que observaram 4 sítios subterminais de DNAr 45S nesta espécie.

A hibridização *in situ*, utilizando como sonda o DNA genômico total de uma espécie é denominada GISH (Genomic *In Situ* Hybridization) e foi testada em híbridos de *Passiflora* por Soares-Scott et al. (2005). A mesma autora confirmou que existe realmente um híbrido (*P. edulis* x *P. setacea*) e que a sonda feita foi capaz de evidenciar



diferentes seqüências cromossômicas das duas espécies. Observou-se um lote de cinco cromossomos inteiros corados em vermelho, marcação para *P. setacea*, outro lote de 9 cromossomos com fluorescência em amarelo marcação para *P. edulis* e um lote de coloração laranja indicando seqüências de ambas as espécies *P. edulis* e *P. setacea*.

### **3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

AGRIANUAL. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP, p. 359-365, 2006.

AGRIANUAL. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP, p.402-408, 2002.

AGUIAR-PERECIN, M. L. R. Análise da organização do genoma de plantas através de mapeamento físico de sequências repetitivas de DNA por hibridização *in situ* fluorescente (FISH). In: ENCONTRO SOBRE TEMAS DE GENÉTICA E MELHORAMENTO, 17., Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ, p. 1-10, 2000.

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Molecular biology of the cell**. 4 ed. Garland Science. New York, 2002, 1464p.

ALCOCHETE, A. A. N. **Diversidade genética e mapeamento de QTLs do sistema gênico de macho-esterilidade termosensível (TGMs) do genoma de arroz (*Oryza sativa* L.)**. BRASÍLIA – DF, 2005.

ALEXANDER, M. P. **A versatile stain for pollen, fungi, yeast and bacteria**. Stain Technology, v.55, p.13-18, 1980.

APG II. **An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II**. Bot J Linn Soc, v.141, p.399–436, 2003.

ARAÚJO, F. P. de.; SILVA, N. da.; QUEIROZ, M. A. de. Divergência genética entre acessos de *Passiflora cincinnata* Mast. com base em descritores morfoagronômicos. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v. 30, n. 3, p.723-730, 2008.

ARAÚJO, F. P. de. **Caracterização da variabilidade morfoagronômica de maracujazeiro (*Passiflora cincinnata* Mast.) no semi-árido brasileiro**. 2007. 94 f. Tese (Doutorado)-Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômica, Botucatu, São Paulo, 2007.

ARAÚJO, F. P. de.; SILVA, N. da.; QUEIROZ, M. A. de.; MELO, N. F. de. Estabelecimento de acessos de *Passiflora cincinnata* Mast. por organogênese direta *in vivo* de segmentos radiculares. In: ENCONTRO DE GENÉTICA DO NORDESTE, 17., 2006, Recife. **Conhecimentos para o novo Milênio: [resumos]**. Recife: SBG, 2006. 1 **CD-ROM**, 2006.

ARROYO, M. T. K. **Breeding systems and pollination biology in leguminosae**. In: POLHILL, M.; RAVEN, P.H. (Eds). **Advances in legumes systematics**, Kew: Royal Botanic Gardens, p.723-69, 1981.

AULER, N. M. F.; BATTISTIN, A.; REIS, M. S. Número de cromossomos, microsporogênese e viabilidade do pólen em populações de carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) DC.] do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.8, n.2, p.55-63, 2006.

BARBOSA, L. V. **Citologia de híbridos somáticos de *Passiflora* spp. obtidos por fusão de protoplastos.** 1998. 94p. Tese (Doutorado)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo, 1998.

BARBOSA, L. V.; VIEIRA, M. L. C. Análise do comportamento meiótico de híbridos somáticos *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. – *P. cincinnata* Mast. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 43, 1997, Caxambu. **Anais**. Programa e Resumos... Caxambu: SBG, 1997a, 88p.

BARBOSA, L. V.; VIEIRA, M. L. C. Meiotic behavior of passion fruit somatic hybrids, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener – *P. amethystina* Mikan. **Euphytica**, Wageningen, v. 98, p.121-127, 1997b.

BEAL, P. R. Citology of native Australian and several exotic *Passiflora* species. 2. Chromosome morphology. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 30, n. 1, p.17-18, 1973.

BEAL, P. R. Citology of the native Australian *Passiflora* species. 1. Chromosome number and horticultural value. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 26, n. 3, p. 407-421, 1969a.

BEAL, P. R. Chromosome numbers of exotic *Passiflora* species in Australian. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 26, n. 1, p. 73-81, 1969b.

BERNACCI, L. C.; MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; AZEVEDO FILHO, J. A.; LORENZI, H.; PEIXOTO, M. *Passiflora ischnoclada* Harms (Passifloraceae), uma espécie endêmica de São Paulo e em perigo de extinção. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE EDUCAÇÃO AMBIENTAL NA AGRICULTURA, 4., Campinas. **Anais...** Campinas: IAC, p.29-30, 2002.

BESENDORFER, V.; SAMARDZIJA, M.; ZOLDOS, V.; SOLIC, M. E.; PAPES, D. Chromosomal organization of ribosomal genes and NOR-associated heterochromatin, and NOR activity in some populations of *Allium commutatum* Guss (Aliaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 139, p. 99-108, 2002.

BIONDO, E.; BATTISTIN, A. Comparação da eficiência de diferentes corantes na estimativa da viabilidade de grãos de pólen em espécies dos gêneros *Eriosema* (DC.) e *Rhynchosia* LOUR (Leguminosae-Faboideae), nativas na região sul do Brasil. **Bioikos**, v.15, n.1, p.39-44, 2001.

BOFF, T. **Comportamento meiótico e fertilidade do pólen em espécies de *Leucaena Bentham* (Leguminosae/Mimosoidae).** 2002. 159 f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

BOWDEN, W. M. A list of chromosome numbers in higher plants. II Menispermaceae to Verbenaceae. **American Journal of Botany**, v. 32, p. 191-201, 1945.

BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; CUADRADO, A.; BRAMMER, S.P.; BENKO-ISEPPON, A. M.; GUERRA, M. Molecular cytogenetic characterization of parental

genomes in the partial amphidiploid *Triticum aestivum* x *Thinopyrum ponticum*. **Genetics and Molecular Biology**, v.28, n.2, p.308-313, 2005.

BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; GUERRA, M. **Citogenética molecular em cereais**. In: BRAMMER, S. P.; IORCZESKI, E. J. (Org.). Atualização em técnicas celulares e moleculares aplicadas ao melhoramento genético vegetal. Passo Fundo: Embrapa Trigo, p. 277-298, 2002.

BROWN, S. W. **Heterochromatin**. **Science**, v. 151, p. 417-425, 1966.

BRUCKNER, C. H. **Perspectivas do melhoramento do maracujazeiro**. In: Manica, I. (Ed). Maracujá: temas selecionados. Porto Alegre, RS: Cinco Continentes, 1997, 70p.

BRUTOVSKÁ, R.; CELLÁROVÁ, E.; SCHUBERT, I. Cytogenetic characterization of three *Hypericum* species by in situ hybridization. **Theoretical and Applied Genetics**, v.101, p.46-50, 2000a.

CAMPBELL, M. H.; DELFOSSE, E. S. The biology of Australian weeds. 13. *Hypericum perforatum* L. **Journal of Australian Institute of Agricultural Science**, v. 50, p. 63-73, 1984.

CARVALHO, R.; SOARES FILHO, W. S.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; GUERRA, M. The relationships among lemons, limes and citron: a chromosomal comparison. **Cytogenetic and Genome Research**, Basel, v.109, n.1, p.276-282, 2005.

CARVALHO, R.; GUERRA, M. Cytogenetics of *Manihot esculenta* Crantz (cassava) and eight related species. **Hereditas**, v.136, p.159-168, 2002.

CARVALHO, R.; GUERRA, M.; CARVALHO, P. C. L.. Occurrence of Spontaneous Triploidy in *Manihot esculenta* Crantz. **Cytologia**, The Japan Mendel Society, v. 64, p.137-140, 1999.

CERVI, A. C. O gênero *Passiflora* (Passifloraceae) no Brasil, espécies descritas após o ano de 1950. **Adumbrationes ad Summae**. Editionem, v.16, p.1-5, 2006.

CERVI, A. C. Passifloraceae do Brasil. Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. **Fontqueira**, v.45, p.1-92, 1997.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. 2ª ed. New York Botanical Garden, Bronx, 1988.

CUNHA, M. A. P. da.; KRAMPE, R. In: LIMA, A. A. **O cultivo do maracujá**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, cap. 4, p. 18-25, 1999.

DEUMLING, B.; GREILHUBER, J. Characterization of heterochromatin in different species of the *Scilla siberica* group (Liliaceae) by in situ hybridization of satellite DNAs and fluorochrome banding. **Chromosoma**, v. 84, p.535-555, 1982.

ESCOBAR, L. K. **Passifloraceae**. In: Pinto P and Lozano G (eds). Flora da Colombia. Univ. Nac. de Colombia, Bogotá, v.10, p.1-138, 1988.

FARINAZZO, N. M.; SALIMENA, F. R. G. Passifloraceae na Reserva Biológica da Represa do Grama, Descoberto, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v.58, n.4, p.823-833, 2007.

FELIX, L. P.; GUERRA, M. S. O cariótipo de *Nhotoscordum pulchellum* (Alliaceae) com ênfase na heterocromatina e nos sítios de rDNA. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 35, n. 3-4, p. 283-289, 2000.

FERREIRA, F. R. **Recursos Genéticos de Passiflora**. In: FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V. & BRAGA, M. F. (Ed.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, cap. 2, p.41- 51, 2005.

FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J. M. A new infrageneric classification of *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Passiflora**, v.14, n.1, p.34-38, 2003.

FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J. M. **A new infrageneric classification of *Passiflora***. Paper presented at the IBC in August, 1999. St. Louis, USA.

FRIEBE, B.; ZELLER, F. J.; MUKAI, Y.; FORSTER, B. P.; BARTOS, P.; MCINTOSH, R. A. Characterization of rust-resistant wheat *Agropyron* intermedium derivatives by Cbanding, in situ hybridization and isozyme analysis. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 83, p.775-782, 1992.

FORNI-MARTINS, E. R.; GUERRA, M. Longitudinal differentiation in chromosomes of some *Sesbania* scop. Species (Fabaceae). **Caryologia**, v. 52, n.1-2, p.87-103, 1999.

FUKUI, K.; NAKAYAMA, S. (1996). **Plant chromosomes: laboratory methods**. Boca Raton, CRC Press, 1996, 274p.

GUERRA, M. **FISH – conceitos e aplicações na citogenética**/ Organizado por Marcelo Guerra – Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 184p. il., 2004.

GUERRA, M. Chromosome number variation and evolution in Monocots. In: K. L. Wilson & D. A. Morrison (Eds.). **Monocots: systematics and evolution**. CSIRO, Melbourne, p.127-136, 2000.

GUERRA, M.; BARROS E SILVA, K. G. B.; EHRENDORFER, F. Heterochromatin banding patterns in Rutaceae-Aurantioideae – A case of parallel chromosomal evolution. **American Journal of Botany**, v.87, n.5, p.735-747, 2000.

GUERRA, M. S. A situação da citotaxonomia de angiospermas nos trópicos e, em particular, no Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v.4, n.2, p.75-86, 1990.

GUERRA, M. **Introdução a citogenética geral**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1988, 142 p.

GUERRA, M. O uso do Giemsa na citogenética vegetal – comparação entre a coloração simples e o bandamento. **Ciência e Cultura**, v.35, p.190 – 193, 1983.

GUINET, P. H. **Advances in legume biology: structure evolution, and biology of pollen in Leguminosae.** St. Louis: Missouri Botanical Garden, 1989, 842p.

HANSEN, A. K.; GILBERT, L. E.; SIMPSON, B. B.; CERVI, A. C.; JANSEN, R. K. Phylogenetic relationships and chromosome number evolution in *Passiflora*. **Systematic Botany**, v.31, p.138-150, 2006.

HEITZ, E. Das heterochromatin der moose. I. Jabet. **Wiss. Bot**, v.69, p.762-818, 1928.

HOLLIDAY, R. (1984). The biological significance of meiosis. Symposium of the Society Exp. **Biology** v.38, p.381-394, 1984.

INGLEZ DE SOUSA, J. S.; MELETTI, L. M. M. **Maracujá: espécies, variedades e cultivo.** Piracicaba: FEALQ, 179 p. (Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, 3), 1997.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. **Plant Systematics - A Phylogenetic approach**, 464p. New York: Inc. Press, 1999.

KARSBURG, I. V. **Citogenética, eletroforese e concentração de proteínas totais em cinco espécies da família Urticaceae do Rio Grande do Sul.** 2002. 104 p. Dissertação (Mestrado)–Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2002.

KILLIP, E. P. The American species of Passifloraceae. Publications of the Field Museum of Natural History, **Botanical Series**, v.19, 1-613, 1938.

LIMA, A. A.; CUNHA, M. A. P. da. **Maracujá: produção e qualidade na passicultura.** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, cap. 1, p.13-36, 2004.

LOGUERCIO, A. P.; BATTISTIN, A. Microsporogênese de nove acessos de *Syzygium cumini* L. Myrtaceae oriundos do Rio Grande do Sul – Brasil. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v.11, n.1, p.95-106, 2004.

LOGUERCIO, A. P. **Microsporogênese, eletroforese e atividade antimicrobiana de *Syzygium cumini* (L.) Skeels oriundo do Rio grande do Sul.** 2003. 89 p. Tese (Doutorado)–Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2003.

LOPES, S. C. **Citogenética do maracujá, *Passiflora* spp.** In: SÃO JOSÉ, A. R., FERREIRA, F. R. & VAZ, R. L. (Ed.) A cultura do maracujá no Brasil. Jaboticabal: FUNEP, p.201-209, 1991.

MACDOUGAL, J. M.; FEUILLET, C. **Systematics.** In: ULMER, T. & MACDOUGAL, J. M. *Passiflora: Passionflower of the World.* Portland: Timber Press, cap. 2, p.27-31, 2004.

MAYEDA, L. Y.; VIEIRA, M. L. C. Estudo cariotípico de três espécies do Gênero *Passiflora* (Passifloraceae). **Genetics and Molecular Biology**, v.18 p.426. Suppl., 1995.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOT, M. D.; BERNACCI, L. C.; PASSOS, I. R. da S. **Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro.** In: FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V. & BRAGA, M. F. (Ed.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, cap. 3, p. 55-78, 2005.

MELETTI, L. M. M.; BRUCKNER, C. H. Melhoramento genético. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. (Ed.). **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado.** Porto Alegre: Cinco Continentes, p.345-385, 2001.

MELETTI, L. M. M.; MAIA, M. L. **Maracujá: produção e comercialização.** Campinas: Instituto Agronômico. 62p. (Boletim Técnico, 181), 1999.

MELO, N. F.; GUERRA, M. Variability of the 5S and 45S DNAr Sites in Passifloraceae L. Species with Distinct Base Chromosome numbers. **Annals of Botany**, London, v.92, p.309-316, 2003.

MELO, N. F. **Caracterização citogenética de espécies silvestres e cultivadas de maracujazeiro (*Passiflora* spp.).** 2002. 125 p. Tese (Doutorado)-Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2002.

MELO, N. F.; CERVI, A. C.; GUERRA, M. Karyology and cytotaxonomy of the genus *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Plant Systematics and Evolution**, 226: 69-84, 2001.

MENDES, M. da S. **Viabilidade do grão de pólen de *Solanum* spp.** 1994. 76 p. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1994.

MORAES, I. C. R. de. **Caracterização citogenética e da biologia reprodutiva de três espécies do gênero *Hypericum* L. (Clusiaceae).** 2007. 64 p. Tese (Doutorado)-Instituto Agronômico, Campinas-SP, 2007.

MOSCONE E. A.; LAMBROU, M.; EHRENDORFER, A. Fluorescent chromosome banding in the cultivated species of *Capsicum* (Solanaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 202, p. 37-63, 1996.

NAKAMURA, R.; KITAMURA, S.; INOUE, M.; OHMIDO, N.; FUKUI, K. Karyotype analysis of *Nicotina kawakamii* Y. Ohashi using DAPI banding and rDNA FISH. **Theoretical and Applied Genetics**, v.102, p.810-814, 2001.

NUNES, T. S.; QUEIROZ, L. P. A família Passifloraceae na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v.1, p.33-46, 2001.

OLIVEIRA, J. C. de.; RUGGIERO, C. **Recursos Genéticos de Passiflora.** In: FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V. & BRAGA, M. F. (Ed.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, cap. 6, p. 143-158, 2005.

OLIVEIRA, J. C. de.; RUGGIERO, C. **Aspectos sobre o melhoramento do maracujazeiro amarelo.** In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO. Anais... Jaboticabal: FUNEP, p.292-302, 1998.



COELHO, M. do S. E. Caracterização citogenética de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg., *P. cincinnata* Mast. e seu híbrido interespecífico.

OLIVEIRA, J. C. de.; NAKAMURA, K.; MAURO, A. O.; CENTURION, M. A. P. C. da. **Aspectos gerais do melhoramento do maracujazeiro**. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.). Maracujá: produção e mercado. Vitória da Conquista: UESB - DFZ, p.27-37, 1994.

OLIVEIRA, J. C. **Melhoramento genético**. In: RUGGIERO, C. (Ed.) Cultura do maracujazeiro. Ribeirão Preto: L. Summa, p.218-246, 1987.

OVALLE, F. R. **Citotaxonomia molecular do gênero *Callisia* Loeffl. Commelinaceae**. 2007. 48 f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.

PALMA-SILVA, C.; SANTOS, D. G.; KAERCHUK-SANTOS, E.; BODANESE-ZANETTINI, R. Chromosome numbers, meiotic behavior, and pollen viability of species of *Vriesea* and *Aechmea* genera (Bromeliaceae) native to Rio Grande do Sul, Brazil. **Am J Bot.**, 91, 804-807, 2004.

PANDOLFI, V. **Microsporogênese em *Solanum commersonii***. 1998. 65 f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1998.

PARDUE, M. L.; GALL, J. G. Chromosomal localization of the mouse satellite DNA. **Science**, v. 168, p. 1356-1358, 1970.

PARDUE, M. L.; GALL, J. G. Molecular hybridization to radioactive DNA to the DNA of cytological preparations. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 61, p. 600-604, 1969.

PASSOS, V. M. **Delimitação específica de *Passiflora galbana* Mast. e *Passiflora mucronata* Lam. Através de marcadores moleculares, dados morfométricos e citogenéticos**. 2007. 167 f. Tese (Doutorado)-Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana-BA, 2007.

PASSOS, I. R. S. **Comportamento *in vitro* em *Vitis* ssp. e em *Passiflora nitida* HBK**. 1999. 122 f. Tese (Doutorado)-Piracicaba: Universidade de São Paulo, 1999.

PEDROSA, A.; VALLEJOS, C. E.; BACHMAIR, A.; SCHWEIZER, D. Integration of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) linkage and chromosomal maps. **Theor Appl Genet**, 106:205–212, 2003.

PEDROSA, A.; GITAÍ, J.; SILVA, A. E. B.; FELIX, L.; GUERRA, M. Citogenética de Angiospermas coletadas em Pernambuco – V. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 49 – 60, 1999.

PEÑALOZA, A. P. S. **Caracterização de componentes biológicos da produção de sementes de *Arachis pintoi* (Leguminosae)**. 1995. 82 f. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Tecnologia, Universidade de Brasília, Brasília, 1995.

REDI, C. A.; GARAGNA, S.; ZACHARIAS, H.; ZUCCOTTI, M.; CAPANNA, E. The other chromatin. **Chromosoma**, v. 110, p. 136-147, 2001.

REGO, M. M.; BRUCKNER, C. H.; SILVA, E. A. M.; FINGER, F. L.; SIQUEIRA, D. L.; FERNANDES, A. A. Self-incompatibility in passion fruit: evidence of two locus genetic control. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 98, p.564-568, 1999.

ROGATTO, S. R.; RAINHO, C. A. **Citogenética molecular**. In: ROGATTO, S. R. Citogenética sem risco: biossegurança e garantia de qualidade. São Paulo: FUNPEC, p. 134-152, 2000.

RUGGIERO, C. **Maracujá**. Ribeirão Preto: Legis Summa, 1987, 250p.

SAZIMA, I.; SAZIMA, M. (1978). Bat pollination of the passion flower, *Passiflora mucronata*, in southeastern Brazil. **Biotropica**, v.10, 100-109, 1978.

SCHWAZACHER, T.; SCHWEIZER, D. Karyotype analysis and heterochromatin differentiation with C-banding and fluorescent counterstaining in *Cephalanthera* (Orchidaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v.141, p.91-113, 1982.

SCHWEIZER, D. Reverse fluorescent chromosome banding with Cromomicin and DAPI. **Chromosoma**, v.58, p.307-354, 1976.

SNOU, N.; MACDOUGAL, J. M. New chromosome reports in *Passiflora* (Passifloraceae). **Systematic of Botany**, v.18, p.261-273, 1993.

SOARES-SCOTT, M. D.; MELETTI, L. M. M.; BERNACCI, L. C.; PASSOS, I. R. S. **Citogenética clássica e molecular em *Passifloras***. In: Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. In: FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V. & BRAGA, M. F. (Ed.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, cap. 9, p.213-237, 2005.

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**, v. 56,n. 1, p. 129-138, 2003.

SOARES-SCOTT, M. D.; MAGOLIN, C. A.; RECCO-PIMENTEL, S. M. Análise citogenética e métodos de isolamento do DNA gênomico de espécies e híbridos de *Passiflora* L. **Genetics and Molecular Biology**, v.22, p.381. Suppl., 1999.

SOARES-SCOTT, M. D. **Caracterização citogenética de algumas espécies e híbridos inter-específicos de *Passiflora***. 1998. 89 f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

SOUSA, M. M. de.; PEREIRA, T. N. S.; VIEIRA, M. L. Cytogenetic studies in some species of *Passiflora* L. (Passifloraceae): A review emphasizing Brazilian species. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, p.01-18, 2007.

SOUSA, M. M. de.; PEREIRA, T. N. S.; VIANA, A. P.; SILVA, L. C.; SUDRÉ, C. P. Pollen viability and fertility in wild and cultivated *Passiflora* species (Passifloraceae). **Beitrag zur Biologie der Pflanzen**, v.73, p.1-18, 2004.

COELHO, M. do S. E. Caracterização citogenética de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg., *P. cincinnata* Mast. e seu híbrido interespecífico.

SOUSA, M. M. de; PEREIRA, T. N. S.; SILVA, L. D. A. C.; REIS, D. S. da S.; SUDRÉ, C. P. Karyotype of six *Passiflora* Species collected in the state of Rio de Janeiro. **Cytologia**, 68 (2): 165-171, 2003a.

SOUSA, M. M. de; PEREIRA, T. N. S.; VIANA, A. P.; PEREIRA, M. G.; BERNARCCI, L.C.; SUDRÉ, C. P.; SILVA, L. C. Meiotic irregularities and pollen viability in *Passiflora edmundoi* Sacco (Passifloraceae). **Caryologia**. 56; 157-165, 2003b.

SOUSA, M. M.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese e Microgametogênese Associadas ao tamanho do botão floral, antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Ciência e Agrotecnologia**, v.26, n.6, p.1209-17, 2002.

SOUZA, J. S. I. de.; MELETTI, L. M. M. **Maracujá: espécies, variedades, cultivo**. Piracicaba: FEALQ. 177p. il., 1997.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005, 640p.

STOREY, W. B. Chromosome numbers of some species of *Passiflora* occurring in Hawaii. **Pacific Science**, v. 4, p.37-42, 1950.

SYBENGA, J. **Forty years of cytogenetics in plant breeding a personal view**. In: LELLEY, T. Current Topics in plant cytogenetics related to plant improvement. Viena: Universitäts Verlag, p.22-33, 1998.

SYKOROVÁ, E.; FAJKUS, J.; MEZNÍKOVÁ, M.; LIM, K. Y.; NEPLECHOVÁ, K.; BLATTNER, F. R.; CHASE, M. W.; LEITCH, A. R. Minisatellite telomeres occur in the family Alliaceae but are lost in *Allium*. **American Journal of Botany**, v.93, n.6, p.814–823, 2006.

TECHIO, V. H. **Meiose e análise genômica em *Pennisetum spp.*** 2002. 104 f. Tese (Doutorado)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

TEDESCO, S. B. **Morfologia, microsporogênese e modo de reprodução das espécies Brasileiras do gênero *Adesmia* DC. (Leguminosae)**. 2000. 163 f. Tese (Doutorado)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

TOMÉ, L. G. O. **Meiose e viabilidade de pólen de *Solanum commersonii* ssp. e *Solanum tuberosum* L.** 2004. 73 f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

ULMER, T.; MACDOUGAL, J. M. **Passiflora: Passionflower of the Wold**. Timber Press, Inc. Cambridge, 2004.

VANDERPLANK, J. **Passion flowers**. 2 ed. Cambridge: The MIT, 1996, 224p.

COELHO, M. do S. E. Caracterização citogenética de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg., *P. cincinnata* Mast. e seu híbrido interespecífico.

VARASSIN, I. G.; TRIGO, J. R.; SAZIMA, M. The role of nectar production, flower pigments and odour in the pollination of four species of *Passiflora* (Passifloraceae) in south-eastern Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.136, p.139-152, 2001.

VARGAS, S. M. et al. **Caracterização meiótica de *C. argentea***. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 50., Florianópolis. Anais... Florianópolis: Costão do Santinho Resort, 2004.

VIEIRA, M. L. C.; BARBOSA, L. V.; MAYEDA, L. Y. **Citogenética dos Maracujazeiros (*Passiflora* spp.)**. In: LIMA, A. A. & CUNHA, M. A. P. da. Maracujá: produção e qualidade na passicultura. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, cap. 1, p. 45-66, 2004.

#### **4. MANUSCRITOS PARA PUBLICAÇÃO**

---

**4.1. Estudo da mitose, comportamento meiótico e viabilidade polínica em *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. e *P. cincinnata* Mast. e seu híbrido interespecífico**

Trabalho a ser enviado à revista **Caryologia**.

## **Estudo da mitose, comportamento meiótico e viabilidade polínica em *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg., *P. cincinnata* Mast. e seu híbrido interespecífico**

Maria do Socorro E. Coelho<sup>1</sup>, Francisco Pinheiro de Araújo<sup>2</sup>, Leonardo P. Felix<sup>1</sup> & Nataniel F. de Melo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Citogenética Vegetal, Setor Botânica, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB, Brasil.

<sup>2</sup>Embrapa Semi-Árido, Petrolina-PE.

### **Resumo**

No presente trabalho foi estudado a mitose, o comportamento meiótico e a viabilidade polínica em *P. edulis* f. *flavicarpa*, seis acessos de *P. cincinnata* e dois indivíduos resultantes do cruzamento dessas duas espécies. As espécies progenitoras e seu respectivo híbrido apresentaram  $2n=18$  cromossomos, cariótipos simétricos e núcleo interfásico do tipo semi-reticulado, porém foram observadas diferenças no comprimento médio dos cromossomos e no comprimento total do genoma. As espécies parentais mostraram comportamento meiótico regular e viabilidade polínica normal, enquanto no híbrido, o indivíduo 1 mostrou maior frequência de irregularidades meióticas e baixa viabilidade polínica em comparação ao indivíduo 2, que apresentou comportamento meiótico normal, segregação regular e alta viabilidade polínica. Os resultados apresentados no híbrido mostraram estabilidade no número cromossômico.

**Palavras chave:** *Passiflora*, cariótipo, hibridação e melhoramento genético.

### **Abstract**

In the present work we studied the mitotic, meiotic behavior and pollen viability in *P. edulis* f. *flavicarpa*, six *P. cincinnata* accessions and two hybrid individuals resulting from crossing these two species. The ancestors species and their respective hybrid had presented  $2n = 18$  chromosomes, symmetrical karyotypes and semi-reticulate interphase nuclei, but differences were observed in the average length of chromosomes and the total length of the genome. The parental species showed regular meiotic behavior and pollen viability normal, while in the hybrid, individual 1 showed a higher frequency of meiotic irregularities and low pollen viability as compared to individual 2, which

showed normal meiotic behavior, segregation regular and high pollen viability. The results presented in the hybrid showed stability in chromosome number.

**Key words:** *Passiflora*, karyotype, hybridization and genetic improvement.

## Introdução

O gênero *Passiflora* L. compreende trepadeiras herbáceas ou lenhosas com gavinhas axilares, bem como ervas ou arbustos, sendo constituído por cerca de 530 espécies, a maioria originária dos neotrópicos e distribuição predominantemente tropical e subtropical (Ulmer e MacDougal, 2004; Hansen et al., 2006), com aproximadamente 140 espécies para o Brasil (Cervi, 2006). A maioria das espécies possui interesse agrônomico, destacando-se *P. edulis* f. *flavicarpa* Deg. como a espécie comercial mais cultivada, representando cerca de 95% dos pomares de *Passiflora* (Meletti e Brückner, 2001) e *P. cincinnata*, conhecida popularmente como maracujá do mato, constituindo uma importante fonte de genes úteis aos programas de melhoramento genético.

A caracterização genética de diferentes acessos de bancos de germoplasma constitui-se uma importante fonte de dados para melhoristas e conservacionistas, uma vez que permite um melhor gerenciamento do “pool” gênico, bem como uma seleção mais eficiente dos recursos genéticos, facilitando a detecção da variabilidade genética para fins de melhoramento genético ou com fins biotecnológicos (Benko-Iseppon, 2001). No entanto, o estudo citogenético em espécies de importância econômica pode contribuir de forma significativa, e com isso, o número cromossômico torna a característica mais utilizada, aliada a outras características citológicas, auxilia no entendimento das variações cariológicas envolvidas na evolução de um grupo, na delimitação taxonômica de espécies (Guerra, 2000), assim como, em programas de melhoramento. Muitas vezes, a simples indicação do número cromossômico pode auxiliar na indicação e escolha de materiais a serem utilizados em cruzamentos viáveis (Sybenga, 1993; 1998).

Os híbridos de *Passiflora* são resultados de cruzamentos inter ou intraespecíficos de genitores com genótipos diferentes, originando espécies que comportam genes de interesse (Vanderplank, 2000). Porém, neste gênero muitas das espécies apresentam características agrônomicas úteis, principalmente as espécies



silvestres detentoras da ampla diversidade genética, como é o caso de *P. cincinnata* que além de possuir plantas vigorosas, apresenta genes de resistência a estresses bióticos e abióticos, sendo considerado um bom genitor, visto que *P. edulis* f. *flavicarpa* apesar de ser bastante produtiva apresenta problemas fitossanitários. No entanto, alguns autores relatam ter havido sucesso na obtenção de híbridos de *Passiflora*, através da utilização de técnicas de hibridação sexuada (Ulmer e MacDougal, 2004), principalmente as espécies com  $2n=18$  (Storey, 1950; Barbosa, 1998).

Neste contexto, o presente trabalho objetivou caracterizar a mitose, meiose e a viabilidade polínica em *P. edulis* f. *flavicarpa*, em seis acessos de *P. cincinnata* e dois indivíduos híbridos dessas duas espécies, visando subsidiar futuros programas de melhoramento que proporcionem uma maior resistência ao maracujá.

## Material e Métodos

O material analisado foi proveniente da Coleção de base da Embrapa Semi-Árido – CPATSA, compreendendo seis acessos de *P. cincinnata*, um de *P. edulis* f. *flavicarpa* e dois indivíduos híbridos provenientes deste cruzamento (Tabela 1). Os dados da caracterização da variabilidade morfoagronômica dos acessos de *P. cincinnata* encontram-se discriminados em Araújo et al. (2008) e Araújo (2007). Os indivíduos híbridos sexuais (cruzamento interespecífico) *P. cincinnata* x *P. edulis* f. *flavicarpa*, foram obtidos pelo Dr. Francisco Pinheiro de Araújo, Embrapa Semi-Árido – CPATSA, formados a partir do pólen de progenitores masculinos de *P. cincinnata*. Nesse caso, o indivíduo híbrido 1 é proveniente do progenitor masculino 1 enquanto o indivíduo híbrido 2 é proveniente do progenitor masculino 2. As exsicatas foram depositadas no herbário TSAH da Embrapa Semi-Árido (Tabela 1). Todo material foi cultivado em vasos plásticos contendo areia lavada e solo agrícola na proporção de 1:1 e mantidas em casa de vegetação da Embrapa Semi-Árido. As análises citogenéticas foram realizadas nos Laboratórios de Citogenética Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB e de Biotecnologia Vegetal da Embrapa Semi-Árido, Petrolina-PE.

Para as análises mitóticas, pontas de raízes foram pré-tratadas com 8-hidroxiquinoleína 0,002 M durante 24 horas à aproximadamente 8°C, e fixadas em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético glacial, v/v). Para as análises meióticas, botões florais foram fixados diretamente no campo em solução Carnoy. As fixações foram mantidas

por 2-24 horas à temperatura ambiente, em seguida, estocadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até posterior análise. As lâminas foram preparadas após lavagem e hidrólise em HCl 5N, por 20 minutos (mitose) e 5-10 minutos (meiose), em seguida, foram esmagados em ácido acético 45%, congeladas em nitrogênio líquido para remoção da lamínula, secas ao ar, coradas convencionalmente com Giemsa 2% e montadas com Entellan (Guerra e Souza, 2002). As melhores células foram capturadas com câmera fotográfica digital Canon com resolução de 4.0 megapixels através do programa ZoomBrowser Ex acoplada a um microscópio de fluorescência Leica DM 2000.

Para a identificação do número e morfologia cromossômica, pelo menos cinco metáfases foram examinadas por indivíduo, das quais três melhores foram utilizadas para as medições cromossômicas e confecção dos idiogramas. Todas as medições foram realizadas com o auxílio do programa Image Tool (Donald et al. 2007). Foram medidos cromossomos de metáfases bem espalhadas, calculando-se o comprimento dos braços curtos (BC), braços longos (BL), sendo organizado em ordem por tamanho decrescente do braço curto. Foi adotada a nomenclatura cromossômica sugerida por Guerra (1988), usando os símbolos M, SM, A e T para indicar metacêntrico, submetacêntrico, acroscêntrico e telocêntricos respectivamente. Além disso, foram estimados os seguintes parâmetros cariológicos: somatório dos comprimentos cromossômico total (TCL), comprimento cromossômico médio (mCL), razão entre o maior e o menor braço (BL/BC) e comprimento relativo (CA/TCL). Esses dados foram utilizados na confecção dos idiogramas da Figura 1.

No comportamento meiótico dos cromossomos foi avaliada cerca de dez lâminas para cada espécie e quarenta por indivíduo híbrido. Para a análise de viabilidade do pólen, botões florais em estágio de pré-antese foram coletados e fixados em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético glacial, v/v). Posteriormente, as anteras foram esmagadas na lâmina e coradas com carmim acético a 1,2% (Radford et al., 1974). Foram contados os grãos de pólen viáveis e inviáveis de cinco campos aleatórios de cinco lâminas em objetiva de aumento de 20x, sendo considerados viáveis os que apresentaram coloração intensa no seu citoplasma e inviáveis os que apresentaram tamanho normal com coloração fraca e/ou tamanho reduzido. Foram calculados os índices médios com seus respectivos desvios padrão.

## Resultados

As espécies progenitoras e o híbrido interespecífico apresentaram cariótipos com  $2n=18$ , cromossomos metacêntricos a submetacêntricos e núcleo interfásico do tipo semi-reticulado. A tabela 1 sumariza as características cariomorfológicas do material estudado. Embora os acessos de *P. cincinnata* tenham o mesmo número cromossômico, os mesmos apresentaram diferenças em relação ao tamanho cromossômico, com valores para o comprimento cromossômico total de 16,03  $\mu\text{m}$  no acesso B0549 e 23,36  $\mu\text{m}$  no acesso T0336. Sendo observado também nos indivíduos híbridos, 14,92  $\mu\text{m}$  no indivíduo 1 e 18,72  $\mu\text{m}$  no indivíduo 2 (Tabela 1).

O comprimento relativo (CR) dos cromossomos, por representar a proporção de cada cromossomo dentro do total do lote haplóide (CA/TCL) é uma medida confiável para comparar acessos e até mesmo espécies diferentes. Em termos individuais, nos acessos de *P. cincinnata* o cromossomo mais longo (cromossomo I) representou 15,34% do total do genoma do acesso B0549 e 13,52% no acesso T0536. Já para o cromossomo mais curto (cromossomo 9), o maior valor encontrado foi observado no acesso J0812, representando 9,07% do total do genoma, enquanto que, o menor valor foi observado no acesso F2220 representando 6,34%. Nos indivíduos híbridos, o maior e o menor comprimento relativo foram observados no indivíduo 2 (Tabela 2). As fórmulas cariotípicas não diferiram nos indivíduos em estudo, porém o índice de assimetria variou nos acessos e nos indivíduos híbridos (Tabela 1). Todos os indivíduos em estudo apresentaram quatro satélites com constrições secundárias (RON) terminais, localizados nos braços longos dos pares 7 e 9 de *P. edulis* f. *flavicarpa*, pares 4 e 6 de *P. cincinnata*, pares 4 e 9 do indivíduo híbrido 1 e pares 4 e 7 do indivíduo híbrido 2 (Figura 1).

A espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* e os acessos de *P. cincinnata* exibiram comportamento meiótico regular. O pareamento entre bivalentes foi normal observando-se 9 bivalentes na diacinese/metáfase I, sendo que em algumas células, dois desses bivalentes foram associados ao nucléolo e segregação regular dos cromossomos nas anáfases I e II, ambas sem formação de pontes anafásicas. Foi observada a formação de quatro micrósporos (tétrades) no final da esporogênese.

A viabilidade polínica foi alta nestas espécies, sendo 89,22% de polens viáveis para *P. edulis* f. *flavicarpa* e nos acessos de *P. cincinnata* os índices médios variaram de 67,03% no acesso B0549 a 98,24% no acesso C0701.

A análise meiótica nos indivíduos híbridos pode ser observada na Figura 2. O indivíduo 1 mostrou comportamento meiótico aparentemente regular com 9 bivalentes, no entanto células com irregularidades meióticas também foram observadas. Embora tenha ocorrido em baixo percentual, as irregularidades mais frequentes foram nas metáfases I e II com um ou dois cromossomos retardatários, cromossomos aderentes, pontes cromossômicas na anáfase I, desorientação na fibra do fuso na anáfase II e cromossomos retardatários na telófase I, assim como, algumas configurações cromossômicas como formação de univalentes e bivalentes na metáfase I. Para este indivíduo, a coloração com carmim acético mostrou grãos de pólen com irregularidades morfológicas, possuindo diversos tamanhos e sem conteúdo citoplasmático (sem coloração), resultando em apenas 11,95% de pólen viáveis.

O indivíduo 2 apresentou comportamento meiótico regular (Figura 2), verificando um pareamento normal com 9 bivalentes na diacinese/metáfase I, resultando em uma segregação regular dos cromossomos na anáfase I. Porém, foram observadas algumas configurações cromossômicas, com formação de univalentes e bivalentes.

A viabilidade de pólen no indivíduo 2 foi alta. A coloração com carmim acético mostrou grãos de pólen normais superior a 88,7% sugerindo um indivíduo fértil, no entanto, grãos de pólen inviáveis com tamanho inferior e/ou sem conteúdo citoplasmático também foram observados em baixa frequência.

## Discussão

O gênero *Passiflora* possui ampla variação morfológica, indicando a ocorrência de variabilidade genética. Sendo assim, a espécie *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* apresenta-se como trepadeira sub-lenhosa, glabra, com folhas trilobadas. As flores são axilares e solitárias, hermafroditas, brancas com franja roxa. Filamentos da coroa são púrpura na base e brancos no ápice, a baga é globosa, com numerosas sementes (Lima e Cunha, 2004) e glândulas nectaríferas localizadas no ápice do pecíolo. Por outro lado, a espécie *Passiflora cincinnata*, caracteriza-se como trepadeira glabra, folhas 3-5 palmatipartidas. As flores são azul-rosadas ou violeta. Filamentos da coroa são púrpura na parte inferior e azul-pálido ou escuro na parte superior. Os frutos são bagas, globosos ou ovóides, com numerosas sementes (Nunes e Queiroz, 2001) e glândulas nectaríferas localizadas na base do pecíolo (Figura 3).

Por outro lado, os indivíduos híbridos em estudo mostraram características morfológicas distintas (Figura 3). O indivíduo 2 foi mais semelhante a *P. edulis* f. *flavicarpa* (progenitor feminino), podendo ser observado nas flores, frutos, folhas trilobadas e na localização das glândulas nectaríferas. Já o indivíduo 1 apresenta características mais semelhantes ao progenitor masculino (*P. cincinnata*) com folhas trilobadas profundamente recortadas e pentalobadas, no entanto, mostrou-se intermediário as formas progenitoras em relação a localização das glândulas nectaríferas.

A análise citogenética realizada nas espécies progenitoras e nos indivíduos híbridos permitiu observar cariótipos com  $2n=18$  cromossomos. O número e a morfologia cromossômica observada em *P. edulis* f. *flavicarpa* corroboram os estudos realizados por Melo et al. (2001). Porém, divergências em relação ao número e a posição dos satélites foram encontradas por Soares-Scott et al. (1999) que observaram três satélites, Soares-Scott (1998) identificou satélites nos pares 4 e 7 e Mayeda e Vieira (1995) que apontaram satélite no par oito.

No presente trabalho foram identificados quatro satélites nos braços longos dos cromossomos de *P. cincinnata*. Porém, em estudo com outras espécies do gênero, Souza et al. (2003) apontaram satélites em *P. alata* Dryand., *P. malacophylla* Mast., *P. edmundoi* Sacco, *P. mucronata* Lam., *P. galbana* Mast. e *P. quadrangularis* L.. Melo e colaboradores (2001) identificaram satélites em *P. capsularis* L., *P. misera* Kunth, *P. morifolia* Mast., *P. coccinea* Aubl. e *P. nitida* Kunth. Passos (2007) verificou a ocorrência de três satélites em *P. mucronata* e dois em *P. galbana*. Beal (1973b) identificou quatro pares de cromossomos satelitados em *P. maliformes* L., enquanto Soares-Scott (1998) constatou dois pares de satélites em *P. edulis*, dois em *P. incarnata* L. e três em *P. setacea* DC. Alguns autores observaram polimorfismo intraespecífico, principalmente em relação ao número e localização dos satélites (Oliveira e Coleman, 1996; Mayeda, 1997; Souza et al., 2003c). Porém, Mayeda (1997) sugeriu que a presença de dois pares de cromossomos maiores (cariótipo assimétrico) e dois satélites como características do gênero de *Passiflora*.

Estudos realizados por Soares-Scott et al. (1999; 2003) permitiram observar  $2n=18$  cromossomos no híbrido sexual *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. setacea* e  $2n=36$  no híbrido somático *P. edulis* f. *flavicarpa* + *P. incarnata*. Outros híbridos foram obtidos, e posteriormente, foram caracterizados citogeneticamente em termos de números cromossômicos. Os híbridos sexuais foram analisados por Storey (1950) *P. alata* x *P.*

*caerulea*, *P. racemosa* x *P. coccinea* e *P. maliformis* x *P. laurifolia*  $2n=18$ , Soares-Scott et al. (1995) *P. edulis* x *P. alata*  $2n=18$ , Beckett (1960) *P. quadrangularis* x *P. racemosa*  $2n=27$  e Janaki Ammal (1945) *P. racemosa* x *P. coccinea*  $2n=18$  e nos híbridos somáticos por Dornelas (1995) *P. edulis* + *P. amethystina*  $2n=36$ , *P. edulis* + *P. cincinnata*  $2n=36$  e *P. edulis* + *P. giberti*  $2n=36$ , Knight (1991) *P. edulis* + *P. incarnata*  $2n=36$ .

Nos indivíduos híbridos em estudo foram localizados satélites nos braços longos dos pares 4 e 9 do indivíduo 1 e nos pares 4 e 7 do indivíduo 2. Soares-Scott (1998) identificou três satélites nos braços longos do híbrido sexual *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. setacea* e quatro no híbrido somático *P. edulis* f. *flavicarpa* + *P. incarnata*.

As análises realizadas permitiram observar as variações na morfologia dos cromossomos. No comprimento total do genoma, variações puderam ser observadas tanto nas espécies/acessos como no híbrido. Os comprimentos médios dos cromossomos variaram de 2,30  $\mu\text{m}$  em *P. edulis* f. *flavicarpa*, 1,78  $\mu\text{m}$  a 2,59  $\mu\text{m}$  nos acessos de *P. cincinnata* e 1,66  $\mu\text{m}$  (indivíduo híbrido 1) a 2,04  $\mu\text{m}$  (indivíduo híbrido 2), os mesmos são considerados pequenos quando comparados aos cromossomos de outras espécies do gênero. Soares-Scott et al. (2005) afirmaram que o gênero *Passiflora* possui uma amplitude significativa para tamanho e número de cromossomos, observando comprimentos médios entre 1,63 a 3,73  $\mu\text{m}$  nas espécies estudadas. Melo et al. (2001) analisando o complemento lote haplóide nas espécies *P. morifolia*, *P. tricuspis* Mast. e *P. misera*, notaram que as espécies possuem 13,43, 10,89 e 9,93  $\mu\text{m}$ , e que a proporção de tamanho dos cromossomos foi de 1,72, 1,67 e 1,87  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Vieira et al. (2004) identificou nos taxa estudados maior comprimento do lote haplóide em *P. giberti* e o menor em *P. incarnata*. Porém, alguns autores verificaram comprimento cromossômico total aproximado aos do presente trabalho em *P. edulis* f. *flavicarpa* de 19,3  $\mu\text{m}$  (Oliveira e Coleman, 1996), 18,8  $\mu\text{m}$  (Mayeda, 1997) e 25,82  $\mu\text{m}$  para *P. cincinnata* (Oliveira e Coleman, 1996).

A morfologia cromossômica observada nas espécies e híbrido variou de meta a submetacêntrica, estando em concordância com alguns autores que relatam que as espécies deste gênero apresentam basicamente cromossomos metacêntricos e submetacêntricos, com cariótipo simétrico (Beal, 1973; Oliveira e Coleman, 1996; Barbosa e Vieira, 1997a,b; Melo et al., 2001; Soares-Scott et al., 2005).

Os indivíduos híbridos em estudo apresentaram cromossomos pequenos quando comparado com o comprimento médio de outros híbridos interespecíficos de *Passiflora* (Soares-Scott, 1998), sendo que o indivíduo 1 foi o que apresentou o menor comprimento médio e comprimento total do genoma. Porém, o comprimento médio dos mesmos está dentro da média de comprimento de grande parte das espécies do gênero *Passiflora* (Soares-Scott et al., 2005) e até mesmo de alguns acessos de *P. cincinnata* do presente trabalho.

As análises realizadas no comportamento meiótico das espécies genitoras permitiram observar pareamento regular com 9 bivalentes e segregação normal, embora tenha surgido algumas células com irregularidades. Contudo, essas irregularidades não afetaram a fertilidade dessas espécies, pois ocorreram em baixo percentual. Os estudos meióticos realizados por Storey (1950), Beal (1969a, b) e Barbosa (1998) confirmam os dados do presente trabalho. Posteriormente, Melo et al. (2001) observaram esse mesmo comportamento com 9 bivalentes e segregação normal na anáfase em *P. cincinnata*, assim como em *P. racemosa* Brot. e *P. setacea*, com exceção de *P. jilekii* Wawra onde foram observados tetravalentes. Souza et al. (2003) constatou meiose regular em *P. edmundoi* e índice meiótico igual a 97,22%.

De acordo com Barbosa e Vieira (1997) as irregularidades mais frequentes nas espécies de *Passiflora* são cromossomos retardatários, cromossomos precoces, desorientação da segregação dos cromossomos metafásicos e anafásicos, anormalidades na orientação do fuso e assincronismo, resultando em produtos também anormais, como díades, tríades e políades, microgametas, células aneuplóides, poliplóides e por fim, pólenes inviáveis. Da mesma forma, Barbosa et al. (1998) verificaram a presença de cromossomos atrasados, com ascensão precoce e pontes anafásicas em 2% das células analisadas de *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. cincinnata*, *P. alata*, *P. amethystina* e *P. giberti*.

A presença de dois bivalentes mais condensados associados ao nucléolo, indica a existência de pelo menos dois pares de cromossomos com DNAr 45S. Essa tendência foi constatada por Barbosa (1998) em 57, 67, 73, 83 e 100% das células analisadas de *P. alata*, *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. cincinnata*, *P. giberti* e *P. amethystina*, indicando existir pelo menos quatro sítios de DNAr. Essas observações confirmaram os dados de Mayeda (1997) que encontrou duas regiões organizadoras de nucléolo nestas espécies.

A formação de tétrades no final da esporogênese revela uma meiose completamente regular em termos de divisão celular e conseqüentemente com formação

de grãos de pólen viáveis. No entanto, o comportamento meiótico regular observado pôde ser confirmado posteriormente pelo alto percentual de viabilidade de pólen nestas espécies.

Alta percentagem de viabilidade polínica, semelhante à encontrada nas espécies em estudo, foi observada por Souza et al. (2003b; 2004) em *P. edmundoi*, Souza et al. (2004) e *P. cincinnata* e Souza et al. (2002) *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. setacea* e em *P. incarnata*.

Os percentuais de viabilidade do pólen nas espécies genitoras confirmam as informações sobre processos meióticos normais, pela alta viabilidade mostrada nestas espécies. Os resultados apresentados por Tomé (2004), com relação à viabilidade do pólen, vêm confirmar os dados de Mendes (1994) e Pandolfi (1998) que mostraram que as espécies selvagens normalmente produzem maior percentual de pólen viáveis, quando comparadas com espécies cultivadas.

Estudos realizados em híbridos interespecíficos F1 demonstraram instabilidade meiótica (Souza et al., 2008). De acordo com Soares-Scott et al. (2003), as diferenças no comportamento meiótico entre os híbridos são claras, o híbrido sexual mostrou meiose mais regular que o híbrido somático. Barbosa e Vieira (1997a, b) constataram irregularidades no comportamento meiótico do híbrido somático *P. edulis* f. *flavicarpa* + *P. cincinnata* e *P. edulis* f. *flavicarpa* + *P. amethystina*. Posteriormente, Soares-Scott et al. (2003) observaram irregularidades no comportamento meiótico do híbrido somático *P. edulis* + *P. incarnata*, assim como no híbrido sexual *P. edulis* x *P. setacea*.

Entre os fatores que colaboraram com a segregação irregular dos cromossomos, encontra-se a formação de fusos anormais. Portanto, faz-se necessário enfatizar que a correta formação das fibras do fuso é um fator que colabora com a precisa segregação dos cromossomos durante a mitose e a meiose, garantindo a divisão normal, a propagação das células e a sobrevivência das espécies.

A ocorrência de pontes cromossômicas apenas no indivíduo híbrido 1 leva a supor que as mesmas tenham sido geradas por cromossomos aderentes, uma vez que os mesmos ocorreram apenas neste indivíduo. Baptista-Giacomelli et al. (2000b) relataram que pontes cromossômicas podem ser geradas por cromossomos aderentes.

O comportamento meiótico normal e segregação regular no indivíduo 2 revelou uma meiose completamente regular em termos de divisão celular e conseqüentemente com formação de grãos de pólen viáveis, sugerindo um indivíduo



fértil. Já o indivíduo 1 mostrou uma meiose aparentemente regular, embora tenha ocorrido algumas irregularidades. No entanto, a viabilidade polínica foi considerada baixa, podendo ser decorrente das irregularidades meióticas. Assim, a regularidade meiótica e conseqüente viabilidade polínica dependem, principalmente, da homeologia cromossômica entre as espécies envolvidas no cruzamento.

Soares-Scott et al. (2003) verificaram diminuição da viabilidade polínica no híbrido sexual *P. edulis* x *P. setacea*. No entanto, Souza et al. (2002) notaram que *P. edulis* f. *flavicarpa* quando cruzada com outras espécies, ainda mantém a taxa de viabilidade de pólen superior a 70%. Em híbridos somáticos de *P. edulis* f. *flavicarpa* + *P. cincinnata* (Barbosa e Vieira, 1997a) e *P. edulis* f. *flavicarpa* + *P. amethystina* (Barbosa e Vieira, 1997b), o índice mais baixo de viabilidade polínica foi de 72,9%, em conseqüências de anormalidades meióticas observadas, como presença de univalentes, bivalentes, tetravalentes, e alterações, como a presença de cromossomos retardatários na placa metafásica e pontes anafásicas, que foram consideradas fatores causadores de grãos de pólen imperfeitos e conseqüentemente, inviáveis.

## **Conclusão**

Assim, os dados do presente trabalho revelam a importância da caracterização citogenética de espécies e acessos envolvidos em cruzamentos para suporte aos programas de melhoramento genético. Contudo, a obtenção de novos materiais genéticos com potencial para uso como porta-enxerto ou para a introgressão de genes de resistência ou tolerância a estresses bióticos e abióticos é de importância significativa no desenvolvimento de novos materiais para o Semi-Árido brasileiro.

## **Agradecimentos**

Os autores são gratos ao CNPq pelo auxílio financeiro e concessão da bolsa.

**Tabela 1.** Lista das espécies, acessos e híbrido de *Passiflora* analisados, incluindo local de coleta e herbário, além de características citogenéticas avaliadas em células mitóticas e viabilidade polínica. NC= número cromossômico, mCL= comprimento cromossômico médio, FC= fórmulas cariotípicas, TCL= comprimento cromossômicos total, TF%= índice de assimetria, VP= viabilidade polínica.

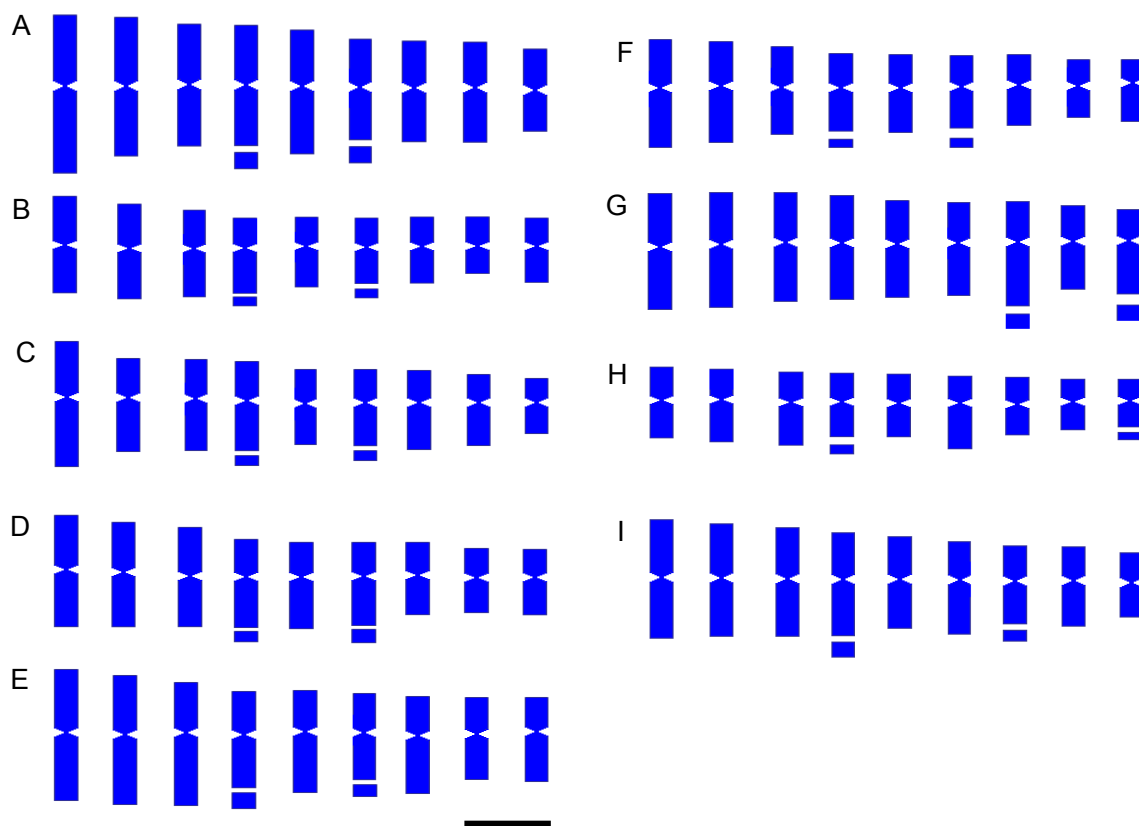
Espécie/acesso/híbrido	Local de coleta	Herbário - TSAH	NC (2n)	mCL	FC	TCL	TF	VP
				( $\mu\text{m}$ )		( $\mu\text{m}$ )	%	Média %
<i>P. cincinnata</i> /acesso								
C0701	Tremedal – BA	TSAH, 2387	18	2,49±0,48	14 m+4 sm	22,41	41,63	98,24±0,65
J0812	Juazeiro – BA	TSAH, 2388	18	1,97±0,41	14 m+4 sm	17,74	54,84	93,66±2,22
F2220	Ouricuri – PE	TSAH, 2389	18	2,41±0,55	14 m+4 sm	21,27	35,91	96,62±3,31
A0425	Nova Olinda - CE	TSAH, 2390	18	2,21±0,47	14 m+4 sm	19,89	43,08	89,73±6,73
T0336	S. J. do Belmonte - PE	TSAH, 2391	18	2,59±0,42	14 m+4 sm	23,36	41,22	97,59±1,65
B0549	Jaicós – PI	TSAH, 2392	18	1,78±0,43	14 m+4 sm	16,03	44,35	67,03±6,75
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>								
	Cultivada	TSAH, 2384	18	2,30±0,38	14 m+4 sm	21,66	44,92	89,22±5,0
Indivíduo híbrido 1	Cruzamento interespecífico	TSAH, 2385	18	1,66±0,26	14 m+4 sm	14,92	43,69	11,95±5,3
Indivíduo híbrido 2	Cruzamento interespecífico	TSAH, 2386	18	2,04±0,47	14 m+4 sm	18,72	44,49	88,7±1,95

A04, B05, C07, F22, J08 e T03 correspondem às respectivas Unidades Geoambientais de caracterização do zoneamento agroecológico do Nordeste onde os acessos foram coletados (Araújo et al., 2008; Araújo, 2007).

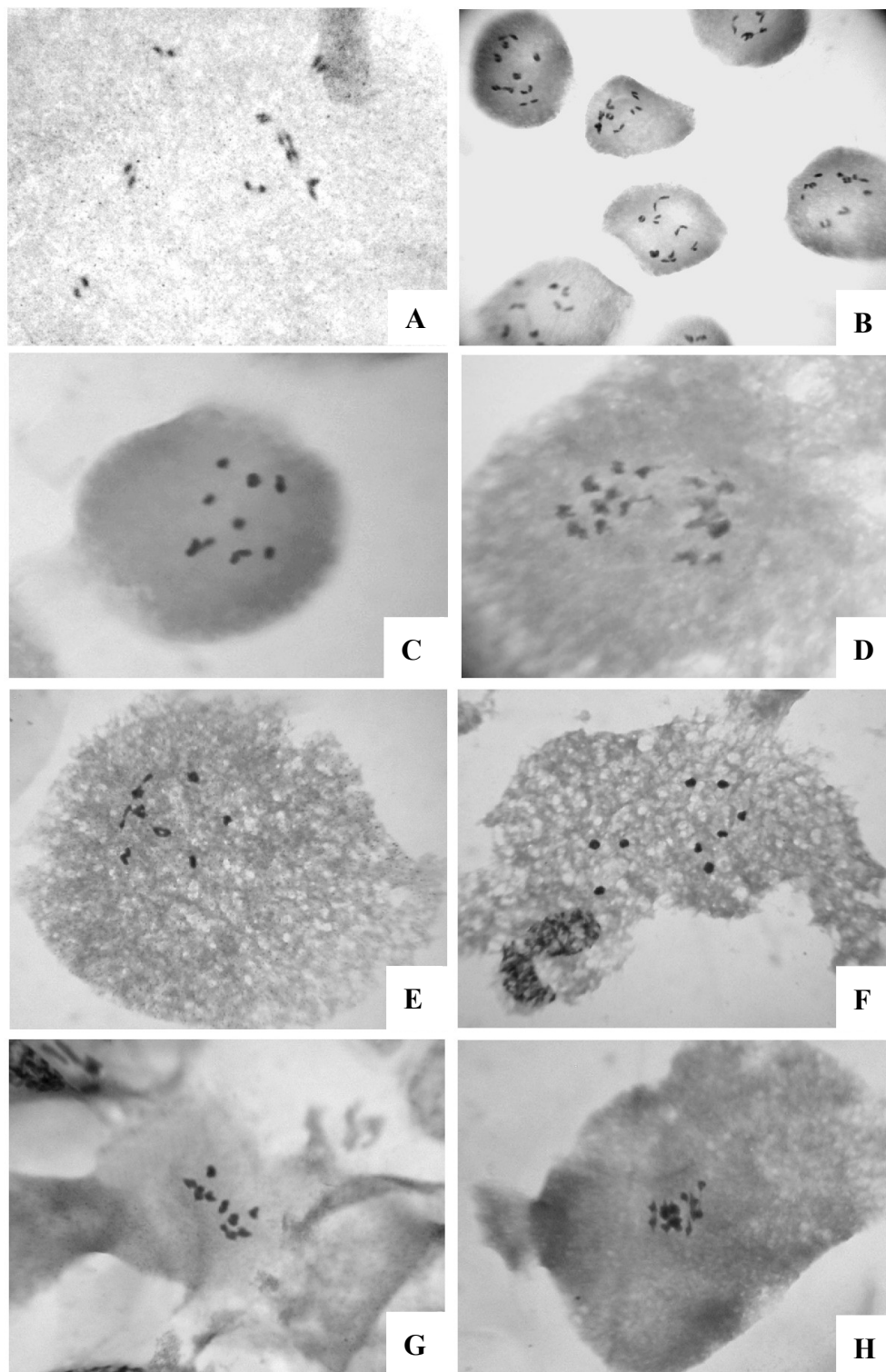
**Tabela 2.** Comprimentos médios ( $\mu\text{m}$ ) do braço curto (BC), braço longo (BL), comprimento absoluto (CA) e comprimento relativo (CR) em *P. edulis* f. *flavicarpa*, em acessos de *P. cincinnata* e no híbrido.

Espécies, acessos e híbridos		Cromossomos: média $\pm$ desvio padrão								
<i>P. cincinnata</i> /acessos		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
<b>C0701</b>	BC	1,41 $\pm$ 0,04	1,35 $\pm$ 0,03	1,17 $\pm$ 0,01	1,13 $\pm$ 0,06	1,04 $\pm$ 0,08	0,86 $\pm$ 0,04	0,85 $\pm$ 0,01	0,81 $\pm$ 0,05	0,71 $\pm$ 0,04
	BL	1,87 $\pm$ 0,04	1,49 $\pm$ 0,04	1,34 $\pm$ 0,01	1,70* $\pm$ 0,02	1,46 $\pm$ 0,06	1,50* $\pm$ 0,05	1,15 $\pm$ 0,07	1,19 $\pm$ 0,02	0,84 $\pm$ 0,04
	CA	3,28 $\pm$ 0,1	2,84 $\pm$ 0,11	2,82 $\pm$ 0,02	2,76 $\pm$ 0,08	2,43 $\pm$ 0,06	2,40 $\pm$ 0,06	2,17 $\pm$ 0,03	1,88 $\pm$ 0,05	1,83 $\pm$ 0,03
	CR	14,63%	12,67%	12,58%	12,31%	10,84%	10,70%	9,68%	8,38%	8,16%
<b>J0812</b>	BC	1,25 $\pm$ 0,06	1,09 $\pm$ 0,06	0,94 $\pm$ 0,11	0,74 $\pm$ 0,10	0,74 $\pm$ 0,06	0,71 $\pm$ 0,16	0,69 $\pm$ 0,05	0,68 $\pm$ 0,05	0,66 $\pm$ 0,07
	BL	1,30 $\pm$ 0,06	1,41 $\pm$ 0,16	1,29 $\pm$ 0,03	1,42* $\pm$ 0,03	1,03 $\pm$ 0,03	1,19* $\pm$ 0,05	0,95 $\pm$ 0,17	0,70 $\pm$ 0,01	0,95 $\pm$ 0,04
	CA	2,55 $\pm$ 0,37	2,50 $\pm$ 0,22	2,23 $\pm$ 0,12	2,16 $\pm$ 0,12	1,77 $\pm$ 0,07	1,90 $\pm$ 0,03	1,64 $\pm$ 0,23	1,38 $\pm$ 0,06	1,61 $\pm$ 0,11
	CR	14,37%	14,02%	12,57%	12,17%	9,97%	10,71%	9,24%	7,77%	9,07%
<b>F2220</b>	BC	1,39 $\pm$ 0,05	0,92 $\pm$ 0,11	0,92 $\pm$ 0,11	0,92 $\pm$ 0,04	0,78 $\pm$ 0,05	0,77 $\pm$ 0,03	0,76 $\pm$ 0,04	0,65 $\pm$ 0,03	0,53 $\pm$ 0,01
	BL	1,67 $\pm$ 0,06	1,25 $\pm$ 0,07	1,20 $\pm$ 0,04	1,42* $\pm$ 0,04	0,91 $\pm$ 0,03	1,20* $\pm$ 0,08	1,05 $\pm$ 0,08	0,95 $\pm$ 0,11	0,60 $\pm$ 0,06
	CA	3,11 $\pm$ 0,14	2,78 $\pm$ 0,14	2,77 $\pm$ 0,14	2,76 $\pm$ 0,28	2,63 $\pm$ 0,05	2,35 $\pm$ 0,03	1,98 $\pm$ 0,05	1,96 $\pm$ 0,04	1,35 $\pm$ 0,13
	CR	14,62%	13,07%	13,02%	11,00%	12,36%	11,04%	9,30%	9,21%	6,34%
<b>A0425</b>	BC	1,35 $\pm$ 0,08	1,25 $\pm$ 0,09	1,21 $\pm$ 0,04	0,91 $\pm$ 0,14	0,83 $\pm$ 0,18	0,83 $\pm$ 0,01	0,78 $\pm$ 0,08	0,72 $\pm$ 0,02	0,69 $\pm$ 0,08
	BL	1,48 $\pm$ 0,05	1,35 $\pm$ 0,16	1,25 $\pm$ 0,06	1,53 $\pm$ 0,13	1,26 $\pm$ 0,16	1,53* $\pm$ 0,03	0,90 $\pm$ 0,04	0,76 $\pm$ 0,01	0,81 $\pm$ 0,01
	CA	2,83 $\pm$ 0,1	2,60 $\pm$ 0,23	2,46 $\pm$ 0,1	2,44 $\pm$ 0,01	2,09 $\pm$ 0,01	2,36 $\pm$ 0,04	2,13 $\pm$ 0,03	1,48 $\pm$ 0,01	1,50 $\pm$ 0,01
	CR	14,22%	13,07%	12,36%	12,26%	10,50%	11,86%	10,70%	7,44%	7,54%
<b>T0336</b>	BC	1,54 $\pm$ 0,01	1,44 $\pm$ 0,05	1,21 $\pm$ 0,04	1,02 $\pm$ 0,08	0,97 $\pm$ 0,08	0,92 $\pm$ 0,04	0,92 $\pm$ 0,04	0,84 $\pm$ 0,04	0,77 $\pm$ 0,06
	BL	1,62 $\pm$ 0,10	1,66 $\pm$ 0,14	1,77 $\pm$ 0,11	1,66* $\pm$ 0,10	1,45 $\pm$ 0,04	1,39* $\pm$ 0,05	1,37 $\pm$ 0,05	1,02 $\pm$ 0,05	1,14 $\pm$ 0,01
	CA	3,16 $\pm$ 0,09	3,10 $\pm$ 0,42	2,98 $\pm$ 0,01	2,68 $\pm$ 0,13	2,42 $\pm$ 0,13	2,31 $\pm$ 0,07	2,29 $\pm$ 0,07	2,46 $\pm$ 0,53	1,96 $\pm$ 0,06
	CR	13,52%	13,27%	12,57%	11,47%	10,35%	9,88%	9,80%	10,53%	8,39%
<b>B0549</b>	BC	1,12 $\pm$ 0,04	1,05 $\pm$ 0,06	0,95 $\pm$ 0,16	0,77 $\pm$ 0,02	0,75 $\pm$ 0,04	0,71 $\pm$ 0,02	0,67 $\pm$ 0,01	0,59 $\pm$ 0,03	0,50 $\pm$ 0,04
	BL	1,34 $\pm$ 0,11	1,22 $\pm$ 0,04	1,02 $\pm$ 0,04	1,16* $\pm$ 0,05	0,93 $\pm$ 0,10	1,09* $\pm$ 0,07	0,82 $\pm$ 0,07	0,60 $\pm$ 0,02	0,74 $\pm$ 0,03
	CA	2,46 $\pm$ 0,08	2,27 $\pm$ 0,19	1,97 $\pm$ 0,19	1,93 $\pm$ 0,12	1,68 $\pm$ 0,12	1,80 $\pm$ 0,01	1,49 $\pm$ 0,03	1,19 $\pm$ 0,08	1,24 $\pm$ 0,13
	CR	15,34%	14,16%	12,28%	12,03%	10,48%	11,22%	9,29%	7,42%	7,73%
<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	BC	1,30 $\pm$ 0,09	1,29 $\pm$ 0,06	1,24 $\pm$ 0,13	1,18 $\pm$ 0,11	1,09 $\pm$ 0,11	1,02 $\pm$ 0,03	1,02 $\pm$ 0,06	0,87 $\pm$ 0,03	0,72 $\pm$ 0,05
	BL	1,39 $\pm$ 0,04	1,36 $\pm$ 0,05	1,27 $\pm$ 0,13	1,22 $\pm$ 0,14	1,11 $\pm$ 0,07	1,07 $\pm$ 0,02	1,86* $\pm$ 0,05	0,97 $\pm$ 0,02	1,70* $\pm$ 0,06
	CA	2,69 $\pm$ 0,08	2,65 $\pm$ 0,12	2,51 $\pm$ 0,22	2,40 $\pm$ 0,24	2,20 $\pm$ 0,16	2,07 $\pm$ 0,03	2,88 $\pm$ 0,06	1,84 $\pm$ 0,04	2,42 $\pm$ 0,09
	CR	12,41%	12,23%	11,58%	11,08%	10,15%	9,55%	13,29%	8,49%	11,17%
<b>Indivíduo híbrido 1</b>	BC	0,87 $\pm$ 0,07	0,81 $\pm$ 0,07	0,80 $\pm$ 0,06	0,74 $\pm$ 0,05	0,74 $\pm$ 0,01	0,73 $\pm$ 0,02	0,70 $\pm$ 0,13	0,58 $\pm$ 0,11	0,55 $\pm$ 0,01
	BL	0,97 $\pm$ 0,04	1,08 $\pm$ 0,02	1,10 $\pm$ 0,02	1,12* $\pm$ 0,03	0,82 $\pm$ 0,04	1,09 $\pm$ 0,03	0,73 $\pm$ 0,11	0,65 $\pm$ 0,17	0,84* $\pm$ 0,17
	CA	1,84 $\pm$ 0,02	1,89 $\pm$ 0,28	1,90 $\pm$ 0,04	1,86 $\pm$ 0,04	1,56 $\pm$ 0,08	1,82 $\pm$ 0,08	1,43 $\pm$ 0,24	1,23 $\pm$ 0,25	1,39 $\pm$ 0,25
	CR	12,33%	12,66%	12,73%	12,46%	10,45%	12,19%	9,58%	8,24%	9,31%
<b>Indivíduo híbrido 2</b>	BC	1,29 $\pm$ 0,04	1,18 $\pm$ 0,04	1,13 $\pm$ 0,04	1,03 $\pm$ 0,04	0,90 $\pm$ 0,06	0,82 $\pm$ 0,27	0,71 $\pm$ 0,05	0,69 $\pm$ 0,01	0,58 $\pm$ 0,03
	BL	1,36 $\pm$ 0,14	1,27 $\pm$ 0,04	1,23 $\pm$ 0,02	1,58* $\pm$ 0,04	1,03 $\pm$ 0,02	1,15 $\pm$ 0,04	0,97* $\pm$ 0,12	0,95 $\pm$ 0,14	0,66 $\pm$ 0,13
	CA	2,65 $\pm$ 0,20	2,45 $\pm$ 0,11	2,36 $\pm$ 0,06	2,45 $\pm$ 0,20	1,93 $\pm$ 0,06	1,97 $\pm$ 0,20	1,68 $\pm$ 0,16	1,64 $\pm$ 0,13	1,24 $\pm$ 0,13
	CR	14,15%	13,08%	12,60%	13,88%	10,30%	10,52%	10,04%	8,76%	6,62%

- Cromossomos com satélite no braço longo.



**Figura 1.** Idiogramas das espécies, acessos e indivíduos híbridos de *Passiflora*,  $2n=18$ . Acessos de *P. cincinnata*: A- C0701, B- J0812, C- F2220, D- A0425, E- T0336, F- B0549; G- *P. edulis* f. *flavicarpa*, H- indivíduo 1, I- indivíduo 2. Barra= 10  $\mu$ m.



**Figura 2.** Meiose em *P. edulis* f. *flavicarpa* x *P. cincinnata*. Indivíduo 1 (A, B, C); indivíduo 2 (D, E, F, G, H). Diplóteno (A e E); Diacinese (B, C, E, F); Metáfase I (G e H); Metáfase II (D).



**Figura 3.** Ilustrações dos progenitores e indivíduos híbridos de *Passiflora*. A-C- *P. edulis* f. *flavicarpa*, (D-F) acesso T0336, (G-I) indivíduo 1, (J-M) indivíduo 2. Setas indicam localização das glândulas nectaríferas.

## Referências Bibliográficas

Araújo FP, Silva N e Queiroz MA (2008) Divergência genética entre acessos de *Passiflora cincinnata* Mast. com base em descritores morfoagronômicos. Revista Brasileira Fruticultura, Jaboticabal, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 723-730.

Araújo FP (2007) Caracterização da variabilidade morfoagronômica de maracujazeiro (*Passiflora cincinnata* Mast.) no semi-árido brasileiro. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômica, Botucatu, São Paulo, Brasil, 94p.

Baptista-Giacomelli FR, Pagliarini MS e Almeida JL (2000b) Multiple anaphase bridges on meiosis in Brazilian oats (*Avena sativa* L.). Nucleus, Lahore, v. 43, n. 1, p. 58-63.

Barbosa LV (1998) Citologia de híbridos somáticos de *Passiflora* spp. obtidos por fusão de protoplastos. Tese de Doutorado, ESALQ-USP, Piracicaba, SP, Brasil, 94p.

Barbosa LV e Vieira MLC (1997a) Análise do comportamento meiótico de híbridos somáticos *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. – *P. cincinnata* Mast. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 43, 1997, Caxambu. Programa e Resumos... Caxambu: SBG, p.88.

Barbosa LV e Vieira MLC (1997b) Meiotic behavior of passion fruit somatic hybrids, *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener – *P. amethystina* Mikan. Euphytica, Wageningen, v. 98, p.121-127.

Beal PR (1969a) Citology of the native Australian *Passiflora* species. 1. Chromosome number and horticultural value. Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences, v. 26, n. 3, p. 407-421.

Beal PR (1969b) Chromosome numbers of exotic *Passiflora* species in Australian. Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences, v. 26, n. 1, p. 73-81.

Beal PR (1973) Citology of native Australian and several exotic *Passiflora* species. 2. Chromosome morphology. Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences, v. 30, n. 1, p. 17-18.

Cervi AC (2006) O gênero *Passiflora* (Passifloraceae) no Brasil, espécies descritas após o ano de 1950. Adumbrationes ad Summae. Editionem 16: 1-5.

Cervi AC (1997) Passifloraceae do Brasil. Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. Fontqueira. 45: 1-92.

Donald C, Brent DS, McDavid WD e Greer DB (2007) UTHSCSA ImageTool (IT) - Version 3.0. <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/download.html>.

Dornelas MC (1995) Cultura e fusão de protoplastos de *Passiflora* spp. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 182p.

Feuillet C e MacDougal JM (2003) A new infrageneric classification of *Passiflora* L. (Passifloraceae). *Passiflora* 14(1): 34-38.

Guerra M e Souza MJ (2002) Como Observar os Cromossomos: Um Guia de Técnicas em Citogenética Vegetal, Animal e Humana. In: Guerra M., Souza M. J. (eds.) Como analisar os cromossomos mitóticos. FUNPEC, São Paulo, pp.23-38.

Guerra M (2000) Chromosome number variation and evolution in Monocots. Pp. 127-136. In: K. L. Wilson & D. A. Morrison (Eds.). Monocots: systematics and evolution. CSIRO, Melbourne.

Guerra M (1988) Introdução a citogenética geral. Guanabara. Rio de Janeiro.

Hansen AK, Gilbert LE, Simpson BB, Cervi AC e Jansen RK (2006) Phylogenetic relationships and chromosome number evolution in *Passiflora*. *Systematic Botany* 31: 138-150.

Janaki-Ammal EK e Darlington CD (1945) Chromosome Atlas of cultivated plants. London: George Allen and Unwin, 397 p.

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

La Cour LF (1951) Chromosome counts of species and varieties of garden plants. Annual Report-John Innes Horticultural Institute, v. 42, p. 47-50.

Lima AA e Cunha MAP (2004) Maracujá: produção e qualidade na passicultura. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, cap. 1, p. 13-36.

Mayeda LY (1997) Estudo citogenético de dez Taxons do Gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae). USP, Piracicaba (Dissertação de Mestrado).

Mayeda LY e Vieira MLC (1995) Estudo cariotípico de três espécies do Gênero *Passiflora* (Passifloraceae). *Genetics and Molecular Biology*, v 18 p. 426. Suppl.

Meletti LMM e Bruckner CH (2001) Melhoramento genético. In: Bruckner CH, Picanço MC (Ed.). Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, p.345-385.

Melo NF e Guerra M (2003) Variability of the 5S and 45S DNAr Sites in Passifloraceae L. Species with Distinet Base Chromosome numbers. *Annals of Botanical*, London, v.92, p.309-316.

Melo NF, Cervi AC e Guerra M (2001) Karyology and cytotaxonomy of the genus *Passiflora* L. (Passifloraceae). *Plant Systematics and Evolution*. 226: 69-84.

Mendes MS (1994) Viabilidade do grão de pólen de *Solanum spp.* Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 76p.



Nunes TS e Queiroz LP (2001) A família Passifloraceae na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Sitientibus Série Ciências Biológicas*, v.1, p.33-46.

Oliveira AMA e Coleman JR (1996) Estudos citogenéticos de espécies do gênero *Passiflora* (Passifloraceae). *Rev. Bras. Gen.*, 19 (Suplemento), 134.

Oliveira JC e Ruggiero C (1998) Aspectos sobre o melhoramento do maracujazeiro amarelo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO. Anais... Jaboticabal: FUNEP, p.292-302.

Pagliarini MS (2000) Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 23, n. 4, p. 997 – 1002.

Pandolfi V (1998) Microsporogênese em *Solanum commersonii*. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 65p.

Passos VM (2007) Delimitação específica de *Passiflora galbana* Mast. e *Passiflora mucronata* Lam. Através de marcadores moleculares, dados morfométricos e citogenéticos. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Feira de Santana-BA. 167p.

Pedrosa A, Gitaí J, Silva AEB, Felix LP e Guerra M (1999) Citogenética de angiospermas coletadas em Pernambuco – V. *Acta Bot. Bras.* 13: 49-60.

Radford AE, Dickison WC, Massey JR e Bell CR (1974) *Vascular plant systematics*. New York: Harper and Row, 891 p.

Snou N e MacDougal JM (1993) New chromosome reports in *Passiflora* (Passifloraceae). *Systematic of Botany.*, 18: 261-273.

Soares-Scott MD, Meletti LMM, Bernacci LC e Passos IRS (2005) Citogenética clássica e molecular em *Passifloras*. In: Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. In: Faleiro FG, Junqueira NTV e Braga MF (Ed.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, cap. 9, p. 213-237.

Soares-Scott MD, Meletti LMM e Recco-Pimentel SM (2003) Meiotic behaviour and pollen fertility in sexual and somatic hybrids of *Passiflora* species. *Caryologia*, v. 56,n. 1, p. 129-138.

Soares-Scott MD, Magolin CA e Recco-Pimentel SM (1999) Análise citogenética e métodos de isolamento do DNA gênomico de espécies e híbridos de *Passiflora* L. *Genetics and Molecular Biology*, v. 22; p. 381. Suppl.

Soares-Scott MD (1998) Caracterização citogenética de algumas espécies e híbridos interespecíficos de *Passiflora*. Campinas. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Área de Biologia Celular) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 89p.

Souza MM, Pereira TNS, Viana AP, Silva LC e Sudré CP (2004) Pollen viability and fertility in wild and cultivated *Passiflora* species (Passifloraceae). *Beitrage zur Biologie der Pflanzen*, 73: 1-18.

Souza MM, Pereira TNS, Silva LDAC, Reis DSS e Sudré CP (2003a) Karyotype of six *Passiflora* Species collected in the state of Rio de Janeiro. *Cytologia*, v.68, n.2, 165-171.

Souza MM, Pereira TNS, Viana AP, Pereira MG, Bernarcci LC, Sudré CP e Silva LC (2003b) Meiotic irregularities and pollen viability in *Passiflora edmundoi* Sacco (Passifloraceae). *Caryologia*. 56; 157-165.

Soares-Scott MD, Meletti LMM e Recco-Pimentel SH (2003c) Meiotic behavior and pollen fertility in sexual and somatic hybrids of *Passiflora* species. *Caryologia*, v.56, 129-138.

Souza MM, Pereira TNS e Martins ER (2002) Microsporogênese e Microgametogênese Associadas ao tamanho do botão floral, antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). *Ciência Agrotécnica*, v.26, n.6, p.1209-17.

Storey WB (1950) Chromosome numbers of some species of *Passiflora* occurring in Hawaii. *Pacific Science*, v. 4, p. 37-42.

Sybenga J (1998) Forty years of cytogenetics in plant breeding a personal view. In: LELLEY, T. *Current Topics in plant cytogenetics related to plant improvement*. Viena: Universitäts Verlag, p.22-33.

Sybenga J (1993) *Cytogenetics in Plant Breeding*: Springer Verlag. Berlin, 469p.

Techio VH, Davide LC e Pereira AV (2006) Meiosis in elephant grass (*Pennisetum purpureum*), pearl millet (*Pennisetum glaucum*) (Poaceae, Poales) and their interspecific hybrids. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 29, n. 2, p. 353-362.

Tomé LGO (2004) Meiose e viabilidade de pólen de *Solanum commersonii* ssp. e *Solanum tuberosum* L.. Dissertação de Mestrado, Lavras: UFLA, 2004. 73p.

Ulmer T e MacDougal JM (2004) *Passiflora: Passionflower of the World*. Timer Press, Inc. Cambridge.

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

Vieira MLC, Barbosa LV e Mayeda LY (2004) Citogenética dos Maracujazeiros (*Passiflora* spp.). In: Lima AA e Cunha MAP. *Maracujá: produção e qualidade na passicultura*. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, cap. 1, p. 45-66.

**4.2. Localização de bandas CMA e DAPI e sítios de DNAr 45S em híbrido interespecífico de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. e *P. cincinnata* Mast.**

Trabalho a ser enviado à revista **Genetics and Molecular Biology**.

## **Localização de bandas CMA e DAPI e sítios de DNAr 45S em híbrido interespecífico de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. e *P. cincinnata* Mast.**

Maria do Socorro E. Coelho<sup>1</sup>, Francisco Pinheiro de Araújo<sup>2</sup>, Nataniel F. de Melo<sup>2</sup> & Leonardo P. Felix<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Citogenética Vegetal, Setor de Botânica, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB, Brasil. <sup>2</sup>Embrapa Semi-Árido, Petrolina-PE.

### **Resumo**

O presente trabalho objetivou caracterizar citogeneticamente *P. edulis* f. *flavicarpa*, dois acessos de *P. cincinnata* e dois indivíduos híbridos provenientes deste cruzamento, visando reconhecer as relações cariotípicas entre essas duas espécies e seu híbrido. Foram caracterizados o padrão de bandas CMA e DAPI e distribuição dos sítios de DNAr 45S por hibridização *in situ*. As espécies progenitoras mostraram dois pares de sítios de DNAr 45S que colocalizaram dois pares de bandas CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup>. No indivíduo híbrido 1 os sítios de DNAr 45S e as bandas CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> foram localizados nos pares cromossômicos IV e IX, enquanto no indivíduo híbrido 2, os sítios ocorreram nos pares IV e VII. O indivíduo 1 apresentou heteromorfismo no tamanho dos sítios de DNAr 45S de um dos pares cromossômicos.

**Palavras chave:** *Passiflora*, hibridação, heterocromatina, fluorocromos.

### **Abstract**

The present work objectified to characterize cytogenetically *P. edulis* f. *flavicarpa*, two *P. cincinnata* accessions and two hybrids individuals proceeding from this crossing, to recognize the karyotypic relationships between these two species and their hybrid. Were characterized the CMA and DAPI bands pattern and 45S rDNA sites distribution by in situ hybridization. The ancestors species showed two pairs of 45S rDNA sites that colocalizes two pairs of bands CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup>. In the hybrid individual 1 45S rDNA sites and CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> bands were located on chromosomes IV and IX, while the hybrid individual 2, the sites occurred in pairs

IV and VII. The individual 1 showed a heteromorphism in 45S rDNA sites size in a chromosome pairs.

**Key words:** *Passiflora*, hybridization, heterochromatin, fluorochromes.

## Introdução

O gênero *Passiflora* L. é constituído por cerca de 530 espécies de plantas trepadeiras herbáceas ou lenhosas, raramente, arbustos, com gavinhas axilares (Ulmer e MacDougal, 2004; Hansen et al., 2006). É considerado um gênero com expressiva diversidade, destacando a importância econômica como frutíferas ou ornamentais (Vanderplank, 1996).

Citologicamente, Melo e Guerra (2003) identificaram três grupos cromossômicos de *Passiflora*, baseados na variação do número básico e na distribuição dos sítios de DNAr 5S e 45S. As espécies *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. cincinnata* foram incluídas no grupo cromossômico três, caracterizado por apresentar  $x = 9$ , um par de sítios de DNAr 5S e dois pares de 45S. No citado trabalho, foram estudadas apenas uma população de cada espécie o que não permite identificar a ocorrência de polimorfismos intraespecíficos para estas espécies. Estudos anteriores envolvendo um maior número de populações de *Passiflora* (Melo et al. 2001; Melo, 2002), assim como em outros gêneros, como por exemplo, *Callisia* da família Commelinaceae (Ovalle, 2007), têm demonstrado que polimorfismos cromossômicos intraespecíficos não são raros. Esse tipo de informação é importante para se ter uma idéia da variabilidade cromossômica numérica e estrutural, contribuindo para o entendimento da evolução cromossômica, bem como, de genótipos citologicamente relacionados e com protocolos de utilização em programas de melhoramento envolvendo hibridizações interespecíficas (Brasileiro-Vidal et al., 2005).

Frente à ampla variabilidade genética no gênero *Passiflora*, híbridos interespecíficos constituem uma opção viável para a obtenção de resistência a doenças. Todavia, diferenças cariológicas podem levar a ocorrência de esterilidade no híbrido, limitando o seu emprego no melhoramento genético. Por esse lado, a compreensão das bases citológicas da esterilidade e genéticas dos sistemas de incompatibilidade nas espécies e híbridos poderão auxiliar no melhoramento genético em *Passiflora*.

A obtenção de híbridos de *Passiflora* tem sido relatada com sucesso, através da utilização de técnicas de hibridação sexuada e somática (Ulmer e MacDougal, 2004). É importante considerar que todos os híbridos obtidos são originados de progenitores com  $2n=18$ , sempre envolvendo espécies de interesse agrônômico. Híbridos sexuais mostraram compatibilidade interespecífica, já que apresentaram alguma fertilidade na parte masculina ou feminina, apesar de não produzirem frutos (Melo, 2002). No entanto, a frequência de estudos citogenéticos em híbridos interespecíficos de *Passiflora*, tanto zigóticos ou somáticos ainda é baixa (Soares-Scott et al., 2005).

Neste sentido, o presente trabalho visou caracterizar citogeneticamente a espécie *P. edulis* f. *flavicarpa*, dois acessos de *P. cincinnata* e dois indivíduos híbridos provenientes do cruzamento entre essas espécies através do padrão de bandas CMA e DAPI e distribuição dos sítios de DNAr 45S por hibridização *in situ*, visando identificar as afinidades cariológicas entre as espécies progenitoras e seu híbrido.

## Material e Métodos

O material analisado foi proveniente da Coleção de Base da Embrapa Semi-Árido – CPATSA (Tabela 1), estando os dados da caracterização da variabilidade morfoagronômica dos acessos de *P. cincinnata* discriminados em Araújo (2007) e Araújo et al. (2008). Os indivíduos híbridos sexuais (cruzamento interespecífico) *P. cincinnata* x *P. edulis* f. *flavicarpa*, foram obtidos pelo Dr. Francisco Pinheiro de Araújo, Embrapa Semi-Árido – CPATSA, formados a partir do pólen de progenitores masculinos de *P. cincinnata*. Nesse caso, o indivíduo híbrido 1 é proveniente do progenitor masculino 1 enquanto o indivíduo híbrido 2 é proveniente do progenitor masculino 2. As exsicatas encontram-se depositadas no herbário TSAH desta Instituição (Tabela 1). As análises citológicas foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Embrapa Semi-Árido.

Para preparações citológicas, pontas de raízes foram pré-tratadas com 8-hidroxiquinoleína 0,002 M, durante 24 hs à 8 °C, e fixados em Carnoy (etanol:ácido acético, 3:1). O protocolo utilizado foi descrito por Guerra e Souza (2002) com pequenas modificações. As raízes foram digeridas em solução enzimática (2% celulase - 20% pectinase) por cerca de 3h a 37°C e esmagadas em uma gota de ácido acético 45%. A coloração com os

fluorocromos CMA e DAPI seguiu o protocolo descrito por Schweizer (1976), com modificações propostas por Deumling & Greilhuber (1982).

A hibridização *in situ* fluorescente seguiu o procedimento descrito por Pedrosa et al. (2002), com algumas modificações. No DNAr 45S utilizou-se a sonda pTa71, oriunda de trigo (*Triticum aestivum* L.). A sonda foi marcada com digoxigenina-11-dUTP por *nick translation* e detectada com FITC (fluoresceína isotiocianato). A contracoloração das lâminas foi feita com DAPI a 2µg/ml e a montagem em Vectashield H-1000 (Vector). As imagens foram capturadas com câmera fotográfica digital Canon com resolução de 4.0 megapixels através do programa ZoomBrowser Ex acoplada a um microscópio de fluorescência Leica DM 2000.

## Resultados

Os números cromossômicos e características cariomorfológicas das espécies, acessos e híbrido estudados estão descritos na Tabela 1. Tanto a espécie *P. edulis* f. *flavicarpa*, os acessos de *P. cincinnata* J0812 e A0425, como os indivíduos híbridos apresentaram número cromossômico  $2n=18$ , cariótipos simétricos e núcleo interfásico do tipo semi-reticulado (Figuras 1 e 2).

A coloração com os fluorocromos base-específicos CMA e DAPI mostrou quatro bandas CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> em *P. edulis* f. *flavicarpa*, distribuídas na posição terminal do braço longo dos cromossomos VII e IX estando associadas a segmentos distendidos que correspondiam às constrições secundárias. Os acessos de *P. cincinnata* apresentaram padrão de bandas similar, mostrando sempre quatro blocos CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> localizados na região terminal do braço longo dos cromossomos IV e VI. Bandas DAPI<sup>+</sup> não foram observadas nas espécies e/ou acessos analisados.

Os resultados obtidos na hibridização *in situ* utilizando o DNAr 45S revelaram dois pares de sítios terminais nas espécies parentais. A espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* apresentou dois pares de sítios de DNAr 45S, localizados no braço longo dos pares VII e IX (Figuras 1A-B e 2A); enquanto que, nos acessos J0812 e A0425 de *P. cincinnata*, esses sinais foram observados no braço longo dos pares IV e VI (Figuras 1C-F e 2B).

No indivíduo híbrido 1 foram observadas quatro bandas CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> nos satélites dos pares cromossômicos IV e IX. Resultado similar foi observado na distribuição dos sítios

de DNAr 45S evidenciado pela hibridização *in situ* fluorescente. Quatro sinais foram visualizados nas regiões terminais dos braços longos dos pares cromossômicos IV e IX (Figuras 1G-H e 2C). Contudo, foi observado que os blocos presentes no par IX apresentaram um heteromorfismo relacionado ao tamanho do sinal entre os cromossomos homólogos, os quais foram caracterizados como IXA e IXB (Figura 2C). Concomitantemente, foi notada a presença de até oito sítios de DNAr 45S nos núcleos interfásicos deste indivíduo, sendo que dois desses sítios mostraram-se bem menores em relação aos outros seis (Figura 1K).

Os resultados obtidos no indivíduo híbrido 2 mostraram quatro bandas CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> na posição terminal do braço longo dos pares IV e VII, as quais estavam co-localizadas com os dois pares de sítios de DNAr 45S observados neste indivíduo (Figuras 1I-J e 2D).

## Discussão

No presente trabalho, o padrão de bandas CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> observado na espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* confirmaram os dados obtidos por Melo et al. (2001). Estes autores verificaram, em oito espécies do gênero *Passiflora*, a presença de dois a quatro e quatro a seis blocos de heterocromatina CMA<sup>+</sup> nas espécies com os números básicos  $x=6$ ,  $x=10$  e  $x=9$ , respectivamente, estando classificada neste último grupo a espécie parental *P. edulis* f. *flavicarpa* que apresentou dois pares de bandas CMA<sup>+</sup> na região terminal dos pares cromossômicos VII e IX.

Embora os acessos de *P. cincinnata* tenham apresentado diferenças no comprimento médio dos cromossomos e no comprimento total do genoma (Coelho et al., em preparação), constatou-se a presença de um padrão de bandas CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> similar, semelhante com o padrão obtido para as espécies do gênero *Passiflora* baseadas em  $x=9$  (ver Melo et al., 2001). Contudo, Passos (2007) evidenciou diferenças na distribuição de bandas entre as espécies *P. mucronata* Lam. (blocos DAPI<sup>-</sup>, cinco bandas CMA<sup>+</sup> e CMA<sup>-</sup>) e *P. galbana* Mast (quatro bandas CMA<sup>+</sup>).

Diferenças no padrão de bandas também têm sido observadas em outras espécies. Miranda et al. (1997a), por exemplo, analisaram o padrão de bandas CMA<sup>+</sup> em espécies de *Citrus*, *Poncirus* e *Fortunella*, encontrando um padrão de bandas semelhante entre as espécies de *Citrus* e *Poncirus*. Ao analisarem o cariótipo de dois acessos de *Fortunella*, observaram



uma grande divergência em relação aos outros dois gêneros, mostrando alto percentual de heterocromatina. Por sua vez, Pedrosa et al. (2000) evidenciaram igual distribuição das bandas CMA<sup>+</sup> e sítios de DNAr 45S em cultivares de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck., além de localizarem os sítios de DNAr 5S.

A existência de dois pares de sítios de DNAr 45S nas espécies parentais confirmaram os dados de Coelho et al. (em preparação) que constatou dois bivalentes mais condensados associados ao nucléolo. Associadamente, a localização dos sítios de DNAr 45S nas espécies parentais corrobora com os resultados obtidos por Melo e Guerra (2003) que estudaram a distribuição dos sítios de DNAr 45S e 5S em 20 espécies de *Passiflora*, confirmando o número básico primário  $x=6$  para o referido gênero. Estes autores classificaram os números cromossômicos  $x=9$ , 10 e 12 como números básicos secundários, de origem tetraplóide com disploidia e silenciamento gênico de sítios de DNAr 5S redundantes.

Pode-se afirmar ainda que o número e a posição dos sítios de DNAr 45S detectados por hibridização *in situ* coincidem com as bandas CMA<sup>+</sup> e constrições secundárias observadas nos cariótipos de *Passiflora*, conforme os dados existentes na literatura.

No presente trabalho, as análises realizadas permitiram observar estabilidade no número cromossômico em ambos os indivíduos híbridos, apresentando  $2n=18$  cromossomos. Entretanto, em outras espécies, essa estabilidade numérica não é observada. Em trigo, por exemplo, Brasileiro-Vidal et al. (2005) utilizando como sonda o DNA genômico de *Thinopyrum ponticum*, verificaram na caracterização do genoma parental do anfidiplóide parcial *Triticum aestivum* x *Th. Ponticum* que os híbridos apresentaram número cromossômico instável, variando entre  $2n=42$  a  $2n=56$ . Os anfidiplóides que continham os menores números cromossômicos não mostravam nenhuma marcação com a sonda. Contudo, nos híbridos que apresentavam  $2n=48$  a  $2n=56$ , foram observadas 14 marcações.

Por outro lado, a origem híbrida nos indivíduos híbridos foi verificada através das características citogenéticas e morfológicas intermediárias, sendo que o indivíduo 2 apresentou características mais similares ao parental *P. edulis* f. *flavicarpa* (Coelho et al., em preparação). Do ponto de vista citogenético, esta origem híbrida é suportada pelos resultados observados com relação ao número cromossômico, originários de ambos parentais, mas principalmente pela hibridização *in situ* fluorescente com sonda de DNAr 45S. O indivíduo 1 revelou os sítios de DNAr 45S e bandas CMA<sup>+</sup> em pares cromossômicos diferentes em relação ao indivíduo 2. Nesse caso, foi possível verificar a origem dos cromossomos contendo

os sítios de DNAr 45S, onde na combinação de genomas, o par IV foi originado de *P. cincinnata* e o par IX de *P. edulis* f. *flavicarpa*. A presença de oito sítios de DNAr 45S no núcleo interfásico pode ser decorrente do comportamento das cromátides, possivelmente devido a uma separação durante o seu arranjo interfásico, resultando em seis sítios maiores e dois menores, estando esses últimos relacionados ao cromossomo homólogo IXB que apresenta heteromorfismo no que tange ao tamanho do sítio de DNAr 45S.

No indivíduo híbrido 2, notou que as bandas CMA<sup>+</sup> e os sítios DNAr 45S do par IV são comuns a *P. cincinnata*; enquanto que, o par VII é similar ao observado em *P. edulis* f. *flavicarpa*. Vale salientar que em ambos os indivíduos, os sítios de DNAr 45S coincidem com as bandas CMA<sup>+</sup>, assim como observado nas espécies parentais.

Soares-Scott et al. (2005) analisando parentais e híbridos de *Passiflora*, verificaram dois sinais fluorescentes de DNAr 45S no híbrido *P. edulis* x *P. incarnata* e quatro a seis sinais no híbrido *P. edulis* x *P. setacea*, verificando que algumas marcações dos sítios de DNAr 45S envolveram apenas parte das constrições secundárias.

A técnica de hibridização *in situ* genômica (GISH), que utiliza o DNA genômico de espécies como sonda, tem sido bem aplicada em diversos estudos de investigação da origem de híbridos interespecíficos. A possibilidade de combinação genética é particularmente importante para o melhoramento genético, sobretudo porque as espécies parentais e os próprios híbridos são potencialmente úteis na passicultura. Soares-Scott et al. (2005) analisaram a constituição genômica de um híbrido *P. edulis* x *P. setacea* através de sondas genômicas das espécies parentais, identificando cinco e nove cromossomos decorrentes das espécies *P. setacea* e *P. edulis*, respectivamente, bem como, um lote de cromossomos contendo sequências de ambas as espécies.

Vários exemplos sobre combinações genômicas na formação de híbridos têm sido demonstrados. Entre as espécies parentais milho e capim-elefante, por exemplo, foi verificada a homologia/homeologia entre sete cromossomos do genoma A pertencentes ao milho, bem como, sete cromossomos do genoma A' do capim-elefante (Pantulu, 1967; Gonzalez e Hanna, 1984; Dujardin e Hanna, 1985; Hanna e Dujardin, 1986; Techio et al., 2005).

No caso de *Passiflora*, obtenção de híbridos interespecíficos é um processo de grande valia para proporcionar ganhos agronômicos à espécie comercial *P. edulis* e a espécie silvestre *P. cincinnata*. No entanto, a aplicação das técnicas citogenéticas, como a

hibridização *in situ* utilizando diferentes tipos de sonda, pode ser considerada de extrema importância na caracterização das espécies parentais e híbridos resultantes de cruzamentos. Nesse caso, a obtenção de novos materiais genéticos com potencial para uso como porta-enxerto ou para a introgressão de genes de resistência ou tolerância a estresses bióticos e abióticos é de importância significativa no desenvolvimento de novos materiais para o Semi-Árido brasileiro.

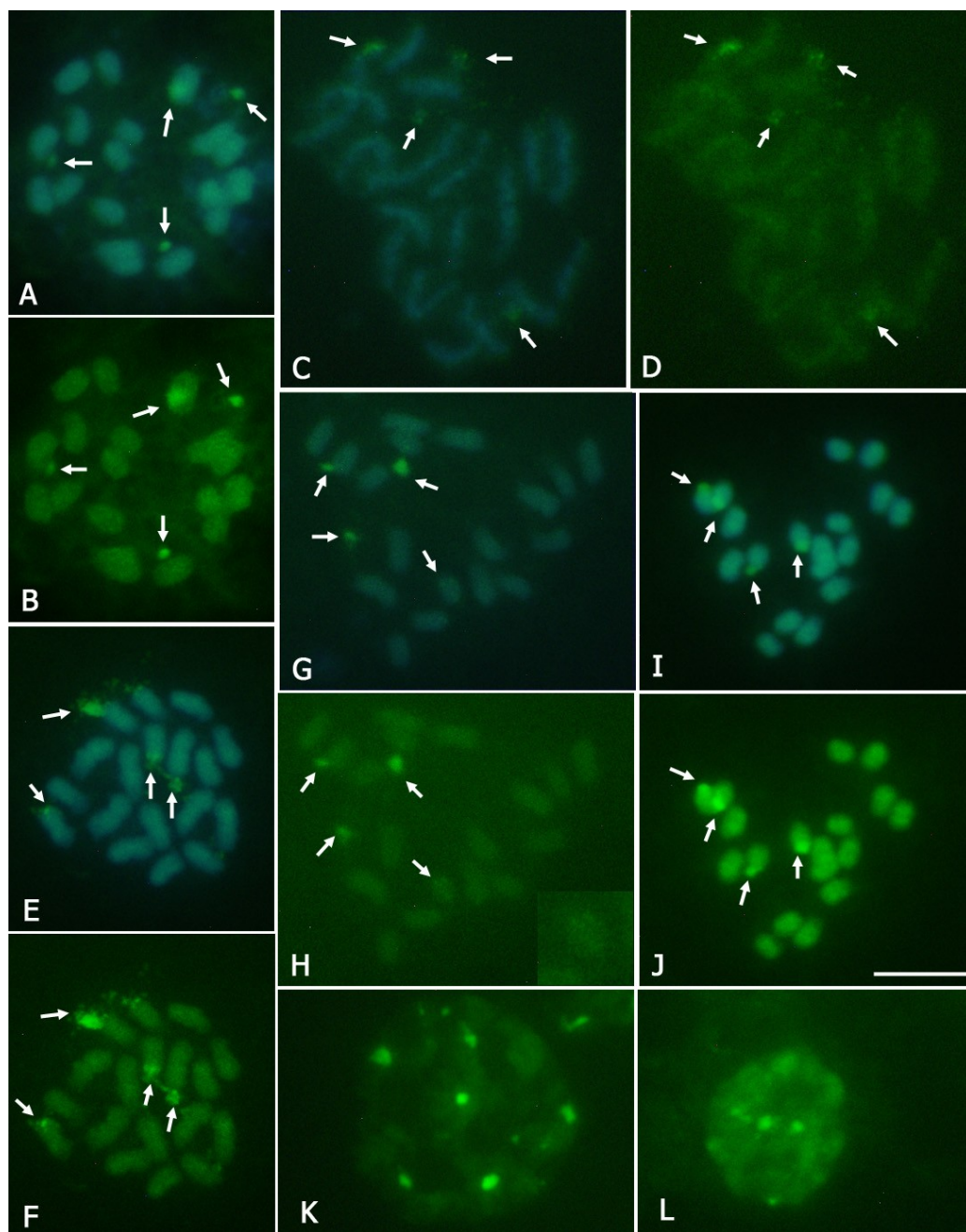
### **Agradecimentos**

Os autores são gratos ao CNPq pela concessão de bolsa e a Embrapa Semi-Árido pelo apoio no desenvolvimento do trabalho.

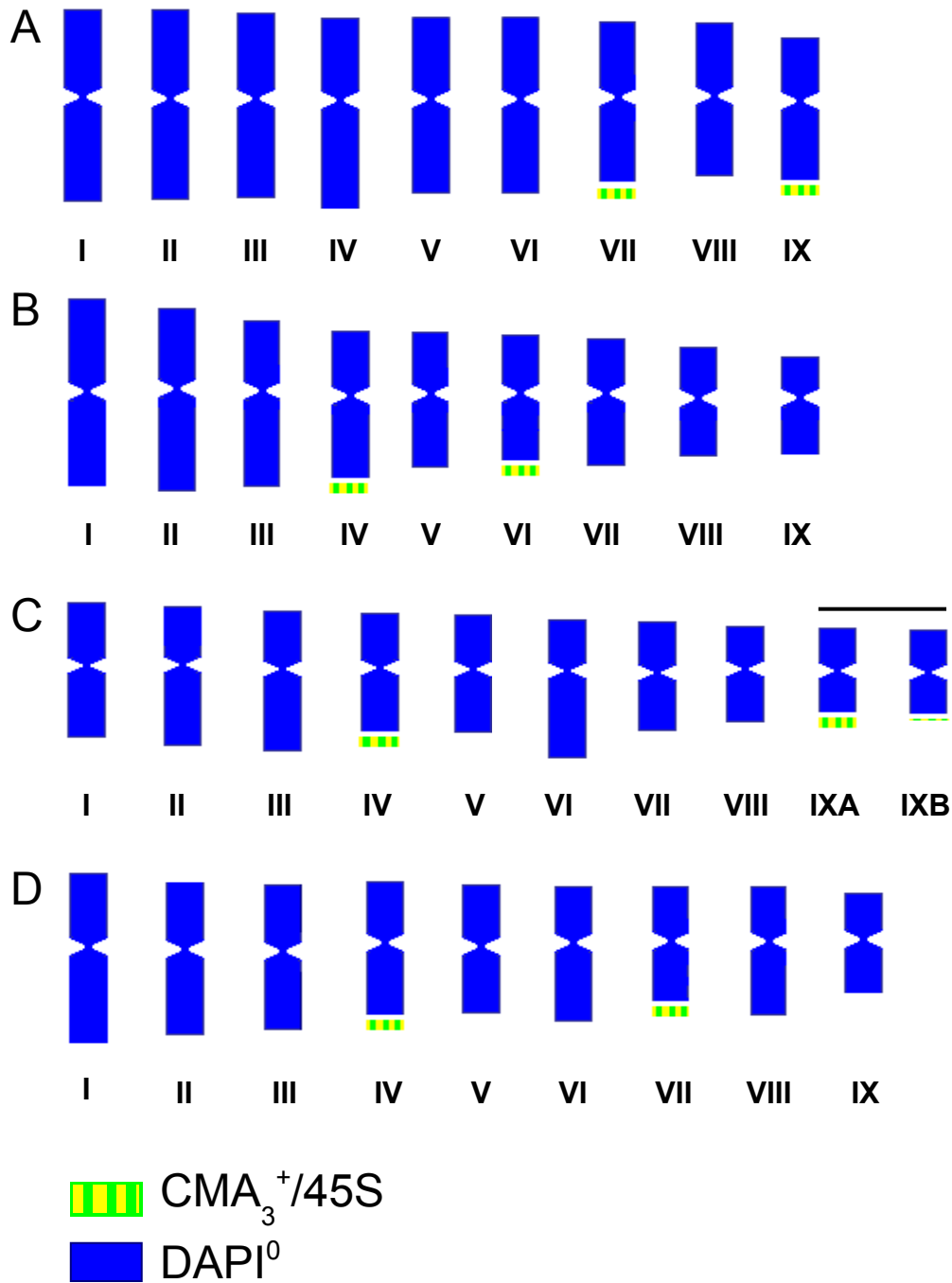
**Tabela 1.** Espécies, acessos e híbrido de *Passiflora* analisados com os respectivos números cromossômicos, distribuição da heterocromatina, número de sítios de DNAr 45S e par cromossômico, número de herbário e procedência.

<b>Espécie/acesso/híbrido</b>	<b>Procedência</b>	<b>Herbário/número</b>	<b>2n</b>	<b>CMA<sub>3</sub>/DAPI</b>	<b>Número de sítios de DNAr 45S</b>	<b>Par cromossômico</b>
<i>P. cincinnata</i> /acesso						
J0812	Juazeiro - BA	TSAH, 2388	18	4 CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup>	4 sítios	IV e VI
A0425	Nova Olinda - CE	TSAH, 2390	18	4 CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup>	4 sítios	IV e VI
<i>P. edulis</i> Sims. f. <i>flavicarpa</i>						
	Cultivada	TSAH, 2384	18	4 CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup>	4 sítios	VII e IX
Indivíduo híbrido 1	Cruzamento interespecífico	TSAH, 2385	18	4 CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup>	4 sítios	IV e IX
Indivíduo híbrido 2	Cruzamento interespecífico	TSAH, 2386	18	4 CMA <sup>+</sup> /DAPI <sup>-</sup>	4 sítios	IV e VII

A04 e J08 correspondem às respectivas Unidades Geoambientais de caracterização do zoneamento agroecológico do Nordeste onde os acessos foram coletados (Araújo et al., 2008; Araújo, 2007).



**Figura 1.** DNAr 45S em espécies e indivíduos híbridos de *Passiflora*. Sobreposição de células e sítios de DNAr 45S de *P. edulis* f. *flavicarpa* (A e B), sobreposição de células e sítios de DNAr 45S no acesso A0425 (C e D) e no acesso J0812 (E e F), sobreposição de células, sítios de DNAr 45S e núcleo interfásico no indivíduo 1 (G, H e K) e no indivíduo 2 (I, J e L). Barra = 10  $\mu$ m.



**Figura 2.** Idiogramas das espécies e indivíduos híbridos de *Passiflora*. A- *P. edulis* f. *flavicarpa*, B- acesso J0812 de *P. cincinnata*, C- indivíduo 1, D- indivíduo 2. Barra em C mostrando o par heteromórfico para tamanho do sítio de DNAr 45S.

## Referências Bibliográficas

Araújo FP, Silva N e Queiroz MA (2008) Divergência genética entre acessos de *Passiflora cincinnata* Mast. com base em descritores morfoagronômicos. Revista Brasileira Fruticultura, Jaboticabal, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 723-730.

Araújo FP (2007) Caracterização da variabilidade morfoagronômica de maracujazeiro (*Passiflora cincinnata* Mast.) no semi-árido brasileiro. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômica, Botucatu, São Paulo, Brasil, 94p.

Brasileiro-Vidal AC, Cuadrado A, Brammer SP, Benko-Iseppon AM e Guerra M (2005) Molecular cytogenetic characterization of parental genomes in the partial amphidiploid *Triticum aestivum* x *Thinopyrum ponticum*. Genetics and Molecular Biology, 28 (2): 308-313.

Coelho MSE, Araújo FP, Melo NF e Felix LP (em preparação) Análise citogenética de *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. cincinnata* e seus híbridos interespecíficos.

Deumling B e Greilhuber J (1982) Characterization of heterochromatin in different species of the *Scilla siberica* group (Liliaceae) by *in situ* hybridization of satellite DNAs and fluorochrome banding. Chromosoma 84: 535-555.

Dujardin M e Hanna WW (1985) Cytology and reproductive behavior of pearl millet-napiergrass hexaploids x *Pennisetum squamulatum* trispecific hybrids. J. Hered., Baltimore, v. 72, n. 5, p. 382-384.

Gonzalez B e Hanna WW (1984) Morphological and fertility responses in isogenic triploid and hexaploid pearl millet x napier-grass hybrids. J. Hered., Baltimore, v. 75, p. 317-318.

Guerra M e Souza MJ (2002) Como Observar os Cromossomos: Um Guia de Técnicas em Citogenética Vegetal, Animal e Humana. In: Guerra M., Souza M. J. (eds.) Como analisar os cromossomos mitóticos. FUNPEC, São Paulo, pp.23-38.

Hanna WW e Dujardin M (1986) Cytogenetics of *Pennisetum schweinfurthii* Pilger and its hybrids with pearl millet. *Crop Sci.*, Madison, v. 26, p. 449-453.

Hansen AK, Gilbert LE, Simpson BB, Cervi AC e Jansen RK (2006) Phylogenetic relationships and chromosome number evolution in *Passiflora*. *Systematic Botany* 31: 138-150.

Melo NF e Guerra M (2003) Variability of the 5S and 45S DNAr Sites in Passifloraceae L. Species with Distinet Base Chromosome numbers. *Annals of Botany*, London, v.92, p.309-316.

Melo NF (2002) Caracterização citogenética de espécies silvestres e cultivadas de maracujazeiro (*Passiflora* spp.). Tese de Doutorado. Universidade Federal de Pernambuco, 125p.

Melo NF, Cervi AC e Guerra M (2001) Karyology and cytotaxonomy of the genus *Passiflora* L. (Passifloraceae). *Plant Systematics and Evolution*. 226: 69-84.

Miranda M, Ikeda F, Endo T, Moriguchi T e Omura T (1997a) Comparative analysis on the distribution of heterochromatin in *Citrus*, *Poncirus* and *Fortunella* chromosome. *Chrom. Res.* 5: 86-92.

Ovalle FR (2007) Citotaxonomia molecular do gênero *Callisia* Loefl. (Commelinaceae). Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. Recife.

Pantulu JV (1967) Pachytene pairing and meiosis in the F1 hybrid of *Pennisetum typhoides* and *P. purpureum*. *Cytologia*, Tokyo, v. 32, n. 3-4, p. 532-541.

Passos VM (2007) Delimitação específica de *Passiflora galbana* Mast. e *Passiflora mucronata* Lam. Através de marcadores moleculares, dados morfométricos e citogenéticos. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Feira de Santana-BA. 167p.

Pedrosa A, Sandal N, Stougaard J, Schweizer D e Bachmair A (2002) Chromosomal map of the model legume *Lotes japonicus*. *Genetics* 161: 1661-1672.



Pedrosa A, Schweizer D e Guerra M (2000) Cytological heterozygosity and the hybrid origin of Sweet Orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Theor Appl. Genet.* 100: 361-367.

Schweizer D (1976) Reverse fluorescent chromosome banding with Chromomycin A e DAPI. *Chromosoma* 58:307-324.

Soares-Scott MD, Meletti LMM, Bernacci LC e Passos IRS (2005) Citogenética clássica e molecular em *Passifloras*. In: Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. In: Faleiro FG, Junqueira NTV e Braga MF (Ed.) Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, cap. 9, p. 213-237.

Soares-Scott MD, Meletti LMM e Recco-Pimentel SM (2003) Meiotic behaviour and pollen fertility in sexual and somatic hybrids of *Passiflora* species. *Caryologia*, v. 56, n. 1, p. 129-138.

Techio VH, Davide LC e Pereira AV (2006) Meiosis in elephant grass (*Pennisetum purpureum*), pearl millet (*Pennisetum glaucum*) (Poaceae, Poales) and their interspecific hybrids. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 29, n. 2, p. 353-362.

Ulmer T e MacDougal JM (2004) *Passiflora: Passionflower of the World*. Timber Press, Inc. Cambridge.

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

Vanderplank J (1996) *Passion flowers*. 2<sup>a</sup> ed. Cambridge: The MIT, 224p.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)