

MARÍLIA GABRIELA DE SANTANA COSTA

**CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE GENÓTIPOS
DE *Heliconia* L. (HELICONIACEAE)**

RECIFE

2013

MARÍLIA GABRIELA DE SANTANA COSTA

**CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE GENÓTIPOS
DE *Heliconia* L. (HELICONIACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Agronomia.

Orientadora – UFPE – Profa. Dra. Ana Christina Brasileiro Vidal

Coorientadora – UFRPE – Profa. Dra. Vivian Loges

Coorientadora – UFRPE – Dra. Walma Nogueira Ramos Guimarães

RECIFE

2013

Ficha catalográfica

C837c Costa, Marília Gabriela de Santana
Caracterização citogenética de genótipos de *Heliconia* L.
(Heliconiaceae) / Marília Gabriela de Santana Costa. –
Recife, 2013.
54 f. : il.

Orientadora: Ana Christina Brasileiro Vidal.
Dissertação (Mestrado em Agronomia - Melhoramento
Genético de Plantas) – Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Departamento de Agronomia, Recife, 2013.
Referências.

1. *Heliconia* 2. Citogenética 3. FISH I. Vidal, Ana
Christina Brasileiro, orientadora II. Título

CDD 581.15

MARÍLIA GABRIELA DE SANTANA COSTA

**CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE GENÓTIPOS
DE *Heliconia* L. (HELICONIACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Agronomia.

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em **29/07/2013**.

Profa. Dra. Ana Maria Benko Iseppon
Departamento de Genética/ CCB/ UFPE

Prof. Dr. Reginaldo de Carvalho
Departamento de Biologia/ DB/ UFRPE

Dra. Walma Nogueira Ramos Guimarães
Departamento de Biologia/ DB/UFRPE

Profa. Dra. Ana Christina Brasileiro Vidal
Departamento de Genética/ CCB/ UFPE
Orientadora

*A minha mãe, Juracy Oliveira,
minha irmã, Luíza Danielle e
minha sobrinha, Laís Santana
pelo apoio e amor incondicional.*

AGRADECIMENTOS

A Deus por me proteger e conceder saúde, força, paz, inteligência e sabedoria.

Aos meus familiares pelo apoio, principalmente à minha mãe, Juracy Oliveira, sem ela nada seria possível. A senhora é como um anjo em minha vida; muito obrigada pela paciência, conselhos, apoio, confiança, compreensão, carinho, amor e dedicação. À minha irmã, Luiza Danielle por todo apoio e ao meu cunhado Júnior, que juntos trouxeram ao mundo minha tão amada sobrinha Laís Santana, que é a luz que ilumina nosso lar.

À minha orientadora Professora Dra. Ana Christina Brasileiro Vidal pela oportunidade, ensinamentos, acolhimento, amizade, carinho, paciência e dedicação. Nunca vou esquecer-me dos seus conselhos e de todas as vezes que me acolheu com sua calma, paciência e doçura.

As minhas coorientadoras Professora Dra. Vivian Loges e Dra. Walma Guimarães, pela oportunidade, incentivo e confiança. Ao Dr. Carlos Castro pela colaboração no envio de um dos genótipos utilizados nesse trabalho.

À Professora Ana Maria Benko por oferecer a estrutura do laboratório para realização do trabalho.

Aos meus colegas do Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal (LBGV) da UFPE: Ana Félix, Anne, Arthur, Bruna, Diego, Erlânia, Flávia, Geyner, Hévila, Ísis, João, Lidiane, Luca, Marx, Mitally, Neto, Pedro, Pedro Lima, Pollyana, Rodrigo, Rômulo, Sheila, Stephani e Vanessa; especialmente, aos queridos colegas Emanuelle, Rafaela e Santelmo, pelos ensinamentos das técnicas, a Rosilda e Silvany, pela ajuda na coleta dos rizomas em Aldeia.

Às meninas do grupo de Citogenética do LGBV por todos os momentos de descontração, alegria e companheirismo, especialmente, às minhas amigas, Pollyana Karla “Toddyinho”, minha companheira de aventuras, por todas as nossas boas risadas e momentos de descontração, e Rosilda Cintra pela grande amizade, carinho, confiança e dedicação.

Aos colegas do Laboratório de Floricultura (LAFLOR) da UFRPE: Claudinha, João, Sandra, Simone e Taciana, pelo apoio, especialmente a minha “vizinha chef”, Kessyana pelos dias alegria, boas risadas e gulosemas.

Aos professores do PPGAMGP: Dimas Menezes, Diogo Néder, Edson Ferreira, José Luiz e Reginaldo Carvalho, pelos ensinamentos; especialmente aos professores Clodoaldo, Gerson Quirino, Luiza Semen e Rosimar Musser, pela enorme contribuição acadêmica e pessoal, pela amizade, confiança, incentivo, dedicação e carinho.

Ao querido Roberto Melo pelo apoio, amizade, conselhos e momentos vividos e a sua família por todo carinho, apoio e amizade dedicada.

À querida Maiza Azevedo minha amiga-irmã por todos os momentos, amizade, companheirismo, lealdade, confiança, força, apoio, carinho e dedicação, sem dúvida sua amizade foi um dos maiores presentes que recebi durante esse mestrado, e ao querido cunhado Eduardo Lima que lhe faz tão bem.

À minha amiga e companheira de casa, Ni Silva, por fazer da nossa casa um ambiente alegre e agradável, pela amizade, cumplicidade, carinho e confiança.

Aos meus grandes amigos Eli, Paulinho, Elielton e Juliana, por me acompanhar em todos os momentos da vida, por compreender a minha ausência, pela dedicação, momentos de alegria, amor, confiança, lealdade, carinho e amizade.

Aos colegas e amigos do mestrado: Adriana, Alisson Esdras, Álvaro, Alysson Jalles, Amanda, Amaro, Ana Maria, Ana Luísa, Cláudia, Felipe, Guilherme, Gustavo, Horace, Hudson, João Albuquerque, João Filipi, Jonathas, Kessyana, Lucas, Luciana, Ni Silva, Natália, Paulo Ricardo, Paulo Rocha, Ricardo, Rafaela, Rebeca, Ramon, Romildo, Samy, Silvan, Stella, Tamiris, Tâmara, Tiago Vinícius e Thiago Prates.

Aos funcionários da UFRPE, em especial à secretaria da Pós-Graduação Bernadete Pinto de Lemos, pela amizade, risos e por deixar meu trabalho ainda mais elegante. Aos funcionários da UFPE, em especial à Vanessa Souza pela amizade.

Ao apoio institucional da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) por conceder os

recursos estruturais para realização desse trabalho. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por conceder a bolsa de mestrado.

A todos que contribuíram para realização desse trabalho,

Obrigada!

*“E você aprende que realmente
pode suportar, que realmente é
forte, e que pode ir muito mais
longe depois de pensar que não se
pode mais.”*

William Shakespeare

RESUMO

O gênero *Heliconia* L. (família Heliconiaceae) possui cerca de 207 espécies, principalmente de origem neotropical, com elevado interesse ornamental. Sua identificação é realizada com dificuldade e diversas espécies são reconhecidas como sinônimas. O presente trabalho teve por objetivo a caracterização citogenética de 10 genótipos de *Heliconia* mediante as técnicas de coloração com fluorocromos CMA e DAPI e FISH para sítios de DNAr 45S e 5S. Os cariótipos foram simétricos, com número cromossômico para as espécies diploides de $2n = 2x = 24$ e comprimento médio dos cromossomos de 0,88 a 3,35 μm . Em relação à coloração CMA/DAPI e FISH, observou-se marcação proximal CMA⁺/DAPI⁰/DNAr 5S em dois e três cromossomos pequenos, nos genótipos diploides e triploides, respectivamente. Para as marcações CMA⁺⁺/DAPI⁻/DNAr 45S, por sua vez, observou-se de dois a quatro sítios por genótipo. Nas populações diploides de *H. psittacorum* observados dois cromossomos com marcação subterminal e satélite distendido e para *H. spathocircinata* foram encontrados quatro cromossomos com marcação terminal e ausência de satélite. Os híbridos de *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* ('Golden Torch Adrian' e 'Golden Torch') como esperado exibiram três cromossomos com marcação, dois semelhantes aos *H. spathocircinata* e outro ao de *H. psittacorum*. Nos genótipos triploides 'Sassy' e 'Suriname Sassy', foram observados três cromossomos com marcação subterminal e presença de satélite semelhante ao encontrado para *H. psittacorum*. Para *H. bihai*, destacaram-se dois cromossomos com marcação proximal. O híbrido *H. caribaea* x *H. bihai* cv. Jacquinii também apresentou dois cromossomos portadores sítios de CMA⁺⁺/DAPI⁻/DNAr 45S proximal, porém heteromórficos para tamanho e morfologia. A distribuição dos sítios de DNAr 5S e 45S, ambos CMA positivos, corroborou a origem dos genótipos triploides 'Sassy' e 'Suriname Sassy' a partir de genótipos diploides de *H. psittacorum* bem como de híbridos *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* ('Golden Torch' e 'Golden Torch Adrian') e *H. caribaea* x *H. bihai* cv. Jacquinii a partir de seus respectivos parentais.

Palavras-chave: CMA/DAPI, FISH; híbridos; marcas cromossômicas.

ABSTRACT

Heliconia L. (family Heliconiaceae) comprises about 207 species, mostly of Neotropical origin, with elevated ornamental interest. Their identification is performed with difficulty and several species are recognized as synonyms. This study aimed to characterize cytogenetically 10 genotypes of *Heliconia*, using fluorochrome staining with DAPI and CMA and FISH with rDNA 45S and 5S probes. The karyotypes were symmetric, with $2n = 2x = 24$ chromosomes for diploid species, with average length ranging from 0.88 to 3.35 μm . In relation to CMA/DAPI staining and FISH, CMA⁺/DAPI⁰/rDNA 5S proximal sites were observed in two and three small chromosomes in diploid and triploid genotypes, respectively. For CMA⁺⁺/DAPI⁻/rDNA 45S sites, two or four sites per genotype were observed. For *H. psittacorum* diploid populations, two subterminal sites with distended satellite were found, and, for *H. spathocircinata*, four terminal sites without satellite were found. *Heliconia psittacorum* x *H. spathocircinata* hybrids ('Golden Torch Adrian' e 'Golden Torch'), as expected, showed three labeled chromosomes, two similar to *H. spathocircinata* and one to *H. psittacorum*. For 'Suriname Sassy' and 'Sassy', three terminal sites with satellite similar to diploid *H. psittacorum* were observed. *Heliconia bihai* had two chromosomes with proximal sites. Similarly, *H. caribaea* x *H. bihai* cv. Jacquinii hybrid showed two proximal sites CMA⁺⁺/DAPI⁻/rDNA 45S, but with size and morphology chromosome heteromorphism. The distribution of 5S and 45S rDNA sites, both CMA positive, corroborated the triploid origin for 'Sassy Suriname' and 'Sassy' genotypes from diploid genotypes *H. psittacorum* as well as the hybrids *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* ('Golden Torch' and 'Golden Torch Adrian') and *H. caribaea* x *H. bihai* cv. Jacquinii from their respective parents.

Keywords: CMA/DAPI, FISH; hybrids; Chromosome markers.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1: Distribuição geográfica das helicônias destacada em amarelo. 18
- Figura 2: Ocorrência de *H. psittacorum* nas Américas Central e do Sul. 19
- Figura 3: Aspectos morfológicos das helicônias. 22
- Figura 4: Classificação das helicônias quanto à disposição de suas folhas. 23
- Figura 5: Tipos de inflorescências em *Heliconia*. A) Ereta em espiral; B) Pendente e dística. 23
- Figura 6: Esquema ilustrativo da técnica de hibridização *in situ* fluorescente. 29

CAPÍTULO II

- Figura 1: Espécies caracterizadas por técnicas citogenéticas 42
- Figura 2: Coloração CMA/DAPI (amarelo) e FISH com sondas de DNAr 45s em verde e DNAr 5s em vermelho. 46

LISTA DE GRÁFICOS E TABELAS

CAPÍTULO I

Gráfico 1: Distribuição das espécies de <i>Heliconia</i> por estado brasileiro.	20
Gráfico 2: Distribuição das espécies de <i>Heliconia</i> por domínio fitogeográfico.	21
Tabela 1: Espécies da família Heliconiaceae com os respectivos números cromossômicos.	31

CAPÍTULO II

Tabela 1: Relação das espécies e seus respectivos números de genótipo, nível de ploidia e sítios de DNAr 45S e 5S.	45
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APTA	Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios
AT	Adenina-Timina
BACs	Cromossomos artificiais de bactéria (do inglês, Bacterial Artificial Chromosome)
BSA	Albumina sérica bovina (do inglês, Bovine Serum Albumin)
CMA	Cromomicina A ₃
DAPI	4',6-diamidino-2-fenilindol
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNAr	DNA ribossômico
FISH	Hibridização <i>In Situ</i> Fluorescente (do inglês, Fluorescence <i>In Situ</i> Hybridization)
GC	Guanina-Citosina
GISH	Hibridização Genômica <i>In Situ</i> (do inglês, Genomic <i>In Situ</i> Hybridization)
HSI	Heliconia Society Internacional
IAC	Instituto Agronômico de Campinas
SSC	Citrato de sódio salino (do inglês, Standard Saline Citrate)
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	15
Revisão Bibliográfica	15
1. Introdução	16
2. Revisão bibliográfica	18
2.1. Taxonomia e distribuição do gênero <i>Heliconia</i>	18
2.2. Descrição botânica e morfológica	21
2.3. Importância econômica das plantas ornamentais	24
2.3.1. Importância econômica das helicônias	24
2.4. Bancos de germoplasma e coleções	25
2.5. Análises moleculares em <i>Heliconia</i>	26
2.6. Importância da citogenética na caracterização de germoplasma	27
2.6.1. Hibridização <i>in situ</i> fluorescente	28
2.7. Caracterização citogenética em <i>Heliconia</i>	30
Referências	32
CAPÍTULO II	38
Caracterização de genótipos de <i>Heliconia</i> L. mediante hibridização <i>in situ</i> fluorescente	39
RESUMO	39
Introdução	40
Material e métodos	42
Material vegetal	42
Preparação das lâminas e coloração CMA/ DAPI	43
Marcação das sondas	43
Hibridização <i>in situ</i> fluorescente (FISH)	43
Resultados	44
Discussão	48
Referências	50
CONCLUSÕES	54

CAPÍTULO I

Revisão Bibliográfica

1. Introdução

A floricultura tropical encontra-se em expansão devido à beleza peculiar e exótica de seus produtos, gerando um mercado de exportação promissor (LOGES et al., 2005). No Brasil, o mercado de flores tropicais tem ganhado qualidade e competitividade em todas as regiões do país. É considerada uma atividade de importância econômica, destacando-se o estado de Pernambuco como um dos principais produtores nacionais (BATALHA, BUAINAIN, 2007). Dentre as flores tropicais, as helicônias (gênero: *Heliconia* L.) possuem grande aprovação no mercado internacional devido à beleza e à grande variação de cores e formas de suas inflorescências (OLIVEIRA, 1996; LOGES et al., 2005, 2012).

O gênero *Heliconia* é o único da família Heliconiaceae (NAKAI, 1941), amplamente distribuído na América Central e do Sul, também compreendendo um pequeno grupo distribuído em algumas Ilhas do Pacífico (BERRY, KRESS, 1991). Atualmente com 207 espécies aceitas, principalmente de origem neotropical, e 112 sinônimas registradas (THE PLANT LIST, 2010). No Brasil, existem 29 espécies de helicônias distribuídas nas cinco regiões brasileiras, sendo popularmente conhecidas como bananeira-de-jardim, bico-de-guaraná, falsa-ave-do-paraíso e paquevira (ANDERSSON, 1989; BRAGA, 2012, 2013). As helicônias são destaque dentre as flores tropicais por apresentarem alta durabilidade pós-colheita e resistência ao transporte (CASTRO, 1993; LOGES et al., 2005). São largamente utilizadas para paisagismo, compondo jardins em forma de touceiras ou renques em muros, além de serem usadas para ornamentação de ambientes e eventos, como plantas em vasos ou como flor de corte compondo belos arranjos. As cultivares e híbridos de *H. psittacorum* L.f., por exemplo, apresentam grande aceitação por suas inflorescências terminais e eretas, com número variado de brácteas e flores de diferentes colorações além de florescerem durante todo o ano (COSTA et al., 2007).

A diversidade de cores e formas das brácteas existente entre os indivíduos de *Heliconia* tem dificultado a identificação das espécies, não sendo distinguíveis com clareza (BERRY, KRESS, 1991). Atualmente, além dos descritores botânicos e morfológicos, marcadores moleculares e agronômicos quantitativos têm sido utilizados para a descrição desses genótipos, promovendo contribuições ao conhecimento do referido gênero (ROCHA et al., 2010; MAROUELLI et al., 2010;

GUIMARÃES et al., 2011; LOGES et al., 2012; ISAZA et al., 2012). Contudo, diversas espécies têm sido reportadas na literatura como sinonímias (CASTRO, GRAZIANO, 1997), levando à necessidade de outros estudos para uma melhor classificação das espécies de *Heliconia*.

Para os programas de melhoramento, a caracterização e conservação do germoplasma disponível são de extrema importância para a preservação da variabilidade genética existente e pode ser realizada mediante estudos de diversidade e variabilidade, caracterização agronômica, molecular, bioquímica e citogenética (CONTERATO, SCHIFINO-WITTMANN, 2006). A caracterização citogenética pode contribuir com informações importantes para os programas de melhoramento, direcionando a condução dos experimentos de maneira mais eficiente, bem como dos cruzamentos a serem realizados (PAGLIARINI, 2001).

Em *Heliconia*, foram realizados estudos de contagens cromossômicas encontrando um número básico $x = 12$, com predominância de espécies diploides ($2n = 24$), e algumas triploides ($2n = 3x = 36$) (LEE et al., 1994; CRILEY, 2000). Recentemente, seis genótipos do gênero foram analisados por coloração CMA/DAPI e por FISH de DNAr 5S e 45S, diferenciando quatro tipos cromossômicos (T1, T2, T3 e T4), o que demonstra a viabilidade do uso de técnicas citogenéticas em *Heliconia* (LEITE, 2009). Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo contribuir para a caracterização de diferentes genótipos de *Heliconia*, incluindo híbridos e triploides, mediante análise citogenética, com coloração com os fluorocromos CMA (cromomicina A₃) e DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol), FISH (Hibridização *In Situ* Fluorescente) para os sítios de DNAr 5S e 45S e GISH (Hibridização Genômica *in situ*).

2. Revisão bibliográfica

2.1. Taxonomia e distribuição do gênero *Heliconia*

A família Heliconiaceae pertence à ordem Zingiberales, que é composta por oito famílias: Cannaceae (*Canna*), Costaceae, Heliconiaceae (*Heliconia*), Lowiaceae (*Orchidantha*), Marantaceae, Musaceae, Strelitziaceae e Zingiberaceae. *Heliconia*, pertencente anteriormente à família Musaceae, é o único gênero da família Heliconiaceae (NAKAI, 1941). É amplamente distribuído na América Central e do Sul, desde o nível do mar até 2.000 metros de altitude, além de apresentar um pequeno grupo de espécies distribuído em algumas Ilhas do Pacífico até 500 metros de altitude (Figura 1) (BERRY, KRESS, 1991).

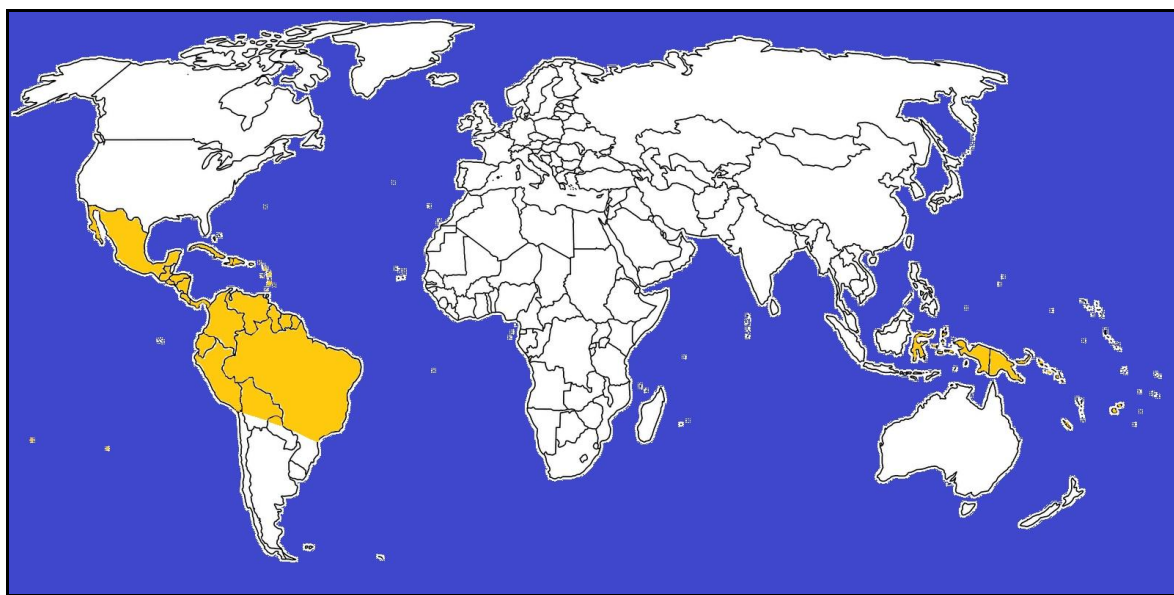


Figura 1: Distribuição geográfica das helicônias destacada em amarelo. **Baseado:** <http://www.mobot.org>.

Em 1771, Linnaeus nomeou o gênero em menção ao Monte Helicon na Grécia Central (WATSON, SMITH, 1979). Anteriormente o gênero era subdividido em quatro subgêneros: *Taeniostrobis* Kuntze (Griggs), *Stenochlamys* Baker, *Heliconia* e *Pendulae* Griggs (CASTRO, GRAZIANO, 1997). Com a inclusão de novas espécies descritas, modificações foram propostas por Castro et al. (2007) e o gênero passou a ser constituído por cinco subgêneros: *Heliconia*, *Taeniostrobis* kuntze (Griggs), *Stenochlamys* Backer, *Griggsia* L. Anderss e *Heliconiopsis* (Miq.) Kress. Este último é composto pelas espécies das Ilhas do Pacífico. Os autores,

sugeriram 176 espécies de *Heliconia*, de ocorrência na região neotropical e seis espécies nas Ilhas do Pacífico, perfazendo 182 espécies, distribuídas nos cinco subgêneros e em 23 seções (CASTRO et al., 2007).

Dentre as espécies válidas o maior número de táxons tem ocorrência na Colômbia (94), seguidos do Equador (60) Panamá (56), Costa Rica (47), Brasil (37), Peru (32), Venezuela (26), Nicarágua (22), Guatemala (16), Bolívia (15), Honduras e México (14) e Suriname (13) (CASTRO et al., 2007). O elevado número de espécies na América do Sul confirma a região como um dos centros de diversificação do gênero, pois das 182 espécies descritas, 94 são relatadas como endêmicas (KRESS, 1990). Atualmente, existem 207 espécies aceitas e 112 sinonímias registradas (THE PLANT LIST, 2010).

O centro de diversidade do gênero vai da região dos Andes (Colômbia e Equador) até o sul da América Central (Panamá e Costa Rica). No Brasil, existem duas áreas de distribuição geográfica e diversidade para *Heliconia*: a Bacia Amazônica e a Mata Atlântica costeira ou litorânea. *Heliconia psittacorum* (Figura 2) e *H. spathocircinata*, duas de importância ornamental, são comuns em ambas as áreas de distribuição e diversidade (KRESS, 1990).



Figura 2: Ocorrência de *H. psittacorum* nas Américas Central e do Sul. **Fonte:** www.discoverlife.org

A maioria das espécies habita regiões úmidas ou chuvosas, mas algumas são encontradas em áreas sazonalmente secas. Geralmente atingem sua maior

produtividade em baixas altitudes (inferiores a 500 m), mas também existem espécies que se desenvolvem bem em médias e altas altitudes. Todavia, os membros do gênero que mais se destacam habitam locais abertos, ao longo das estradas, em lacunas de florestas e na beira de rios. Outros membros têm crescimento restrito e habitam locais sombreados (ANDERSSON, 1989; BERRY, KRESS, 1991; CASTRO et al., 2007).

No Brasil, 29 espécies são aceitas, sendo cinco endêmicas (*H. adeliana* Emygdio & E. Santos, *H. angusta* Vell., *H. farinosa* Raddi, *H. kautzkiana* Emygdio & E. Santos, *H. pseudoaemygdiana* Emygdio & E. Santos), além do registro de quatro subespécies para *H. acuminata* Rich. As referidas espécies ocorrem naturalmente nas cinco regiões brasileiras (Gráfico 1) e nos domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal (Gráfico 2) (BRAGA, 2013, 2012). São popularmente conhecidas como bananeira-de-jardim, bico-de-guaraná, falsa-ave-do-paraíso e paquevira (ANDERSSON, 1989; BRAGA, 2012, 2013).

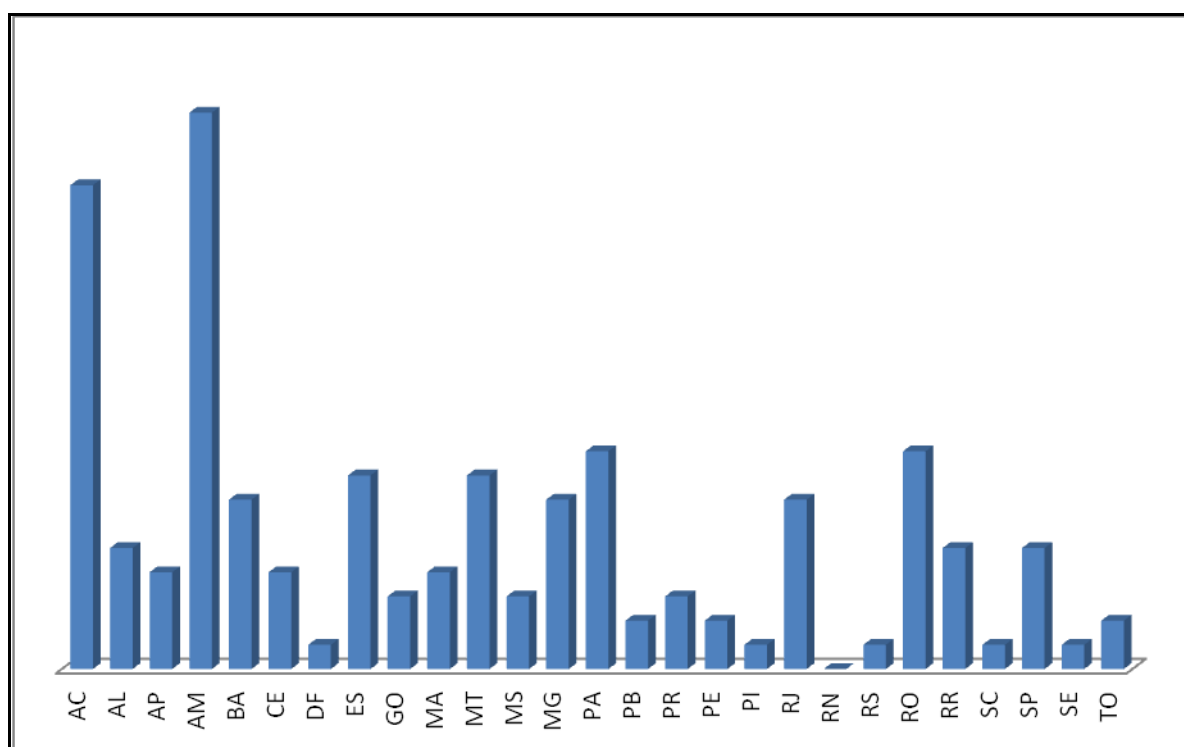


Gráfico 1: Distribuição das espécies de *Heliconia* por estado brasileiro. **Adaptado:** BRAGA (2013).

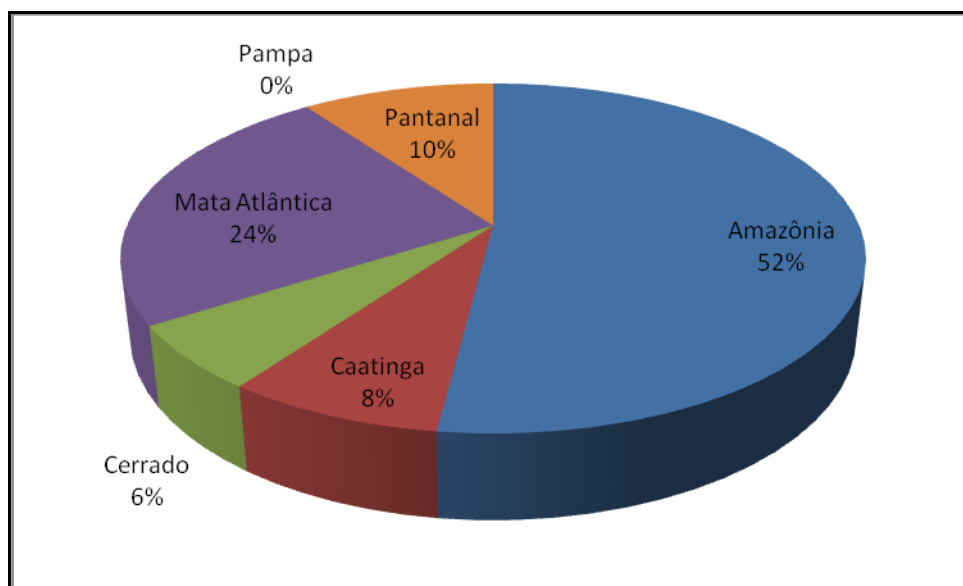


Gráfico 2: Distribuição das espécies de *Heliconia* por domínio fitogeográfico. **Adaptado:** BRAGA (2013).

2.2. Descrição botânica e morfológica

A variação fenotípica natural existente entre os indivíduos de helicônia tem ocasionado confusão e dificuldade na identificação pelos produtores e colecionadores da espécie uma vez que essa classificação é feita a partir de caracteres, tais como coloração de flores e brácteas, que em alguns casos nem sempre são distinguíveis com clareza e podem variar com o ambiente (BERRY, KRESS, 1991).

De acordo com Criley e Broschat (1992), as helicônias são plantas herbáceas, rizomatosas, perenes, com pseudocaulo ereto, aéreo, formado por bainhas de folhas sobrepostas. As folhas apresentam limbo, pecíolo e bainha. São opostas e dispostas em duas fileiras verticais, com altura variando de 0,5 a 10 m. No ápice do pseudocaulo forma-se apenas uma inflorescência terminal (BERRY, KRESS, 1991).

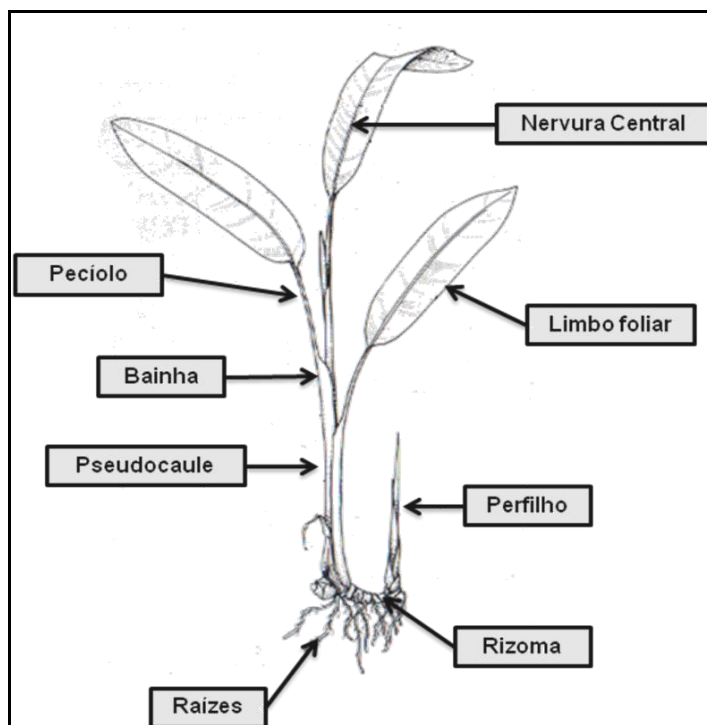


Figura 3: Aspectos morfológicos do hábito vegetativo das helicônias. **Adaptado:** Berry e Kress (1991).

As helicônias são classificadas quanto à disposição das folhas, como: (1) musoide, com folhas verticais em relação ao pseudocaule e com pecíolos longos, que ocorre na maioria das espécies de modo similar ao das bananeiras; (2) canoide, com pecíolo de comprimento curto ou médio, com posição oblíqua à haste, e (3) zingiberoide, com folhas dispostas horizontalmente de pecíolos curtos (BERRY, KRESS, 1991).

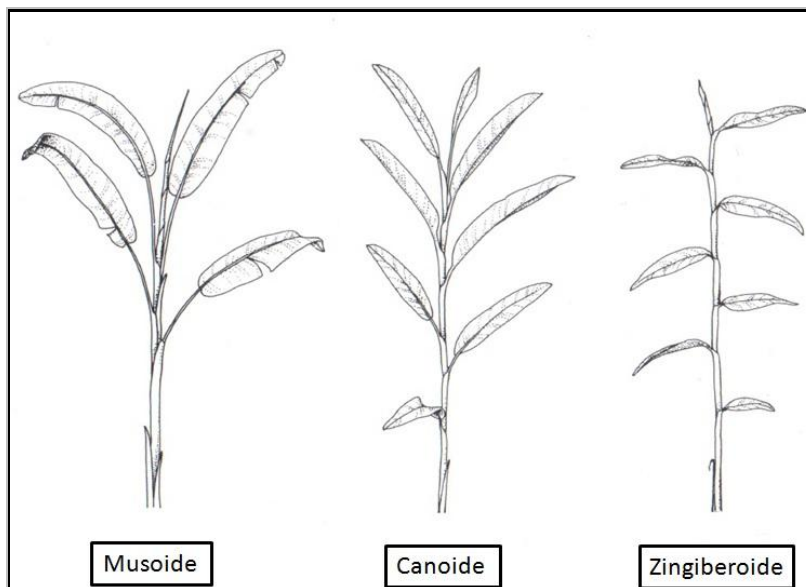


Figura 4: Classificação das helicônias quanto à disposição de suas folhas. **Fonte:** Abalo (1999).

As inflorescências das helicônias são terminais, podendo ser pendentes ou eretas. São compostas pelo pedúnculo, que é a parte da planta que une o pseudocaule à base das brácteas. Estas são folhas modificadas, com colorações variadas unidas através da ráquis, dispostas em um plano ou em mais de um plano, envolvendo inúmeras flores (Figura 5). Cada flor permanece aberta apenas por um dia. Contudo, como existem várias flores por bráctea e muitas brácteas por inflorescência, a fase de florescimento é prolongada. As inflorescências apresentam diversas cores, sendo algumas cores predominantes, como o amarelo, o vermelho e os alaranjados (BERRY, KRESS, 1991; CRILEY, BROCHAT, 1992).

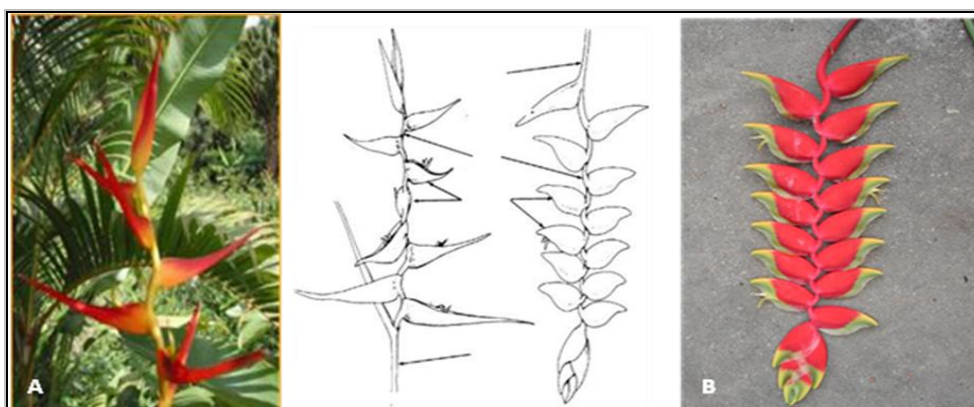


Figura 5: Tipos de inflorescências em *Heliconia*. A) Ereta em espiral; B) Pendente e dística. **Fonte:** Laflor (Laboratório de Floricultura, UFRPE), adaptado de Berry e Kress (1991)

As flores de helicônias são hermafroditas e em sua maioria são autocompatíveis, estas por sua vez podem ser eretas e expostas, como em *H. psittacorum*, ou quase escondidas como em outras espécies (BERRY, KRESS, 1991; CRILEY, BROCHAT, 1992). As helicônias são plantas que se propagam tanto por sementes como por rizomas (CASTRO, GRAZIANO, 1997).

2.3. Importância econômica das plantas ornamentais

A floricultura tropical está em expansão, especialmente pela beleza exótica de seus produtos. Sua produção se destaca nos países de clima tropical, gerando um mercado de exportação promissor para o Brasil (LOGES et al., 2005). A aceitação das flores tropicais pelo mercado consumidor e o elevado potencial de crescimento no mercado nacional e internacional se deve às características como durabilidade, beleza, diversidade de cores e formatos. Portanto, as helicônias aparecem como um dos tipos de flores mais cultivados pelos produtores e bem estimados pelos consumidores (LOGES et al., 2005, 2007, 2012).

No Brasil a floricultura ganhou qualidade e competitividade, expandindo-se por todas as regiões do país, sendo hoje considerada uma atividade de importância econômica. Atualmente, o estado de São Paulo é o maior produtor e exportador de plantas ornamentais do país, enquanto Pernambuco o principal produtor nacional de flores tropicais (BATALHA, BUAINAIN, 2007). Em relação ao mercado de exportação de plantas e flores ornamentais, houve um ciclo de retração em 2012 decaindo 7,76% em relação ao total vendido ao exterior em 2011 e exibindo fechamento no valor global de US\$ 26,01 milhões. Em 2012, o principal grupo de produtos setoriais exportados pelo Brasil foi o de bulbos, tubérculos, rizomas e similares em repouso vegetativo (55,93%), seguido pelo das mudas de plantas ornamentais (33,84%) (JUNQUEIRA, PEETZ, 2013).

2.3.1. Importância econômica das helicônias

Dentre as plantas ornamentais, as inflorescências das helicônias apresentam grande aceitação no mercado externo, devido à aparência exótica, à grande

variação de cores e formas de suas brácteas e ao apelo ecológico (OLIVEIRA, 1996; LOGES et al., 2005). Estas são utilizadas para paisagismo, na composição de jardins ou para ornamentação como flores de corte.

Os principais países produtores de helicônias são: Costa Rica, Estados Unidos, Honduras, Jamaica, Porto Rico, Suriname e Venezuela (BERRY, KRESS, 1991) O Brasil, apresenta destaque na produção regional, com cultivo principalmente nos estados de Pernambuco, Alagoas, Ceará, Bahia e Sergipe, além do Pará, Amazonas, Rio de Janeiro, São Paulo e Distrito Federal (JUNQUEIRA, PEETZ, 2005). As espécies e os híbridos mais comercializados como flor de corte são: *H. psittacorum*, *H. bihai*, *H. chartacea*, *H. caribea*, *H. wagneriana*, *H. angusta*, *H. hirsuta*, *H. orthotricha*, *H. stricta*, *H. rostrata*, *H. x Nickeriensis* (*H. psittacorum* x *H. marginata*), *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cultivares ‘Golden Torch’ e ‘Red Torch’ (CASTRO, 1995; CASTRO et al., 2011).

2.4. Bancos de germoplasma e coleções

Bancos de germoplasma são os locais onde os recursos genéticos são conservados. Essa conservação pode ser realizada tanto “*in situ*” quanto “*ex situ*”. No primeiro, a conservação é realizada no habitat natural e, no segundo, a conservação ocorre em habitat diferente, sendo esta a principal forma de conservação (VALOIS, 1996; VILELA-MORALES, VALOIS, 2000).

A existência de variação genética é fundamental nos programas de melhoramento genético para a obtenção de cultivares agronomicamente superiores. Nesse sentido, a caracterização dos acessos é uma etapa de extrema importância, que pode ser realizada mediante análises agronômicas, moleculares, bioquímicas ou citogenéticas. Estas análises auxiliam tanto na determinação da diversidade e da variabilidade existente quanto na escolha do método de melhoramento adequado (CONTERATO, SCHIFINO-WITTMANN, 2006), permitindo uma seleção mais eficiente dos recursos genéticos e um melhor gerenciamento do “*pool*” gênico (BENKO-ISEPPON, 2001).

Existem coleções e bancos de germoplasma de helicônias distribuídos mundialmente com o objetivo de conservar os genótipos para servir como fonte de

pesquisa e proporcionar o intercâmbio de materiais. A *Heliconia* Society Internacional (HSI), localizada na Flórida (EUA), tem cadastrado coleções públicas ou privadas de genótipos de *Heliconia*, destacando-se seis bancos de germoplasma oficiais que podem ser acessados pelo “National Tropical Botanical Garden” (com mais de 200 acessos): o (1) “Andromeda Garden” no oeste da Índia; (2) “Flamingo Gardens” em Fort Lauderdale nos EUA; (3) “Harold L. Lyon Arboretum” em Honolulu (Havaí); (4) “Pacific Tropical Botanical Gardens” no Kauai (Havaí); o (5) “Robert and Catherine Wilson Botanic Garden” na Costa Rica, e (6) “Jurong Bird Park” em Singapura. Destaca-se ainda o “The Marie Selby Botanical Gardens”, na Flórida (KRESS, 1986, 1987; BANNOCHIE, 1987; LORENCE, 1999).

No Brasil, os bancos de germoplasma são encontrados em sua maioria em instituições de ensino e pesquisa, por colecionadores e em jardins. A coleção de *Heliconia* foi iniciada em 1987, no Sítio de Burle Marx no Rio de Janeiro, e os principais bancos institucionais são mantidos no Instituto Agrônomo de Campinas-IAC (com 180 acessos de 60 espécies), no Instituto de Botânica do Estado de São Paulo, em centros regionais da EMBRAPA, em Universidades Federais e em alguns Jardins Botânicos (BERRY, 1989; CASTRO, 2009). Em Pernambuco, destaca-se a Coleção de Helicônias da UFRPE, localizada na Fazenda-Bem-Te-Vi no município de Camaragibe em Aldeia – PE, que foi instaurada em 2003 sendo os genótipos adquiridos de produtores do estado de Pernambuco e também coletados em Alagoas, Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo e Pará. Atualmente contém cerca de 50 genótipos.

2.5. Análises moleculares em *Heliconia*

O gênero *Heliconia* L. é constituído por uma grande diversidade de espécies, incluindo híbridos, variedades e cultivares de importância econômica. Contudo, tem sido alvo de revisões taxonômicas devido a incertezas sobre o número e a relação entre as espécies (MAROUELLI et al., 2010).

Estudos a nível molecular têm sido utilizados para a determinação do padrão de diversidade genética e para uma melhor compreensão dos processos de especiação e dos limites entre as espécies, contribuindo para análises filogenéticas e taxonômicas (MAROUELLI et al., 2010). Estudos moleculares em espécies de

Heliconia identificaram a família Heliconiaceae como um grupo monofilético (KRESS et al., 2001; MAROUELLI et al., 2010). Apenas o subgênero *Stenochlamys* foi considerado polifilético por Marouelli et al. (2010) em análise da variabilidade genética e das relações filogenéticas em 124 acessos (variedades, híbridos e cultivares) do gênero mediante marcadores RAPD e sequenciamento de DNA de cloroplasto e nuclear. Estas evidências foram corroboradas posteriormente por análises por marcadores AFLP de 67 acessos de *Heliconia* (IZARA et al., 2012).

2.6. Importância da citogenética na caracterização de germoplasma

Do ponto de vista citogenético, dados importantes podem contribuir para programas de melhoramento genético, tais como número e morfologia cromossômica, definição do número básico, nível de ploidia, características de coloração, determinação de afinidade genômica entre acessos e em híbridos intra e interespecíficos, avaliação do comportamento meiótico e fertilidade do pólen (STACE, 2000; CONTERATO, SCHIFINO-WITTMANN, 2006). A citogenética pode ainda auxiliar na transferência de genes, em estudos de efeito de dosagem gênica e na manipulação de sistemas genéticos (PAGLIARINI, 2001).

Várias técnicas citogenéticas podem ser utilizadas na caracterização de germoplasma, tais como o bandeamento C e a coloração diferencial com fluorocromos CMA e DAPI, possibilitando avaliar a quantidade e a distribuição do DNA altamente repetitivo (heterocromatina) bem como a identificação de cromossomos, em função do padrão de distribuição e tamanho das bandas (GUERRA, 1988; MORAES et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2012). Essas técnicas proporcionam uma análise mais completa dos conjuntos cromossômicos e fornecem uma melhor caracterização dos recursos genéticos e ampliação do conhecimento a ser empregado em estudos de melhoramento genético.

Os fluorocromos são corantes com propriedades fluorescentes e com grande afinidade por DNA e essas colorações evidenciam de preferência as regiões de heterocromatina constitutiva. Os fluorocromos usados mais comumente na citogenética vegetal são o DAPI (4'-6'-diamidino-fenilindol), que evidencia regiões ricas em bases AT, e o CMA (cromomicina A3), que evidencia as regiões ricas em

bases GC possibilitando a análise da constituição das regiões observadas, determinando se estas são ricas ou não em sequências AT e GC (SCHWEIZER, AMBROS, 1994; SUMNER 2003). A utilização combinada de dois ou mais fluorocromos possibilita a avaliação com maior eficiência da composição do DNA altamente repetitivo nos cromossomos e auxilia na identificação de pares cromossômicos dentro de uma mesma espécie e cromossomos que se mantêm ao longo da evolução em espécies próximas por intermédio do padrão de bandas (SCHWEIZER, 1976; SUMNER 2003; MORAES et al., 2007).

2.6.1. Hibridização *in situ* fluorescente

A técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH) ampliou a atuação da citogenética vegetal, permitindo o uso de novos tipos de marcadores cromossômicos. A FISH consiste na desnaturação do DNA alvo e posterior pareamento com a sonda adequada previamente marcada e desnaturada (Figura 7) (GUERRA, 2008). Tem sido amplamente utilizada para a localização de genes e sequências repetitivas ao longo dos cromossomos, na construção de mapas citogenéticos para diferentes espécies de plantas (CARDOSO, 2007; BONIFÁCIO et al., 2012; BORTOLETI et al., 2012).

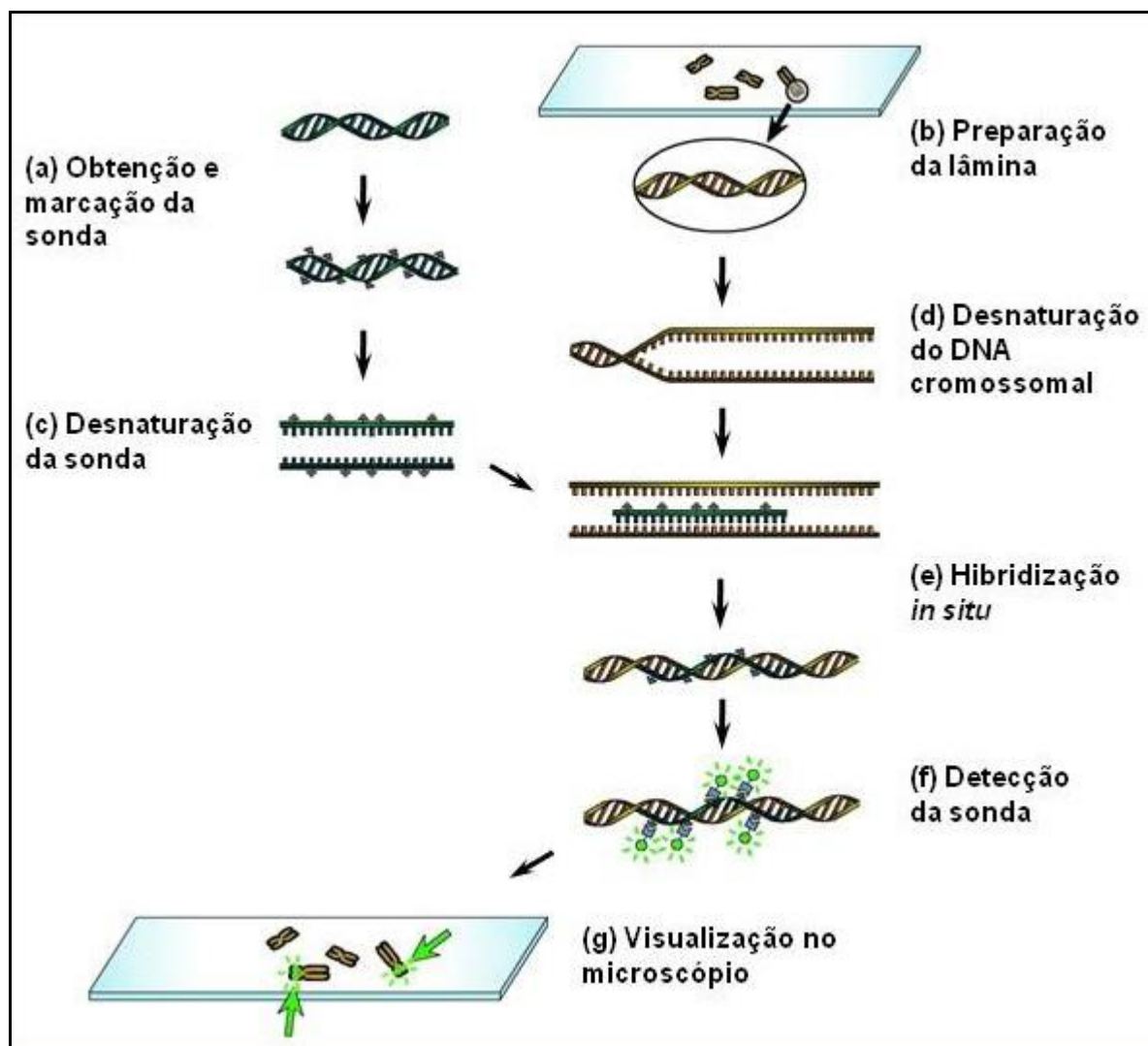


Figura 6: Esquema ilustrativo da técnica de hibridização *in situ* fluorescente. Fonte: Santelmo Vasconcelos, adaptado de GUERRA (2008).

Sondas de DNA repetitivo, como DNA ribossomal (DNAr) 5 e 45S, por exemplo, têm sido bastante utilizadas na diferenciação de espécies. Em *Musa* (banana), a localização dos sítios de DNAr 45S tem sido útil na sua classificação taxonômica (BARTOS et al., 2005) e na rápida identificação do nível de ploidia. Na seção *Eumusa*, por exemplo, os clones diploides mostraram um único par de sítios de DNAr 45S, os triploides três sítios, enquanto um híbrido tetraploide apresentou dois pares (OSUJI et al., 1998). Adicionalmente, um mapa citogenético de alta resolução foi desenvolvido para duas espécies pertencentes a diferentes seções de *Musa*, mediante FISH utilizando como sondas clones BACs (cromossomos artificiais de bactérias), selecionados de duas bibliotecas genômicas de banana. Os autores demonstraram a aplicabilidade da técnica no estudo da complexidade genética no

gênero *Musa*, incluindo informações sobre colinearidade e rearranjos cromossômicos, a fim de facilitar a produção de novas cultivares (CAPDEVILLE et al., 2009).

2.7. Caracterização citogenética em *Heliconia*

Existe uma carência de conhecimento citogenético para espécies de *Heliconia* bem como para seus híbridos interespecíficos. Contagens cromossômicas para cerca de 30 espécies foram relatadas (Tabela 1) e revelam número básico de $x = 12$, com predominância de espécies diploides ($2n = 24$), como observado em cultivares de *H. bihai*, *H. psittacorum* e *H. caribaea* (LEE et al., 1994; CRILEY, 2000; Index to Plant Chromosome Number - <http://www.tropicos.org/Name/21500011>). Outras cultivares de *H. psittacorum*, por exemplo, 'Petra', 'Sassy' e 'Iris', são triploides ($2n = 3x = 36$) e caracterizadas por apresentarem meiose anormal e por serem, conseqüentemente, estéreis (LEE et al., 1994).

Em estudo anterior realizado por Leite (2009), seis genótipos do gênero foram analisados por coloração CMA/ DAPI e por FISH de DNAr 5S e 45S: *H. spathocircinata*; *H. psittacorum*; dois híbridos resultantes do cruzamento entre essas duas espécies ('Golden Torch' e 'Golden Torch Adrian'), e dois genótipos triploides da espécie *H. psittacorum* ('Suriname Sassy' e 'Sassy'). Mediante estas análises, foram identificados quatro tipos cromossômicos (T1, T2, T3 e T4) que podem ser úteis para a diferenciação dos genótipos analisados, mostrando a viabilidade de realizar análises citogenéticas em *Heliconia*, com o intuito de encontrar marcas cromossômicas para as diferentes espécies e de caracterizar a constituição genômica de espécies diploides, triploides, além de híbridos interespecíficos.

Tabela 1: Espécies da família Heliconiaceae com os respectivos números cromossômicos. **Fonte:** Index to Plant Chromosome Number (<http://www.tropicos.org/Name/21500011>) and Lee et al. 1994.

Espécie	2n	Ploidia	Autor
<i>Heliconia acuminata</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. aemygdiana</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. arabica</i>	22	2x	(SARKAR, CHATTERJEE, 1972)
<i>H. bihai</i>	24	2x	(OMANAKUMARI, MATHEW, 1976; ANDERSON, 1984)
<i>H. chartacea</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. densiflora</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. imbricata</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. irrasa</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. latispatha</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. longiflora</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. lourteigiae</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. marginata</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. mariae</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. monteverdensis</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. nigriprefixa</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. nutans</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. pendula</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. pogonantha</i> var. <i>Holerythra</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. pogonantha</i> var. <i>Veraguasensis</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. psittacorum</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. psittacorum</i> cv. Tay	24	2x	(LEE et al., 1994)
<i>H. psittacorum</i> cv. Lady Di	24	2x	(LEE et al., 1994)
<i>H. psittacorum</i> cv. Andromeda	24	2x	(LEE et al., 1994)
<i>H. psittacorum</i> cv. Petra	36	3x	(LEE et al., 1994)
<i>H. psittacorum</i> cv. Sassy	36	3x	(LEE et al., 1994)
<i>H. psittacorum</i> cv. Iris	36	3x	(LEE et al., 1994)
<i>H. ramonensis</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. reticulata</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. richardiana</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. riopalenquensis</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. rodriguensis</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. spathocircinata</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. tortuosa</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. rostrata</i>	24	2x	(HANSON et al., 2001)
<i>H. venusta</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. virginalis</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)
<i>H. xanthovillosa</i>	24	2x	(ANDERSON, 1984)

Referências

ABALO, J. E. Heliconias for the ornamental industry. **Acta Horticultura**, v. 486, p. 313-315, 1999.

ANDERSSON, L. An evolutionary scenario for the genus *Heliconia*. In: **Tropical forests, botanical dynamics, speciation and diversity**, Nova York, p. 173-184, 1989.

BANNOCHIE, I. Atribute to the Zingiberaceae. **Heliconia Society International Bulletin**, FL. Lauderdale. v.2, n. 3/4, p.7-9, 1987.

BARTOS, J.; ALKHIMOVA, O.; DOLEZELOVÁ, M.; DE LANGHE, E.; DOLEZEL, J. Nuclear genome size and genomic distribution of ribosomal DNA in *Musa* and *Ensete* (Musaceae): taxonomic implications. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 109, p. 50-57, 2005.

BATALHA, M. O; BUAINAIN, A. M. Cadeias produtivas de flores e mel. **Serie Agronegocios**, v. 9. MAPA/SPA/IICA, p. 142, 2007.

BENKO-ISEPPON, A. M. **Estudos moleculares e citogenéticos no caupi e em espécies relacionadas: Avanços e perspectivas**. EMBRAPA Documentos 56, p. 327-332, 2001.

BERRY, F. *Heliconia* at Sítio Roberto Burle Marx. **Bulletin Heliconia Society International**, Indianápolis, v.4, n.2, p.7, 1989.

BERRY, F.; KRESS, W. J. **Heliconia: An identification guide**. Smithsonian Institution Press, p. 334, 1991.

BONIFÁCIO, E. M; FONSÊCA, A; ALMEIDA, C; SANTOS, K. G. B; PEDROSA-HARAND, A. Comparative cytogenetic mapping between the lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) and the common bean (*P. vulgaris* L.). **Theor Appl Genet**, v. 124, p. 1513-1520, 2012.

BORTOLETI, K. C. A; BENKO-ISEPPON, A. M; MELO, N. F; BRASILEIRO-VIDAL, A. C. Chromatin differentiation between *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek and *V. unguiculata* (L.) Walp. (Fabaceae). **Plant Systemat and Evol**, v. 298, p. 689-693, 2012.

BRAGA, J.M.A. 2012. Heliconiaceae In **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000126>).

BRAGA, J.M.A. 2013. Heliconiaceae In **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7954>)

CAPDEVILLE, G.; JUNIOR, M. T. S.; SZINAY, D.; DINIZ, L. E. C.; WIJNKER, E.; SWENNEN, R.; KEMA, G. H. J.; JONG, H. The potential of high-resolution BAC-FISH in banana breeding. **Euphytica**, v.166, p.431–443, 2009.

CARDOSO, M. B. **Análises citogenéticas em linhagens sintéticas de *Triticum aestivum* L. em Thell. (*T. durum* L. X *Aegilops tauschii* Coss) e seus cruzamentos com cultivares de trigo, visando a introgressão de resistência à ferrugem da folha.** Tese (Doutorado em ciências)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto alegre, 2007.

CASTRO, C. E. F. **Helicônias como flores de corte: adequação de espécies e tecnologia pós-colheita.** Tese (Doutorado)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba 1993.

CASTRO, C. E. F. Inter-relações das famílias Zingiberales. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. Campinas, v.1, n.1, p.2-21, 1995.

CASTRO, C. E. F. História da floricultura brasileira: organização e evolução. **Magistra**, Cruz das Almas-BA, v. 21, n. 4, p. 233-252, 2009.

CASTRO, C. E. F.; GONÇALVES, C.; MOREIRA, S. R.; FARIA, O. A. Heliconias brasileiras: características, ocorrência e usos. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental** (Impresso), v. 17, p. 5-24, 2011.

CASTRO, C. E. F.; GRAZIANO, T. T. Espécies do gênero *Heliconia* (Heliconiaceae) no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 3, p.15-28, 1997.

CASTRO, C. E. F.; MAY, A.; GONCALVES, C. Atualização da nomenclatura de espécies do gênero *Heliconia* (Heliconiaceae). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.3, n.1, p.38-62, 2007.

CONTERATO, I. F.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T. New chromosome numbers, meiotic behaviour and pollen fertility in American taxa of *Lupinus* (Leguminosae): contributions to taxonomic and evolutionary studies. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.150, p. 229-240, 2006.

COSTA, A. S.; LOGES, V.; CASTRO, A. C. R.; BEZERRA, G. J. M.; SANTOS, V. F. Variabilidade genética e correlações entre caracteres de cultivares e híbridos de *Heliconia psittacorum* **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. Recife, v.2, n.3, p.187-192, 2007

CRILEY, R. A.; BROSCHEAT, T. K. *Heliconia*: botany and horticulture of new floral crop. **Horticulture review**, New York, v.14, n.12, 1992.

CRILEY, R. A. Seasonal flowering patterns for *Heliconia* shown by grower records. **Acta Horticulture**, v. 541, p.159-165, 2000.

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

GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetics and Genome Research**, v. 120, p.339-350, 2008.

GUIMARÃES, W. N. R.; LOGES, V.; BURITTY, H. A.; CASTRO, A. C. R.; COSTA, A. S.; CASTRO, C. E. F. **Lista preliminar de descritores de helicônias (*Heliconia* L.)**. Biblioteca Nacional. No registro: 541.802. Livro: 1031. Folha: 22. 25 de outubro de 2011.

ISARA, L.; MARULANDA, M. L.; LÓPEZ, A. M. Genetic diversity and molecular characterization of several *Heliconia* species in Colombia. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, p. 4552-4563, 2012.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. **Comercialização: aspectos de mercado e manuseio pós-colheita**. In: TERAÓ, D.; CARVALHO, A. C. P. P.; BARROSO, T. C. S. F. (Ed.). Flores tropicais. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2005. p.173-181.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. **2012: Balanço do comércio exterior da floricultura brasileira**. Análise Conjuntural do Mercado de Flores e Plantas Ornamentais no Brasil, 2013. (<http://www.hortica.com.br/news.php>)

KRESS, W. J. Heliconia research at the Marie Selby Botanical Gardens. **Bulletin Heliconia Society International**. FL. Lauderdale, v.3, n.1, p. 1, 1987

KRESS, W. J. Official plant collection centers named. **Bulletin Heliconia Society International**, FL. Lauderdale, v.2, n.2, p. 2, 1986.

KRESS, W.J.. The diversity and distribution of *Heliconia* (Heliconiaceae) in Brazil. **Acta Botanica, Brasilica**, v 4, n.1, 159-167, 1990.

KRESS, W.J.; PRINCE LM, HAHN, W. J.; ZIMMER, E. A. Unraveling the evolutionary radiation of the families of the Zingiberales using morphological and molecular evidence. **Syst. Biol.** V. 50, p. 926-944, 2001.

LEE, Y. H.; NG, N. Y.; GOH, C. J. Pollen formation and fruit set in some cultivars of *Heliconia psittacorum*. **Scientia Horticulturae**, v. 60, p.167-172, 1994.

LEITE, B. S. F. **Padrão de Distribuição de Bandas CMA3 e Localização de Sítios de DNAr 5S e 45S na Caracterização de Acessos de *Heliconia* L. (Heliconiaceae)**. Universidade Federal de Pernambuco (Trabalho de Conclusão de Curso). Recife, 2009.

LOGES, V.; CASTRO, C. E. F.; GUIMARÃES, W. N. R.; SANTOS, A. C.; LEITE, K. M. P. Agronomic traits of *Heliconia* for cut flowers use. **Acta Horticulturae**, v. 937, p.535-544, 2012.

LOGES, V. et al. Ornamental Attributes of *Heliconia* Plants for Landscape Design in Brazil. **Acta Horticulturae**, v.743, p.75 – 80, 2007.

LOGES, V.; TEIXEIRA, M. C. F.; CASTRO, A. C. R.; COSTA, A. S. Colheita, pós-colheita e embalagem de flores tropicais em Pernambuco. **Horticultura Brasileira**. v.23, p.699-702, 2005.

LORENCE, D. H. Zingiberales collection at the National Tropical Botanical Garden: 1998 report. **Bulletin Heliconia Society International**. FL. Lauderdale, v. 9, n. 4, p.8-9, 1999.

MARQUELLI, L. P.; INGLIS, P. W.; FERREIRA, M. A.; BUSO, G.S.C. Genetic relationships among *Heliconia* (Heliconiaceae) species based on RAPD markers. **Genetics and Molecular Research**, v.9, p.1377-1387, 2010.

MORAES, A .P.; SOARES-FILHO, W. S.; GUERRA, M. Karyotype diversity and the origin of grapefruit. **Chromosome Research**, v. 15, p. 115-121, 2007.

NAKAI, T. Notulae ad Plantas Asiae Orientalis. **Journal of Japanese Botany**, v. 17, p.1-15, 1941.

OLIVEIRA, V. M.; MANSANARES, M. E.; SEMIR, J.; FORNI-MARTINS, D. E. R. Karyotype characterization of two populations of *Vernonia geminata* (Asteraceae, Vernonieae) using banding and FISH techniques. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, p. 4204-4212, 2012

OLIVEIRA, M. J. G. **Tecnologia de pós-colheita de *Heliconia* spp.** 111f. Dissertação (Mestrado em engenharia agrícola), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

OSUJI, J. O.; CROUCH, J.; HARRISON, G.; HESLOP-HARRISON, J. S. Molecular Cytogenetics of *Musa* Species, Cultivars and Hybrids: Location of 18S-5.8S-25S and 5S rDNA and Telomere-like Sequences. **Annals of Botany**, v. 82, p. 243-248, 1998.

PAGLIARINI, M. S. Citogenética aplicada ao melhoramento. In: NASS, L. L; VALOIS, A. C. C; MELO, I. S; VALADARES-INGLIS, M. C. (Org). **Recursos genéticos e melhoramento: Plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. cap 27, p. 871-910.

ROCHA, F. H. A., COSTA, A. S., ARAGAO, F. A. S., SANTOS, V. F., LOGES, V. Genetic study with *Heliconia psittacorum* and interspecific hybrids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. v.10, p. 282 – 288, 2010.

SCHWEIZER, D.; AMBROS, P. F. Chromosome Banding. In: GOSDEN, J. R. (ed) **Methods in Molecular Biology**. v. 29. Humana Press, 1994. p 97-112.

SCHWEIZER, D. Reverse fluorescent chromosome banding with Chromomycin A e DAPI. **Chromosome**. v. 58 p.307-324, 1976.

STACE, C. A. Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21st centuries. **Taxon**, v. 49, p. 451-477, 2000.

SUMNER, A. T. Chromosomes: Organization and Function. **Blackwell Publishing**, Oxford, USA, p. 287, 2003.

The Plant List. 2010. Version 1. Published on the Internet; (<http://www.theplantlist.org/>).

Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. 19 Jan 2014
<<http://www.tropicos.org/Name/21500011>>

VALOIS, A. C. C. Conservação de germoplasma vegetal “ex situ”, **Conservación de germoplasma vegetal.** Ed. Por Juan P. Pulgnau. Montevideo, v. 45, p.166, 1996.

VILELA-MORALES E. A.; VALOIS A. C. C. **Cadernos de Ciência & Tecnologia.** v.17, n.2, p.11-42, Brasília, 2000.

WATSON, D. P.; SMITH, R. R. **Ornamental Heliconias.Cooperative Extension Service.** University of Hawaii, Honolulu, circular 482 , 1979.

CAPÍTULO II

**Caracterização de genótipos de *Heliconia* L. mediante hibridização
in situ fluorescente**

Caracterização de genótipos de *Heliconia* L. mediante hibridização *in situ* fluorescente

Marília Gabriela de Santana Costa¹, Bruno Sérgio Ferreira Leite², Vivian Loges¹, Ebenézer Bernardes Correia Silva³, Andreza Santos da Costa¹, Walma Nogueira ramos Guimarães⁴, Ana Christina Brasileiro Vidal^{1,2,5}.

¹Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, 52171-900, Dois Irmãos, Recife, (PE) Brasil; ²Departamento de Genética da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, CEP: 50670-901 Recife, (PE) Brasil; ³Departamento de Ciências da Natureza do Instituto Federal de Alagoas (IFAL), Rua Odilon Vasconcelos, 103 – Jatiúca, CEP: 57035-660 Maceió, (AL) Brasil; ⁴Departamento de Genética da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, 52171-900, Dois Irmãos, Recife, (PE) Brasil, ⁵Autor para correspondência.

RESUMO

O gênero *Heliconia* L., o único da família Heliconiaceae, inclui plantas ornamentais e com crescente aceitação do mercado externo. Contudo, a identificação dos genótipos, baseada principalmente em características morfológicas, tem gerado sinonímias, havendo uma necessidade de utilizar novas técnicas para diferenciação dos genótipos. O presente trabalho teve por objetivo a caracterização citogenética de 10 genótipos de *Heliconia*, mediante técnicas de coloração com fluorocromos CMA e DAPI e FISH para sítios de DNAr 45S e 5S. Oito genótipos foram diploides ($2n = 2x = 24$) e dois foram triploides ($2n = 3x = 36$). Os cariótipos foram simétricos, com cromossomos variando de 0,88 a 3,35 μm . Em relação à coloração CMA/DAPI e FISH, observou-se a presença de uma banda CMA⁺/DAPI⁰/DNAr 5S na região proximal de dois e três cromossomos pequenos, nos genótipos diploides e triploides, respectivamente. As marcações CMA⁺⁺/DAPI/DNAr 45S variaram de dois a quatro sítios por genótipo, observando-se alguns heteromorfismos interessantes. A distribuição dos sítios de DNAr 5S e 45S, ambos CMA positivos, corroborou a origem dos genótipos triploides 'Sassy' e 'Suriname Sassy' a partir de genótipos diploides de *H. psittacorum* bem como de híbridos *H. psittacorum* x *H.*

spathocircinata ('Golden Torch' e 'Golden Torch Adrian') e *H. caribaea* x *H. bihai* cv. *Jacquinii* a partir de seus respectivos parentais.

Palavras-chave: CMA/DAPI, FISH; híbridos; marcas cromossômicas.

Introdução

As flores tropicais estão em expansão, ganhando qualidade e competitividade em países de clima tropical, sendo hoje considerada uma atividade de importância econômica e promissora no mercado da floricultura (LOGES et al., 2005; BATALHA, BUAINAIN, 2007). Dentre as flores tropicais, as helicônias apresentam grande aprovação devido à beleza exuberante de suas inflorescências, ao exotismo, à grande variação de cores e formas (OLIVEIRA, 1996; LOGES et al., 2005) e por apresentarem alta durabilidade pós-colheita e resistência ao transporte (CASTRO, 1993; LOGES et al., 2005).

Heliconia de acordo com Nakai (1941) é o único gênero da família Heliconiaceae. É um grupo monofilético (KRESS et al., 2001; MAROUELLI et al., 2010), destacando apenas o subgênero *Stenochlamys* de origem polifilética (MAROUELLI et al., 2010; IZARA et al., 2012). É amplamente distribuído na América Central e do Sul, com um pequeno grupo em algumas Ilhas do Pacífico. Possui como centro de diversidade a região dos Andes até o sul da América Central (KRESS, 1990; BERRY, KRESS, 1991; CASTRO, 2007) e inclui atualmente 207 espécies aceitas (THE PLANT LIST, 2010).

Contudo, a variação natural de cores e formas existente entre as inflorescências dos indivíduos de helicônia tem gerado confusões taxonômicas e incertezas sobre o número de espécies, uma vez que a classificação é feita em geral a partir de características fenotípicas (botânicas, morfológicas e agronômicas), tais como coloração de flores e brácteas, que em alguns casos nem sempre são distinguíveis com clareza ou variam com o ambiente (BERRY, KRESS, 1991). Cento

e doze sinonímias têm sido apontadas (THE PLANT LIST, 2010) e, por essa razão, a descrição e a classificação taxonômica do gênero tem sido incrementada com o emprego de marcadores moleculares (MAROUELLI, 2010; ROCHA et al., 2010; GUIMARÃES et al., 2011; LOGES et al., 2012; ISAZA, et al. 2012).

Os genótipos 'Golden Torch' e 'Golden Torch Adrian', por exemplo, vêm sendo descritos na literatura como híbridos entre *H. spathocircinata* Aristeguieta e *H. psittacorum* L. f. (COSTA et al., 2007; ISAZA et al., 2012; MAROUELLI et al., 2010) e em trabalhos utilizando marcadores moleculares mostraram um bom agrupamento com os seus possíveis parentais (ISAZA et al., 2012; MAROUELLI et al., 2010). Contudo, ainda existem incertezas em relação aos genótipos parentais dos referidos híbridos, uma vez que *H. psittacorum* é constituída por diferentes genótipos com características fenotípicas divergentes e nem sempre bem definidos. O genótipo *H. psittacorum* cv. Red Opal, por exemplo, é citado por Costa et al. (2007) e Isaza et al. (2012) como uma população de *H. psittacorum* e por Marouelli et al. (2010) como um híbrido entre *H. spathocircinata* e *H. psittacorum*.

As análises citogenéticas existentes para o gênero *Heliconia* são escassas e referem-se basicamente a números cromossômicos para cerca de 30 espécies. O gênero possui um número básico $x = 12$, com grande maioria de espécies diploides ($2n = 2x = 24$), destacando-se alguns citotipos triploides ($2n = 3x = 36$), como os genótipos de *H. psittacorum* 'Sassy' e 'Suriname Sassy'. A única exceção é a espécie *H. arabica* com $2n = 22$ (LEE et al., 1994; CRILEY, 2000; Index to Plant Chromosome Number - <http://www.tropicos.org/Name/21500011>). Seis genótipos do gênero foram analisados por técnicas citogenéticas de coloração com os fluorocromos CMA (cromomicina A₃) e DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol) CMA/ DAPI e FISH (Hibridização *In Situ* Fluorescente) para DNAr 5S e 45S, demonstrando a exequibilidade do uso das técnicas em espécies do gênero (LEITE, 2009). Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo analisar citogeneticamente 10 genótipos de *Heliconia*, incluindo híbridos, seus possíveis parentais e genótipos triploides, a fim de contribuir para sua caracterização e elucidação a respeito das prováveis origens, mediante técnicas de coloração CMA e DAPI e FISH de DNAr 5S e 45S.

Material e métodos

Material vegetal

Dez genótipos de *Heliconia* foram analisados, sendo oito diploides (incluindo três descritos como híbridos e seus prováveis parentais), e dois triploides (Figura 1; Tabela 1). Os rizomas dos genótipos diploides *H. psittacorum* cv. Red Opal, *H. psittacorum* cv. Strawberries & Cream, *H. bihai*, dos híbridos *H. spathocircinata* x *H. psittacorum* ('Golden Torch' e 'Golden Torch Adrian') e *H. caribaea* x *H. bihai* ('Jacquini'), e dos dois genótipos triploides *H. psittacorum* cv. Suriname Sassy e *H. psittacorum* cv. Sassy foram coletados da Coleção de Helicônias da UFRPE (Fazenda-Bem-Te-Vi, Camaragibe, Pernambuco). Rizomas do genótipo diploide *H. spathocircinata* foram cedidos pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC/APTA, SP) e do diploide *H. psittacorum* ('Paquevira') coletados próximo ao Campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

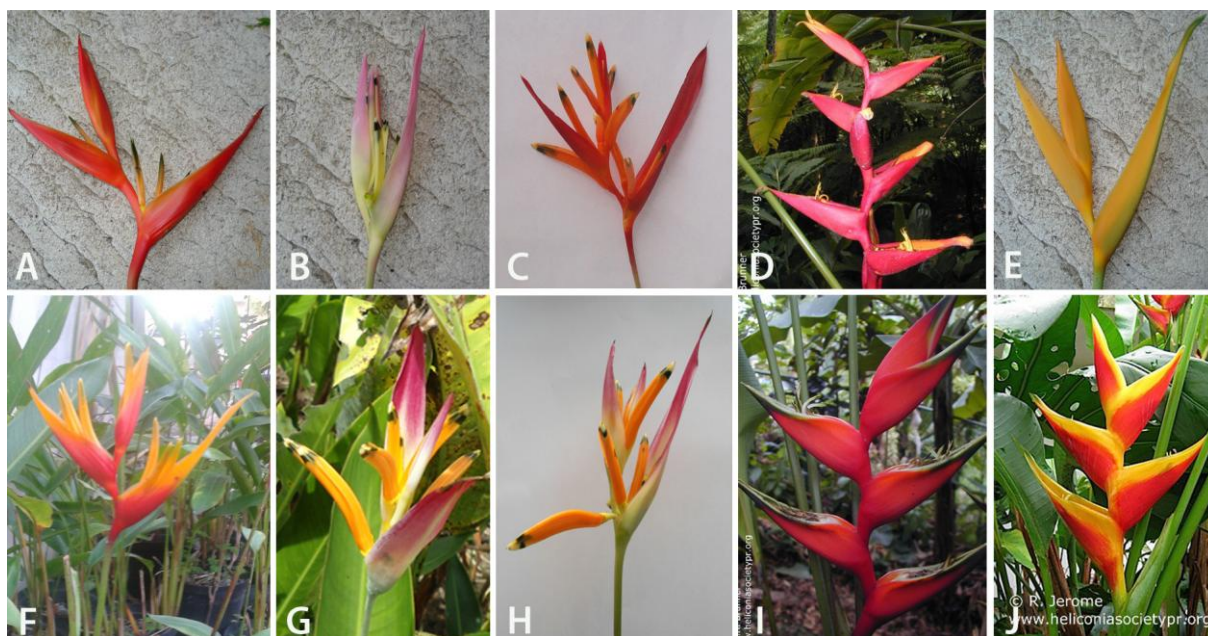


Figura 1: Espécies caracterizadas por técnicas citogenéticas: A) *Heliconia psittacorum* cv. Red Opal; B) *H. psittacorum* cv. Strawberries & Cream; C) *H. psittacorum* cv. Paquevira; D) *H. spathocircinata*; E) *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cv. Golden Torch; F) *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cv. Golden Torch Adrian; G) *H. psittacorum* cv. Suriname Sassy; H) *H. psittacorum* cv. Sassy; I) *H. bihai*; J) *H. caribaea* x *H. bihai* cv. Jacquini. **Fontes:** (A, B e E) Laflor (Laboratório de Floricultura, UFRPE); (C, F, G e H) Fotos da autora; (D, I e J) <http://www.heliconiasocietypr.org/>.

Preparação das lâminas e coloração CMA/ DAPI

Pontas de raízes jovens de plantas envasadas foram pré-tratadas com 8-hidroxiquinoleína (8-HQ) 2 mM, por 1 h à temperatura ambiente e 21 h a 8 °C. Posteriormente, as raízes foram fixadas em etanol: ácido acético (3:1, v:v), por 24 h à temperatura ambiente e estocadas a – 20 °C. Posteriormente, as pontas de raízes foram lavadas em água destilada, digeridas com solução de celulase 2% e pectinase 20% a 37 °C por 2 h e 30 min, lavadas e submetidas a ácido acético 60% por 1 h. Em seguida, as raízes foram esmagadas em ácido acético 45%. As melhores lâminas foram selecionadas, envelhecidas por três dias, coradas com CMA (0,5 mg/mL, 1 h) e DAPI (2 µg/mL, 30 min), montadas em tampão McIlvaine-glicerol (1:1) e estocadas por mais três dias (SCHWEIZER, AMBROS, 1994). Após análise e captura das imagens das melhores células, as lâminas foram descoradas em etanol: ácido acético (3:1, v/v) por 30 min, seguido por imersão em etanol absoluto à temperatura ambiente por 1 h e estocadas a – 20 °C.

Marcação das sondas

Na técnica de FISH, R2, um fragmento de 6,5 Kb, contendo a unidade de repetição de DNAr 18S-5,8S-25S, oriunda de *Arabidopsis thaliana* (WANZENBÖCK et al., 1997), e D2, um fragmento de 500 pb da unidade de repetição DNAr 5S de *Lotus japonicus* (PEDROSA et al., 2002), foram utilizados como sonda. As sondas foram marcadas por *nick translation* (Roche Diagnostics, Life Technologies), sendo as de DNAr 45S com digoxigenina-11-dUTP (Roche) e as de DNAr 5S com biotina-16-dUTP (Sigma).

Hibridização *in situ* fluorescente (FISH)

As lâminas previamente utilizadas na coloração com os fluorocromos CMA e DAPI foram pré-tratadas como descrito por Pedrosa et al. (2001). A desnaturação dos cromossomos e das sondas, os banhos pós-hibridização e a detecção foram

efetuados de acordo com Heslop-Harrison et al. (1991), exceto pela lavagem de estringência que foi realizada em 0,1x SSC a 42°C. As misturas de hibridização consistiram de: formamida 50% (v/v), dextran sulfato 10% (p/v), 2x SSC e 2-5 ng/μL de sonda. As lâminas foram desnaturadas por 10 min a 90°C e submetidas a uma série etílica gelada (70% e 100%) por 5 min cada e hibridizadas durante a noite a 37°C. As sondas marcadas com digoxigenina foram detectadas com antidigoxigenina rodamina (Roche) em BSA 1% (p/v). A sonda marcada com biotina foi detectada com estreptavidina Alexa flúor 488 (Invitrogen) também em BSA 1% (p/v). Ao final do processo, as preparações foram montadas com 2 μg/mL de DAPI em Vectashield (Vector), na proporção de 1:1.

As células foram analisadas em microscópio de epifluorescência Leica DMLB e imagens das melhores células foram capturadas com uma câmera Leica DFC 340FX, usando o programa Leica CW 4000. As imagens foram tratadas para melhor brilho e contraste com o Adobe Photoshop CS4 (Adobe Systems Incorporated).

Resultados

Os genótipos analisados apresentaram $2n = 2x = 24$ cromossomos para os genótipos diploides e $2n = 3x = 36$ para os triploides (Tabela 1), com comprimento do complemento total variando de 42,89 a 52,37 μm, nos diploides. Os genótipos triploides apresentaram comprimento total de 66,65 e 56,83 μm em 'Sassy' e 'Suriname Sassy', respectivamente (Tabela 1). De um modo geral os cromossomos metafásicos apresentaram cariótipo simétrico, com cromossomos variando de 0,88 a 3,35 μm (Tabela 1). Todos os genótipos apresentaram um padrão de condensação proximal, observado tanto na coloração com CMA quanto com DAPI (Figura 2A).

Tabela 1: Relação das espécies e seus respectivos números de genótipo, nível de ploidia e sítios de DNAr 45S e 5S.

Espécies	Subgenêro*	Complemento total (μm)	Tamanho cromossômico (μm)	Nível de Ploidia	CMA ⁺ / DAPI	CMA ⁺⁺ / DAPI	N. Sítios de DNAr	
							45S	5S
<i>H. psittacorum</i> cv. Red Opal	<i>Stenochlamys</i>	43,06	2,64 – 1,15	2x = 24	2	2	2	2
<i>H. psittacorum</i> cv. Strawberries & Cream	<i>Stenochlamys</i>	42,89	3,35 – 1,25	2x = 24	2	2	2	2
<i>H. psittacorum</i> (Paquevira)	<i>Stenochlamys</i>	43,87	2,73 – 1,14	2x = 24	2	2	2	2
<i>H. spathocircinata</i>	<i>Heliconia</i>	46,50	3,02 – 1,25	2x = 24	2	4	4	2
<i>H. bihai</i>	<i>Heliconia</i>	51,08	2,71 – 1,02	2x = 24	2	2	2	2
<i>H. spathocircinata</i> x <i>H. psittacorum</i> cv. Golden Torch	Híbrido	52,37	2,98 – 1,44	2x = 24	2	3	3	2
<i>H. spathocircinata</i> x <i>H. psittacorum</i> cv. Golden Torch Adrian	Híbrido	46,55	2,89 – 1,13	2x = 24	2	3	3	2
<i>H. caribaea</i> x <i>H. bihai</i> cv. Jacquinii	Híbrido	42,73	2,57 – 1,18	2x = 24	2	2	2	2
<i>H. psittacorum</i> cv. Suriname Sassy	<i>Stenochlamys</i>	56,83	2,39 – 0,88	3x = 36	2	3	3	3
<i>H. psittacorum</i> cv. Sassy	<i>Stenochlamys</i>	66,65	2,53 – 1,12	3x = 36	2	3	3	3

*De acordo com Kress et al. (1993); Marouelli et. al., (2010) e Isaza et. al. (2012).

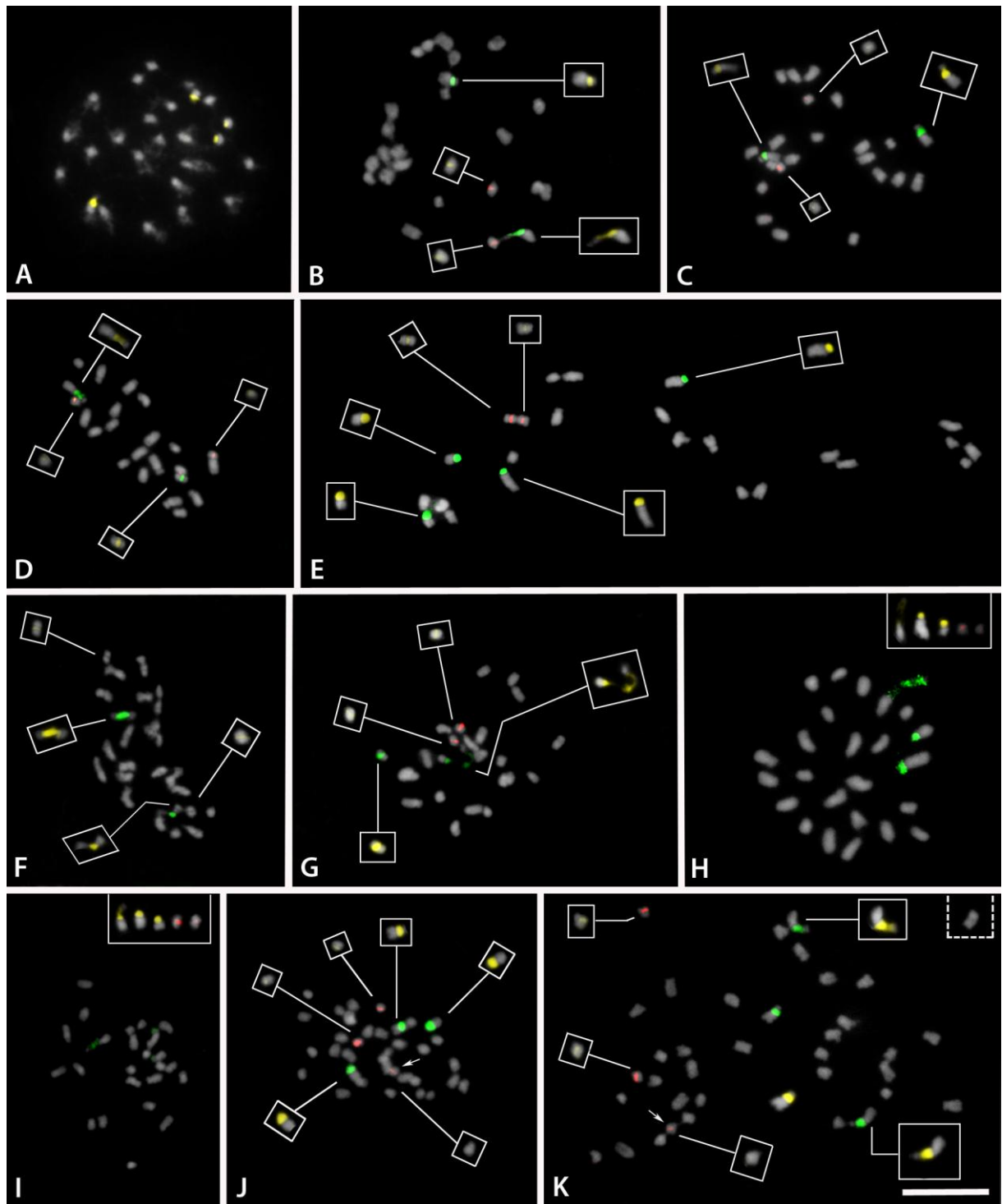


Figura 2: Coloração CMA (amarelo)/DAPI (pseudocolorido em cinza) e FISH com sondas de DNAr 45s em verde e DNAr 5s em vermelho em metáfases de: A (apenas CMA/DAPI), B) *H. psittacorum* cv. Strawberries & Cream; C) *H. psittacorum* (Paquevira) (metáfase incompleta com 23 cromossomos); D) *H. psittacorum* cv. Red Opal; E) *H. spathocircinata*; F) *H. bihai*; G) *H. caribaea* x *H. bihai* cv. Jacquinii; H) *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cv. Golden Torch; I) *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cv. Golden Torch Adrian; J) *H. psittacorum* cv. Suriname Sassy; K) *H. psittacorum* cv. Sassy. Cromossomos em caixas contínuas (H, I) correspondem a cromossomos com bandas CMA positivas pertencentes a outras células. Insertos (B-G, J, K) correspondem ao mesmo cromossomo corado com CMA/DAPI aumentado em 20%. Cromossomo na caixa pontilhada em K corresponde a

um cromossomo afastado. As setas em J e K apontam o sítio de DNAr 5S mais fraco. Barra em K corresponde a 10 μ m.

Com relação à coloração CMA/DAPI e FISH de DNAr 5S, observou-se a presença de uma banda CMA⁺/DAPI⁰ na região proximal colocalizada com sítio de DNAr 5S em dois e três cromossomos pequenos, nos genótipos diploides e triploides, respectivamente. Nos triploides, a terceira banda/sítio era mais fraca em relação às demais (Figura 2J, K). Para os híbridos 'Golden Torch' e 'Golden Torch Adrian', os sítios apresentaram heteromorfismo de intensidade (Figura 2H, I).

Com relação à coloração CMA/DAPI e FISH de DNAr 45S, observou-se nas populações de *H. psittacorum* dois cromossomos com marcação CMA⁺⁺/DAPI⁻ subterminal colocalizada com sítios de DNAr 45S, caracterizados por apresentar satélite, sendo um deles em geral de constrição secundária mais distendida (Figura 2B-D). No genótipo 'Red Opal' observou-se heteromorfismo de tamanho entre esses dois cromossomos (Figura 2D). Em *H. spathocircinata*, verificou-se quatro cromossomos com marcação CMA⁺⁺/DAPI⁻ terminal colocalizado com sítio de DNAr 45S e com ausência de satélite, sendo distinguíveis pelo tamanho dos cromossomos, um par maior e outro menor (Figura 2E). Para os híbridos *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* 'Golden Torch' e 'Golden Torch Adrian', foram observados três cromossomos com marcação CMA⁺⁺/DAPI⁻ colocalizadas com DNAr 45S, dois deles com marcação terminal e ausência de satélite (um de tamanho menor e outro maior), e o terceiro com satélite e constrição secundária distendida (Figura 2H, I). Nos genótipos triploides 'Suriname Sassy' e 'Sassy', foram observados três cromossomos portadores de marcação CMA⁺⁺/DAPI⁻ subterminal colocalizada com os sítios de DNAr 45S e caracterizados pela presença de satélite CMA⁰/DAPI⁰, porém de forma mais destacada em apenas um dos cromossomos (Figura 2J, K). Em 'Sassy' os satélites foram mais evidentes (Figura 2K). *Heliconia bihai* apresentou dois cromossomos com marcação proximal CMA⁺⁺/DAPI⁻ colocalizada com os sítios de DNAr 45S (Figura 2F). O híbrido *H. caribaea* x *H. bihai* cv. Jacquini também apresentou dois cromossomos portadores sítios de CMA⁺⁺/DAPI⁻/DNAr 45S proximal, porém heteromórficos para tamanho e morfologia (Figura 2G).

Discussão

Estudos citogenéticos no gênero *Heliconia* revelam número básico $x = 12$, com predominância de espécies diploides ($2n = 2x = 24$), além de alguns triploides com $2n = 3x = 36$ (LEE et al., 1994; KAEMWONG et al., 1998; CRILEY, 2000), confirmado pelos dados do presente estudo. Nas espécies analisadas, observou-se um padrão de condensação proximal, que em plantas, em geral, está associado a regiões de heterocromatina constitutiva (GUERRA, 1988; SUMNER, 2003). Apesar disso, a coloração CMA/DAPI não revelou a presença de bandas pericentroméricas heterocromáticas.

Existe uma dificuldade dos taxonomistas em relação à classificação do número de espécies de *Heliconia*, observando-se 207 espécies aceitas e 189 sinonímias (THE PLANT LIST, 2010). Essa dificuldade ocorre pelo embasamento de sua descrição principalmente morfológica, embora já existam diversas análises moleculares realçando as relações genéticas entre as espécies, demonstrando o bom agrupamento dos híbridos e seus possíveis parentais, bem como a identificação dos subgenêros de cada espécie (MAROUELLI et. al., 2010; GOWDA et. al., 2012; ISAZA et. al., 2012).

Embora as cultivares de *H. psittacorum* 'Red Opal', 'Strawberries & Cream' e 'Paquevira', apresentem grandes diferenças morfológicas, como a coloração das brácteas e o tipo de inflorescência, as mesmas foram citologicamente muito semelhantes, mostrando ligeiras diferenças em relação à constrição secundária. Apenas 'Red Opal' apresentou heteromorfismo de tamanho para o par cromossômico portador do sítio de DNAr 45S. Em análises por marcadores moleculares Marouelli et al. (2010), sugeriram que este último genótipo seria um híbrido entre *H. psittacorum* e *H. spathocircinata*. As análises por CMA/DAPI/FISH não corroboraram essa sugestão, uma vez que 'Red Opal' apresentou dois sítios CMA⁺⁺/DAPI/DNAr 45S ao invés de três, como esperado para um híbrido de *H. psittacorum* x *H. spathocircinata*. Contudo, o heteromorfismo de tamanho sugere uma alteração estrutural envolvendo o referido par cromossômico ou uma possível origem híbrida envolvendo *H. psittacorum* e um terceiro genótipo.

Alguns genótipos são descritos na literatura como triploides, a exemplo de 'Petra', 'Sassy' e 'Iris' (LEE et al., 1994), ou como híbridos, a exemplo de 'Golden Torch', 'Golden Torch Adrian', 'Alan Carle' e 'Jacquini', sendo para alguns apontados seus possíveis parentais (COSTA et al., 2007; MAROUELLI et al., 2010; ISAZA et al., 2012). Do ponto de vista citogenético, nos genótipos triploides, 'Sassy' e 'Suriname Sassy', observou-se a presença de três cromossomos maiores portadores de marcação CMA⁺⁺/DAPI⁻/DNAr 45S subterminal adjacente a um satélite CMA⁰/DAPI⁰ terminal, característica típica das populações diploides de *H. psittacorum*, corroborando a origem sugerida.

Para os genótipos 'Golden Torch' e 'Golden Torch Adrian' que são relatados como híbridos naturais entre *H. psittacorum* x *H. spathocircinata*, baseado em aspectos morfológicos e em trabalhos de marcadores moleculares (BERRY, KRESS, 1991; MAROUELLI et al., 2010), foram observados três cromossomos portadores de marcação CMA⁺⁺/DNAr 45S. Duas marcações eram terminais em cromossomos de tamanhos diferentes, semelhantes aos cromossomos portadores de DNAr 45S em *H. spathocircinata* e a terceira estava presente em cromossomo portador de satélite, com constrição secundária sempre distendida, característica do cromossomo portador em *H. psittacorum*.

No possível parental *H. bihai* e no híbrido, *H. caribaea* x *H. bihai* cv. Jacquini, foram identificados dois cromossomos com marcação CMA⁺⁺/DNAr 45S. Contudo, 'Jacquini' apresentou heteromorfismo de tamanho e morfologia para o par, sendo um dos cromossomos semelhante ao encontrado em *H. bihai*, o que corrobora a sugestão de *H. bihai* como um dos possíveis parentais proposta por Marouelli et al. (2010) em análises moleculares.

Muitas espécies de *Heliconia* correspondem a sinonímias pela difícil classificação e identificação dos diferentes genótipos de mesma espécie, mesmo subgênero ou mesmo de subgêneros diferentes. A caracterização citogenética com utilização de sondas de DNAr mostrou-se eficiente na diferenciação de genótipos e na identificação de possíveis parentais, espécies híbridas e triploides mediante padrão de sítios e de tipos cromossômicos característicos. Dessa forma, observa-se que a integração de diversas informações acerca das espécies, tais como: morfológicas, agronômicas, moleculares e citogenéticas se completam para uma correta identificação dos genótipos.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos órgãos de fomento à pesquisa, CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo suporte financeiro; ao IAC (Instituto Agrônomo de Campinas) na pessoa do Pesquisador Dr. Carlos Castro pela concessão de genótipos utilizados e a Ana Maria Benko Iseppon por suas sugestões.

Referências

- ANDERSON, G. J. Chromosome Number Reports LXXXV. **Taxon**, v. 33 p.756–760, 1984.
- BATALHA, M. O; BUAINAIN, A. M. Cadeias produtivas de flores e mel. **Serie Agronegocios**, v. 9. MAPA/SPA/IICA, 142p, 2007.
- BERRY, F.; KRESS, W. J. **Heliconia: An identification guide**. Smithsonian Institution Press, p. 334, 1991.
- BRAGA, J.M.A. 2012. Heliconiaceae In **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000126>).
- BRAGA, J.M.A. 2013. Heliconiaceae In **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7954>)
- CASTRO, C. E. F. **Helicônias como flores de corte: adequação de espécies e tecnologia pós-colheita**. Tese (Doutorado)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 1993.
- CASTRO, C. E. F.; MAY, A.; GONCALVES, C. Atualizacao da nomenclatura de especies do genero *Heliconia* (Heliconiaceae). Revista **Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.3, n.1, p.38-62, 2007.

COSTA, A. S.; LOGES, V.; CASTRO, A. C. R.; BEZERRA, G. J. M.; SANTOS, V. F. Variabilidade genética e correlações entre caracteres de cultivares e híbridos de *Heliconia psittacorum* **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. Recife, v.2, n.3, p.187-192, 2007

CRILEY, R. A. Seasonal flowering patterns for *Heliconia* shown by grower records. **Acta Horticulture**, v. 541, p.159-165, 2000.

GOWDA, V.; ERICKSON, D. L.; KRESS, W. J. Development and characterization of microsatellite loci for two caribbean *Heliconia* (Heliconiaceae: *H. bihai* and *H. caribaea*). **American Journal of Botany**, p. 81–83, 2012.

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

GUIMARÃES, W. N. R.; LOGES, V.; BURITY, H. A.; CASTRO, A. C. R.; COSTA, A. S.; CASTRO, C. E. F. **Lista preliminar de descritores de helicônias (*Heliconia* L.)**. Biblioteca Nacional. No registro: 541.802. Livro: 1031. Folha: 22. 25 de outubro de 2011.

HANSON, L.; MCMAHON, K. A.; JOHNSON, M. A. T.; BENNETT, M. D. First nuclear DNA C-values for another 25 angiosperm families. **Ann. Bot.** Oxford: v. 88, p. 851–858, 2001.

HESLOP-HARRISON, J. S.; SCHWAZARCHER, T.; ANAMTHAWAT-JÓNSSONN, K.; LEITCH, A. R.; SHI, M. *In situ* hybridization with automated chromosome desnaturation. **Technique**, v. 3, p.109-115, 1991.

ISAZA, L.; MARULANDA, M. L.; LÓPEZ, A. M. Genetic diversity and molecular characterization of several *Heliconia* species in Colombia. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, p. 4552-4563, 2012.

KAEMWONG, S.; EKSOMTRAMAGE, L. Chromosome numbers of genus *Heliconia*. **Plant genetics and breeding**, v. 20, p. 489-495, 1998.

KRESS, W.J.. The diversity and distribution of *Heliconia* (Heliconiaceae) in Brazil. **Acta Botanica, Brasilica**, v 4, n.1, p. 159-167, 1990.

LEE, Y. H.; NG, N. Y.; GOH, C. J. Pollen formation and fruit set in some cultivars of *Heliconia psittacorum*. **Scientia Horticulturae**, v. 60, p.167-172, 1994.

LEITE, B. S. F. **Padrão de Distribuição de Bandas CMA3 e Localização de Sítios de DNAr 5S e 45S na Caracterização de Acessos de *Heliconia* L. (Heliconiaceae)**. Universidade Federal de Pernambuco (Trabalho de Conclusão de Curso). Recife, 2009.

LOGES, V.; CASTRO, C. E. F.; GUIMARÃES, W. N. R.; SANTOS, A. C.; LEITE, K. M. P. Agronomic traits of *Heliconia* for cut flowers use. **Acta Horticulturae**, v. 937, p.535-544, 2012.

LOGES, V.; TEIXEIRA, M. C. F.; CASTRO, A. C. R.; COSTA, A. S. Colheita, pós-colheita e embalagem de flores tropicais em Pernambuco. **Horticultura Brasileira**. v.23, p.699-702, 2005.

MARQUELLI, L. P.; INGLIS, P. W.; FERREIRA, M. A.; BUSO, G.S.C. Genetic relationships among *Heliconia* (Heliconiaceae) species based on RAPD markers. **Genetics and Molecular Research**, v.9, p.1377-1387, 2010.

NAKAI, T. Notulae ad Plantas Asiae Orientalis. **Journal of Japanese Botany**, v. 17, p.1-15, 1941.

OLIVEIRA, M. J. G. **Tecnologia de pós-colheita de *Heliconia* spp.** 111f. Dissertação (Mestrado em engenharia agrícola), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

OMANAKUMARI, N.; MATHEW, P. M. Developmental abnormalities in microspores of *Heliconia bihzi* Linn. **New Bot.** v. 3, p.33–37, 1976.

PEDROSA, A.; JANTSCH, M. F.; MOSCONE, E. A.; AMBROS, P. F.; SCHWEIZER, D. Characterisation of pericentromeric and sticky intercalary heterochromatin in *Ornithogalum longibracteatum* (Hyacinthaceae). **Chromosoma**, v. 110, p. 203-213, 2001.

PEDROSA, A.; SANDAL, N.; STOUGAARD, J.; SCHWEIZER, D.; BACHMAIR, A. Chromosomal map of the model legume *Lotus japonicus*. **Genetics**, v. 161, p. 1661-1672, 2002.

ROCHA, F. H. A., COSTA, A. S., ARAGAO, F. A. S., SANTOS, V. F., LOGES, V. Genetic study with *Heliconia psittacorum* and interspecific hybrids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. v.10, p. 282 – 288, 2010.

SARKAR, A. K., N. DATTA & U. CHATTERJEE. Chromosome survey of certain angiosperms. I. Bull. **Bot. Surv.** India: v. 14 p.170, 1972.

SCHWEIZER, D.; AMBROS, P. F. Chromosome Banding. In: GOSDEN, J. R. (ed) **Methods in Molecular Biology**. v. 29. Humana Press, p. 97-112, 1994.

SEIJO, G.; LAVIA, G. I.; FERNANDEZ, A.; KRAPOVICKAS, A.; DUCASSE, D. A.; BERTIOLI, D. J.; MOSCONE, E. A. Genomic relationships between the cultivated peanut (*Arachis hypogaea*, leguminosae) and its close relatives revealed by double GISH. **American Journal of Botany**, v. 94, p. 1963–1971, 2007.

Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. 19 Jan 2014
<<http://www.tropicos.org/Name/21500011>>

SUMNER, A. T. Chromosomes: Organization and Function. **Blackwell Publishing**, Oxford, USA, p. 287, 2003.

WANZENBÖCK, E. M.; SCHOFER, C.; SCHWEIZER, D.; BACHMAIR, A. Ribosomal transcription units integrated via T-DNA transformation associate with the nucleolus and do not require upstream repeat sequences for activity in *Arabidopsis thaliana*. **The Plant Journal**, v. 11, p. 1007-1016, 1997.

CONCLUSÕES

1. As análises citogenéticas dos genótipos triploides 'Sassy' e 'Suriname Sassy' corroboram sua origem a partir de genótipos diploides de *H. psittacorum*.
2. Os cariótipos dos híbridos 'Golden Torch Adrian' e 'Golden Torch' corroboram sua origem a partir do cruzamento *H. psittacorum* x *H. spathocircinata*.
3. O cariótipo do híbrido 'Jacquini' indica o genótipo de *H. bihai* como possível parental do híbrido, corroborando os trabalhos de genética molecular.