

Estudo das relações genéticas de Helicônias (HELICONIACEAE) utilizando marcadores moleculares.

Lílian Pedrosa Marouelli²; Antônio Carlos Torres³; José Amauri Buso³; Gláucia Salles Cortopassi Buso¹.

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, C.P. 02372 - Brasília, DF; ²Universidade Católica de Brasília, CEP 71966-700; ³Embrapa Hortaliças, C.P. 218, 70.359-970; Brasília, DF.

RESUMO

As Zingiberales incluem oito famílias: Musaceae, Strelitziaceae, Lowiaceae, Heliconiaceae, Zingiberaceae, Costaceae, Cannaceae e Marantaceae. A família Heliconiaceae compreende um único gênero, *Heliconia* L. com aproximadamente 200 a 250 espécies. São comumente utilizadas como plantas ornamentais, sendo crescente sua aceitação como flor de corte nos mercados nacionais e internacionais. A identificação dessas espécies é baseada em características morfológicas. Porém, variações naturais ocorrentes nessas espécies têm causado confusões em suas classificações, sendo os marcadores moleculares úteis para a caracterização e para o estudo da diversidade dessas plantas. O objetivo deste trabalho foi a investigação da relação entre algumas espécies de *Heliconia* e de representantes da ordem Zingiberales com base em marcadores RAPD. Foram analisados 63 acessos e até o momento, 65 marcadores RAPD, que possibilitaram a construção de um dendrograma composto por três grupos; um composto pelas Musáceas, Strelitzias e Helicônias; outro pelas Costáceas e Zingiberáceas e um terceiro grupo externo formado pelas Lamiáceas.

Palavras-chave: Zingiberales, Heliconiaceae, análise de similaridade, RAPD.

ABSTRACT

Helicônias (HELICONIACEAE) genetic relation studies using molecular markers.

The Zingiberales include eight families: Musaceae, Strelitziaceae, Lowiaceae, Heliconiaceae, Zingiberaceae, Costaceae, Cannaceae e Marantaceae. The family Heliconiaceae comprises a single genus, *Heliconia* L. with approximately 200 a 250 species. They are commonly used as ornamental plants, with their acceptance growing as cut flowers in national and international markets. Species identification is primarily based on morphological characteristics. But, natural variation has caused classification confusion, being RAPD markers useful to identify and study the diversity of these plants. The objective of this study was to investigate the relation between species of *Heliconia* and some Zingiberales, based on RAPD markers. Sixty-three accessions were analyzed and until now, 65 RAPD markers that permitted the construction of a dendrogram composed by three groups: a) Musaceae, Strelitziaceae and Costaceae; b) Heliconiaceae and Zingiberaceae and c) Lamiaceae.

Key words: Zingiberales, Heliconiaceae, similarity analysis and RAPD.

INTRODUÇÃO

As Zingiberales são monocotiledôneas que estão praticamente restritas às regiões tropicais. Estão divididas em oito famílias: Musaceae, Strelitziaceae, Lowiaceae, Heliconiaceae, Zingiberaceae, Costaceae, Cannaceae e Marantaceae; existem 92 gêneros reconhecidos atualmente; e aproximadamente 2000 espécies (KRESS, 1990).

A família Heliconiaceae compreende um único gênero, *Heliconia* L. com 200 a 250 espécies de origem Neotropical, nativas da América Tropical (BERRY & KRESS, 1991). No Brasil, existem cerca de 40 espécies distribuídas em duas principais áreas: Bacia Amazônica e Mata Atlântica (KRESS, 1990).

São plantas herbáceas, rizomatosas, perenes de reduzido porte ou arborescentes. Existe muita variação entre espécies de *Heliconia*, compreendendo um grande número de cultivares (BERRY & KRESS, 1991). São comumente utilizadas como plantas ornamentais, sendo crescente sua aceitação como flor de corte nos mercados nacionais e internacionais pela beleza de suas inflorescências, de intenso colorido, algumas vezes com tonalidades contrastantes e com longo período pós-colheita (CASTRO, 1995).

A identificação de espécies é feita primeiramente baseada nas diferenças morfológicas e na coloração das flores e inflorescências. Variações significativas existem dentro e entre as espécies de *Heliconia*. No entanto, variações naturais têm causado confusões entre produtores comerciais e colecionadores. As variações são geradas com os isolamentos geográficos, influências ambientais e nutricionais (BERRY & KRESS, 1991).

Como o gênero *Heliconia* ainda é muito pouco estudado, a identificação correta das várias espécies e cultivares é muito importante, sendo os marcadores RAPD úteis para a caracterização e o estudo da diversidade dessas plantas. Além de ser uma técnica precisa, rápida, que requer baixos custos e mão de obra. O objetivo deste trabalho foi o de investigar a relação entre algumas espécies de *Heliconia* e de representantes da ordem Zingiberales a partir de marcadores RAPD.

MATERIAL E MÉTODOS

Material utilizado: Sessenta e três acessos, sendo compostos por 3 exemplares da família Musaceae (1 *Musa* sp., 1 *Musa ornata* e 1 *Musa cocciniam*); 2 exemplares da família Strelitziaceae (*Strelitzia reginae* e *Ravenala madagascariensis*); 1 exemplar da família Costaceae (*Tapeinochilos ananassae*); 11 exemplares da família Zingiberaceae (2 *Zingiber spectabile*, 1 *Zingiber zerumbet*, 4 *Etilingera elatior*, com os tipos vermelho, rosa e porcelana, 1 “Bastão do imperador hemisférico”, 1 *Alpinia purpurata*, 1 *Curcuma longa* e 1 *Zingiber* sp.); 44 exemplares da família Heliconiaceae (*H. psittacorum* cv. Adrian Torch, *H. psittacorum* cv. Sassy, *H. psittacorum* cv. St. Vicent Red, *H. stricta* cv. Fire Bird, *H. stricta* cv. Dwarf Jamaican, 4 *H. latispatha*, *H. chartaceae* cv. Sexy Pink, *H. pendula*, *H. lingulata*, 1 *H. velloziana*, 1 *H. episcopalis*, 2 *H. collinsiana*, 4 *H. rostrata*, 3 *H. bihai*, 1 *H.*

narinienses, 1 *H. psittacorum* cv. Choconiana, 1 *H. bihai* cv. Nappy Yellow e 4 *H. sp.*, *H. orthotricha* cv. Total Eclipse, *H. stricta* cv. Tagami, *H. champneiana* cv. Splash, *H. stricta* cv. Dourado Gold, 2 *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cv. Red Opal, *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cv. Fire Opal, 1 *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cv. Golden Torch, 1 *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cv. Golden Torch Adrian, *H. bihai* x *H. caribaea* cv. Richmond Red, *H. bihai* x *H. marginata* cv. rauliniana, *H. bihai* x *H. caribaea* cv. Jacquinii, *H. spathocircinata* x *H. velloziana* cv. Rivulares, *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* cv. Alan Carle,); e 2 exemplares da família Lamiaceae (*Lavandula angustifolia*) utilizados como grupo externo para enraizamento do dendrograma.

Reações de amplificação: O DNA foi extraído de folhas jovens de cada acesso, conforme descrito em Ferreira e Grattapaglia (1998). As reações de amplificação do DNA foram feitas por RAPD (‘Random Amplified Polymorphic DNA’). Cada 13 µl de reação continha: 3,0 µl de DNA genômico a 3,0 ng/µl; 4,92 µl de água milli-Q autoclavada; 1,30 µl de Tampão 10X para Taq DNA Polimerase; 1,04 µl de dNTPs 2,5 mM; 1,5 µl de Primer (Operon Technologies, USA) 10 ng/µl e 0,2 µl de enzima Taq DNA Polimerase. Foram testados 16 primers, dos quais 6 foram selecionados (OPA13, OPV15, OPV16, OPV18, OPX18 e OPX20) com base no nível e qualidade do polimorfismo. Cada reação foi realizada em um termociclador MJ, programado para 40 ciclos de: 1 min. a 92°C, 1 min. a 35°C, 2 min. a 75°C. Aos produtos das reações foram adicionados 3µl de tampão de carregamento. Os fragmentos foram visualizados, após eletroforese, em géis de agarose a 1,5% com marcadores 1Kb nos poços adjacentes às amostras já carregadas.

Análise estatística: O “fingerprint” de DNA obtido a partir desta técnica permitiu gerar uma matriz binária com 63 acessos e 65 marcadores RAPD, a qual foi utilizada para estimar a similaridade genética entre os acessos empregando o Coeficiente de Jaccard. Os acessos foram agrupados em dendrograma gerado pela análise UPGMA do software NTSYS – PC versão 2.02.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O dendrograma obtido a partir dos 65 marcadores RAPD de espécies de Zingiberales e do grupo externo Lamiaceae (Figura 1) permitiu visualizar a formação de três grupos principais. O primeiro, com coeficiente de similaridade de 0,25, constituído por espécies das famílias: Musaceae, Strelitziaceae e Heliconiaceae; com o grupo das Musáceas e das Strelitzias mais distante em relação às Helicônias. O segundo grupo com coeficiente de similaridade de 0,18, constituído pela espécie da família Costaceae e pelas espécies da família Zingiberaceae. E por fim, um terceiro grupo externo com coeficiente de similaridade de 0,35, constituído pela família Lamiaceae.

O uso de marcadores RAPD é uma técnica de grande valia para auxiliar na identificação e classificação de espécies pouco estudadas. Para este trabalho, ainda serão utilizados outros marcadores para melhor esclarecer a relação entre as espécies analisadas.

