

Citogenética de parentais e híbridos interespecíficos de *Passiflora edulis* Sims x *Passiflora cincinnata* Mast.

Cytogenetics of parents and interspecific hybrids of *Passiflora edulis* Sims x *Passiflora cincinnata* Mast.

*Tomás Pereira de Azevedo*¹; *Maria do Socorro Evangelista Coelho*²; *Francisco Pinheiro de Araújo*³; *Natoniel Franklin de Melo*⁴

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo estudar a mitose de *Passiflora edulis*, *Passiflora cincinnata* (dois acessos) e de quatro híbridos resultantes do cruzamento entre essas duas espécies. Para isso, raízes em crescimento foram coletadas, pré-tratadas com 8-hidroxiquinoleína, fixadas em Carnoy 3:1 (álcool etílico: ácido acético) e coradas com Giemsa. As espécies parentais e seus respectivos híbridos apresentaram $2n = 18$ cromossomos, cariótipos simétricos e núcleo interfásico do tipo semirreticulado. A fórmula cariotípica apresentou sete pares de cromossomos metacêntricos e dois pares submetacêntricos. Entretanto, as espécies parentais e os híbridos interespecíficos apresentaram diferenças no comprimento médio dos cromossomos, que variou entre $1,75 \mu\text{m}$ e $2,53 \mu\text{m}$, nos valores do comprimento total do genoma haploide, entre $17,21 \mu\text{m}$ e $22,78 \mu\text{m}$, e na localização de satélites. As análises cariotípicas poderão subsidiar estudos de melhoramento genético para o gênero *Passiflora*.

Palavras-chave: *Passiflora*, cariologia, melhoramento genético.

¹Bolsista PIBIC CNPq/Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

²Bióloga, M.Sc. em Agronomia, bolsista BFT Facepe/ Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

³Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Fitotecnia, analista da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

⁴Biólogo, D.Sc. em Genética, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, natoniel@cpatsa.embrapa.br.

Introdução

Numericamente, *Passiflora* é o principal gênero de Passifloraceae, com um total aproximado de 530 espécies de distribuição pantropical (ULMER; MACDOUGAL, 2004; HANSEN et al., 2006). Desse total, aproximadamente 140 ocorrem no Brasil (CERVI, 2006). São geralmente plantas escandentes herbáceas ou lenhosas com gavinhas axilares havendo, também, algumas espécies arbustivas ou arbóreas de pequeno porte (CERVI, 1997). Segundo Souza e Lorenzi (2008), esse gênero possui diversas espécies nativas com grande potencial ornamental e alimentício, sendo *P. edulis* uma das poucas espécies cultivadas.

Neste gênero, muitas das espécies apresentam características agrônômicas úteis, principalmente espécies silvestres detentoras da ampla diversidade genética, como é o caso de *P. cincinnata*, que apresenta genes de resistência a estresses bióticos e abióticos. Nesse caso, vale salientar que alguns autores relatam o sucesso na obtenção de híbridos de *Passiflora*, através da utilização de técnicas de hibridização sexuada (ULMER; MACDOUGAL, 2004).

Para as condições do Semiárido brasileiro, o cruzamento interespecífico é uma estratégia fundamental para promover a transferência de genes de interesse, que possibilitem a expressão de características essenciais para a produção vegetal em ambientes com condições de estresses biótico e abiótico.

O presente trabalho objetivou caracterizar a mitose de *P. edulis* Sims, de *P. cincinnata* (dois acessos) e de quatro híbridos obtidos do cruzamento entre essas duas espécies.

Material e Métodos

O material analisado foi proveniente da Coleção de Base de *Passiflora* da Embrapa Semiárido, compreendendo dois acessos de *P. cincinnata*, um de *P. edulis* Sims. e quatro indivíduos híbridos provenientes do cruzamento entre essas espécies (Tabela 1). Os híbridos sexuais (cruzamento interespecífico) *P. cincinnata* x *P. edulis* Sims foram obtidos por Francisco Pinheiro de Araújo, Embrapa Semiárido, formados a partir dos grãos de pólen de genitores masculinos de *P. cincinnata*. Todo material foi cultivado em vasos plásticos contendo areia, solo e vermiculita, na proporção de 1:1:1 (v/v/v), e mantido em casa de vegetação. As análises citogenéticas foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

Para as análises mitóticas, pontas de raízes foram coletadas e 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). As fixações foram mantidas por 2-24 horas à temperatura ambiente, sendo, em seguida, estocadas a 8 °C até seu processamento. Para isso, após lavagem em água destilada e hidrólise em HCl 5N, os meristemas das raízes foram isolados sobre lâminas de vidro, esmagados em ácido acético 45% com auxílio de estilete e lamínula, congelados em nitrogênio líquido para remoção da lamínula, corados convencionalmente com Giemsa 2% e montadas com Entellan (GUERRA; SOUZA, 2002). As imagens das melhores metáfases mitóticas foram capturadas com auxílio de uma câmera fotográfica digital, acoplada a um microscópio de fluorescência.

Para a identificação do número e morfologia cromossômica, pelo menos cinco metáfases foram examinadas por indivíduo, sendo utilizadas para as medições cromossômicas. 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 organizados em idiogramas em ordem decrescente do tamanho do braço curto. Foi adotada a nomenclatura cromossômica sugerida por Guerra (1988). Além disso, foram estimados os seguintes parâmetros cariológicos: somatório dos comprimentos cromossômico haploide total (TCL) e comprimento cromossômico médio (mCL).

Resultados e Discussão

As espécies parentais e os híbridos interespecíficos apresentaram cariótipos com $2n = 18$ cromossomos com morfologia metacêntrica e submetacêntrica, e núcleo interfásico do tipo semirreticulado. O comprimento cromossômico médio, as fórmulas cariotípicas e comprimento cromossômico total são apresentados na Tabela 1.

O cariótipo de *P. edulis* apresentou sete pares de cromossomos metacêntricos e dois pares de submetacêntricos, sendo sua fórmula cariotípica $14M + 4SM$, confirmando a classificação como simétrica (SOARES-SCOTT, 1998). Nessa espécie, observaram-se satélites nos pares cromossômicos 7 e 9, comprimento cromossômico haploide total (TCL) de $18,56 \pm 1,89 \mu\text{m}$, e comprimento cromossômico médio (mCL) de $2,06 \pm 0,39 \mu\text{m}$. Meletti et al. (2005) constataram a

presença de satélite nos pares cromossômicos 4 e 7 em acessos de *P. edulis* Sims, podendo essa diferença de localização ser atribuída a uma variação estrutural ou, menos provavelmente, a metodologia utilizada para a ordenação dos cromossomos.

Em *P. cincinnata*, os acessos F2220 e CBA64 apresentaram satélites nos pares 4 e 6, TCL de $21,52 \pm 1,29$ e $15,81 \pm 0,42 \mu\text{m}$ e mCL iguais a $2,39 \pm 0,53$ e $1,75 \pm 0,35 \mu\text{m}$, respectivamente. Embora os acessos de *P. cincinnata* tenham o mesmo número cromossômico, os mesmos apresentaram diferenças em relação ao tamanho cromossômico. No presente trabalho, foi observado nos acessos F2220 e CBA64 satélites nos pares cromossômicos 4 e 6. A mesma localização dos satélites em acessos de *P. cincinnata* foi observada por Coelho (2009).

Nos híbridos 1 e 5 do cruzamento *P. edulis* Sims x *P. cincinnata* (F2220), os satélites foram observados nos pares 4 e 9, enquanto no híbridos 1 e 2 entre *P. edulis* Sims x *P. cincinnata* (CBA64), os satélites foram encontrados nos pares 4 e 7. Todos os híbridos analisados apresentaram diferentes tamanhos do genoma haploide, tamanho médio dos cromossomos e localização dos satélites (Figura 1).

Tabela 1. Lista das espécies, acessos e híbridos de *Passiflora* analisados quanto ao número cromossômico (NC), comprimento cromossômico médio (mCL), fórmulas cariotípica (FC), e comprimento cromossômico haploide total (TCL).

Espécie/acesso/híbrido	NC (2n)	mCL μm	FC	TCL μm
<i>P. edulis</i> Sims	2n = 18	$2,06 \pm 0,39$	14 m + 4 sm	$18,56 \pm 1,89$
<i>P. cincinnata</i>				
acesso CBA64	2n = 18	$1,75 \pm 0,35$	14 m + 4 sm	$15,81 \pm 0,42$
acesso F2220	2n = 18	$2,39 \pm 0,53$	14 m + 4 sm	$21,52 \pm 1,29$
<i>P. edulis</i> x <i>P. cincinnata</i> - F2220				
Híbrido 1	2n = 18	$2,53 \pm 0,58$	14 m + 4 sm	$22,78 \pm 2,14$
Híbrido 5	2n = 18	$1,92 \pm 0,48$	14 m + 4 sm	$17,21 \pm 2,61$
<i>P. edulis</i> x <i>P. cincinnata</i> - CBA64				
Híbrido 1	2n = 18	$2,28 \pm 0,50$	14 m + 4 sm	$20,52 \pm 1,78$
Híbrido 2	2n = 18	$1,99 \pm 0,58$	14 m + 4 sm	$17,96 \pm 3,63$

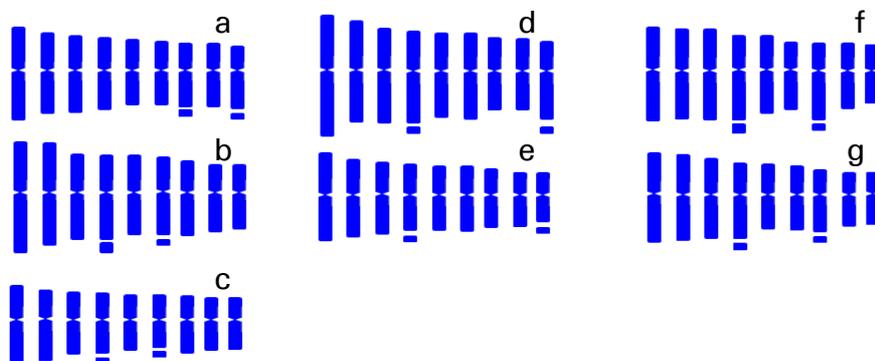


Figura 1. Idiogramas das espécies e híbridos de *Passiflora* L. a) *P. edulis*; b) *P. cincinnata* acesso F2220, c) *P. cincinnata* acesso CBA64, d) *P. edulis* x *P. cincinnata* (F2220)-1, e) *P. edulis* x *P. cincinnata* (F2220)-5, f) *P. edulis* x *P. cincinnata* (CBA64)-1 e g) *P. edulis* x *P. cinnata* (CBA64)-2.

Conclusão

A análise citogenética demonstrou uma forte correlação cariotípica entre parentais e híbridos interespecíficos de *Passiflora edulis* e *P. cincinnata*, podendo ser utilizada como suporte aos programas de melhoramento genético dessas espécies.

Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo, à Embrapa Semiárido e à UNIVASF, pelo apoio às atividades de pesquisa.

Referências

- CERVI, A. C. Passifloraceae do Brasil: Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. **FontQueira**, Madrid, v. 45, p.1-92, 1997.
- CERVI, A. C. O gênero *Passiflora* (Passifloraceae) no Brasil, espécies descritas após o ano de 1950. **Adumbrationes ad Summae Editionem**, Madrid, v.16, p.1-5, 2006.
- COELHO, M. S. E. **Caracterização citogenética de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg., *P. cincinnata* MAST. e seu híbrido interespecífico**. 2009. 67 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Areia.

- DONALD, C.; BRENT, D. S.; MCDAVID, W. D.; GREER, D. B. **UTHSCSA ImageTool (IT)**: version 3.0. 2007. Disponível em: <<http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/download.html>>. Acesso em: 16 fev. 2011.
- GUERRA, M. **Introdução à citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 142 p.
- GUERRA, M. S.; SOUZA, M. J. **Como observar os cromossomos**: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. São Paulo: FUNPEC, 2002. 131 p.
- 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**, [Washington, DC], v. 31, p. 138-150, jan. 2006.
- MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C. Caracterização fenotípica de três seleções de maracujazeiro-roxo (*Passiflora edulis* Sims). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 2, p. 268-272, ago. 2005.
- SOARES-SCOTT, M. D. **Caracterização citogenética de algumas espécies e híbridos interespecíficos de *Passiflora***. 1998. 89 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 704 p.
- ULMER, T.; MACDOUGAL, J. M. ***Passiflora***: passionflower of the world. Cambridge: Timber Press, 2004.