

Citogenética de *Passiflora edulis* Sims, *P. laurifolia* L. e seu Híbrido Interespecífico

Cytogenetics of *Passiflora edulis* Sims, *P. laurifolia* L. and its Interspecific Hybrid

Tomás Pereira de Azevedo¹, Maria do Socorro Evangelista Coelho², Francisco Pinheiro de Araújo³, Nataniel Franklin de Melo⁴

Resumo

Este trabalho teve como objetivo caracterizar o cariótipo de *Passiflora edulis* Sims, *P. laurifolia* L. e o híbrido resultante 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 seu respectivo híbrido apresentaram $2n = 18$ cromossomos, cariótipos simétricos e núcleo interfásico do tipo semirreticulado. Entre os cariótipos, foi observada variação na fórmula cariotípica, sendo 10M + 8SM em *P. laurifolia*, 14M + 4SM em *P. edulis* e 14M + 4SM no híbrido interespecífico, bem como na localização dos satélites. O comprimento médio dos cromossomos e o comprimento total do genoma haploide de *P. laurifolia*, *P. edulis* e do híbrido foram, respectivamente, 3,12 μm , 2,06 μm e 2,68 μm , e 28,11 μm , 18,56 μm e 24,11 μm . As análises cariotípicas poderão

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

²Doutoranda em Recursos Genéticos Vegetais. Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, BA.

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

⁴Biólogo, D.Sc. em Ciências Biológicas/Genética, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina-PE. nataniel.melo@embrapa.br

subsidiar estudos de melhoramento genético para o gênero *Passiflora* objetivando, principalmente, desenvolver maior resistência a doenças, em *P. edulis*.

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

Introdução

Na família Passifloraceae, o gênero mais numeroso é o *Passiflora* L. com aproximadamente 530 espécies. A maioria, originária dos neotrópicos, com distribuição predominantemente tropical e subtropical (HANSEN et al., 2006; ULMER; MACDOUGAL, 2004). 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.

Entre as várias espécies de passifloras silvestres do Brasil, algumas têm características interessantes que podem ser introduzidas no maracujazeiro comercial (JUNQUEIRA et al., 2007), dentre elas, *P. laurifolia* L. que apresenta resistência à morte prematura e a outros patógenos do solo (FISHER, 2003).

Com isso, a obtenção de híbridos interespecíficos de maracujazeiro é um processo fundamental para proporcionar ganhos agronômicos à espécie comercial *P. edulis* em programas de melhoramento genético, assim como para obter materiais genéticos novos com potencial para uso como porta-enxertos e também como alternativas para o mercado de plantas ornamentais (JUNQUEIRA et al., 2007).

Segundo Soares-Scott et al. (2005), estudos citogenéticos em híbridos interespecíficos de *Passiflora*, tanto zigóticos como somáticos, são pouquíssimos frequentes. Ainda, segundo esses autores, é importante considerar que a maioria dos híbridos obtidos, mesmo os que não foram analisados citogeneticamente, é originada de progenitores com $2n = 18$ cromossomos, sempre envolvendo espécies de interesse agronômico.

Este trabalho teve como objetivo caracterizar a mitose de *P. edulis*, de *P. laurifolia* e do híbrido obtido do cruzamento entre essas duas espécies.

Material e Métodos

O material analisado foi proveniente do Banco Ativo de Germoplasma de Maracujá da Embrapa Semiárido, compreendendo um acesso de *P. laurifolia*, um de *P. edulis* e o híbrido proveniente do cruzamento entre essas espécies (Tabela 1). O híbrido sexual (cruzamento interespecífico) *P. laurifolia* x *P. edulis* foi formado a partir dos grãos de pólen de genitores masculinos de *P. edulis*. Todo material foi cultivado em vasos plásticos contendo areia, solo e vermiculita, na proporção de 1:1:1 (v/v/v), e mantidos 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 a aproximadamente 8 °C e fixadas em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético glacial, v/v). As fixações foram mantidas por períodos entre 2 a 24 horas à temperatura ambiente, sendo, em seguida, estocadas a -20 °C até seu processamento. As lâminas foram preparadas 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 digital, usando-se um software, 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) e dos 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 somatários dos comprimentos cromossômico total (TCL) e cromossômico médio (mCL).

Resultados e Discussão

As espécies parentais e o híbrido interespecífico apresentaram cariótipos com $2n = 18$ cromossomos com morfologia metacêntrica (m) e submetacêntrica (sm), 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* mostrou 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 $2,06 \pm 0,39 \mu\text{m}$.

Passiflora laurifolia apresentou satélites nos pares 4 e 7, TCL de $28,11 \mu\text{m}$ e mCL igual a $3,12 \pm 0,59$. Porém, Melo e Guerra (2003), analisando a variabilidade nos sítios de DNAr 5S e 45S em diversas espécies do gênero, observaram sítios 45S em regiões terminais dos pares 5 e 8 para a espécie citada. Os satélites são regiões onde se encontram genes que produzem determinados tipos de RNA ribossomais (GUERRA, 1988). A divergência entre as localizações pode estar relacionada a possíveis alterações cromossômicas estruturais intraespecíficas.

No híbrido, os satélites foram observados nos pares 3 e 8. O cariótipo dos parentais e híbrido pode ser observado na Figura 1.

Tabela 1. Características citogenéticas avaliadas em células mitóticas quanto ao número cromossômico (NC), comprimento cromossômico médio (mCL), fórmula cariotípica (FC), e comprimento cromossômico haploide total (TCL) de *Passiflora edulis*, *P. laurifolia* e seu híbrido.

Espécie/híbrido	NC (2n)	mCL μm	FC	TCL μm
<i>P. edulis</i>	$2n = 18$	$2,06 \pm 0,39$	14 M + 4 SM	18,56
<i>P. laurifolia</i>	$2n = 18$	$3,12 \pm 0,59$	10 M + 8 SM	28,11
<i>P. edulis</i> x <i>P. laurifolia</i>	$2n = 18$	$2,68 \pm 0,51$	14 M + 4 SM	24,11

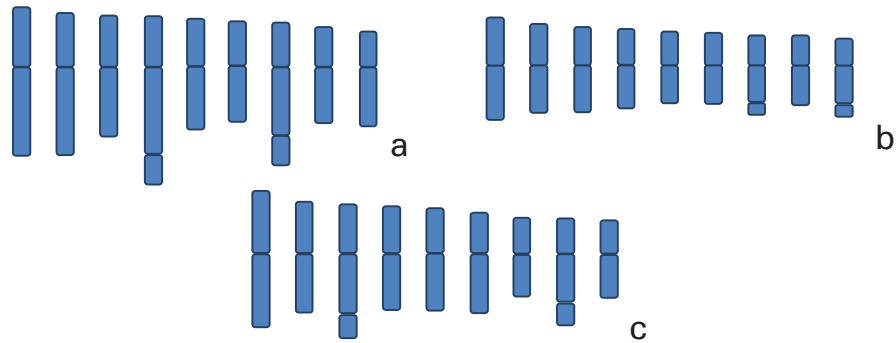


Figura 1. Idiogramas das espécies e híbrido de *Passiflora* L. a) *P. laurifolia*, b) *P. edulis*, c) *P. edulis* x *P. laurifolia*. Barra de 2 μ m.

Conclusão

A análise citogenética demonstra uma forte correlação cariotípica entre parentais e híbrido interespecífico de *P. edulis* e *P. laurifolia*, contudo, o híbrido apresentou morfologia cromossômica semelhante a *P. edulis* quanto ao número de metacêntricos e submetacêntricos. Estes resultados poderão subsidiar estudos de melhoramento genético para o gênero *Passiflora* visando, principalmente, à incorporação de resistência a doenças ao *P. edulis*.

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. O gênero *Passiflora* (Passifloraceae) no Brasil, espécies descritas após o ano de 1950. *Adumbrationes and Summae*, [Madrid], v. 16, p. 1-5, 2006.

- CERVI, A. C. Passifloraceae do Brasil. Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. **Fontqueira**, [Logroño], v.45, p. 1-92, 1997.
- DONALD, C.; BRENT, D. S.; MCDAVID, W. D.; GREER, D. B. **UTHSCSA**: image tool (IT): version 3.0. 2007. Disponível em: <<http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/download.html>>. Acesso em: 20 jun. 2011.
- FISCHER, I. H. **Seleção de plantas resistentes e de fungicidas para o controle da "morte prematura" do maracujazeiro, causada por *Nectria hematococca* e *Phytophthora parasitica***. 2003. 48 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.
- GUERRA, M. **Introdução a 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**, [Laramie], v. 31, p.138-150, 2006.
- JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BELLON, G.; RAMOS, J. D.; SOUZA, L. S.; SANTOS, E. C. Obtenção de híbridos interespecífico de *Passiflora laurifolia* L. e *Passiflora Nitida* Kunth. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 4., 2007, São Lourenço. **Anais...** São Lourenço: UFLA, 2007. 1 CD-ROM.
- MELO, N. F.; GUERRA, M. Variability of the 5S and 45S rDNA sites in Passifloraceae L. Species with Distinet Base Chromosome Numbers. **Annals of Botanical**, London, v. 92, p. 309-316, 2003.
- SOARES-SCOTT, M. D. **Caracterização citogenética de algumas espécies e híbridos interespecíficos de *Passiflora***. 1998. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- SOARES-SCOTT, M. D.; MELETTI, L. M.; BERNACCI, L. C.; PASSOS, I. R. S. Citogenética clássica e molecular em passifloras. In: FALEIRO, F. G.; BRAGA, M. F.; JUNQUEIRA, N. T. V. (Ed.). **Maracujá**: germoplasma e melhoramento genético. Embrapa Cerrados. Planaltina, 2005. cap. 5, p. 213-240.
- 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: Timer Press, 2004. 430 p.