



UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
MELHORAMENTO DE PLANTAS



VANESSA DOS SANTOS DE MELLO

**Citogenética, índice meiótico e viabilidade polínica em *Heliconia*
spp.**

ALTA FLORESTA
MATO GROSSO - BRASIL
MARÇO - 2018

VANESSA DOS SANTOS DE MELLO

**Citogenética, índice meiótico e viabilidade polínica em *Heliconia*
spp.**

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Isane Vera Karsburg
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Celice Alexandre Silva

ALTA FLORESTA
MATO GROSSO - BRASIL
MARÇO - 2018

MELLO, Vanessa Dos Santos de.
Citogenética, Índice Meiótico e Viabilidade Polínica em *Heliconia* Spp. /
Vanessa Dos Santos de Mello – Alta Floresta/ Cáceres/ Tangará da
Serra, 2018.
87 f.; 30 cm.

Trabalho de Conclusão de Curso
(Dissertação/Mestrado) – Curso de Pós-graduação Stricto Sensu (Mestrado
Acadêmico) Genética e Melhoramento de Plantas, Faculdade de
Ciências Biológicas e Agrárias, Multicampi, Universidade do Estado
de Mato Grosso, 2018.

Orientador: Isane Vera Karsburg
Coorientador: Celice Alexandre Silva

1. Citogenética Clássica. 2. Cromossomos Metafásicos. 3. Biologia
Reprodutiva. I. Vanessa Dos Santos de Mello.
II. Citogenética, Índice Meiótico e Viabilidade Polínica em *Heliconia* Spp.: .
CDU 581.526

Ficha catalográfica elaborada por Walter Clayton de Oliveira CRB 1/2049

**Citogenética, índice meiótico e viabilidade polínica em *Heliconia*
spp.**

VANESSA DOS SANTOS DE MELLO

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de Mestre.

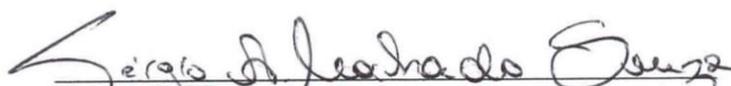
Aprovada em 09 de março de 2018.

Comissão Examinadora:



Profa. Dra. Isane Vera Karsburg

Orientadora - UNEMAT – Universidade do Estado de Mato Grosso



Prof. Dr. Sérgio Machado Alessandro Souza

UNEMAT – Universidade do Estado de Mato Grosso



Prof. Dr. Wellington Ronildo Clarindo

UFES- Universidade Federal do Espírito Santo

Aos meus pais Roseli dos Santos Batista de Mello e Valdecir Pires de Mello, as minhas irmãs Daniela Batista de Mello, Amanda Batista de Mello, e aos meus avós Natalino Batista e Terezinha Neks dos Santos (*in memoriam*) por todo amor, carinho e incentivo incondicional

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por tudo que ele fez em minha vida, por me dar forças e me permitir mais essa conquista.

À minha família, meus pais Roseli e Valdecir e minhas irmãs Daniela e Amanda por todo amor, companheirismo, incentivo e apoio em meus estudos sempre torcendo pela minha felicidade e sucesso.

Ao meu namorado Rafael Dias de Almeida por estar ao meu lado em todos os momentos, pelo amor, paciência, compreensão, apoio, incentivo e por tornar meus dias mais alegres e felizes.

À minha orientadora Isane Vera Karsburg, por toda paciência, generosidade, atenção, ensinamentos, conselhos e amizade que contribuíram muito para meu crescimento. Serei sempre muito grata!

À professora Celice Alexandre Silva por me coorientar, por toda ajuda, atenção e sempre me receber com muito carinho no laboratório de Botânica para realizar as coletas de materiais e montagem de experimentos.

Aos professores, Sérgio Alessandro Machado Souza e Wellington Ronildo Clarindo pelas contribuições.

Ao Auclar Felipe Botini, Jessica Moreira e Silva, Lindisai Fernandes e Carolina de Faria Cabral P.P. e Barros, pela ajuda em algumas etapas do desenvolvimento desse trabalho.

Ao doutorando Ricardo Gallo pela realização das análises estatísticas e por toda a paciência.

Aos meus colegas e amigos do Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais, Lindisai, Bruna, Weslaine, Douglas, Daniela, Leila e Vera por toda ajuda, amizade, companheirismo, trabalho em equipe, muitas risadas e diversão.

Agradeço as amigas que conquistei durante esse período e que levarei para sempre em minha vida, Lindisai, Jéssica, Carol, Willy e Paula. Sou grata por estarem comigo em momentos difíceis, por toda solidariedade, carinho, amizade, apoio, incentivo e momentos de descontração tornando esse período mais leve e divertido.

À Universidade do Estado de Mato Grosso, e ao Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas (PGMP) pela oportunidade e aprendizado.

Aos professores e colegas de turma do programa pelo conhecimento compartilhado.

À CAPES pela concessão da bolsa e apoio financeiro.

A todos que de alguma forma contribuíram para meu crescimento pessoal, profissional e realização deste trabalho. Meu sincero muito obrigada!

BIOGRAFIA

Vanessa dos Santos de Mello, filha de Valdecir Pires de Mello e de Roseli dos Santos Batista, nasceu em Alta Floresta, Mato Grosso, em 30 de junho de 1993. Em agosto de 2015 graduou-se em Licenciatura Plena em Ciências Biológicas na Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT) Campus de Alta Floresta. Durante o período de graduação atuou como bolsista do programa de formação de células cooperativas (FOCCO), do programa institucional de bolsas de iniciação à docência (PIBID), e, também foi voluntária no Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais, onde desenvolveu trabalhos na área de cultivo in vitro de orquídeas e citogenética vegetal. Em Março de 2016 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, em nível de mestrado pela UNEMAT, na linha de pesquisa de biotecnologia e recursos genéticos vegetais. Em março de 2018 submeteu-se à defesa de dissertação no Campus Universitário de Alta Floresta, sob a orientação da Prof^a Dr^a Isane Vera Karsburg.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1.INTRODUÇÃO GERAL | 1 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 3 |
| 2.1. Família Heliconiaceae | 3 |
| 2.2. O gênero <i>Heliconia</i> L..... | 3 |
| 2.3. Descrição e distribuição de <i>Heliconia psittacorum</i> L.f. e <i>Heliconia densiflora</i> Verlot..... | 5 |
| 2.4. Caracterização cromossômica das espécies de helicônias..... | 6 |
| 2.4.1. Número cromossômico..... | 6 |
| 2.4.2. Morfometria cromossômica | 7 |
| 2.4.3. Bandeamento Ag-NOR..... | 8 |
| 2.5. Comportamento meiótico | 8 |
| 2.6. Estudos de viabilidade polínica em <i>Heliconia</i> L..... | 9 |
| 2.7. Conservação do gênero <i>Heliconia</i> L. | 10 |
| 2.8. Pré melhoramento e melhoramento genético de helicônias no Estado de Mato Grosso..... | 11 |
| 2.9. Parâmetros genéticos | 12 |
| 2.1. Diversidade genética | 14 |
| 4.1. CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE ACESSOS DE <i>Heliconia densiflora</i> Verlot E <i>Heliconia psittacorum</i> L.f. | 23 |
| RESUMO..... | 23 |
| ABSTRACT | 24 |
| INTRODUÇÃO | 25 |
| RESULTADOS | 30 |
| CONCLUSÃO..... | 44 |
| 4.2. ÍNDICE MEIÓTICO E VIABILIDADE POLÍNICA EM ACESSOS DE <i>Heliconia</i> spp. | 49 |
| RESUMO..... | 49 |
| ABSTRACT | 50 |
| INTRODUÇÃO | 51 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 53 |

| | |
|--|-----------|
| RESULTADOS..... | 60 |
| CONCLUSÃO..... | 80 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 81 |
| 5. CONCLUSÕES GERAIS | 87 |

RESUMO GERAL

MELLO, Vanessa dos Santos de; M. Sc.; UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO; março de 2018; **Citogenética, índice meiótico e viabilidade polínica em *Heliconia* spp.**

Professora Orientadora: Isane Vera Karsburg; Coorientadora: Celice Alexandre Silva

Entre os grupos de plantas da flora brasileira tropical as helicônias despertam grande interesse ornamental e econômico. Destacam-se *Heliconia densiflora* Verlot e *Heliconia psittacorum* L. f. que possuem características interessantes para o mercado ornamental, e potencial para serem exploradas em programas de melhoramento genético. No entanto, como são espécies silvestres e pouco domesticadas é necessário realizar a caracterização desses recursos genéticos, incluindo a viabilidade polínica, índice meiótico e dados citogenéticos, os quais possam subsidiar a conservação e melhoramento genético dessas espécies. Nesse sentido, este estudo realizou a caracterização citogenética de seis acessos de *Heliconia* spp., estimou os parâmetros genéticos e a diversidade genética para índice meiótico e viabilidade polínica. As metodologias citogenéticas permitiram identificar $2n=24$ cromossomos para os seis acessos de *Heliconia* spp., com morfologia metacêntrica e submetacêntrica. A técnica de bandeamento Ag-NOR possibilitou a identificação de duas NORs nos cromossomos de todos os acessos. As análises morfométricas mostraram diferenças interespecíficas e intraespecíficas com relação ao tamanho e morfologia cromossômica. Os índices de assimetria cromossômica possibilitaram identificar que os acessos da espécie *H. densiflora* possuem cariótipos mais simétricos que *H. psittacorum*. A viabilidade polínica e IM para a maioria dos acessos foi alta, acima de 90% o que refletem em alta fertilidade e estabilidade genética. As estimativas de herdabilidade, foram de alta magnitude para as características de díade, tríade, tétrade, IM, e viabilidade polínica, e evidenciam variabilidade genética decorrente de controle genético, com possibilidade de avanços genéticos expressivos com a seleção das mesmas. A correlação genética mostrou correlações negativas e altas em tétrades normais e IM para todas as tétrades anormais, sendo um resultado favorável ao selecionar tétrades normais e IM, pois não serão selecionadas indiretamente as variáveis de tétrades anormais. Os agrupamentos demonstraram a existência de diversidade genética e divergiram quanto a formação de número de grupos. O método UPGMA formou dois grupos distintos, e o método de Tocher formou três grupos. O ordenamento para seleção dos melhores acessos para viabilidade polínica e índice meiótico mostra que os acessos 10, 15, 9 e 14 podem ser cruzados com os acessos 12, 5, 7, 6, 8 pois são os dois grupos mais divergentes e com altos percentuais de viabilidade polínica e índice meiótico. Os resultados mostram a ocorrência de variabilidade genética entre os acessos de *Heliconia* spp. para viabilidade polínica e índice meiótico, que aliados aos dados citogenéticos podem direcionar os cruzamentos entre os acessos em programas de melhoramento de Helicônias.

Palavras-chave: Citogenética clássica, cromossomos metafásicos, biologia reprodutiva

OVERVIEW ABSTRACT

Among the groups of plants of the Brazilian tropical flora the heliconia arouse great ornamental and economic interests. The *Heliconia densiflora* Verlot and *Heliconia psittacorum* L. f. which have interesting characteristics for the ornamental market and potential to be explored in breeding programs are highlighted. However, due to the fact that they are wild and little domesticated species, it is necessary to characterize these genetic resources, including pollen viability, meiotic index and cytogenetic data, which can support the conservation and genetic improvement of these species. In this sense, this study performed the cytogenetic characterization of six accessions of *Heliconia* spp., estimated the genetic parameters and the genetic diversity for meiotic index and pollen viability. The cytogenetic methodologies allowed to identify $2n=24$ chromosomes for the six accessions of *Heliconia* spp., with metacentric and submetacentric morphology. The Ag-NOR banding technique allowed the identification of two NORs in the chromosomes of all accessions. Morphometric analyzes showed interspecific and intraspecific differences in size and chromosome morphology. The chromosomal asymmetry indexes allowed to identify that the accessions of the species *H. densiflora* have karyotypes more symmetrical than the species *H. psittacorum*. The pollen viability and IM for most accessions was high, above 90% reflecting on high fertility and genetic stability. Estimates of heritability were of high magnitude for the characteristics of dyad, triad, tetrad, IM, and pollen viability, and evidence of genetic variability resulting from genetic control, with the possibility of expressive genetic advances with its selection. The genetic correlation showed negative and high correlations in normal tetrads and MI for all abnormal tetrads, being a favorable result when selecting normal tetrads and MI, since the variables of abnormal tetrads will not be selected indirectly. The clusters demonstrated the existence of genetic diversity and diverged regarding the formation of number of groups. The UPGMA method formed two distinct groups, and the Tocher method formed three groups. The arrangement for the selection of the best accesses for pollen viability and meiotic index shows that accesses 10, 15, 9 and 14 can be crossed with accesses 12, 5, 7, 6, 8 since they are the two most divergent groups with high percentages of pollen viability and meiotic index. The results show the occurrence of genetic variability among the accessions of *Heliconia* spp. for pollen viability and meiotic index, which together with the cytogenetic data can direct the crossings between the accessions in *Heliconia* breeding programs.

Key words: Cytogenetic classic, chromosomes metaphasic, biology reproductive

1.INTRODUÇÃO GERAL

As espécies tropicais representam uma das maiores riquezas da flora brasileira (Jorge, 2012). Dentro desse grupo, destacam-se as espécies que compõem o gênero *Heliconia* L., vistas como um dos mais apreciados grupos de plantas herbáceas das florestas tropicais (Berry e Kress 1991). As helicônias são utilizadas para ornamentação de jardins e como flores de corte na composição de arranjos florais, ou envasadas (Costa, 2013). Elas apresentam grande interesse por serem belas, terem aparência exótica e rusticidade, adaptarem-se às condições tropicais de cultivo (Paiva e Almeida, 2014), produção de flores constante e em grande quantidade, resistência durante o transporte, flores duráveis pós-colheita e menor custo de aquisição (Loges et al., 2005; Alonso e Sousa-Silva, 2009).

Atualmente o cultivo e comercialização de helicônias encontra-se em expansão. Associado a isso, há uma demanda pelo lançamento constante de novidades e de produtos com qualidade para atender a um mercado extremamente competitivo e dinâmico, que objetiva melhorar a oferta nos produtos (Júnior et al., 2015; Beckmann-Cavalcante et al., 2016). O mercado de flores e plantas ornamentais visa à produção e desenvolvimento de produtos diversificados quanto às variedades mais produtivas, novas colorações das brácteas e flores, maior durabilidade e que possibilitem menos cuidados entre os consumidores (Júnior et al., 2015). Ainda buscam-se outras características, como beleza, crescimento, vigor, tamanho e formato (Criley e Broschat, 1992), além da seleção de variedades resistentes a pragas e doenças e com adaptação a diversas condições ambientais (Dole e Wilkins, 2005).

Antes da execução de um programa de melhoramento genético de helicônias, é necessário caracterizar os recursos genéticos que serão utilizados como parentais. Nesse sentido, a caracterização é uma etapa indispensável no manejo de germoplasma das coleções *ex situ* e consiste em descrever, identificar e distinguir acessos pertencentes a uma mesma espécie, gerando dados para a conservação e o uso dos recursos genéticos (Burle e Oliveira, 2010).

Dentre as formas de caracterizações, as análises citogenéticas permitem caracterizar os recursos genéticos, fornecem base para o seu uso adequado em programas de melhoramento genético e, complementam os mais variados tipos de caracterizações, fornecendo informações tanto para o registro como para a

documentação em banco de dados (Pinto-Maglio e Perozzi, 2015). Para realizar a caracterização citogenética de recursos genéticos silvestres e cultivados, podem ser citadas a determinação do número cromossômico, identificação de genótipos poliploides/aneuploides, estabelecimento de cariótipos e estudo do comportamento meiótico (Nass, 2001; Pinto-Maglio e Pierozzi, 2015).

Além dos dados citogenéticos, informações sobre a fertilidade do genótipo, como a viabilidade polínica são altamente importantes para o sucesso de programas de melhoramento genético, por possibilitarem a conservação dos recursos genéticos ou a melhor forma de utilizá-los em programas de melhoramento vegetal (Pinto-Maglio e Pierozzi, 2015; Yadav e Kogje, 2015). Aliado a dados de viabilidade do pólen, o índice meiótico possibilita estudar a formação de tétrades normais (produtos finais da meiose) como subsídios para inferir sobre a instabilidade meiótica do genótipo (Love, 1949).

Os estudos citogenéticos, de viabilidade polínica e índice meiótico, são muito importantes para a caracterização de espécies silvestres e nativas de Helicônias, como *Heliconia densiflora* Verlot e *Heliconia psittacorum* L.f. porém, são incipientes. Tais dados podem subsidiar estudos taxonômicos, evolutivos, conservação e melhoramento genético, ampliando as possibilidades de uso da variabilidade genética presente em espécies do gênero *Heliconia* L.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Família Heliconiaceae

As helicônias estavam incluídas na família Musaceae, posteriormente, em função de suas características particulares de individualização, passaram a constituir a família Heliconiaceae, representada unicamente pelo gênero *Heliconia* (Lamas, 2004). A família Heliconiaceae, juntamente com Musaceae, Strelitziaceae, Lowiaceae, Zingiberaceae, Costaceae, Cannaceae e Marantaceae representa a ordem zingiberales, abrangendo espécies que se distribuem em sub-bosques e ambientes tropicais úmidos (Berry e Kress, 1991; Costa et al., 2011).

Mesmo com estudos botânicos e taxonômicos referentes ao gênero *Heliconia*, a determinação do número de espécies existentes é questionável (Lamas, 2004). De acordo com a última revisão de espécies descritas para o gênero realizada por Castro et al. (2007), são consideradas 182 espécies válidas e 94 são listadas como endêmicas.

O centro de origem das espécies situa-se na América do Sul, confirmada pela elevada quantidade de espécies encontradas nessa região (Kress, 1990; Castro et al., 2007). No Brasil, a Bacia Amazônica e a Mata Atlântica costeira ou litorânea foram identificadas como as duas áreas de distribuição geográfica e diversidade, com 21 e 20 espécies, respectivamente (Kress, 1990).

Além da sua importância ornamental, a família exerce também um importante papel ecológico dentro dos ecossistemas, atuando na composição da flora dos bosques e sub-bosques das florestas tropicais e em ambientes abertos. Atua com pioneira no processo de regeneração natural da vegetação e restauração de solo degradado, bem como sustenta relações coevolutivas com outras espécies da flora e fauna (Lamas, 2004).

2.2. O gênero *Heliconia* L.

O gênero *Heliconia* L. compreende uma grande variedade de espécies, híbridos naturais e cultivares, que despertam interesse ornamental e comercial (Berry e Kress, 1991). As comunidades locais denominam popularmente as espécies do gênero como bananeira-de-jardim, bananeirinha-de-jardim, bico-de-guará, falsa-ave-do-paraíso e paquevira, conforme a região em que são encontradas (Sebrae, 2010).

As plantas do gênero são herbáceas, possuem rizomas, com porte ereto, atingindo de 3 a 10 metros de altura conforme a espécie (Ribeiro et al., 2012). As inflorescências são terminais e podem se apresentar de forma ereta ou pendente, composta por brácteas que possuem diversas cores, tamanhos, formatos, arranjos e texturas (Figura 1). As brácteas são as estruturas da planta responsáveis por despertar o seu interesse e valor comercial (Berry e Kress, 1991).

As flores são hermafroditas, possuem colorações que variam de branco a amarelo, que pouco se destacam, e são polinizadas por beija-flores (Berry e Kress, 1990; Paiva e Almeida, 2014), apresentam seis estames, sendo cinco férteis e um estaminoide estéril (Criley, 1995). Para a maioria das espécies, o pólen permanece maduro durante o dia (Simão et al., 2007) e as flores apresentam glândulas de néctar (Berry e Kress, 1991).



Figura 1. Algumas espécies de Helicônias com inflorescência de diferentes cores, tamanhos e formatos, pertencentes ao banco de germoplasma da Universidade do Estado de Mato Grosso. (A) *H. psittacorum*; (B) *H. bihai*; (C) *H. densiflora*; (D) *H. psittacorum*; (E) *H. psittacorum* e (F) *H. rostrata*.

As helicônias se reproduzem por sementes e também pelos rizomas, que crescem de forma horizontal, abaixo da superfície do solo, sendo os rizomas fonte

de acúmulo de nutrientes e água para garantir a sobrevivência das espécies durante o desenvolvimento sazonal (Rundel et al., 1998; Ribeiro, 2012).

Crescem vigorosamente e formam uma grande população de clones (Criley e Broschat, 1992). É possível a ocorrência de variação entre os indivíduos da mesma espécie quanto ao porte, o que depende do tipo de espécie ou forma de manejo da cultura (Berry e Kress, 1991).

Os frutos das espécies são do tipo drupa, indeiscentes e apresentam coloração azul escura quando maduros (Simao et al., 2006). Algumas espécies do Pacífico Sul apresentam coloração dos frutos vermelha ou alaranjada. As tonalidades fortes atraem pássaros e mamíferos que atuam como dispersores das sementes (Berry e Kress, 1991; Criley e Broschat, 1992).

As espécies ocorrem predominante em regiões úmidas e alagadas, porém, algumas espécies podem ser encontradas em áreas secas. São encontradas geralmente em bordas de florestas, matas ciliares e matas de galeria, em clareiras constituídas por vegetação pioneira, florestas montanhosas, ao longo de estradas e em locais abertos com alta irradiação solar (Rundel et al., 1998; Alonso, 2009).

2.3. Descrição e distribuição de *Heliconia psittacorum* L.f. e *Heliconia densiflora* Verlot

H. psittacorum L. f. é descrita como uma planta herbácea, delgada, de crescimento ereto com aproximadamente 0,5 a 2,0 metros de altura, entouceirada. As inflorescências são eretas e bastante duráveis. As brácteas possuem forma de barco, com variação em cores, como vermelho, amarelo ou rosa. As flores são retas ou pouco curvadas, de cor amarela, alaranjada ou vermelha, com manchas verde escuro em formato de olho no ápice (Anderson, 1995; Lorenzi e Sousa, 2008).

É conhecida por nomes populares, como: tracoá, caetezinho, helicônia-papagaio e planta-papagaio (Lorenzi e Sousa, 2008). De acordo com o conhecimento popular, a espécie recebe esse nome por suas inflorescências representarem um papagaio (Pinto, 2007).

Está distribuída amplamente pelo território nacional nas regiões Norte (Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins), Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí e Sergipe), Centro-Oeste (Goiás e Mato Grosso) e Sudeste (Espírito Santo e Minas Gerais). Ocorre em diferentes domínios fitogeográficos (Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e

Pantanal (Braga, 2015), e em vegetações de área antrópica, como nas clareiras, ambientes florestais, planalto e vertentes (Costa et al., 2011).

H. psittacorum L. f. apresenta diversos híbridos e cultivares de grande interesse no mercado floricultor (Kuhlmann et al., 2016). Segundo os autores, essa espécie possui amplo uso para ornamentação e está entre as espécies mais cultivadas no Brasil como flor de corte. Seu destaque se deve à produção ao longo de todo o ano, possuir inflorescências eretas, com diversidade em cores e quantidade de brácteas (Costa et al., 2007).

Heliconia densiflora Verlot é uma erva, de hábito musoide, possui 5 a 10 brácteas por inflorescência, com raque ereta de 13,0 a 25,0 cm, nas cores vermelha a alaranjada. Apresenta porte de 1,0 a 3,0 m de altura. As inflorescências são terminais e cada bráctea possui 6 ou mais flores, de coloração amarela e glabra. O fruto é do tipo drupa, de cor amarela ou vermelho alaranjado, azuis quando maduros, apresenta cerca de 1-3 sementes por fruto (Andersson, 1985; Castro et al., 2007; Sultana e Hassan, 2008; Braga, 2015). O florescimento ocorre durante o ano todo, mas principalmente nos meses de setembro a março (Andersson, 1985).

Sua distribuição é mais restrita no território brasileiro em relação à *H. psittacorum*. Distribui-se nas regiões Norte (Acre, Amazonas, Pará e Rondônia), Nordeste (Maranhão) e Centro-Oeste (Mato Grosso), por toda a Amazônia, em floresta de Igapó, de terra firme e de várzea (Castro et al., 2011; Braga, 2015).

2.4. Caracterização cromossômica das espécies de helicônias

2.4.1. Número cromossômico

O patrimônio biológico, representado pelas plantas e flores nativas tropicais, possui poucas informações com relação aos dados citogenéticos. A determinação de números cromossômicos do gênero *Heliconia* disponíveis na literatura consta um grande grupo representado por espécies com $2n=24$ cromossomos, caracterizado como o número mais frequentemente observado dentro do gênero (Andersson, 1984).

O número cromossômico $2n=22$ é citado para algumas espécies como *H. arabica*, *H. hirsuta*, *H. metallica*, *H. wagneriana*, *H. rostrata*, *H. bihai* e *H. psittacorum* (Kaemwong e Eksomtramage, 1998; Dourado et al., 2013; Miranda et al., 2013; Vieira et al., 2013; Nascimento et al., 2014). Também são relatados alguns híbridos triploides ($2n = 3x = 36$) oriundos de eventos naturais de hibridação, *H.*

densiflora cv Fire Flash, *H. psittacorum* cv Petra, *H. psittacorum* cv. Sassy, *H. psittacorum* cv. Suriname Sassy (Lee et al., 1994; Kaemwong e Eksomtramage, 1998; Costa et al., 2016).

Os estudos citogenéticos revelaram que as espécies do gênero são derivadas do número básico de $x = 12$, evidenciando a predominância de espécies diploides ($2n = 2x = 24$). Diante disso, sugere-se a aneuploidia como a responsável pela evolução do grupo (Andersson, 1984).

2.4.2. Morfometria cromossômica

Levando em consideração a morfometria cromossômica das espécies já estudadas, seus cariótipos são constituídos por cromossomos metacêntricos, submetacêntricos, e algumas espécies apresentam em seu cariótipo cromossomos acrocêntricos (Miranda et al., 2013; Dourado et al., 2013; Vieira et al., 2013).

Na Tabela 2, são sumarizadas as espécies que possuem sua morfologia quanto à posição do centrômero e tamanho cromossômico descritos. Além destes, Andersson (1984), em 31 táxons de helicônias, observou o tamanho cromossômico variando de 0,7 a 1,7 μm , onde observou cariótipos assimétricos. Segundo o autor a presença de satélites foi detectada nos braços longos de um dos pares maiores, porém não foram verificados para todas as espécies estudadas.

Tabela 2. Fórmula cariotípica e comprimento cromossômico (μm) das espécies da família Heliconiaceae

| Espécies | Fórmula cariotípica | Comprimento cromossômico (μm) |
|--|------------------------------------|--|
| <i>Heliconia bihai</i> | 7 M + 4 SM 12 SM 6 A+3 M+3SM | 0,67 - 3,96 2,71 - 1,02 1,4 - 4,5 |
| <i>H. stricta</i> | 9SM + 2M | - |
| <i>H. rostrata</i> | 5SM+5M+1A | - |
| <i>H. hirsuta</i> | 6SM +4M+1A | 0,28 - 4,36 |
| <i>H. psittacorum</i> | 4SM + 6M+ 1A | 1,19 - 3,29 |
| <i>H. orthotricha</i> cv. Lehua | 12 M | - |
| <i>H. psittacorum</i> cv. Nickeriensis | 5 M + 7 SM | - |
| <i>H. caribaea</i> x <i>H.bihai</i> cv. Hot Rio Nites | 5 M + 7 SM | - |
| <i>H. stricta</i> cv. Iris Bannochie | 8 M + 4 SM | - |
| <i>H. collinsiana</i> x <i>bourgeana</i> cv. Pedro Ortiz | 5 M + 7 SM | - |
| <i>H. caribaea</i> x <i>H.bihai</i> cv Jacquinii | 2 M + 12 SM | - |
| <i>H. psittacorum</i> cv. Red Opal | - | 1,15 -2,64 |
| <i>H. psittacorum</i> cv. Strawberries & Cream | - | 1,25 - 3,35 |

| | | |
|---|---|-------------|
| <i>H. psittacorum</i> | - | 1,14 - 2,73 |
| <i>H. spathocircinata</i> | - | 1,25 – 3,02 |
| Tabela 2. Continuação... | | |
| <i>H. spathocircinata</i> x <i>H. psittacorum</i> cv. Golden Torch | - | 1,44 - 2,98 |
| <i>H. spathocircinata</i> x <i>H. psittacorum</i> cv. Golden Torch Adrian | - | 1,13 - 2,89 |
| <i>H. caribaea</i> x <i>H. bihai</i> cv. Jacquinii | - | 1,18 - 2.57 |
| <i>H. psittacorum</i> cv. Suriname Sassy | - | 0,88 - 2,39 |
| <i>H. psittacorum</i> cv. Sassy | - | 1,12- 2,53 |

(-) dados não existentes. (Mahanty, 1970; Guangsui et al., 2010; Dourado et al., 2013; Miranda et al., 2013; Vieira et al., 2013; Nascimento et al., 2014; Costa et al., 2016).

2.4.3. Bandeamento Ag-NOR

As técnicas de bandeamento cromossômico têm sido comumente utilizadas na citogenética (Guerra, 2000). Entre eles, a impregnação com nitrato de prata (AgNO_3) foi desenvolvida para revelar a posição da região organizadora do nucléolo (NOR) (Howell e Black, 1980; Sumner, 2003). As informações obtidas por meio dessa técnica permitem diferenciar espécies intra e interespecífica (Klinkhardt, 1998).

O bandeamento Ag-NOR foi aplicado somente para a espécie *H. bihai* (L.) L. identificando e localizando a NOR nos dois primeiros pares cromossômicos (Nascimento et a., 2014).

2.5. Comportamento meiótico

Trabalhos que avaliem o comportamento meiótico ou instabilidade meiótica foram realizados apenas para algumas espécies de helicônia. Lee et al. (1994) estudando as cultivares diploides ($2n = 24$ cromossomos) de *Heliconia psittacorum* 'Tay', 'Andromeda' e 'Lady di' verificaram microsporogênese normal, com formação de tétrades de 99,60%, 99,70% e 100%, respectivamente, porém foram consideradas parcialmente férteis pois apresentaram baixa produção de frutos. Algumas células anormais foram observadas como mônades e díades. Entretanto, as cultivares triploides ($2n = 36$ cromossomos) 'Petra', 'Sassy' e 'Iris' foram consideradas 100% estéreis, pois não apresentaram frutos. A percentagem de tétrades foi baixa, com altas quantidades de irregularidades meióticas encontradas.

Em *H. pogonantha*, foram observados cromossomos atrasados em tétrades nas fases da anáfase I e II. Células anormais com conjunto de 5 a 8 micrósporos (poliades) também foram observadas. A espécie apresentou 35,90% de tétrades anormais (políades, díades e mônades), porém maioria representada por tétrades normais 64,09%. Em *H. psittacorum*, foram observadas tétrades em metáfase I com os 12 bivalentes pareados normalmente. No entanto, encontraram políades com micrósporos de tamanhos desiguais, contendo vários núcleos ou micronúcleos (Franco et al., 2012).

2.6. Estudos de viabilidade polínica em *Heliconia* L.

Análises da fertilidade de algumas espécies de helicônias foram realizadas por meio de testes colorimétricos para estimar a viabilidade polínica. Simão et al. (2007) verificaram em *H. rivularis* pouca quantidade de pólen, inviáveis e com variados tamanhos. Os autores relatam que estudos anteriores associados com esses resultados reportaram as evidências de que *H. rivularis* é um híbrido. Já as espécies *H. angusta* e *H. velloziana* apresentaram grãos de pólen viáveis e em grandes quantidades.

Em várias espécies e híbridos de helicônias, a avaliação da viabilidade polínica foi testada com o reativo de Alexander. As espécies *H. subulata*, *H. velerigera*, *H. episcopalis*, *H. flabellata*, *H. latispatha*, *H. lingulata*, *H. psittacorum II* foram as mais férteis, contendo altas taxas de viabilidade polínica. Enquanto que *H. psittacorum I*, viabilidade média e *H. collinsiana*, *H. rivulares* e *H. raulineana*, percentuais baixos, além de verificarem que *H. híbrido torto*, *H. imbricata* e *H. orange torch* são totalmente estéreis (Franco et al., 2012).

Silva et al. (2015a) avaliaram a viabilidade polínica de *H. bihai* 'Aurea', *H. bihai* 'Chocolate Dancer', *H. caribea x bihai*, *H. chartacea*, *H. latispatha*, *H. magnifica*, *H. orthotricha*, *H. pendula*, *H. pogonantha*, *H. psittacorum x H. spathocircinata* 'Alan Carle', *H. rauliniana* 'Citra', *H. rostrata* e *H. stricta*, de botões florais em estágio de pré-antese, antese e pós-antese. Os autores concluíram que a maioria dos genótipos possui alta viabilidade polínica em pré-antese, porém, em antese e pós-antese, alguns acessos apresentaram decréscimo nas taxas de viabilidade dos pólenes.

Em *Heliconia rostrata* Ruiz & Pavan foram observados percentuais médios e altos de viabilidade polínica estimados com diferentes corantes, de 59,26% a

78,79%. A média percentual de germinação do tubo polínico foi de 74,93%, estando em acordância com o valor de viabilidade dos grãos de pólen encontrada com o reativo de Alexander (Mello et al., 2016a). Para essa mesma espécie, com o uso do corante 2,3,5 cloreto-trifeniltetrazolio nas concentrações de 0,075% e 0,30%, verificou-se alta viabilidade polínica, com 96,75% e 95,80%, respectivamente (Mello et al., 2016b).

Em três acessos de *Heliconia psittacorum* coletados em diferentes locais, Nascimento et al. (2016a) verificaram alta porcentagem de viabilidade polínica, com médias de 84,00% a 99,50%. Os autores inferem que os acessos possuem alta capacidade de se reproduzir de forma sexuada.

2.7. Conservação do gênero *Heliconia* L.

Os ambientes de ocorrência natural das espécies de helicônias geralmente são regiões de florestas tropicais úmidas, em beira de estradas, margens de rios, matas de galeria e ciliares, bosques e sub-bosques, parcialmente abertos e com alta irradiação solar (Rundel et al., 1998; Costa et al., 2011). Essas regiões representam habitats que sofrem constantemente exploração excessiva associada ao extrativismo ilegal das espécies.

A destruição desses habitats pode isolá-las em “ilhas de floresta”, as quais são pequenas para manter um número razoável de indivíduos de cada espécie. Dessa forma, a redução da população a torna com grandes chances de que ela desapareça, seja por doenças, ataques de herbívoros e destruição do que sobrou do habitat. Como resultado da diminuição da população, a probabilidade de cruzamentos entre indivíduos aparentados aumenta, o que pode causar vários problemas genéticos e também a extinção (Costa et al., 2011).

Até o momento, é incerto o número de espécies da ordem Zingiberales que podem estar ameaçadas de extinção. As espécies endêmicas estão sob grande risco de extinção, principalmente as de regiões altamente modificadas pelo homem, como é o caso das florestas tropicais, que abrangem a maior parte das Zingiberales, e está entre os ambientes mais ameaçados do mundo (Costa et al., 2011). Conforme Castro et al. (2007), 94 espécies são registradas como endêmicas de determinada região, isso demonstra uma grande vulnerabilidade do gênero com relação à conservação de germoplasma.

Uma estratégia para preservar e diminuir o risco de erosão genética do gênero *Heliconia* é a conservação dessas espécies em bancos ativos de germoplasma, que podem subsidiar estudos de seu potencial ornamental, e sua utilização em programas de melhoramento (Argôlo, 2009). Assim, os bancos de germoplasma são ferramentas que proporcionam a preservação máxima da variabilidade genética, que é vital à pesquisa científica vegetal (Veiga et al., 2012).

2.8. Pré melhoramento e melhoramento genético de helicônias no Estado de Mato Grosso

O gênero *Heliconia* abrange espécies com grande variabilidade genética, porém, pesquisas de pré melhoramento e melhoramento genético com enfoque nesse gênero iniciaram-se há pouco tempo no país, estando restritos a poucas instituições que desenvolvem pesquisas nesta área (Rocha, 2009).

O banco ativo de germoplasma da Universidade do Estado de Mato Grosso (MT), Campus de Tangará da Serra, vem colocando em prática atividades de pré melhoramento em plantas tropicais como as helicônias, alpínias e bastão do imperador. O banco conta com diversos acessos de *H. densiflora* e *H. psittacorum*, que apresentam diversas colorações, tamanhos e formatos de brácteas, além de outras espécies e híbridos do gênero coletadas em diferentes municípios ao longo do Estado de Mato Grosso (Figura 2). Além disso, a Universidade realiza um projeto de extensão com as flores tropicais, o MT horticultura, que apresenta aos produtores rurais esses e outros produtos para serem comercializados, como uma alternativa de renda.

Os acessos de *Heliconia* foram caracterizados e avaliados sob alguns aspectos, como: diversidade genética (Silva, 2016), biologia floral e reprodutiva (Nascimento, 2016b) e identificação de doenças ocorrentes em helicônias (Nascimento et al., 2015; Silva et al., 2015b).

A produção de helicônias no Mato Grosso é recente, porém ocorre em várias cidades (Silva et al., 2015b), incentivando a produção de híbridos para atender à busca por novidades pelo mercado consumidor. Assim, contribui para a disponibilidade de empregos e alternativa de renda aos produtores que desejam produzi-las como plantas ornamentais. Nesse Estado, há uma grande diversidade de espécies de helicônias, amplamente distribuídas pelas condições climáticas ideais que favorecem o cultivo dessas plantas com alto potencial ornamental para o

mercado floricultor e produtores que buscam novas opções (Ribeiro et al., 2010; Silva, 2015b).



Figura 2. Alguns acessos de Helicônia pertencentes ao banco ativo de germoplasma da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT). (A) *H. psittacorum*; (B) *H. densiflora*; (C) *H. rostrata* e (D) *H. psittacorum* cv. Golden Torch.

2.9. Parâmetros genéticos

Espécies domesticadas e que apresentam pouca ou nenhuma informação sobre a variabilidade genética representam uma problemática para o melhoramento (Maia et al., 2011). Segundo os autores, por meio da avaliação genética, é possível estimar parâmetros genéticos e predição de valores genotípicos para espécies silvestres que auxiliam além dos programas de melhoramento genético a conservação das espécies. E, ainda, contribuem para uma seleção mais apropriada e predizem o sucesso ou não de programas de melhoramento (Cruz e Carneiro, 2014).

A baixa precisão de dados genéticos tem sido outro grande problema relacionado à obtenção de ganhos genéticos no melhoramento genético de plantas.

Dessa forma, a utilização de métodos genético-estatísticos mais aprimorados é uma tendência a ser seguida no melhoramento genético de plantas, como forma de tornar a seleção mais eficiente (Pimentel et al., 2014). Nesse sentido, a estimativa de parâmetros genéticos permite conhecer a ação dos genes envolvidos na expressão dos caracteres quantitativos e avaliar as diferentes formas de manipular esses materiais com eficiência no melhoramento para obtenção de ganhos genéticos e manutenção da base genética (Costa, 2012; Cruz e Carneiro, 2014).

Dentre os parâmetros com maior importância, destacam-se variâncias genéticas, correlações e as herdabilidades (Cruz e Carneiro, 2014; Laviola et al., 2010). A correlação corresponde à associação linear entre variáveis ou ao grau em que dependem uma da outra, podendo ocorrer de forma simultânea ou contrária. Logo, pode ser positiva, quando crescem ou diminuem juntas, ou então negativa, com relação inversa (Steel e Torrie, 1980). Essa análise permite a seleção indireta, usada principalmente quando um determinado caráter de interesse possui baixa herdabilidade ou problemas de avaliação e mensuração (Falconer e Mackay, 1996; Cruz et al., 2012), e, também, contribuem para uma seleção simultânea eficiente de características de interesse (Santos e Vencovsky, 1986).

A herdabilidade (h^2) é classificada como um dos parâmetros de maior importância no melhoramento genético, visto que pode prever o quanto que dada característica pertencente a um indivíduo pode se expressar em sua progênie. Uma porção da variação fenotípica observada é decorrente da origem genética e uma porção refere-se à ação ambiental sobre os genes (Resende, 2009). Esse parâmetro pode ser definido em sentido amplo, quando todas as proporções genéticas da viabilidade estão inclusas, e no sentido restrito, quando se considera apenas a razão dos efeitos aditivos dos genes (Borém, 2009; Resende, 2009). A escolha do método do cálculo da herdabilidade leva em consideração o tipo de forma reprodutiva da espécie em estudo (Resende, 2009).

Os parâmetros genéticos foram aplicados com êxito em vários estudos com helicônias, para caracteres de hastes florais, em cultivares e híbridos de *H. psittacorum* (Costa et al., 2007; Rocha et al., 2010), *H. bihai* e *H. stricta* da coleção de germoplasma de helicônia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Lima, 2012). E, também, em acessos de *Heliconia* spp. em características morfológicas quantitativas e qualitativas, verificando a ocorrência de variabilidade genética entre os acessos (Silva, 2016). Contudo, de modo geral, poucas espécies de helicônias

foram estudados sob os parâmetros genéticos, principalmente aplicados a dados de citogenética.

2.1. Diversidade genética

O estudo da diversidade genética em acessos de bancos de germoplasma permite conhecer a extensão da variabilidade genética presente nesses materiais, a qual reflete diretamente no uso para a criação de novas cultivares, com maior probabilidade de progresso genético (Chen et al., 2012).

Para o início de um programa de melhoramento genético de plantas, a escolha dos genitores é fundamental para a realização dos cruzamentos, pois é necessária uma população de base genética ampla para que ocorra a seleção dos genótipos (Correa e Gonçalves, 2012). Nesse sentido, os estudos de diversidade genética são relevantes em programas de melhoramento, pois orientam o melhorista por identificar genitores adequados à obtenção de híbridos (Cruz e Carneiro, 2014).

A partir da análise multivariada, vários métodos podem ser empregados para prever a diversidade genética. Entre eles, técnicas de agrupamento baseadas na distância generalizada de Mahalanobis (D²), proposta por Mahalanobis (1936), e a técnica de agrupamento pelo método de Tocher (Rao, 1952). Também podem ser utilizadas técnicas de dispersão gráfica, envolvendo análise por componentes principais (Cruz et al., 2012; Monteiro et al., 2012). A escolha do método é determinada de acordo com a precisão desejada pelo pesquisador, facilidade da análise e forma como os dados foram obtidos (Cruz et al., 2012). As medidas de estudo da divergência genética são úteis quando aplicadas à avaliação de acessos pertencentes a bancos de germoplasma, sendo possível estabelecer relações entre a diversidade genética e geográfica (Nascimento et al., 2001). Propicia informações aos programas de melhoramento genético e para a manutenção e uso de acessos (Cruz et al., 2012).

O presente estudo objetiva caracterizar citogeneticamente, estimar os parâmetros genéticos e a diversidade genética em acessos de *Heliconia* pertencentes ao banco ativo de germoplasma da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), a fim de conservar e selecionar genótipos superiores para uso em programas de melhoramento genético. Os capítulos têm como objetivos:

- determinar o número cromossômico, mensurar os dados morfométricos dos cromossomos e montar os kariogramas de seis acessos de *Heliconia*;

- mensurar o índice de assimetria cromossômica;
- identificar o número das regiões organizadoras nucleolares (NORs);
- estimar os parâmetros genéticos e diversidade genética para as características de viabilidade polínica e índice meiótico;
- selecionar genótipos superiores com base nos maiores percentuais de viabilidade polínica e índice meiótico, sugerindo os possíveis parentais em cruzamentos.

3. RERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONSO, A. M.; SOUSA-SILVA, J. C. ***Heliconia angusta* Vell.**: Caracterização de uma planta ornamental para cultivo no Cerrado. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2009. 24p.
- ANDERSSON, L. The chromosome number of *Heliconia* (Musaceae). **Nordic Journal of Botany**. 4:191-194, 1984.
- ANDERSSON, L. Revision of *Heliconia* subgen. *Stenochlamys* (Musaceae-Heliconioideae). **Opera Botanica**. 82:1-23, 1985.
- ARGÔLO, L. M. H. **Avaliação de genótipos de *Heliconia* spp. sob cultivo a pleno sol e cabruca**. Ilhéus: Universidade Estadual de Santa Cruz, 2009. 73p. (Dissertação - Mestrado em Produção Vegetal).
- BECKMANN-CAVALCANTE, M. Z.; AMARAL, G. C.; SILVA, A. S.; BRITO, L. P. S.; LIMA, A. M. N.; CAVALCANTE, I. H. L. Nitrogen and potassium fertilization in yield and macronutrients contents of *Heliconia* cv. Golden Torch. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. 20: 337-342, 2016.
- BERRY, F.; KRESS, W. J. ***Heliconia*: An Identification Guide**. Washington: Smithsonian Institution, 1991.
- BORÉM, A. **Melhoramento de Espécies Cultivadas**. 2.ed. Viçosa: Editora UFLA, 2009. 969p.
- BRAGA, J. M. A. 2015. **Heliconiaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7954>>. Acesso em: 24, novembro 2017.
- BURLE, M. L.; OLIVEIRA, M. S. P. **Manual de Curadores de Germoplasma - Vegetal: Caracterização Morfológica**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. 16p.
- CASTRO, C. E. F.; GONÇALVES, C.; MAY, A. Atualização da nomenclatura de espécies do gênero *Heliconia* (Heliconiaceae). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. 13:38-62. 2007.
- CASTRO, C. D. F.; GONÇALVES, C.; MOREIRA, S. R.; FARIA, O. A. Helicônias brasileiras: características, ocorrência e usos. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. 17:5-24, 2011.
- CHEN, X.; DONGHONG, M.; TAUGEER, A. Y.; YIN-GANG, H. Genetic diversity, population structure and linkage disequilibrium in elite chinese winter wheat investigated with SSR markers. **Plos One**. 7:1-9, 2012.
- CORREA, A. M.; GONÇALVES, M. C. Divergência genética em genótipos de feijão comum cultivados em Mato Grosso do Sul. **Revista Ceres**. 59:206-212, 2012.

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

COSTA, F. R. C.; ESPINELLI, F. P.; FIGUEIREDO, F. O. G. **Guia de zingiberales dos Sítos PPbio na Amazônia Ocidental brasileira**. Manaus: Áttema Design Editorial, 2011. 284p.

COSTA, E. G. **Estimativas de parâmetros genéticos, diversidade e caracterização de *Syngonanthus chrysanthus* Ruhland como planta de vaso**. Campinas: Instituto agrônomo, 2012. 58p. (Dissertação – Mestrado em Agricultura tropical e subtropical).

COSTA, M. G. S. **Caracterização citogenética de genótipos de *Heliconia* L. (Heliconiaceae)**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2013. 54p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia - Melhoramento Genético de Plantas).

COSTA, M. G. S.; LEITE, B. S. F.; LOGES, V.; SILVA, E. B. C.; COSTA, A. S.; GUIMARAES, W. N. R.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C. Chromosome markers confirm origin of *Heliconia* hybrids and triploids. **Euphytica**. 212:1-14, 2016.

CRILEY, R. A.; BROCHAT, T. K. *Heliconia*: botany and horticulture of new floral crop. **Horticulture Review**. 14:1-55, 1992.

CRILEY, R. A. Propagation of Zingiberaceae and Heliconiaceae. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. 1:14-22, 1995.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4.ed. Viçosa: UFV, 2012. 514p.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2014. 668p.

DOLE, J. M.; WILKINS H. F. **Floriculture: Principles and Species**. New Jersey: Pearson Prentice Hall, 2005. 1023p.

DOURADO, J.; OLIVEIRA, A. N. B.; VIEIRA, A.; KARSBURG, I. V. Caracterização cromossômica de *Heliconia hirsuta* L. F. **Magistra**. 25:193-195, 2013.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. 4 ed. Edinburgh: Longman Group Limited, 1996. 464p.

FRANCO, V. R.; ZUCCARI, L. D. A.; PINTO-MAGLIO, C. A. F.; CASTRO, C. E. F. Comportamento meiótico e viabilidade polínica em *Heliconia pogonantha* e *Heliconia psittacorum*. In: XI CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, Jaguariúna, SP. 2012. **Anais do congresso intesinstitucional de iniciação científica**. Jaguariúna: CIIC, 2012. p1-10.

GUANGSUI, Y.; JUNMEI, Y.; QINGYUN, L.; YANXIA, Z.; ZHIQUN, Z. Karyotypes comparison of eight varieties of *Heliconia* spp. **Chinese Journal Tropical Crops**. 12: 2118–2123, 2010.

GUERRA, M. Patterns of heterochromatin distribution in plant chromosomes. **Genetics and Molecular Biology**. 23:1029-1041, 2000.

HOWELL, W. M.; BLACK, B. A. Controlled silver-straining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developed: a 1-step method. **Experientia**. 36: 1014-1015, 1980.

JORGE, L. H. A. **Cultivo da heliconia**. Dossiê técnico. SENAI/AM, 2012. 27p.

JÚNIOR, J. C. L.; NAKATANI, J. K.; NETO, L. C. M.; VAZ DE LIMA, L. A. C.; KALAKI, R. B.; CAMARGO, R. B. **Mapeamento e Quantificação da Cadeia de Flores e Plantas Ornamentais do Brasil**. São Paulo: OCESP, 2015.

KAEMWONG, S.; EKSOMTRAMAGE, L. Chromosome numbers of genus *Heliconia*. Songklanakarin **Journal of Science and Technology**. 20:489-495, 1998.

KLINKHARDT, M. B. Some aspects of karyoevolution in fishes. **Anim Res Dev**. 47:7-36, 1998.

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

KUHLMANN, M.; GOMES-BEZERRA, K. M.; REIS, P. A. *Heliconia psittacorum*. In: VIEIRA, R. F.; CAMILLO, J.; CORADIN, L. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: Plantas para o futuro: Região Centro-Oeste**. Brasília: MMA, 2016. p.996-999.

LAMAS, A. M. **Floricultura Tropical: técnicas de cultivo**. Recife: SEBRAE, 2004. 65p.

LAVIOLA, B. G.; ROSADO, T. B.; BHERING, L. L.; KOBAYASHI, A. K.; RESENDE, M. D. V. Genetic parameters and variability in physic nut accessions during early developmental stages. **Pesquisa agropecuária Brasileira**. 45:1117-1123, 2010.

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

LIMA, T. L. A. **Caracterização agrônômica e estimativa de parâmetros genéticos de *Heliconia bihai* L. e *Heliconia stricta* Huber para flor de corte**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2012. 55p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia).

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

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 1120p.

LOVE, R. A. **Estudos citológicos preliminares de trigos Riograndenses**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul, 1949, 14p.

MAIA, M. C. C.; RESENDE, M. D. V.; OLIVEIRA, L. C.; ÁLVARES, V. S.; MACIEL, V. T.; LIMA, A. C. de. Seleção de clones experimentais de cupuaçu para características agroindustriais via modelos mistos. **Revista Agro@ambiente On-line**. 5:35-43, 2011.

MAHALANOBIS, P. C. On the generalized distance in statistics. **Proceedings of the National Institute of Science of India**. 12:49–55, 1936.

MAHANTY, H. K. A cytological study of the Zingiberales with special reference to their taxonomy. **Cytologia**. 35:1349, 1970.

MELLO, V. S.; SANTOS, B.N.V.; DAMASIO, J. F.; MACEDO, W. A.; LEITE, D. M.; KARSBURG, I. V. Viabilidade e germinação polínica em bananeira-do-brejo. **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB**. 8, 2016a.

MELLO, V. S.; SANTOS, B. N. V.; MACEDO, W. A.; DAMASIO, J. F.; KARSBURG, I. V. Estimação da viabilidade polínica de *Heliconia rostrata* L. (Heliconiaceae) por meio do teste colorimétrico de Tetrazólio. In: IV SEMINÁRIO DE BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS, Alta Floresta, MT. 2016. **Anais do seminário de biodiversidade e agroecossistemas amazônicos**. Alta Floresta: UNEMAT, 2016a, p.693-697, 2016b.

MIRANDA, D. P.; OLIVEIRA, A. N. B.; MELLO, V. S. VIEIRA, A.; KARSBURG, I. V. Caracterização cromossômica de duas espécies do gênero *Heliconia*. **Magistra**. 25: 192-192, 2013.

MONTEIRO, V. A. **Diversidade genética de acessos de cevada sob sistema de produção irrigado no cerrado do planalto central brasileiro**. Brasília: Universidade de Brasília, 2012. 136p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia).

NASCIMENTO, F. J.; ATROCH, A. L.; SOUSA, N. R.; GARCIA, T. B.; CRAVO, M. S.; COUTINHO, E. F. Divergência genética entre clones de guaranazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 36:501-506, 2001.

NASCIMENTO, H. R.; GALLO, R.; KARSBURG, I. V.; OLIVEIRA, A. S. Cytogenetic and identification of the nucleolus organizer region in *Heliconia bihai* (L.) L. **Revista Ceres**. 61:451-457, 2014.

NASCIMENTO, T. O.; CARDOSO, V. J. L.; SILVA, P. C.; SILVA, C. G.; DALBOSCO, E. Z.; HIEGA, K. M. R.; ARAUJO, D. V. Doenças fúngicas em *Heliconia* no município de Tangará da Serra – MT. **MT Horticultura**. 1:45-48, 2015.

NASCIMENTO, T. O. **Divergência genética e biologia reprodutiva de *Heliconia* spp. no estado de Mato Grosso**. Tangará da Serra: Universidade do Estado de

Mato Grosso, 2016a. 71p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

NASCIMENTO, T. O.; SILVA, P. C.; SILVA, C. G.; BOTINI, A. F.; FRANÇA, R. P. A.; SANTOS, J. L.; SILVA, C. A. Durabilidade floral, viabilidade polínica e receptividade estigmática em *Heliconia psittacorum* (Heliconiaceae). **Scientific Electronic Archives**.316-319, 2016.

NASCIMENTO, T. O.; FRANÇA, R. P. A.; BOTINI, A. F.; SILVA, P. C.; SANTOS, J. L.; ALMEIDA, H. M.; GARRIDO, L. R. Plantio e produção de *Heliconia densiflora* e *Heliconia psittacorum* no estado de Mato Grosso. **MT Horticultura**. 2:008-011, 2016b.

NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos Genéticos e Melhoramento - Plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001.

PAIVA, P. D. O.; ALMEIDA, E. F. A. **Produção de flores de corte**. Lavras: UFLA, 2014. 244p.

PIMENTEL, A. J. B., GUIMARÃES, J. F. R., DE SOUZA, M. A., DE RESENDE, M. D. V.; MOURA, L. M., RIBEIRO, G. Estimação de parâmetros genéticos e predição de valor genético aditivo de trigo utilizando modelos mistos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 49:882-890, 2014.

PINTO, S. A. ***Heliconia psittacorum* L.: Propagação e adubação na fase inicial do cultivo**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007. 75p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).

PINTO-MAGLIO, C. A. F.; PIEROZZI, N. I. Caracterização citogenética. In: VEIGA, R. F. A.; QUEIRÓZ, M. A. (ed). **Recursos fitogenéticos: a base da agricultura sustentável no Brasil**. Viçosa: UFV, 2015. p.204-213.

RAO, R. C. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: J. Wiley, 1952. 330p.

RESENDE, M. D. V.; **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa. 2009. 976p.

RIBEIRO, W. S.; CARNEIRO, G. G.; ALMEIDA, E. I. B.; LUCENA, H. H.; BARBOSA, J. A. Pós-colheita e conservação de inflorescências de *Heliconia marginata* x *Heliconia bihai* (*Heliconia rauliana*) submetidas a soluções de manutenção efeitos da insetigação na cultura do feijão vigna de cor preta. **Agropecuária Técnica**. 31:70-74, 2010.

RIBEIRO, W. S.; BARBOSA, W. S.; COSTA, L. C. **Helicônias**. Brasília: Kiron, 2012. 134p.

ROCHA, F. H. A. **Caracterização agrônômica, variabilidade, correlações e repetibilidade em cultivares de *Heliconia psittacorum* e híbridos**

interespecíficos. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2009. 58p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia).

ROCHA, F. H. A.; LOGES, V.; COSTA, A. S.; ARAGÃO, F. A. S.; SANTOS, V. F. genetic study with Genetic study with *Heliconia psittacorum* and interspecific and interspecific hybrids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**.10:282-288, 2010.

RUNDEL, P. W.; SHARIFI, M. R.; GIBSON, A. C.; ESLER, K. J. Structural and physiological adaptation to light enviromental in neotropical *Heliconia* (Heliconiaceae). **Journal of Tropical Ecology**. 14:789-801, 1998.

SANTOS, J.; VENCOVSKY, R. Correlação fenotípica e genética entre alguns caracteres agrônômicos do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Prática**. 10: 265-272. 1986.

SEBRAE. **Catálogo Plantas ornamentais**. Vale do Ribeira: Sebrae, 2010. 99p.

SILVA, S. S. L.; OLIVEIRA, J. S.; CASTRO, A. C. R.; GONÇALVES, C.; CASTRO, C. E. F.; LOGES, V. Viabilidade de Pólen de *Heliconia* spp. In: SIMPÓSIO DA REDE DE RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS DO NORDESTE, Fortaleza, 2015a. **Anais do II Simpósio da RGV Nordeste**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical.

SILVA, G.; HIEGA, K. M. R; DALBOSCO, E. Z.; SILVA, C. A.; ARAÚJO, D. V. Fitossanidade em plantas tropicais no Estado de Mato Grosso. **Enciclopédia biosfera**. 11:1289-1293, 2015b.

SILVA, C. G. **Pré-melhoramento de Heliconia spp. coletadas em diferentes regiões do Estado de Mato Grosso**. Tangará da Serra: Universidade do Estado de Mato Grosso, 2016. 79 p. (Dissertação - Mestrado em genética e melhoramento de plantas).

SIMAO, D. G.; SCATENA, V. L.; BOUMAN, F. Developmental anatomy and morphology of the ovule and seed of *Heliconia* (Heliconiaceae, Zingiberales). **Plant Biology**. 8:143-154, 2006.

SIMÃO, D. G.; SCATENA, V. L.; BOUMAN, F. Anther development, microsporogenesis and microgametogenesis in *Heliconia* (Heliconiaceae, Zingiberales). **Flora**. 202:148–160, 2007.

SULTANA, N.; HASSAN, A. The genus *Heliconia* l. cultivated in bangladesh. **Bangladesh Journal Plant Taxon**. 15:141-153, 2008.

SUMNER, A. T. **Chromosomes: Organization and Function**. Londres: Blackwell, 2003. 287p.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics**. New York: McGraw-Hill, 1980. 633p.

VEIGA, R. F. A.; BARBOSA, W.; TOMBOLATO, A. F. C.; MONTENEGRO, J. F. V. Bancos de germoplasma: importância e organização. In: COSTA, A. M.; SPEHAR, C. R.; SERENO, J. R. B. **Conservação de recursos genéticos no Brasil**. Brasília: EMBRAPA, 2012. p. 105-110.

VIEIRA, A.; OLIVEIRA, A.N.B.; MIRANDA, D.P.; KARSBURG, I.V. Morfometria cromossômica da *Heliconia psittacorum*. **Magistra**. 25:366-367, 2013.

YADAV, V. K.; KOGJE, K. K. Microsporogenesis, structure and viability of pollen in *Canscora decurrens* Dalzell a potent medicinal plant. **International Journal of Herbal Medicine**. 3:01-04, 2015.

4.1. CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE ACESSOS DE *Heliconia densiflora* Verlot E *Heliconia psittacorum* L.f.

RESUMO

Estudos citogenéticos para o gênero *Heliconia* L. mostram número básico de $x=12$, com predominância de espécies diploides apresentando $2n=24$ cromossomos, e alguns híbridos naturais triploides com $2n=36$ cromossomos. Os dados citogenéticos obtidos para esse grupo limitam-se a identificação de número cromossômico, sendo poucos estudos realizados quanto a morfometria e bandeamento Ag-NOR para as espécies de *Heliconia*. Levando em conta a necessidade de ampliar o conhecimento citogenético do gênero, os objetivos deste trabalho foram realizar a caracterização citogenética de acessos de *Heliconia densiflora* Verlot e *Heliconia psittacorum* L.f. As análises citogenéticas foram conduzidas em seis acessos de *Heliconia* spp.. Foram realizadas as etapas citogenéticas de tratamento com antitubulínico, maceração enzimática, preparação e análise das lâminas e bandeamento Ag-NOR. Após a análise das metáfases dos acessos foram realizadas as análises morfométricas, classificação quanto a morfologia, cálculos dos índices de assimetria intercromossômica A_2 e índice AI e montagem dos cariogramas. Os acessos de *H. densiflora* e *H. psittacorum* apresentaram $2n = 24$ cromossomos. Foram observadas diferenças morfométricas a nível interespecífico e intraespecífico quanto ao tamanho e classes cromossômicas, que podem ter sido causados por rearranjos estruturais ou origem geográfica diferente de cada acesso. Para o cariótipo dos acessos da espécie *H. densiflora* foram encontrados cromossomos medindo de 1,77 à 5,79 μm , e os acessos de *H. psittacorum* de 4,45 à 1,46 μm . Todos os acessos possuem cariótipos constituídos de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos, com um par de NORs o que sugere possivelmente uma condição diploide para esses acessos. Os acessos de *H. densiflora* possuem os menores índices de assimetria. Logo, possuem cariótipo mais simétrico quando comparado aos acessos de *H. psittacorum*. Nesse sentido, como os acessos de *H. densiflora* apresentam cariótipos mais simétricos, e a espécie pode ser considerada mais recente no processo evolutivo do que *H. psittacorum*. Os dados de caracterização citogenética permitiram diferenciar os acessos de *H. densiflora* e *H. psittacorum* que aliados a outras caracterizações podem subsidiar a conservação de genótipos de interesse, melhoramento genético e ampliar o conhecimento citogenético do gênero.

Palavras-chave: Citogenética clássica, bandeamento Ag-NOR, morfometria cromossômica

ABSTRACT

Cytogenetic studies for the genus *Heliconia* L. show a basic number of $x=12$, with a predominance of diploid species presenting $2n=24$ chromosomes, and some triploid natural hybrids with $2n=36$ chromosomes. The cytogenetic data obtained for this group are limited to the identification of chromosome numbers, and few studies have been done regarding morphometry and Ag-NOR banding for *Heliconia* species. Considering the need to extend the cytogenetic knowledge of the genus, the objectives of this study were to perform the cytogenetic characterization of the accessions of *Heliconia densiflora* Verlot and *Heliconia psittacorum* L.f. Cytogenetic analyzes were carried out on six accessions of *Heliconia* spp. Cytogenetic steps of antitubulinic treatment, enzymatic maceration, preparation and analysis of slides and the Ag-NOR banding were performed. After analyzing the metaphases of the accesses, morphometric analyzes, classification of morphology, calculations of the indexes of asymmetry A_2 and index AI and setting of the karyotypes were performed. The accessions of *H. densiflora* and *H. psittacorum* presented $2n=24$ chromosomes. Morphometric differences were observed at interspecific and intraspecific level regarding size and chromosomal classes, which may have been caused by structural rearrangements or different geographical origin from each access. For the karyotype of the accessions of the species *H. densiflora* were found chromosomes measuring from 1,77 to 5,79 μm , and the accesses of *H. psittacorum* from 4,45 to 1,46 μm . All accesses have karyotypes consisting of metacentric and submetacentric chromosomes, with a pair of NORs which possibly suggests a diploid condition for these accesses. The accessions of *H. densiflora* have the lowest asymmetry indexes. Therefore, they have a more symmetrical karyotype when compared to the accessions of *H. psittacorum*. In this sense, since the accessions of *H. densiflora* present more symmetrical karyotypes, and the species may be considered more recent in the evolutionary process than *H. psittacorum*. The cytogenetic characterization data allowed to differentiate the accessions of *H. densiflora* and *H. psittacorum*, which, together with other characterizations, may contribute to the conservation of genotypes of interest, genetic breeding and to increase the cytogenetic knowledge of the genus.

Keywords: Cytogenetics classical, banding Ag-NOR, morphometry chromosome

INTRODUÇÃO

O gênero *Heliconia* L. conta com uma grande variedade de espécies, híbridos naturais e cultivares com valor ornamental, comercial (Berry e Kress, 1991) e ecológico (Lamas, 2004). Inicialmente, a identificação das helicônias é realizada com base em caracteres morfológicos e nas cores das flores e inflorescências que as espécies apresentam. No entanto, são observadas variações naturais intra e interespecíficas entre as espécies, ocasionadas pelos isolamentos geográficos, ações ambientais e nutricionais, as quais são fatores que causam confusões entre os produtores comerciais e colecionadores, bem como influenciam em uma correta descrição taxonômica (Berry e Kress, 1991; Simão et al., 2007).

Nesse sentido, a caracterização citogenética permite descrever o conjunto de cromossomos de uma espécie, o qual é uma representação esquemática dos cromossomos. Essas informações são úteis para a comparação citogenética de diferentes espécies ou avaliação da variação cariotípica entre indivíduos intraespecíficos (Advíncula, 2016). E, ainda, são muito importantes para determinações taxonômicas pois fornecem informações sobre as relações de parentesco e os mecanismos evolutivos cromossômicos nos mais variados grupos vegetais e animais (Stebbins, 1971; Guerra, 1990). Os dados citogenéticos também contribuem para a realização de uma seleção mais eficiente dos recursos genéticos, disponíveis ou não em bancos ativos de germoplasma, que apresentam possibilidades de uso em programas de melhoramento genético (Pinto-Maglio e Pierozzi, 2015; Nass, 2001).

Apesar do grande interesse ornamental e econômico do gênero e das amplas contribuições da citogenética a maioria dos estudos para helicônias está relacionada a caracterizações morfoagronômicas e potencial ornamental, sendo escassos os estudos citogenéticos e com enfoque maior no número cromossômico. Segundo Costa et al. (2016), 36 espécies possuem dados de número cromossômico, representando cerca de 15% do total de espécies do gênero.

Os estudos citogenéticos apontam $2n = 24$ cromossomos como o número cromossômico mais frequentemente observado para as espécies do gênero *Heliconia* L. (Andersson, 1984). E um grupo de híbridos naturais (*H. densiflora* cv Fire Flash, *H. psittacorum* cv Petra, *H. psittacorum* cv. Sassy, *H. psittacorum* cv. Suriname Sassy) com $2n = 36$ cromossomos (Lee et al., 1994; Kaemwong e Eksomtramage, 1998; Costa et al., 2016).

Além do número de cromossomos, em algumas espécies, foram feitas análises morfométricas. Os cariótipos são constituídos por cromossomos metacêntricos e submetacêntricos (Miranda et al., 2013; Dourado et al., 2013; Vieira et al., 2013; Nascimento et al., 2014; Costa et al., 2016). Nas espécies *H. hirsuta*, *H. psittacorum* e *H. rostrata*, foram encontrados alguns pares cromossômicos acrocêntricos (Dourado et al., 2013; Miranda et al., 2013).

O bandeamento Ag-NOR consta na literatura apenas para a espécie *H. bihai* (L.) L., a qual possui a região organizadora do nucléolo (NOR), nos dois primeiros pares cromossômicos (Nascimento et al., 2014). Esse tipo de informação possibilita a diferenciação intra e interespecífica de espécies (Klinkhardt, 1998), a qual é uma ferramenta que pode ser aplicada para a diferenciação de espécies de helicônias.

Assim, esse estudo tem por objetivo realizar a caracterização citogenética de acessos de *Heliconia* spp., por meio da determinação do número e morfometria cromossômica, índices de assimetria cariotípica e bandeamento Ag-Nor, buscando diferenciar e comparar os cariótipos entre os acessos para levantar informações que possam auxiliar a conservação, diferenciação taxonômica e uso em programas de melhoramento genético.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de estudo

Os procedimentos citogenéticos foram realizados no Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Campus universitário de Alta Floresta.

Material vegetal

As análises de caracterização citogenética foram realizadas em dois acessos de *H. densiflora* e quatro acessos de *H. psittacorum*. Os acessos são oriundos do Banco Ativo de Germoplasma da Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus de Tangará da Serra (14°39' S e 57°25' W e altitude de 321 m), coletados em diferentes cidades ao longo do Estado de Mato Grosso (Tabela 3).

Tabela 3. Dados de coleta dos acessos de *Heliconia* spp. conservados no banco ativo de germoplasma da UNEMAT, Campus Tangará da Serra

| Acessos | Espécies | Cores das inflorescências | Cidades de coleta | Coordenadas |
|---------|-----------------------|---------------------------|-------------------|--------------------------------|
| 2 | <i>H. densiflora</i> | Vermelho-laranjado | Alta floresta | S 9° 51' 47" W 56° 12' 04" |
| 16 | | Vermelho-laranjado | Alta floresta | S 9° 52' 43" W 56° 09' 22" |
| 4 | <i>H. psittacorum</i> | Vermelho | Nova Canaã | S 10° 36' 44" W 55° 42' 05" |
| 5 | | Vermelho | Colíder | S 10° 46' 55" W 55° 27' 00" |
| 6 | | Vermelho | Matupá | S 10° 12' 26" W 54° 57' 39" |
| 10 | | Laranja | Santo Afonso | S 14° 35' 59" W 57° 10' 56" |

Obtenção das metáfases

Para cada acesso, foram coletados três rizomas que permaneceram em baldes com água para emissão de raízes novas. Quando os meristemas radiculares atingiram de 0,5 a 1,0 cm de comprimento, foram pré-tratados em solução de amiprofos-metil (APM), na concentração de 3 µM, a uma temperatura de 4°C, permanecendo por 17 h para os acessos de *H. densiflora* e 16 h para os acessos de *H. psittacorum*. Em seguida, as lavagens das raízes foram realizadas em água destilada, três trocas de 15 min, para remoção do excesso da solução. Também foram realizadas três trocas, com duração de 15 min, de metanol: ácido acético na

proporção 3:1 (PA), ao final desse processo, as amostras foram armazenadas a 4°C (Carvalho et al., 2007).

As raízes foram retiradas da solução fixadora e passaram por três lavagens seguidas em água destilada, com duração de 10 min cada troca. Após, as raízes foram transferidas para tubos do tipo Eppendorf®, contendo enzima Pectinase Sigma® para os acessos 2 e 16 (*H. densiflora*), que permaneceram por 7 h em banho maria a 35°C e, com pool enzimático (74% pectinase + 7,4% hemicelulase + 18,5% macerozime) (1:45) 10 µL de pool e 450 µL de água destilada para os acessos 4, 5, 6, 7 e 10 (*H. psittacorum*), permanecendo por 3 h sob a mesma temperatura. Logo após a maceração enzimática, as raízes foram novamente lavadas, realizando-se três trocas consecutivas em água destilada e metanol: ácido acético, e armazenadas a 4°C, até o preparo das lâminas.

Preparação e análise das lâminas

As lâminas foram preparadas conforme a metodologia descrita por Carvalho e Saraiva (1993), pela técnica de dissociação celular do meristema radicular e secas ao ar em movimentos rápidos. Após 24 h, as lâminas foram coradas com Giemsa 5% (Merck KGaA) em tampão de fosfato (pH 6,8) por 4 min, e, logo em seguida, lavadas três vezes consecutivas em água destilada, e secas em placa aquecedora a 50°C durante 15 min.

Dez metáfases de cada acesso, com cromossomos bem distribuídos sobre a lâmina e sem sobreposições, foram fotografadas com o uso de objetiva de 100X em um microscópio Fotômico Binocular (Leica ICC 50) acoplado a um computador com software LAZ EZ V1. 7.0.

Bandeamento Ag-NOR

Algumas lâminas foram submetidas à solução de nitrato de prata (AgNO₃) 50% para o bandejamento Ag-NOR, segundo Funaki et al., (1975). A solução foi gotejada sobre cada lâmina que, posteriormente, foi coberta com lamínula. O material foi mantido em câmara úmida a 36°C por 18 h e 20 min. Finalizado o período de incubação, as lamínulas foram retiradas com jato de água e as lâminas lavadas com água destilada durante 2 min.

Morfometria cromossômica

Após a obtenção das imagens, foram realizadas as medições cromossômicas (tamanho do braço longo, braço curto e tamanho total) com auxílio do programa Micromeasure for Windows, version 3.3, (Reeves e Tear, 2000) e a classificação morfológica realizada conforme nomenclatura proposta por Levan et al. (1964) e revisado por Guerra (1986), efetuada com base na razão entre os braços (r), por meio da fórmula: $r = LL / LS$, onde: r = razão entre os braços; LL = comprimento do braço longo; LS = comprimento do braço curto. Também foram calculados os índices centroméricos (IC) da seguinte forma: $IC = \frac{LS \times 100}{\text{comprimento total}}$. A partir dessas informações, o cariograma foi montado em ordem decrescente de tamanho, com os pares alinhados pelo centrômero com auxílio do programa Adobe® Photoshop® CC (2015).

Índices de assimetria cromossômica

Foram calculados os índices de assimetria cromossômica. O índice de assimetria intercromossômica (A_2) foi estimado usando o método proposto por Romero Zarco (1986), por meio da fórmula: $A_2 = \frac{S}{\bar{X}}$, em que A_2 = índice de assimetria intercromossômica, S = desvio padrão e \bar{X} = média do comprimento cromossômico.

O índice de assimetria (AI) foi calculado de acordo com a seguinte equação: $AI = \frac{CVCL \times CVCI}{100}$, onde CVCL ($\frac{\bar{X}}{IC \text{ médio}} \times 100$) é a variação no comprimento cromossômico e CVCI ($A_2 \times 100$) é variação no índice centromérico (Paszko, 2006).

RESULTADOS

Preparação citogenética e número cromossômico

As metodologias citogenéticas empregadas desde a fixação das raízes até a preparação da lâmina resultaram em cromossomos morfológicamente preservados, espalhados sobre o mesmo plano de foco e sem sobreposições, sendo adequadas para a análise citogenética dos acessos.

Os processos de tratamento com o antitubulínico APM e maceração enzimática foram diferentes para as espécies com relação ao tempo. Os acessos de *H. densiflora* permaneceram por 17 h em APM, enquanto os acessos de *H. psittacorum*, por 16 h.

Assim como para o tratamento com APM, o tempo de maceração enzimática também foi diferente entre os acessos. No entanto, foram utilizadas enzimas distintas para esse processo. Em *H. densiflora*, os acessos permaneceram em enzima pectinase por 7 h, e os acessos de *H. psittacorum* pool enzimático (pectinase + hemicelulase+ macerozime), durante 3 h.

As metáfases coradas com corante Giemsa demonstraram que não houve variações quanto ao número cromossômico entre os acessos das espécies *H. densiflora* e *H. psittacorum*, assim, todos apresentam $2n = 24$ cromossomos (Figuras 3, 4 e 5).

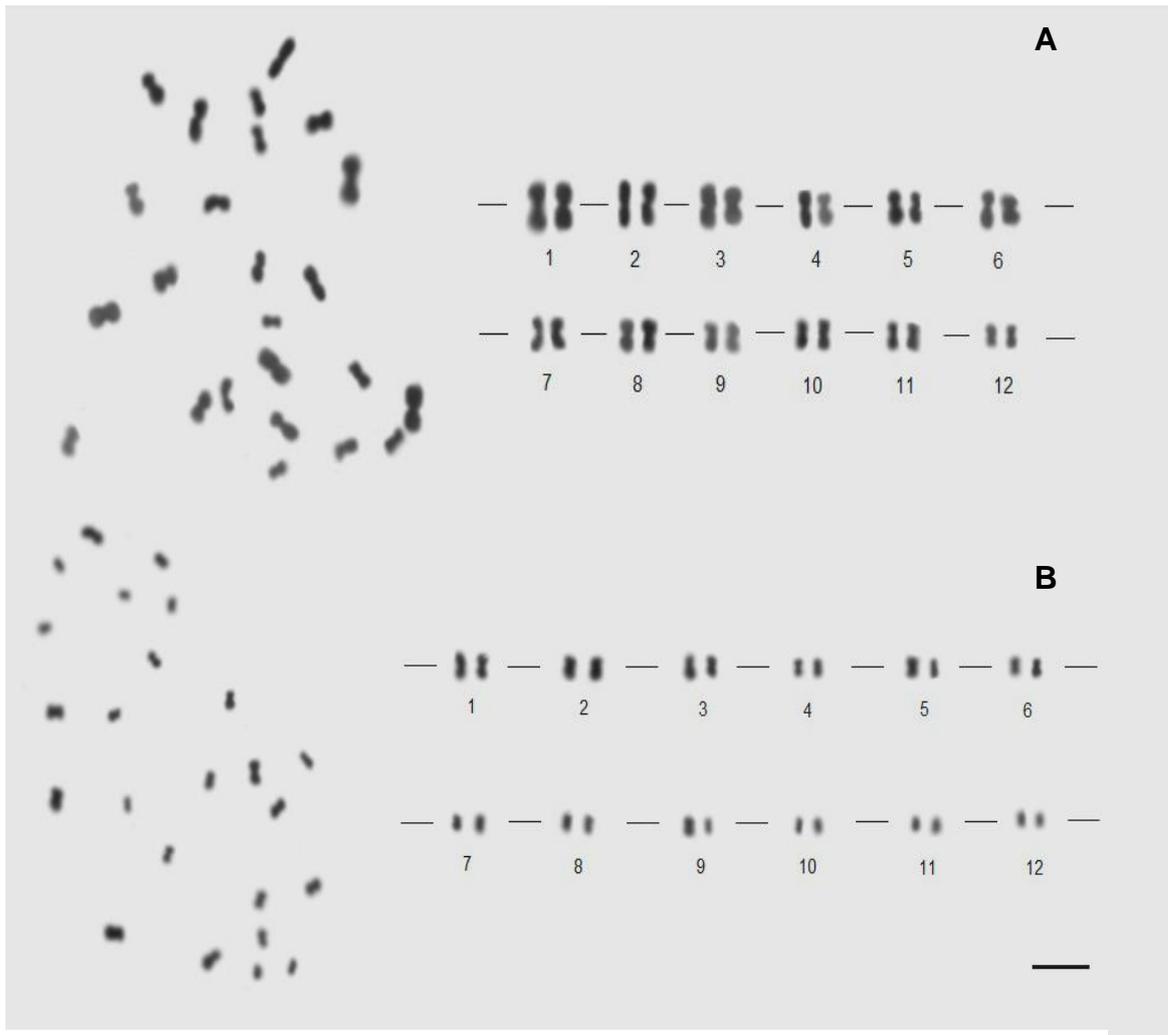


Figura 3. Metáfase mitótica de *H. densiflora* $2n = 2x = 24$ cromossomos (A) acesso 2 e (B) acesso 16, pré-tratados com $3 \mu\text{m}$ de APM por 17 h, corados com Giemsa 5% por 4 min. Barra $10 \mu\text{m}$.

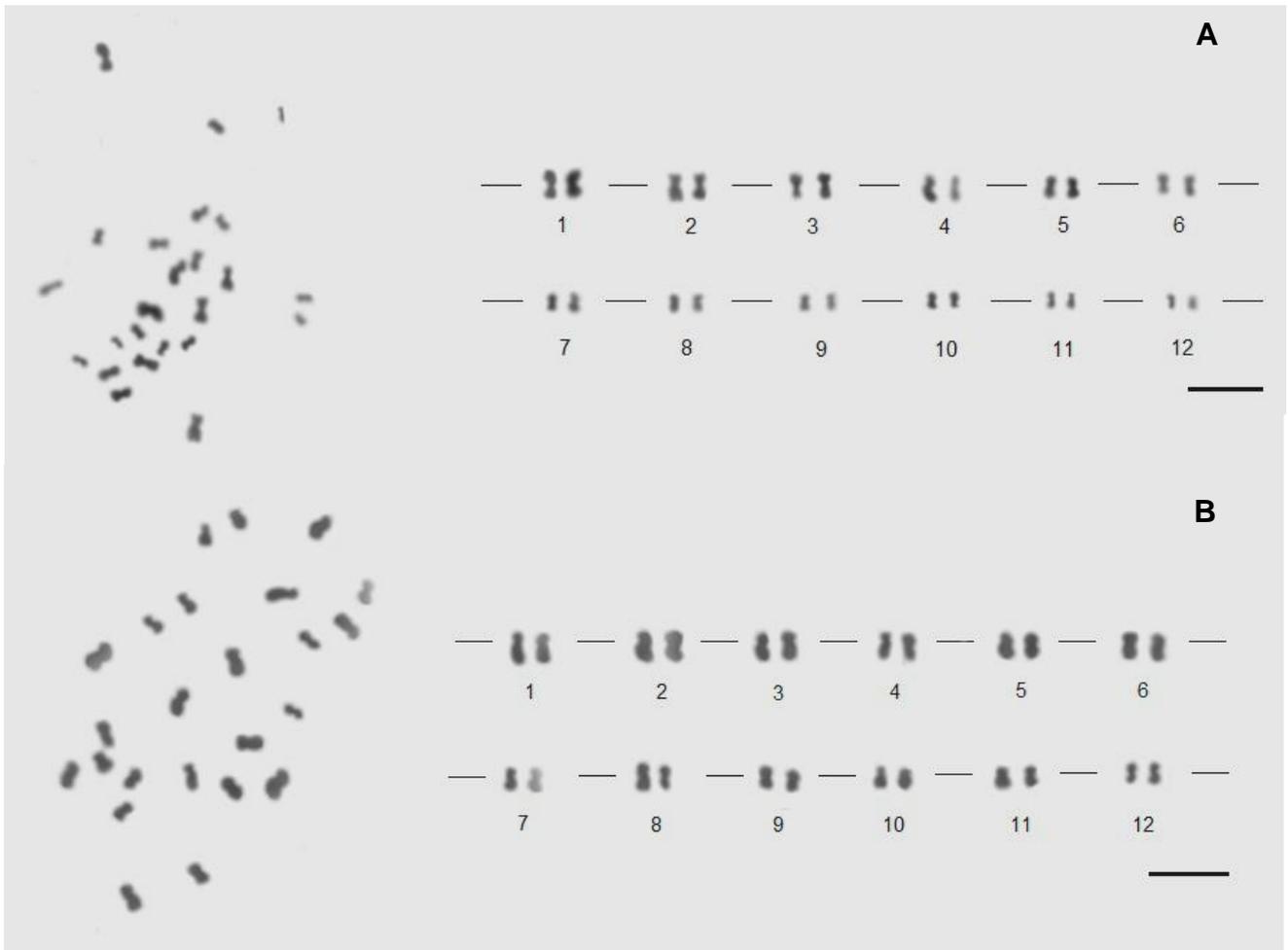


Figura 4. Metáfase mitótica de *H. psittacorum* $2n = 2x = 24$ cromossomos (A) acesso 4 e (B) acesso 5, pré-tratados com $3 \mu\text{m}$ de APM por 16 h, corados com Giemsa 5% por 4 min. Barra $10 \mu\text{m}$.

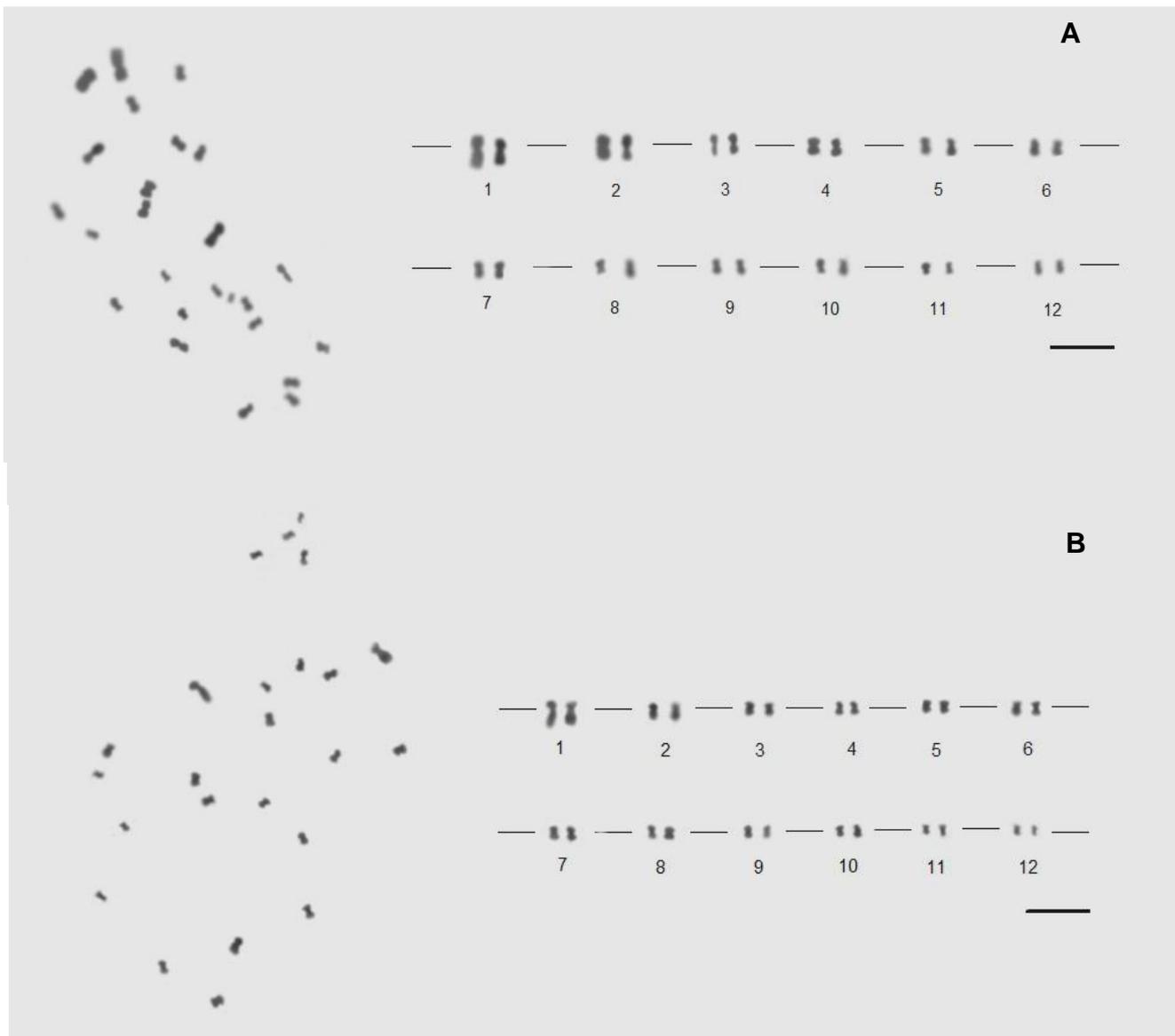


Figura 5. Metáfase mitótica de *H. psittacorum* $2n = 2x = 24$ cromossomos (A) acesso 7 e (B) acesso 10, pré-tratados com 3 μ m de APM por 16 h, corados com Giemsa 5% por 4 min. Barra 10 μ m.

Morfometria cromossômica

Os acessos possuem o mesmo número de cromossomos, porém, foram encontradas diferenças quanto ao tamanho e morfologia cromossômica quando comparadas as espécies *H. densiflora* e *H. psittacorum*, inclusive a nível intraespecífico.

Os acessos de *H. densiflora* 2 e 16 apresentaram cromossomos medindo de 5,79 (cromossomo 1) a 2,75 μ m (cromossomo 12) e 3,71 a 1,77 μ m, respectivamente (Tabelas 4 e 5).

Em *H. psittacorum*, o acesso 4 apresentou de 3,59 (cromossomo 1) a 1,68 μm (cromossomo 12, Tabela 6); acesso 5, de 4,17 a 2,38 μm (Tabela 7); acesso 7, de 4,45 a 1,75 μm (Tabela 8) e acesso 10, de 3,85 a 1,46 μm (Tabela 9). Os acessos 2, 5 e 7 apresentaram os maiores comprimentos totais dos cromossomos.

Todos os acessos apresentaram cromossomos metacêntricos e submetacêntricos. No entanto, foram observadas diferenças com relação a quantidades das classes cromossômicas. O acesso 2 (*H. densiflora*) possui dez pares de cromossomos metacêntricos (1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 10, 11 e 12) e dois pares submetacêntricos (4 e 9). O acesso 16 contém onze pares metacêntricos (1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12) e somente um par submetacêntrico (2). Assim, o acesso 2 apresenta a fórmula cariotípica $10M + 2SM$, e o acesso 16, $11M + 1SM$.

Para a espécie *H. psittacorum*, o acesso 4 é constituído de nove pares metacêntricos (1, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12) e três submetacêntricos (1, 2 e 3). O acesso 5, com cinco pares metacêntricos (7, 8, 9, 10 e 12), e sete submetacêntricos (1, 2, 3, 4, 5, 6 e 11). O acesso 7, com onze pares metacêntricos (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12) e um submetacêntrico (1), e o acesso 10 tem dez pares metacêntricos (2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12) e dois submetacêntricos (1 e 5). As fórmulas cariotípicas para esses acessos são 4 ($9M+3SM$), 5 ($5M+7SM$), 7 ($11M+1M$) e 10 ($10M+2SM$).

O acesso 2 se diferencia do acesso 16 com relação à classe cromossômica dos pares 2, 4 e 9. Todos os acessos de *H. psittacorum* (4, 5, 7 e 10) apresentam a mesma morfologia cromossômica apenas nos pares 7, 8, 9, 10 e 12 (cromossomos metacêntricos).

Tabela 4. Morfometria dos cromossomos metafásicos do acesso 02 (*H. densiflora*) (2n = 24)

| Cromossomo | Total (μm) | Braços | | IC | R | Classe |
|------------|----------------------------|--------|-------|-------|------|--------|
| | | Longo | Curto | | | |
| 1 | 5,79 | 3,32 | 2,47 | 42,66 | 1,34 | M |
| 2 | 5,36 | 2,97 | 2,39 | 44,59 | 1,24 | M |
| 3 | 4,82 | 2,81 | 2,01 | 41,70 | 1,40 | M |
| 4 | 4,35 | 2,62 | 1,73 | 39,77 | 1,51 | SM |
| 5 | 4,14 | 2,36 | 1,78 | 43,00 | 1,33 | M |
| 6 | 3,95 | 2,18 | 1,77 | 44,81 | 1,23 | M |
| 7 | 3,76 | 1,99 | 1,77 | 47,07 | 1,12 | M |
| 8 | 3,56 | 2,05 | 1,51 | 42,42 | 1,36 | M |
| 9 | 3,46 | 2,07 | 1,39 | 40,17 | 1,49 | SM |
| 10 | 3,34 | 1,87 | 1,47 | 44,01 | 1,27 | M |
| 11 | 3,10 | 1,72 | 1,38 | 44,52 | 1,25 | M |
| 12 | 2,75 | 1,53 | 1,22 | 44,36 | 1,25 | M |
| TOTAL | 48,38 | 27,49 | 20,89 | | | |

IC (índice centromérico); r (Razão entre braços); M (Metacêntrico); SM (Submetacêntrico).

Tabela 5. Morfometria dos cromossomos metafásicos do acesso 16 (*H. densiflora*) (2n = 24)

| Pares | Total (μm) | Braços | | IC | R | Classe |
|-------|----------------------------|--------|-------|-------|------|--------|
| | | Longo | Curto | | | |
| 1 | 3,71 | 2,10 | 1,61 | 43,40 | 1,30 | M |
| 2 | 3,04 | 1,81 | 1,23 | 40,46 | 1,47 | SM |
| 3 | 2,98 | 1,67 | 1,31 | 43,96 | 1,27 | M |
| 4 | 2,74 | 1,56 | 1,18 | 43,07 | 1,32 | M |
| 5 | 2,59 | 1,46 | 1,13 | 43,63 | 1,29 | M |
| 6 | 2,47 | 1,36 | 1,11 | 44,94 | 1,23 | M |
| 7 | 2,26 | 1,32 | 0,94 | 41,59 | 1,40 | M |
| 8 | 2,25 | 1,28 | 0,97 | 43,11 | 1,32 | M |
| 9 | 2,18 | 1,23 | 0,95 | 43,58 | 1,29 | M |
| 10 | 2,11 | 1,18 | 0,93 | 44,08 | 1,27 | M |
| 11 | 1,94 | 1,10 | 0,84 | 43,30 | 1,31 | M |
| 12 | 1,77 | 0,99 | 0,78 | 44,07 | 1,27 | M |
| TOTAL | 30,04 | 17,06 | 12,98 | | | M |

IC (índice centromérico); r (Razão entre braços); M (Metacêntrico); SM (Submetacêntrico)

Tabela 6. Morfometria dos cromossomos metafásicos do acesso 04 (*H. psittacorum*) (2n = 24)

| Pares | Total (μm) | Braços | | IC | R | Classe |
|--------------|----------------------------|--------------|--------------|--------------|-------------|----------|
| | | Longo | Curto | | | |
| 1 | 3,59 | 1,98 | 1,61 | 44,85 | 1,23 | M |
| 2 | 3,30 | 2,11 | 1,19 | 36,06 | 1,77 | SM |
| 3 | 3,02 | 1,88 | 1,14 | 37,75 | 1,65 | SM |
| 4 | 2,88 | 1,80 | 1,08 | 37,50 | 1,67 | SM |
| 5 | 2,59 | 1,42 | 1,17 | 45,17 | 1,21 | M |
| 6 | 2,44 | 1,36 | 1,08 | 44,26 | 1,26 | M |
| 7 | 2,28 | 1,24 | 1,04 | 45,61 | 1,19 | M |
| 8 | 2,16 | 1,19 | 0,97 | 44,91 | 1,23 | M |
| 9 | 2,07 | 1,19 | 0,88 | 42,51 | 1,35 | M |
| 10 | 2,00 | 1,09 | 0,91 | 45,50 | 1,20 | M |
| 11 | 1,93 | 1,11 | 0,82 | 42,49 | 1,35 | M |
| 12 | 1,68 | 0,92 | 0,76 | 45,24 | 1,21 | M |
| TOTAL | 29,94 | 17,29 | 12,65 | 44,85 | 1,23 | M |

IC (índice centromérico); r (Razão entre braços); M (Metacêntrico); SM (Submetacêntrico)

Tabela 7. Morfometria dos cromossomos metafásicos do acesso 05 (*H. psittacorum*) (2n=24)

| Pares | Total (μm) | Braços | | IC | r | Classe |
|--------------|----------------------------|--------------|--------------|-------|------|--------|
| | | Longo | Curto | | | |
| 1 | 4,17 | 2,69 | 1,48 | 35,49 | 1,82 | SM |
| 2 | 3,77 | 2,32 | 1,45 | 38,46 | 1,60 | SM |
| 3 | 3,63 | 2,21 | 1,42 | 39,12 | 1,56 | SM |
| 4 | 3,42 | 2,11 | 1,31 | 38,30 | 1,61 | SM |
| 5 | 3,34 | 2,10 | 1,24 | 37,13 | 1,69 | SM |
| 6 | 3,23 | 1,94 | 1,29 | 39,94 | 1,50 | SM |
| 7 | 3,15 | 1,82 | 1,33 | 42,22 | 1,37 | M |
| 8 | 3,06 | 1,68 | 1,38 | 45,10 | 1,22 | M |
| 9 | 2,88 | 1,64 | 1,24 | 43,06 | 1,32 | M |
| 10 | 2,71 | 1,59 | 1,12 | 41,33 | 1,42 | M |
| 11 | 2,61 | 1,60 | 1,01 | 38,70 | 1,58 | SM |
| 12 | 2,38 | 1,33 | 1,05 | 44,12 | 1,27 | M |
| TOTAL | 38,35 | 23,03 | 15,32 | | | |

IC (índice centromérico); r (Razão entre braços); M (Metacêntrico); SM (Submetacêntrico).

Tabela 8. Morfometria dos cromossomos metafásicos do acesso 07 (*H. psittacorum*) (2n=24)

| Pares | Total (μm) | Braços | | IC | r | Classe |
|--------------|----------------------------|--------------|--------------|-------|------|--------|
| | | Longo | Curto | | | |
| 1 | 4,45 | 2,80 | 1,65 | 37,08 | 1,70 | SM |
| 2 | 3,81 | 2,11 | 1,70 | 44,62 | 1,24 | M |
| 3 | 3,19 | 1,71 | 1,48 | 46,39 | 1,16 | M |
| 4 | 2,85 | 1,55 | 1,30 | 45,61 | 1,19 | M |
| 5 | 2,68 | 1,44 | 1,24 | 46,27 | 1,16 | M |
| 6 | 2,58 | 1,45 | 1,13 | 43,80 | 1,28 | M |
| 7 | 2,47 | 1,43 | 1,04 | 42,11 | 1,38 | M |
| 8 | 2,36 | 1,30 | 1,06 | 44,92 | 1,23 | M |
| 9 | 2,27 | 1,22 | 1,05 | 46,26 | 1,16 | M |
| 10 | 2,18 | 1,20 | 0,98 | 44,95 | 1,22 | M |
| 11 | 2,02 | 1,13 | 0,89 | 44,06 | 1,27 | M |
| 12 | 1,75 | 0,98 | 0,77 | 44,00 | 1,27 | M |
| TOTAL | 32,61 | 18,32 | 14,29 | | | |

IC (índice centromérico); r (Razão entre braços); M (Metacêntrico); SM (Submetacêntrico).

Tabela 9. Morfometria dos cromossomos metafásicos do acesso 10 (*H. psittacorum*) (2n=24)

| Pares | Total (μm) | Braços | | IC | r | Classe |
|--------------|----------------------------|--------------|--------------|-------|------|--------|
| | | Longo | Curto | | | |
| 1 | 3,85 | 2,52 | 1,33 | 34,55 | 1,89 | SM |
| 2 | 2,54 | 1,39 | 1,15 | 45,28 | 1,21 | M |
| 3 | 2,19 | 1,17 | 1,02 | 46,58 | 1,15 | M |
| 4 | 2,07 | 1,12 | 0,95 | 45,89 | 1,18 | M |
| 5 | 2,02 | 1,19 | 0,83 | 41,09 | 1,43 | SM |
| 6 | 2,00 | 1,13 | 0,87 | 43,50 | 1,30 | M |
| 7 | 1,95 | 1,11 | 0,84 | 43,08 | 1,32 | M |
| 8 | 1,87 | 1,03 | 0,84 | 44,92 | 1,23 | M |
| 9 | 1,79 | 1,03 | 0,76 | 42,46 | 1,36 | M |
| 10 | 1,73 | 0,94 | 0,79 | 45,66 | 1,19 | M |
| 11 | 1,59 | 0,91 | 0,68 | 42,77 | 1,34 | M |
| 12 | 1,46 | 0,80 | 0,66 | 45,21 | 1,21 | M |
| TOTAL | 25,06 | 10,72 | 25,06 | | | |

IC (índice centromérico); r (Razão entre braços); M (Metacêntrico); SM (Submetacêntrico)

Índices de assimetria cromossômica

A partir dos dados morfométricos dos acessos, foram estimados os índices de assimetria intercromossômica A_2 (Romero e Zarco, 1986) e AI (Pasko, 2006).

Com relação ao índice de A_2 , foram observados para os acessos de *H. densiflora* 2 e 16 (0,22). Em acessos de *H. psittacorum*, foram observados para o acesso 04 (0,24), 05 (0,16), 07 (0,28) e 10 (0,29) para esse mesmo índice.

O índice AI foi diferente para todos os acessos. Os acessos 2 e 16 possuem 0,46 e 0,27, respectivamente. E os acessos de *H. psittacorum* 04, 05, 07 e 10 com 0,33, 0,20, 0,49 e 0,41, respectivamente (Tabela 10).

Tabela 10. Índices de assimetria intercromossômica (A_2) e índice de assimetria (AI) de sete acessos de *Heliconia*

| Acessos | Espécies | Índice de simetria | |
|---------|-----------------------|--------------------|------|
| | | A_2 | AI |
| 2 | <i>H. densiflora</i> | 0,22 | 0,46 |
| 16 | | 0,22 | 0,27 |
| 4 | <i>H. psittacorum</i> | 0,24 | 0,33 |
| 5 | | 0,16 | 0,20 |
| 7 | | 0,28 | 0,49 |
| 10 | | 0,29 | 0,41 |

Bandeamento Ag-Nor

Em todos os acessos de *H. densiflora* e *H. psittacorum* foi observado um par de cromossomos com a presença de NOR, o que sugere uma origem diploide nos acessos estudados.

DISCUSSÃO

Preparação citogenética e número cromossômico

Para a etapa de tratamento com o antitubulínico APM, o resultado deste trabalho foi semelhante ao encontrado por Nascimento et al. (2014) para *H. bihai*, que permaneceu durante 16 h na solução de APM. A utilização do APM como agente bloqueador em concentrações micromolares evita a formação de mitoses anormais e de micronúcleos (Planchais et al., 2000).

Conforme Carvalho et al. (2008), a concentração e o tempo do agente antimitótico são fundamentais para se obter preparações apropriadas para estudos citogenéticos. Assim, esses requisitos podem variar conforme a espécie de interesse, como observado neste estudo, sendo necessários testes para verificar a concentração e tempo que melhor se adequa a cada espécie.

Nascimento et al. (2014) relataram que o uso da enzima pectinase para maceração enzimática durante 2 h em *H. bihai* resultou em células sem parede e sem causar danos à cromatina, favorecendo a coloração adequada dos cromossomos e, assim, as análises morfométricas. O autor Lorenzoni (2016), realizando preparações citogenéticas em *Annona mucosa* Jacquin., também utilizou o pool enzimático por um tempo baixo, sendo este de 2 h, o qual gerou cromossomos prometafásicos com diferentes graus de compactação, cromossomos individualizados sem sobreposições e constrições secundárias definidas. Ambas as enzimas podem ser usadas com eficiência para as preparações citológicas, porém, o pool enzimático proporciona maceração da parede celular de forma mais rápida, por ser uma associação de três enzimas que degradam a pectina, a hemicelulose e a celulose, sendo indicado para realizar a digestão de forma mais rápida e para espécies que possuem raízes espessas, como em *Heliconia*.

O número cromossômico encontrado para os acessos de helicônia corrobora com o de estudos anteriores para várias espécies do gênero. Andersson (1984) determinou o número de cromossomos de 31 táxons de *Heliconia*, incluindo *H. densiflora* e *H. psittacorum*, e verificara para todas as espécies $2n=24$ cromossomos. Costa et al. (2016) também observaram $2n=24$ cromossomos para *H. psittacorum*. Esses resultados diferem do encontrado por Vieira et al. (2013), para *H. psittacorum*, que possui $2n = 22$ cromossomos. O número cromossômico $2n= 24$ é descrito na literatura para a maioria das espécies do gênero *Heliconia* L. (Venkatasubban, 1945;

Andersson, 1984; Lee et al., 1984; Maranty, 1970; Kaemwong e Eksomtramage, 1998; Guangsui et al., 2010; Costa et al., 2016).

A partir de todos os estudos citogenéticos das helicônias, infere-se que as espécies apresentam número básico $x = 12$, evidenciando a predominância de espécies diploides ($2n = 2x = 24$), embora existam alguns híbridos triploides ($2n = 3x = 36$) oriundos de eventos naturais de hibridação (*H. densiflora* cv Fire Flash, *H. psittacorum* cv Petra, *H. psittacorum* cv. Sassy, *H. psittacorum* cv. Suriname Sassy (Mahanty, 1970; Andersson, 1984; Lee et al., 1994; Kaemwong e Eksomtramage, 1998; Costa et al., 2016).

O número básico $x = 11$ é sugerido como possível número ancestral para a ordem Zingiberales. A partir desse número básico, surgiram os secundários, como o número $x = 12$, por mecanismo de aneuploidia. Com isso, o número básico $x = 12$ para *Heliconia* L. possivelmente é derivado de $x = 11$, que está presente em algumas espécies do gênero (Mahanty, 1970; Andersson, 1984). De acordo com observações citológicas realizadas para as Zingiberales, alguns grupos possuem uma grande variação de número cromossômico, como é o caso do gênero *Costus*, com números que variam de $2n = 16$ a $2n = 102$ cromossomos (Boehm, 1931; Vovide e Lascurain, 1995; Bhadra e Bandyopadhyay, 2016), embora, até o momento, no gênero *Heliconia* L., não se observe essa variação expressiva em termos de número cromossômico.

Morfometria cromossômica

Os acessos apresentaram uniformidade quanto ao número cromossômico, porém o tamanho e morfologia cromossômica foi heterogênea a nível interespecífico e intraespecífico, o que representa dados importantes para futuros estudos de citogenética molecular nestes acessos. Chakravorti (1960) também observou diferenças na estrutura dos cromossomos entre os cariótipos de diferentes espécies de Helicônias.

Diferenças no cariótipo de uma mesma espécie podem ser causados por variações genéticas entre populações, dando origem a diversidade cariótípica a nível intraespecífico resultante de rearranjos estruturais (Moscone, 1990; Cid e Palomino, 1996). El-Bok et al. (2014), estudando a citogenética de 15 táxons do gênero *Vicia*, também verificam diferenças estruturais intraespecíficas e citam como possível causa a origem geográfica diferente de cada táxon. Neste estudo, todos os acessos

foram coletados em diferentes localidades no Estado de Mato Grosso, o que, além de rearranjos estruturais, a origem de coleta de cada acesso deste estudo sugere-se como possíveis causas das variações estruturais observadas.

Os tamanhos dos cromossomos de *H. psittacorum* são semelhantes a alguns já descritos na literatura para essa espécie, como 3,29 a 1,19 μm (Vieira et al., 2013) e 2,73 a 1,14 μm (Costa et al., 2016). Além disso, os resultados dos acessos do presente estudo corroboram com os encontrados para outras espécies do gênero. Em *H. bihai*, 3,96 a 0,67 μm (Nascimento et al., 2014); *H. hirsuta*, 4,36 a 0,28 (Dourado et al., 2013); *H. spathocircinata*, 3,02 a 1,25 μm ; *H. psittacorum* cv. Red Opal, 2,64 a 1,15 μm ; *H. psittacorum* cv. Strawberries & Cream, 3,35 a 1,25 μm ; *H. spathocircinata* x *H. psittacorum* cv. Golden Torch, 2,98 a 1,44 μm ; *H. spathocircinata* x *H. psittacorum* cv. Golden Torch Adrian, 2,89 a 1,13 μm ; *H. caribaea* x *H. bihai* cv. Jacquinii, 2,57 a 1,18 μm e *H. psittacorum* cv. Suriname Sassy 2,39 a 0,88 μm (Costa et al., 2016). Além destes, Andersson (1984), em 31 espécies de helicônias, observou o tamanho cromossômico variando de 1,7 a 0,7 μm .

Considerando a morfometria cromossômica das espécies do gênero *Heliconia* L., seus cariótipos são constituídos por cromossomos metacêntricos, submetacêntricos e três espécies possuem em seus cariótipos cromossomos acrocêntricos (*H. hirsuta*, *H. psittacorum* e *H. rostrata*) (Dourado et al., 2013; Miranda et al., 2013). As cultivares *H. orthotricha* cv. Lehua, *H. psittacorum* cv. Nickeriensis, *H. stricta* cv. Iris Bannochie, *H. collinsiana* x *bourgeana* cv. Pedro Ortiz, *H. caribaea* x *H. bihai* cv Jacquinii e as espécies *H. bihai* e *H. stricta* apresentam cromossomos metacêntricos e submetacêntricos (Miranda et al., 2013; Nascimento et al., 2014; Costa et al., 2016).

As informações citogenéticas dos acessos do presente estudo, aliadas a dados moleculares, são importantes para a identificação taxonômica das espécies do gênero *Heliconia* L., o qual apresenta incerteza quanto ao número exato de espécies que possui, causada pelas características morfológicas serem muito semelhantes e dificultarem uma correta classificação. Além disso, podem subsidiar a conservação desses genótipos e inserção em programas de melhoramento genético.

Índices de assimetria cromossômica

Os índices de assimetria cariotípica inter e intra cromossômica têm sido amplamente empregados para comparar a assimetria entre e dentro dos diferentes táxons (Paszko, 2006). Como o resultando presente neste trabalho, em que de forma geral, verifica-se que os acessos de *H. densiflora* possuem os menores índices de assimetria, tanto para o índice A_2 quanto o A_1 . Nesse sentido, os acessos de *H. densiflora* possuem cariótipo mais simétrico quando comparadas aos acessos de *H. psittacorum*.

Espécies que apresentam maior índice de assimetria cariotípica podem indicar plantas mais primitivas evolutivamente, em contrapartida as de menor índice caracterizam-se como mais recentes (Stebbins, 1971). A diminuição quanto ao tamanho cromossômico e o aumento no grau de assimetria são indicativos da evolução cariotípica da espécie (Morales, 2008). Nesse sentido, os acessos de *H. densiflora* apresentam cariótipos mais simétricos e a espécie pode ser considerada mais recente no processo evolutivo do que *H. psittacorum*.

Índices altos de assimetria cromossômica podem ser causados pelas mudanças que ocorreram quanto à posição do centrômero e diferenças quanto ao tamanho dos cromossomos, o que dá origem a cariótipos mais heterogêneos. Essas mudanças podem ter sido ocasionadas por eventos, como translocações robertsonianas, inversões e translocações desiguais detectáveis (Paszko, 2006). Assim, são algumas possíveis causas das diferenças com relação aos índices de assimetria observados nos acessos de *H. psittacorum*.

Paszko (2006) realizou a comparação de vários métodos para avaliar a assimetria cariotípica. Segundo este autor, Romero Zarco (1986) propõem-se os índices A_1 (intracromossômica) e A_2 (intercromossômica), porém, somente o índice A_2 descreve corretamente a variação no comprimento cromossômico. O índice A_2 é um desvio padrão do comprimento cromossômico, estatisticamente, é um parâmetro sensível, que possibilita uma adequada avaliação da variação do comprimento cromossômico existente em um complemento (Paszko, 2006).

O índice A_1 é um índice novo proposto por Paszko (2006), que mede a heterogeneidade do comprimento cromossômico e da posição centromérica em um cariótipo. Segundo o autor, esse índice tem como vantagem um alto grau de precisão e sensibilidade para avaliar a assimetria cariotípica. Por isso o interesse em utilizá-lo para estimar a assimetria nos acessos de *Heliconia* L. O índice A_1 foi

aplicado e gerou resultados adequados para comparar cariótipos de diferentes espécies (Paszko, 2006; Kumari e Roy, 2010; Grabiele et al., 2015; She e Jiang, 2015).

Bandeamento Ag-Nor

Todos os acessos possuem um par de NORs. Esse resultado corrobora com os encontrados por Nascimento et al. (2014), em *H. bihai*, localizado na porção média do centrômero do primeiro par de cromossomos, e Santos (2018), que também verificou, em espécies da ordem zingiberales *Costus arabicus* L. e *Costus spiralis* (Jacq.) Roscoe, um par de NORs em cada espécie.

CONCLUSÃO

A caracterização citogenética dos acessos das espécies *H. densiflora* e *H. psittacorum* mostrou que todos apresentam $2n = 24$ cromossomos e um par de cromossomos com NORs, o que sugere um comportamento diploide para esses acessos.

As variações morfométricas foram observadas a nível interespecífico e intraespecífico quanto ao tamanho e classes cromossômicas. Os acessos da espécie *H. densiflora* apresentaram comprimento total variando de 5,79 a 1,77 μm e, entre os acessos de *H. psittacorum*, de 4,45 a 1,19 μm . Os cariótipos são constituídos de cromossomos classificados como metacêntricos e submetacêntricos.

Os dados de assimetria cromossômica mostram que os acessos de *H. densiflora* possuem cariótipos mais simétricos quando comparados aos acessos de *H. psittacorum*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADVÍNCULA, T. L. **Caracterização Citogenética de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.** Campinas: Instituto Agrônômico, 2016. 81p. (Dissertação - Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical).
- ANDERSSON, L. The chromosome number of *Heliconia* (Musaceae). **Nordic Journal of Botany**. 4:191-194, 1984.
- BERRY, F.; KRESS, W. J. **Heliconia: An Identification Guide**. Washington: Smithsonian Institution, 1991.
- BOEHM, K. Embryologische Untersuchungen an Zingiberaceae. **Planta**. 14:411-440. 1931.
- BHADRA, S.; BANDYOPADHYAY, M. New chromosome number counts and karyotype analyses in three important genera of Zingiberaceae. **The Nucleus**. 59: 35-40, 2016.
- CHAKRAVORTI, A. K. Idiogram studies with special reference to chromosome-nucleolus relationship and its bearing on the cytogenetics of *Heliconia*. **Nucleus**. 3: 225-250, 1960.
- CARVALHO, C. R.; CLARINDO, W. R.; ALMEIDA, P. M. Plant cytogenetics: still looking for the perfect mitotic chromosomes. **Nucleus**. 50:53-462. 2007.
- CARVALHO, C. R.; CLARINDO, W. R.; PRAÇA, M. M.; ARAÚJO, F. S.; CARELS, N. Genome size, base composition and karyotype of *Jatropha curcas* L., an important biofuel plant. **Plant Science**. 174:613–617, 2008.
- CARVALHO, C. R.; SARAIVA, L. S. An air drying technique for maize chromosomes without enzymatic maceration. **Biotechnic & Histochemistry**. 68:142-145, 1993.
- CID, R.; PALOMINO, G. Cytotypes and meiotic behavior in Mexican populations of *Myrtillocactus geometrizans* var. *geometrizans* (Cactaceae). **Cytologia**. 61:343-348, 1986.
- COSTA, M. G. S.; LEITE, B. S. F.; LOGES, V.; SILVA, E. B. C.; COSTA, A. S.; GUIMARAES, W. N. R.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C. Chromosome markers confirm origin of *Heliconia* hybrids and triploids. **Euphytica**. 212:1-14, 2016.
- DOURADO, J.; OLIVEIRA, A. N. B.; VIEIRA, A.; KARSBURG, I. V. Caracterização cromossômica de *Heliconia hirsuta* L. F. **Magistra**. 25:193-195, 2013.
- EL-BOK, S.; ZOGHLAMI-KHELIL, A.; BEN-BRAHIM, T.; OUJI, A.; HASSEN, H., OUSSAMA, L.; JABRI, C. DOUGGARI, R. EL-GAZZAH, M. Chromosome Number and Karyotype Analysis of some Taxa of *Vicia* Genus (Fabaceae): Revision and Description. **International journal of agriculture & biology**. 16:1067-1074, 2014.

FUNAKI, K.; MATSUI, S.; SASAKI, M. Location of nucleolar organizers in animal and plant chromosomes by means of an improved N-banding technique. **Chromosoma**. 49:357-370, 1975.

GUANGSUI, Y.; JUNMEI, Y.; QINGYUN, L.; YANXIA, Z.; ZHIQUN, Z. Karyotypes comparison of eight varieties of *Heliconia* spp. **Chin J Trop Crops**. 12:2118–2123, 2010.

GUERRA, M. A. Situação da citotaxonomia de Angiospermas nos trópicos e, em particular, no Brasil. **Acta Botanica Brasileira**. 4:75-86, 1990.

GRABIELE, M.; DAVIÑA, J. R.; HONFI, A. I. Cytogenetic analyses as clarifying tools for taxonomy of the genus *Callisia* Loefl. (Commelinaceae) **Gayana Botanica**. 72:34-41, 2015.

GUERRA, M. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan et al. **Revista Brasileira de Genética**. 9:741-743, 1986.

KAEMWONG, S.; EKSOMTRAMAGE, L. Chromosome numbers of genus *Heliconia*. Songklanakarin **Journal of Science and Technology**. 20:489-495, 1998.

KLINKHARDT, M. B. Some aspects of karyoevolution in fishes. **Anim Res Dev**. 47:7–36, 1998.

KUMARI, G.; ROY, B. K. Karyotype studies in dominant species of *Aloe* from eastern India, **Caryologia**. 63:41-49, 2010.

LAMAS, A. M. **Floricultura Tropical: técnicas de cultivo**. Recife: SEBRAE, 2004. 65p.

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

LEVAN, A.; FREDGA, A.; SANDERBERG, A. A. Nomenclature for centromeric position in chromosome. **Hereditas**. 52:201-220, 1964.

LORENZONI, R. M. **Evidências cariotípicas e moleculares da hexoploidia em *Annona mucosa***. Alegre: Universidade Federal do Espírito Santo, 2016. 51p. (Dissertação - Mestrado em Produção vegetal).

MAHANTY, H. K. A cytological study of the Zingiberales with special reference to their taxonomy. **Cytologia**. 35:1349, 1970.

MIRANDA, D. P.; OLIVEIRA, A. N. B.; MELLO, V. S. VIEIRA, A.; KARSBURG, I. V. Caracterização cromossômica de duas espécies do gênero *Heliconia*. **Magistra**. 25:192-192, 2013.

MORALES, A. G. **Evolução cromossômica de espécies de *Crotalaria* (L.) da seção Hedriocarpaceae, subseção Macrostachyae (Leguminosae- Papilionoideae)**. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 2008. 70p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

- MOSCONE, E. A. Chromosome studies on *Capsicum* (Solanaceae). In: Karyotype analysis in *C. chacoense*. **Brittonia**. 42:147-154, 1990.
- NASCIMENTO, H. R.; GALLO, R.; KARSBURG, I. V.; OLIVEIRA, A. S. Cytogenetic and identification of the nucleolus organizer region in *Heliconia bihai* (L.) L. **Revista Ceres**. 61:451-457, 2014.
- NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos Genéticos e Melhoramento - Plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001.
- PINTO-MAGLIO, C. A. F.; PIEROZZI, N. I. Caracterização citogenética. In: VEIGA, R. F. A.; QUEIRÓZ, M. A. (ed). **Recursos fitogenéticos: a base da agricultura sustentável no Brasil**. Viçosa: UFV, 2015. p.204-213.
- PLANCHAIS, S.; GLAB, N.; INZÉ, D.; BERGOUNIOUX, C. Chemical inhibitors: a tool for plant cell cycle studies. **FEBS Lett**. 476:78-83, 2000.
- PASZKO, B. A. Critical and a new proposal of karyotype asymmetry indices. **Plant Systematics and Evolution**. 258:39-48, 2006.
- REEVES, A.; TEAR, J. **Micromeasure**. Version 3.3. Free Program distributed by the authors over the internet from Department of Biology at Colorado State University, 2000.
- ROMERO ZARCO, C. A new method for estimating karyotype asymmetry. **Taxon**. 35:526-530, 1986.
- SANTOS, B. N. V. **Morfometria cromossômica de *Costus arabicus* L. e *Costus spiralis* (Jacq.) Roscoe (Costaceae)**. Alta Floresta: Universidade do Estado de Mato Grosso, 2018. 39p. (Monografia – Graduação em Ciências Biológicas).
- SIMÃO, D. G.; SCATENA, V. L.; BOUMAN, F. Anther development, microsporogenesis and microgametogenesis in *Heliconia* (Heliconiaceae, Zingiberales). **Flora**. 202:148–160, 2007.
- SHE, C. W.; JIANG, X. H. Karyotype Analysis of *Lablab purpureus* (L.) Sweet Using Fluorochrome Banding and Fluorescence *in situ* Hybridisation with rDNA Probes. **Caryologia**. 63:41-49, 2010.
- STEBBINS, G. L. **Chromosomal Evolution in Higher Plants**. London: Edward Arnold Ltd, 1971. 216p.
- VENKATASUBBAN, K. R. A preliminary survey of chromosome numbers in Scitamineae of Bentham and Hooker. **Science Series B**. 23:281-300, 1945.
- VIEIRA, A.; OLIVEIRA, A.N.B.; MIRANDA, D.P.; KARSBURG, I.V. Morfometria cromossômica da *Heliconia psittacorum*. **Magistra**. 25:366-367, 2013.

VOVIDE, A. P.; LASCURAIN, M. Numeros cromosomicos de cuatro especies de *Costus* (Costaceae), una de *Calathea*, una *Demaranta* y una de *Stromanthe* (Marantaceae). **Acta Botánica Mexicana**. 81-86, 1995.

4.2. ÍNDICE MEIÓTICO E VIABILIDADE POLÍNICA EM ACESSOS DE *Heliconia* spp.

RESUMO

As espécies *Heliconia densiflora* e *Heliconia psittacorum* apresentam características de grande interesse para o mercado de flores ornamentais e potencial de uso em programas de melhoramento genético. No entanto, são espécies silvestres e ainda com pouca domesticação. Logo, surge a necessidade de caracterizá-las quanto ao índice meiótico e viabilidade polínica, possibilitando informações sobre a fertilidade e instabilidade genética desses acessos voltados para a conservação em banco de germoplasma e uso em programas de melhoramento vegetal. Objetivou-se com este trabalho estimar os parâmetros genéticos e a diversidade genética para índice meiótico e viabilidade polínica. Foram analisadas tétrades normais, anormais (mônade, díade, tríade e políade), calculado o IM e viabilidade polínica em 14 acessos de *Heliconia* spp. A maioria dos acessos analisados apresentou IM alto e regular acima de 90%, com poucas tétrades irregulares, exceto o acesso 11 que apresentou IM moderado e maior frequência de irregularidades. Com relação a viabilidade polínica, todos os acessos da espécie *H. densiflora* apresentaram médias consideradas baixas, variando de 0,24% a 10,88%. Os acessos de *H. psittacorum* apresentaram médias acima de 90%, exceto o acesso 11, que apresentou percentual médio de 69,93. As estimativas de herdabilidade no sentido amplo, foram de alta magnitude para a grande maioria das variáveis, mostrando que a variabilidade genética é decorrente de controle genético sobre as mesmas, e há possibilidade de avanços genéticos expressivos com a seleção sobre as características de díade, tríade, tétrade, IM, e viabilidade polínica. As estimativas de herdabilidade de mônade e políade foram de moderada e baixa magnitude, indicando pequenos progressos genéticos pela seleção. Para as variáveis tétrades normais e IM ocorreram correlações negativas e altas para todas as tétrades anormais, o que é favorável para a prática de seleção com base nas variáveis tétrades normais e IM, pois não serão selecionadas indiretamente as variáveis indesejadas, como as tétrades anormais. O primeiro componente principal reteve 69,96% da variação total dos dados para as características de tétrades, IM e viabilidade polínica, e o segundo reteve 20,57%, incluindo as características de mônade, díade, tríade e políade. O agrupamento pelo método UPGMA formou dois grupos distintos, diferente do agrupamento pelo método de Tocher que formou três. Ambos os métodos demonstraram a existência de diversidade genética entre os acessos. Recomenda-se a realização de cruzamentos entre os acessos 10, 15, 9 e 14 com os acessos 12, 5, 7, 6, 8 pois são os dois grupos mais divergentes. Os resultados mostram a ocorrência de variabilidade genética entre os acessos de *Heliconia* spp. para viabilidade polínica e índice meiótico, caracterizando acessos de interesse para serem conservados e com potencial para serem usados em programas de melhoramento com o intuito de criar novos híbridos de helicônias.

Palavras chave: Diversidade genética, Irregularidade meiótica, tétrades

ABSTRACT

The species *Heliconia densiflora* and *Heliconia psittacorum* present characteristics of great interest for the ornamental flowers market and potential of use in breeding programs. Nevertheless, they are wild species and still with little domestication. Therefore, the need to characterize them in terms of meiotic index and pollen viability arises, providing information on the fertility and genetic instability of these accesses for germplasm bank conservation and use in plant breeding programs. The objective of this study was to estimate genetic parameters and genetic diversity for meiotic index and pollen viability. Normal, abnormal tetrads (monad, dyad, triad and polyad) were analyzed, the MI and pollen viability were analyzed in 14 accessions of *Heliconia* spp. The majority of accesses analyzed had high and regular MI above 90%, with few irregular tetrads, except for access 11 that presented moderate MI and a higher frequency of irregularities. Regarding pollen viability, all accesses of the species *H. densiflora* presented averages considered low, varying from 0,24% to 10,88%. The accessions of *H. psittacorum* showed averages above 90%, except for access 11, which presented an average percentage of 69,93. Heritability estimates in the broad sense were of high magnitude for the vast majority of variables, showing that genetic variability is due to genetic control over them, and there is a possibility of expressive genetic advances with selection on the characteristics of dyad, triad, tetrad, MI, and pollen viability. Estimates of heritability of monad and polyad were of moderate and low magnitude, indicating small genetic progress by selection. For the normal tetrads and MI variables, there were negative and high correlations for all abnormal tetrads, which is favorable for the selection practice based on the normal tetrads and IM variables, since the undesired variables, such as abnormal tetrads, will not be selected indirectly. The first main component retained 69,96% of the total data variation for the characteristics of tetrads, MI and pollen viability, and the second retained 20,57%, including monad, dyad, triad and polyad characteristics. The grouping by the UPGMA method formed two distinct groups, different from the grouping by the Tocher method that formed three. Both methods demonstrated the existence of genetic diversity among accessions. It is recommended to carry out crossings between accesses 10, 15, 9 and 14 with accesses 12, 5, 7, 6, 8 as the two groups are the most divergent. The results show the occurrence of genetic variability among the accessions of *Heliconia* spp. for pollen viability and meiotic index, characterizing accesses of interest to be conserved and with potential to be used in breeding programs with the intention of creating new hybrids of *Heliconia*.

Keywords: Diversity genetical, irregularity Meiotic; tetrad

INTRODUÇÃO

A família Heliconiaceae compreende 182 espécies válidas, 94 endêmicas, distribuídas em um único gênero, o *Heliconia* L. (Lamas, 2004; Castro et al., 2007). São consideradas por representar uma grande riqueza da flora brasileira tropical e estão entre um dos grupos de plantas herbáceas mais apreciados como flores ornamentais (Berry e Kress 1991).

Dentre as espécies do gênero, destacam-se *Heliconia densiflora* Verlot e *Heliconia psittacorum* L. f., que possuem inflorescências com diversidade em cores, são pequenas, leves, eretas, com grande quantidade de brácteas e muito duráveis, além de produzirem durante todo o ano (Lorenzi e Sousa, 2008; Costa et al., 2007a). Essas são características de grande interessante para o mercado ornamental e para o melhoramento genético dessas espécies.

Buscando subsidiar os programas de melhoramento genético voltados para as espécies de helicônias, o estudo meiótico complementa a viabilidade polínica, permite avaliar a fertilidade e estabilidade genética da planta de interesse e, ainda, estimar o sucesso em hibridações com combinações apropriadas. Logo, esse tipo de caracterização pode gerar informações para indicar formas de conservar os recursos genéticos ou de como utilizá-los em programas de melhoramento vegetal (Pinto-Maglio e Pierozzi, 2015; Yadav e Kogje, 2015).

Damasceno et al. (2010) inferiram que são esperadas maiores taxas de células anormais nas fases da meiose e pós-meiose em plantas silvestres ou com pouca domesticação. Essas irregularidades refletem diretamente na viabilidade polínica e, como consequência, influenciam na formação de frutos e sementes em cruzamentos e autofecundações (Pozzobon et al., 2015).

Nesse sentido, o índice meiótico (IM) e a viabilidade polínica surgem como uma alternativa rápida e simples para essas avaliações (Love, 1949; Alves et al., 2016), bem como ajudam o melhorista na tomada de decisão quanto à eliminação de genótipos que não são interessantes e/ou são instáveis, como na seleção específica de genótipos que possuem características superiores (Brambatti et al., 2016). O IM analisa o percentual de tétrades normais (produtos finais da meiose). Como inferência para a instabilidade meiótica (Love, 1949) e a viabilidade polínica estimada por testes colorimétricos, verifica o potencial da célula reprodutiva masculina na eficácia da fecundação e fertilização (Biondo e Battistin, 2001).

Em programas de melhoramento, as etapas de pré-melhoramento, como caracterização e avaliação, são fundamentais para conhecer a variabilidade genética de acessos conservados em bancos de germoplasma. Assim, resultam em informações para criação de estratégias de conservação, manutenção do banco de germoplasma ou seleção de acessos promissores para futuros cruzamentos na obtenção de híbridos superiores (Burlle e Oliveira, 2010; Borges et al., 2011).

Dessa forma, os parâmetros genéticos e diversidade genética constituem análises importantes para o estudo de acessos de helicônias quanto ao índice meiótico e viabilidade polínica, permitindo selecionar acessos superiores para essas características. As estimativas de parâmetros genéticos evidenciam se os genes envolvidos no controle das características quantitativas são de origem genética ou ambiental e, a partir dessas respostas, permitir que os melhoristas estabeleçam estratégias de melhoramento que geram ganhos genéticos e manutenção de uma base genética ampla para trabalho (Cruz e Carneiro, 2014).

Neste contexto, objetivou-se estimar os parâmetros genéticos e a diversidade genética para índice meiótico e viabilidade polínica a fim de selecionar os acessos que podem ser recomendados como parentais em cruzamentos na obtenção de novos híbridos de helicônias.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Os acessos caracterizados estão mantidos em campo experimental do banco de germoplasma da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Campus de Tangará da Serra, no Estado de Mato Grosso (14°39' S e 57°25' W e altitude de 321 m). Dentre as várias espécies que a coleção possui, foram selecionadas de interesse para este estudo as espécies *Heliconia densiflora* Verlot que possui apenas uma coloração de inflorescência (Figura 6A), e *Heliconia psittacorum* L.f., que apresenta várias colorações (Figura 6 B C e D), totalizando 14 acessos analisados. Os genótipos foram resgatados em diferentes localidades no estado de Mato Grosso, compreendendo três biomas: Cerrado, Floresta Amazônica e Pantanal (Tabela 11).

Tabela 11. Dados de coleta dos acessos de *Heliconia* spp. conservados no banco ativo de germoplasma da UNEMAT

| Acessos | Espécies | Cores das brácteas | Cidade de coleta/Coordenadas |
|---------|-----------------------|--------------------|--|
| 1 | <i>H. densiflora</i> | Vermelho-laranja | Alta floresta S 9° 51' 05" W 56° 12' 31" |
| 2 | | Vermelho-laranjado | Alta floresta S 9° 51' 47" W 56° 12' 04" |
| 3 | | Vermelho-laranjado | Carlinda S 10° 10' 58" W 55° 48' 53" |
| 16 | | Vermelho-laranjado | Alta floresta S 9° 52' 43" W 56° 09' 22" |
| 5 | <i>H. psittacorum</i> | Vermelho | Colíder S 10° 46' 55" W 55° 27' 00" |
| 6 | | Vermelho | Matupá S 10° 12' 26" W 54° 57' 39" |
| 7 | | Vermelho | Guarantã Norte S 9° 46' 02" W 54° 53' 55" |
| 8 | | Vermelho | Peixoto Azevedo S 10° 16' 59" W 55° 01' 15" |
| 9 | | Vermelho | Terra Nova do Norte S 10° 44' 45" W 55° 08' 43" |
| 10 | | Laranja | Santo Afonso S 14° 35' 59" W 57° 10' 56" |
| 11 | | Vermelho escuro | Nova Marilândia S 14° 21' 05" W 57° 02' 01" |
| 12 | | Laranja | Tangará da Serra 14° 42' 02" W 57° 47' 31" |
| 14 | | Laranja | Porto Estrela 15° 18' 51" W 57° 10' 11" |
| 15 | | Laranja | Porto Estrela S 15° 24' 02" W 57° 11' 51" |

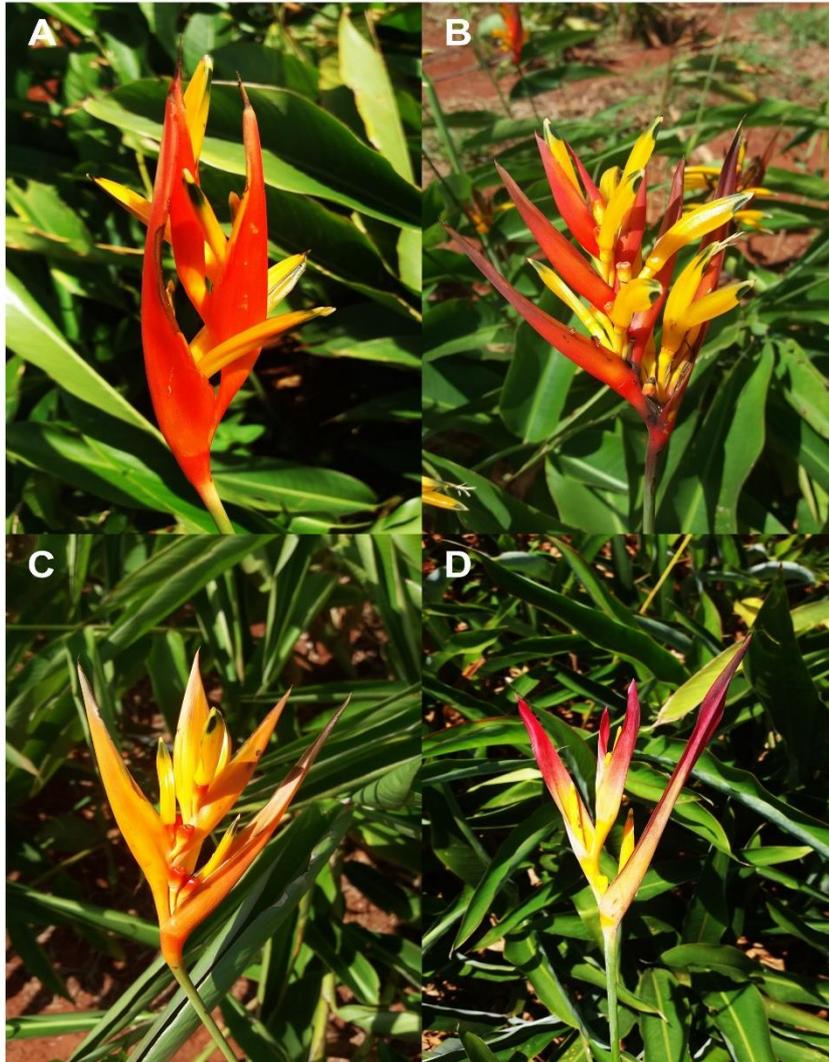


Figura 6. Cores das inflorescências dos acessos de *Heliconia*. *H. densiflora*: (A) vermelho alaranjado; *H. psittacorum*: (B) Vermelho; (C) laranja e (D) vermelho escuro.

Índice meiótico (IM)

As inflorescências para o estudo foram coletadas no campo experimental da Universidade do Estado de Mato Grosso, município de Tangará da Serra, MT (14°39' S e 57°25' W e altitude de 321 m), em que se encontra o banco de germoplasma. Para cada acesso, foram coletados 10 botões florais jovens em pré-antese às 11:30 h, medindo 1,20 cm para os acessos de *H. densiflora*, e 1,00 cm para os acessos de *H. psittacorum*, e, logo em seguida, fixados em solução de metanol e ácido acético PA (3:1) e armazenados em refrigerador por 4°C até o momento da preparação das lâminas.

Antes do preparo das lâminas, as anteras foram lavadas em água destilada, realizando três trocas com intervalos de 15 min. Após os processos de lavagem, as anteras foram retiradas dos botões florais e, em cada lâmina, três anteras foram maceradas com bastão de vidro em uma gota de orceína acética 2%.

Em um microscópio óptico com lente objetiva de 40x, foram contabilizadas 300 células-mãe do grão de pólen normais e anormais pelo método de varredura. As tétrades com quatro micrósporos com tamanhos uniformes foram classificadas em normais e as que apresentaram números menores que quatro, como mônades (um), díades (dois), tríades (três), e maiores que quatro, como políades, foram consideradas anormais, além de outras irregularidades, como micrósporos com tamanhos desiguais e micronúcleos.

Após a análise das lâminas, foi realizado o índice meiótico (IM) para cada acesso, calculado de acordo com Love (1949), em que se divide o número de tétrades normais pelo número total de tétrades contabilizadas multiplicando o total por 100. Os acessos que apresentaram percentuais de IM acima de 85% foram considerados com comportamento meiótico estável e percentuais inferiores, como instáveis citologicamente.

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo contabilizadas aleatoriamente 300 células mães de pólen (tétrades) por lâmina com 10 repetições para cada acesso, totalizando 42.000 produtos pós-meióticos analisados.

Viabilidade polínica

O experimento de viabilidade polínica foi conduzido no laboratório de Botânica da Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus de Tangará da Serra –MT, e as análises realizadas no laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais, Campus de Alta Floresta – MT.

A viabilidade dos grãos de pólen foi estimada mediante a coloração de 2,3,5-cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) (Dafni, 1992), nas concentrações de 0,075% e 0,30% para determinar a concentração mais eficiente para estimar a viabilidade dos acessos. Foram coletados 40 botões de flores hermafroditas em pré antese, sendo 20 botões para cada concentração, e o experimento conduzido imediatamente após a coleta dos botões florais, uma vez que o corante reage em enzimas desidrogenases ativas.

As anteras foram removidas dos botões florais e colocadas em placas de cultura de células em contato com 3,0 mL de cada concentração de TTC testada e, em seguida, levemente maceradas (Guerra e Souza, 2002). O ensaio permaneceu em ambiente de temperatura controlada de 23°C, durante 3 h, em contato com as concentrações de TTC.

Para a preparação das lâminas uma gota de 0,5 mL de cada tratamento foi depositada em cada lâmina e, a seguir coberta com uma lamínula. A coloração dos grãos de pólen foi determinada pelos viáveis apresentarem a tonalidade de rosa a avermelhado no protoplasma, enquanto que os inviáveis, exine corada ou totalmente incolores. Os acessos que apresentaram médias iguais ou acima de 70% foram considerados com percentuais altos de viabilidade (Ruggiero, 1973).

Foram contabilizados 300 grãos de pólen por lâmina, com 5 repetições para cada concentração de TTC e por acesso, totalizando 2.100 grãos de pólen analisados. Os grãos de pólen foram contabilizados em um microscópio óptico em aumento de 40x pelo método de varredura.

O experimento foi instalado em um delineamento em esquema fatorial duplo 14 x 2 (acessos x concentrações de TTC) com 5 repetições por concentração, sendo cada lâmina considerada repetição. Ao final das análises, foi calculada a porcentagem de pólen viáveis, sendo o número de grãos corados dividido pelo número de grãos contados, multiplicando o total por 100 (Damasio et al., 2016).

Obtenção das imagens

As imagens foram fotografadas com a objetiva de 40x, em um microscópio fotômico binocular (Leica ICC 50) acoplado a um computador com o software LAZ EZ V.1 7.0

Análises genético-estatísticas

Os dados de viabilidade polínica e IM foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, analisados em software R, versão 3.3.2 (R Core Team, 2016), com o auxílio do pacote ExpDes, versão 1.1.2 (Ferreira et al., 2013).

Modelo estatístico

Para a obtenção dos componentes de variância e das estimativas dos parâmetros genéticos para os acessos de *Heliconia*, os dados obtidos de mônades, díades, tríades, tétrades, índice meiótico e viabilidade polínica (concentração de 0,30% de TTC) foram submetidos às análises por meio do método da Máxima Verossimilhança Restrita/Melhor Preditor Linear Não Viesado (REML/BLUP), conforme descrito por Resende (2002), considerando o modelo 20, sendo:

$$y = Xr + Zg + e$$

em que y é o vetor de dados, r é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral, g é o vetor dos efeitos genotípicos (assumidos como aleatórios) em que, $g \sim N(0, G)$, sendo $G = I\sigma_g^2$, e é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios) sendo que $e \sim N(0, R)$ e $R = I\sigma_e^2$. X e Z são matrizes de incidência que relacionam, respectivamente, os efeitos de r e g ao vetor y .

Distribuições e estruturas de médias e variâncias:

$$E \begin{bmatrix} y \\ g \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} Xr \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}; \quad Var \begin{bmatrix} g \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} I\sigma_g^2 & 0 \\ 0 & I\sigma_e^2 \end{bmatrix}$$

Equações de modelo misto:

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z \\ Z'X & Z'Z + \lambda_1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} r \\ g \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \end{bmatrix}, \text{ em que:}$$

$$\lambda_1 = \frac{\sigma_e^2}{\sigma_g^2} = \frac{1 - h_g^2}{h_g^2};$$

$$h_g^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \sigma_e^2} = \text{herdabilidade individual no sentido amplo de parcelas individuais};$$

$$\sigma_g^2 = \text{variância genotípica};$$

$$\sigma_e^2 = \text{variância residual entre parcelas};$$

Estimadores de componentes de variância por REML via algoritmo EM:

$$\hat{\sigma}_e^2 = \frac{[y'y - r'X'y - \hat{g}'Z'y]}{[N - r(x)]};$$

$$\hat{\sigma}_g^2 = \frac{[\hat{g}'\hat{g} + \hat{\sigma}_e^2 \text{tr } C^{22}]}{q}; \text{ em que:}$$

C^{22} advém de:

$$C^{-1} = \begin{bmatrix} C_{11} & C_{12} \\ C_{21} & C_{22} \end{bmatrix}^{-1} = \begin{bmatrix} C^{11} & C^{12} \\ C^{21} & C^{22} \end{bmatrix}.$$

C = matriz dos coeficientes das equações de modelo misto;

tr = operador traço matricial;

$r(x)$ = posto da matriz X ;

N, q = número total de dados e número de genótipos, respectivamente.

Todas as análises foram realizadas por meio do software SELEGEN-REML/BLUP (Resende, 2016).

Análise de deviance

Na metodologia de modelos mistos, o teste recomendado para os efeitos aleatórios é o teste da razão de verossimilhança (LRT), por meio de uma análise de deviance. Portanto, realizou-se análise de deviance (ANADEV) (Resende, 2007). As deviances foram obtidas, rodando-se o modelo com e sem os valores de h^2 para cada variável e, em seguida, subtraindo-os e confrontando-os com o valor do Qui-quadrado com um grau de liberdade a 5% de probabilidade.

Intervalos de confiança dos valores genotípicos

Os valores genotípicos preditos, em conjunto com a estimativa SEP foram usados para a obtenção de intervalos de confiança dos valores genotípicos e seu ordenamento através da equação:

$$IC = VG \pm t \times SEP$$

Onde: IC = Intervalo de confiança dos valores genotípicos; VG = valor genotípicos ($\mu + g$); t = valor da distribuição t de Student associado a determinado nível de confiança, usado 1,96, para 95% de confiança; SEP = desvio padrão do valor genotípico predito, assumindo ausência de perda de parcelas.

Todas as análises foram realizadas por meio do software SELEGEN-REML/BLUP (Resende, 2016).

Correlações genéticas e análise multivariada.

Com os valores genéticos preditos, foi obtida a correlação genética entre as variáveis analisadas por meio do modelo 102. Para a análise multivariada da

divergência genética foi verificado os componentes principais e agrupamentos através dos valores genotípicos, com uso dos modelos 103 e 104, respectivamente.

Todas as análises foram realizadas por meio do software SELEGEN-REML/BLUP (Resende, 2016).

RESULTADOS

Índice meiótico

A análise do IM dos 14 acessos do gênero *Heliconia* evidencia que a maioria dos acessos analisados apresenta IM acima de 90%, portando tétrades com quatro micrósporos de tamanhos uniformes (Tabela 12; Figura 7 D e H).

Comparando as médias de IM para os acessos de *H. densiflora*, verificou-se que o acesso 16 se diferenciou significativamente dos demais, por resultar um percentual menor de IM com 91,83%. Entre os acessos dessa espécie, foram observadas células anormais como monâdes (Figura 7A), díades (Figura 7B) e tríades (Figura 7C).

Tabela 12. Número de tétrades normais e anormais, e médias de índice meiótico para 14 acessos de *Heliconia* spp. pertencentes ao banco ativo de germoplasma da Universidade do Estado de Mato Grosso

| Espécie | Acesso | Mônade | Díade | Tríade | Políade | PCCA | Tétrade | IM (%) |
|-----------------------|--------|--------|-------|--------|---------|-------|---------|--------|
| <i>H. densiflora</i> | 1 | 0 | 34 | 37 | 0 | 2,37 | 2929 | 97,63a |
| | 2 | 29 | 21 | 23 | 0 | 2,43 | 2927 | 97,56a |
| | 16 | 67 | 116 | 47 | 15 | 8,17 | 2755 | 91,83b |
| <i>H. psittacorum</i> | 3 | 5 | 50 | 73 | 2 | 4,33 | 2870 | 95,66a |
| | 5 | 9 | 55 | 49 | 0 | 3,77 | 2887 | 96,23a |
| | 6 | 13 | 37 | 52 | 0 | 3,40 | 2898 | 96,60a |
| | 7 | 5 | 58 | 60 | 0 | 4,10 | 2877 | 95,90a |
| | 8 | 9 | 60 | 26 | 0 | 3,17 | 2905 | 96,83a |
| | 9 | 2 | 21 | 30 | 0 | 1,77 | 2947 | 98,23a |
| | 10 | 5 | 21 | 21 | 0 | 1,57 | 2953 | 98,43a |
| | 11 | 58 | 306 | 242 | 6 | 20,40 | 2388 | 79,60c |
| | 12 | 24 | 30 | 39 | 0 | 3,10 | 2907 | 96,90a |
| | 14 | 0 | 24 | 39 | 0 | 2,10 | 2937 | 97,90a |
| | 15 | 0 | 39 | 26 | 0 | 2,16 | 2935 | 97,83a |
| | TOTAL | | 226 | 872 | 764 | 23 | 40,11 | |
| CV (%) | | | | | 2,59 | | | |

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de significância. PCCA (Percentual total de células anormais) IM (Índice meiótico).

Entre os acessos de *H. psittacorum*, o acesso 11 apresentou o percentual mais baixo de IM, com 79,60%, diferindo significativamente dos demais acessos. Para todos os acessos, também foram visualizadas as mesmas tétrades irregulares observadas em *H. densiflora*, como monâdes (Figura 7E), díades (Figura 7F), tríades (Figura 7G).

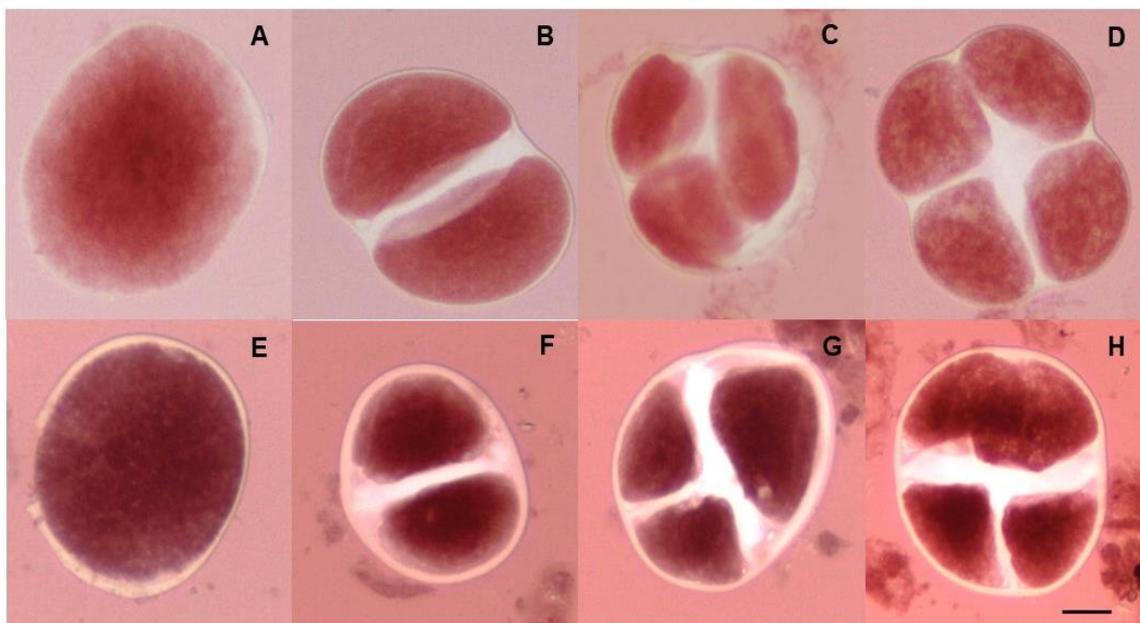


Figura 7. Produtos pós-meióticos encontrados em acessos de *Heliconia* spp. *H. densiflora*: (A) monâde; (B) díade; (C) tríade e (D) tétrade. *H. psittacorum*: (E) monâde; (F) díade; (G) tríade e (H) tétrade. Barra = 10 μ m.

Foram observados, nos acessos 3 (*H. densiflora*) e 13 (*H. psitacorum*), maiores percentuais de células anormais, com 8,17% e 20,40%, respectivamente. Para os demais acessos, também foram verificadas tétrades irregulares, porém em baixas frequências.

Pela análise do IM, os acessos 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14 e 15 apresentaram comportamento meiótico altamente regular, o acesso 3 também está incluso, pois, apesar de uma frequência maior de tétrades anormais encontradas, não foi o suficiente para influenciar negativamente no IM, dessa forma, essas irregularidades não comprometem a fertilidade desse acesso.

Outros tipos de irregularidades das citadas anteriormente, também foram encontradas como políades com 5 (Figura 8 A e F), 6 (Figura 8 C), 7 (Figura 8 B) e 10 (Figura 8 E) micrósporos, micrósporos com tamanhos desiguais (Figura 8 D e E), micrósporos fragmentados ou não divididos (Figura 8 A, B e E) e algumas células com a presença de micronúcleos (Figura 8 D). Esses fenômenos foram citados para *H. pogonantha*, com políades composta de 5 a 8 micrósporos.

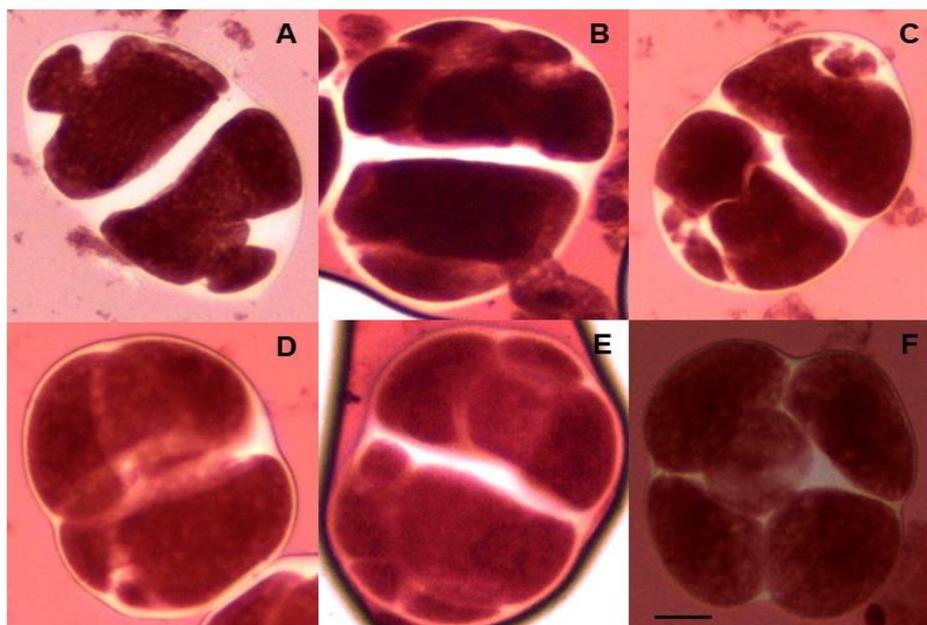


Figura 8. Políades encontrados em acessos de *Heliconia* spp. *H. psittacorum*: (A) 5 micrósporos não separados; (B) formação de 7 micrósporos não separados; (C) 6 micrósporos; (D) 4 micrósporos com tamanhos desiguais e um micronúcleo; (E) 10 micrósporos fragmentados de tamanhos diferentes e (F) *H. densiflora* com 5 micrósporos. Barra = 10 μ m.

Viabilidade polínica

As médias de viabilidade polínica para os 14 acessos de *Heliconia* spp. para as duas concentrações de TTC utilizadas estão expressas na tabela 13. Para a espécie *H. densiflora*, não houve diferenças significativas entre as médias de viabilidade estimadas pelas duas concentrações de TTC. Todos os acessos apresentaram médias consideradas baixas, variando de 0,24% a 10,88%.

Os acessos de *H. psittacorum* possuem diferenças significativas para as médias tanto para a concentração de 0,075% quanto para 0,30%. Porém, a concentração de 0,075% proporcionou as menores médias obtidas, mostrando que essa concentração não é adequada para estimar a viabilidade polínica dos acessos de *Heliconia* spp. deste estudo. Com o uso da concentração de 0,30%, foram observadas médias acima de 90% para os acessos de *H. psittacorum*, exceto o 11, que apresentou percentual médio de 69,93.

Tabela 13. Viabilidade polínica de 14 acessos de *Heliconia* spp. estimados com concentrações de TTC

| Espécies | Acessos | Viabilidade polínica (%) | |
|-----------------------|---------|--------------------------|-----------|
| | | TTC 0,075% | TTC 0,30% |
| <i>H. densiflora</i> | 1 | 0,24c | 10,88c |
| | 2 | 0,68c | 1,64c |
| | 16 | 0,52c | 0,32c |
| <i>H. psittacorum</i> | 3 | 4,24c | 4,68c |
| | 5 | 2,48c | 95,53a |
| | 6 | 21,08ab | 96,38a |
| | 7 | 26,47ab | 95,82a |
| | 8 | 19,40ab | 93,64a |
| | 9 | 24,12ab | 97,41a |
| | 10 | 28,31a | 94,68a |
| | 11 | 17,40b | 69,93b |
| | 12 | 20,16ab | 93,36a |
| | 14 | 2,00c | 94,37a |
| | 15 | 20,85ab | 94,55a |
| CV (%) | | 12,43 | |

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Os grãos de pólen viáveis e inviáveis de *H. densiflora* e *H. psittacorum* coraram com maior intensidade na concentração de 0,30% (Figura 9 C e D, G e H). A diferenciação dos grãos de pólen com esse corante se deu pelos viáveis apresentarem colorações de vermelho, pois se encontram em intensa respiração celular, enquanto que os pólenes que não apresentam cor, pela falta desse processo, indicam, portanto, que são inviáveis.

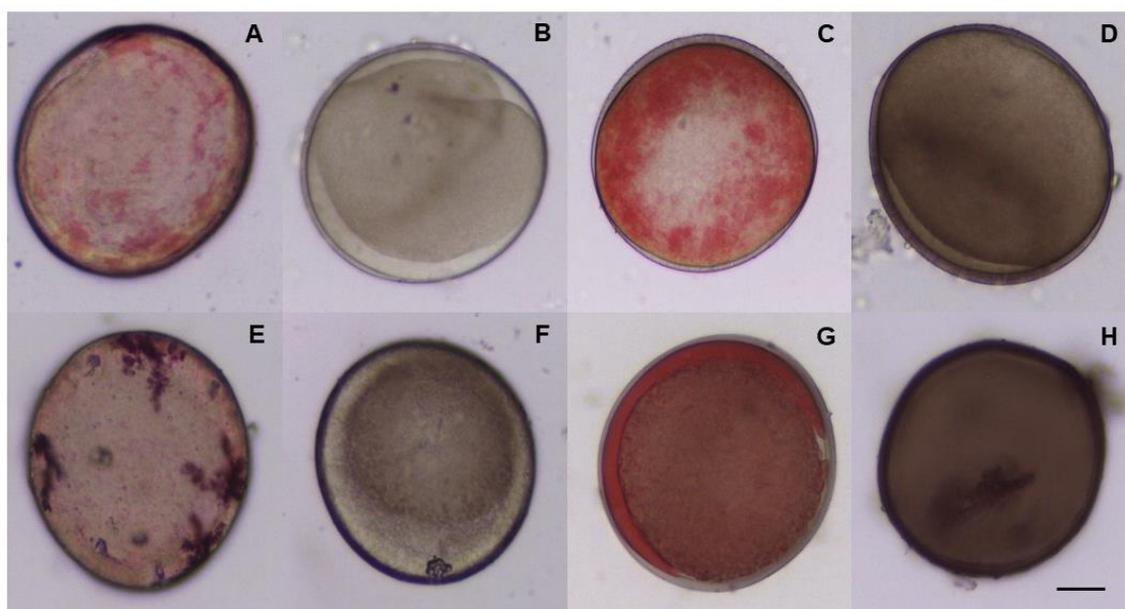


Figura 9. Grãos de pólen corados com 0,075% e 0,30% de TTC. *H. psittacorum*: 0,075% (A) pólen viável, (B) inviável; 0,30% (C) viável e (D) inviável. *H. densiflora*: 0,075% (E) viável e (F) inviável; 0,30% (G) viável e (H) inviável. 10 μ m

Parâmetros genéticos, ANADEV e correlações genéticas

Os parâmetros genéticos das características analisadas foram estimados e estão representados nas tabelas 14 e 15.

A estimativa de variância genotípica (σ_g^2) mostrou altos valores para esse coeficiente, indicando que a variabilidade existente entre os acessos é decorrente de fatores genéticos para a maioria das características avaliadas, mostrando que há possibilidade de seleção com sucesso para esses caracteres. A variância residual (σ_e^2), de forma geral, foi baixa, permitindo inferir que houve uma boa precisão experimental e baixa interferência ambiental sobre as características (Tabelas 14 e 15).

As magnitudes de herdabilidades individuais são classificadas em: baixa, (0,01 a 0,15), média ou moderada (0,15 a 0,50) e alta, (igual ou maior que 0,50) (Resende, 2015). Levando essa classificação em consideração, a maioria das variáveis apresentou um alto valor de herdabilidade individual no sentido amplo, sendo díade ($H^2g = 0,78$), tríade ($H^2g = 0,73$), tétrade ($H^2g = 0,81$), IM ($H^2g = 0,81$), e viabilidade polínica ($H^2g = 0,99$). Mônade apresentou valor de herdabilidade moderado ($H^2g = 0,45$) e políade, valor baixo de herdabilidade ($H^2g = 0,07$).

Tabela 14. Estimativas de parâmetros genéticos para os caracteres mônade (MON), díade (DIAD), tríade (TRIA) obtidos em genótipos de *Heliconia*

| Componentes de variância genética | MON | DIAD | TRIA |
|-----------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| σ_g^2 | 4,3654 | 61,5944 | 33,8506 |
| σ_e^2 | 5,2406 | 17,0028 | 11,9620 |
| σ_f^2 | 9,6060 | 78,5971 | 45,8126 |
| h²g | 0,4544 ±0,1611 | 0,7837 ±0,2116 | 0,7389 ±0,2055 |
| h²mg* | 0,8290 | 0,9036 | 0,8968 |
| Acgen* | 0,9105 | 0,9506 | 0,9470 |
| CV_{gi}% | 128,8588 | 123,3164 | 105,6469 |
| CV_e% | 141,1866 | 64,7903 | 62,8023 |
| CV_r | 0,9127 | 1,9033 | 1,6822 |
| Média geral | 1,6214 | 6,3643 | 5,5071 |

Em que: σ_g^2 : variância genotípica; σ_e^2 : variância residual; σ_f^2 : variância fenotípica individual; h²g: herdabilidade individual no sentido amplo; h²mg*: herdabilidade da média de clone corrigida de acordo com .FAM; Acgen*: acurácia genética na seleção de clones corrigida de acordo com .FAM; CV_{gi} (%): Coeficiente de variação genotípica; CV_e (%): Coeficiente de variação experimental; CV_r: Coeficiente de variação relativa; e Média geral.

Tabela 15. Estimativas de parâmetros genéticos para os caracteres tétrade (TETR), políade (POL), índice meiótico (IM) e viabilidade polínica (VP) obtidos em genótipos de *Heliconia*

| Componentes de variância genética | TETR | POL | IM | VP |
|-----------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| σ_g^2 | 238,6474 | 0,2122 | 26,5180 | 1757,3876 |
| σ_e^2 | 52,6246 | 2,5367 | 5,8472 | 14,0332 |
| σ_f^2 | 291,2720 | 2,7489 | 32,3653 | 1771,4208 |
| h²g | 0,8193 ±0,2164 | 0,0772 ±0,0664 | 0,8193 ±0,2164 | 0,9921 ±0,3392 |
| h²mg* | 0,9086 | 0,4229 | 0,9086 | 0,9272 |
| Acgen* | 0,9532 | 0,6503 | 0,9532 | 0,9629 |
| CV_{gi}% | 5,3966 | 184,2659 | 5,3968 | 62,2279 |
| CV_e% | 2,5342 | 637,0842 | 2,5342 | 5,5607 |
| CV_r | 2,1295 | 0,2892 | 2,1296 | 11,1906 |
| Média geral | 286,2571 | 0,2500 | 95,4192 | 67,3672 |

Em que: σ_g^2 : variância genotípica; σ_e^2 : variância residual; σ_f^2 : variância fenotípica individual; h²g: herdabilidade individual no sentido amplo; h²mg*: herdabilidade da média de clone corrigida de acordo com .FAM; Acgen*: acurácia genética na seleção de clones corrigida de acordo com .FAM; CV_{gi} (%): Coeficiente de variação genotípica; CV_e (%): Coeficiente de variação experimental; CV_r: Coeficiente de variação relativa; e Média geral.

As estimativas de parâmetros das variáveis avaliadas foram calculadas com acurácias (Acgen), que apresentaram valores de 0,42 a 0,92 e foram classificadas conforme Resende e Duarte (2007), que consideram como alta valores ≥ 70%, moderada para valores ≥ 50% e baixa com <50% (Resende e Duarte, 2007). Logo,

as acurácias foram muito altas para díade (0,90), tétrade (0,90), IM (0,90) e viabilidade polínica (0,92), altas para mônade (0,82) e tríade (0,89), e baixa para políade (0,42).

Para todas as características avaliadas nesse estudo, os valores de CVgi% foram acima de 1,0, o que confirma mais uma vez a possibilidade de seleção de genótipos de helicônias pelas características analisadas. Por meio do coeficiente de variação relativa (CVr) (razão entre CVgi e CVe), as características com maiores valores foram viabilidade polínica (11,19), tétrade (2,12) e IM (2,12), seguidos de díade (1,90) e tríade (1,68).

A análise de Deviance avaliada pelo teste qui-quadrado, aplicado sobre a razão entre as verossimilhanças (LRT) do modelo completo, mostrou que os acessos apresentaram efeito altamente significativo para as variáveis mônade, díade, tríade, tétrade, IM e viabilidade polínica (Tabela 16 e 17). Somente a variável políade não apresentou diferença estatística significativa (Tabela 16).

Tabela 16. Análises de deviances para os caracteres mônade (MON), díade (DIAD), tríade (TRIA) obtidos em genótipos de *Heliconia*

| Efeito | MON | | DIAD | | TRIA | |
|------------------------------|----------|------------------|----------|------------------|----------|------------------|
| | Deviance | LRT ¹ | Deviance | LRT ¹ | Deviance | LRT ¹ |
| Genótipos² | 450,5 | 49,74** | 723,75 | 152** | 653,58 | 130,66** |
| Modelo Completo | 400,76 | | 571,75 | | 522,92 | |

Em que: ¹ Teste da razão da verossimilhança, com distribuição com 1 grau de liberdade; ** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de X² (1% = 6,63; 5% = 3,84); ² Deviance do modelo ajustado sem os efeitos de genótipos.

Tabela 17. Análises de deviances para os caracteres tétrade (TETR), políade (POL), índice meiótico (IM) e viabilidade polínica (VP) obtidos em genótipos de *Heliconia*

| Efeito | TETR | | POL | | IM | | VP | |
|------------------------------|----------|------------------|----------|---------------------|----------|------------------|----------|------------------|
| | Deviance | LRT ¹ | Deviance | LRT | Deviance | LRT ¹ | Deviance | LRT ¹ |
| Genótipos² | 894,04 | 172,56** | 287,85 | 2.540 ^{ns} | 608,41 | 172,57** | 554,05 | 224,36** |
| Modelo Completo | 721,48 | | 285,31 | | 435,84 | | 329,69 | |

Em que: ¹ Teste da razão da verossimilhança, com distribuição com 1 grau de liberdade; ** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de X² (1% = 6,63; 5% = 3,84); ^{ns} não significativo; ² Deviance do modelo ajustado sem os efeitos de genótipos.

As correlações genéticas foram observadas para as características de tétrades normais, anormais (mônade, díade, tríade e políade), IM e viabilidade polínica (Figura 10).

Correlações positivas e altas foram observadas para as tétrades anormais, sendo mônade e díade (0,73), tríade e díade (0,95), políade e mônade (0,82);

positivas e moderadas para mônade e tríade (0,58), políade e díade (0,48) e baixa para políade e tríade (0,27). Também foram observadas correlação positiva e alta entre IM e tétrades (0,99).

As correlações negativas e altas ocorreram entre tétrade e mônade (-0,77), tétrade e díade (-0,99) e tétrade e tríade (-0,96), assim como para IM e mônade (-0,77), IM e díade (-0,99), e IM e tríade (-0,96). A viabilidade polínica apresentou correlação negativa baixa para mônade (-0,39) e para políade (-0,48); para as demais características, tanto as correlações positivas quanto negativas foram baixas.

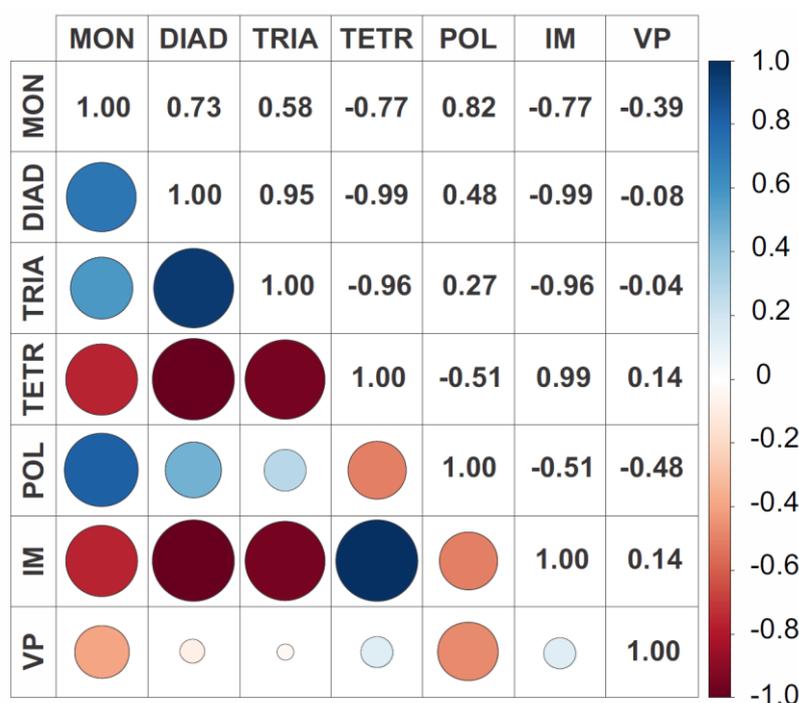


Figura 10. Correlações genótípicas entre os caracteres mônade (MON), díade (DIAD), tríade (TRIA), tétrade (TETR), políade (POL), índice meiótico (IM) e viabilidade polínica (VP) para genótipos de *Heliconia*. OBS: A cor azul nos círculos representa correlações genótípicas positivas e a cor vermelha correlações negativas. O tamanho dos círculos e a intensidade das cores representam a magnitude de cada correlação.

Diversidade genética

Os valores genóticos entre os acessos foram representados em dispersão gráfica em relação aos eixos representativos dos componentes principais (Comp.1 e Comp.2) (Figura 11). Os dados apresentados foram semelhantes aos agrupamentos estabelecidos pelo método UPGMA com base nas distâncias generalizadas de

Mahalanobis e Tocher. O primeiro componente principal reteve 69,96% da variação total dos dados para as características de tétrades, IM e viabilidade polínica, e o segundo reteve 20,57%, incluindo as características de mônade, díade, tríade e políade.

Cerca de 88,52% da variabilidade dos acessos para as variáveis estudadas foram explicadas em relação aos eixos representativos dos componentes principais (Comp.1 e Comp.2).

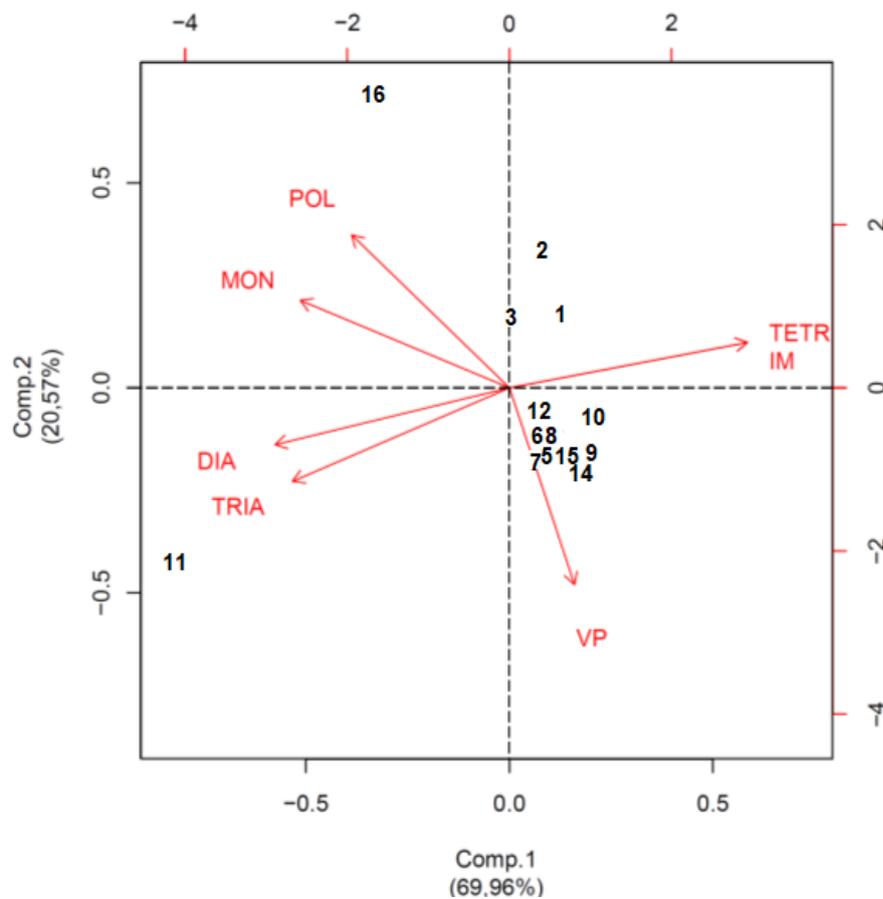


Figura 11. Dispersão gráfica dos 14 genótipos de *Heliconia* spp. em relação aos eixos representativos dos componentes principais (Comp.1 e Comp.2) relativos ao valor genotípico das variáveis mônade (MON), díade (DIAD), tríade (TRIA), tétrade (TETR), políade (POL), índice meiótico (IM) e viabilidade

A Figura 12 representa a contribuição relativa das características analisadas para a diversidade, utilizando-se o critério proposto por Singh (1981), baseado na análise de quantificação da distância de Mahalanobis (D^2). As variáveis analisadas com maiores contribuições para a expressão da variabilidade genética entre os acessos foram tétrade, com 25,16% e mônade, com 21,96%, seguidos de viabilidade polínica 19,11%, políade 18,69%. Díade e tríade apresentaram as

estimativas de menor magnitude de contribuição, com 13,71% e 1,36%, respectivamente, e o índice meiótico não apresentou nenhuma contribuição 0,00%.

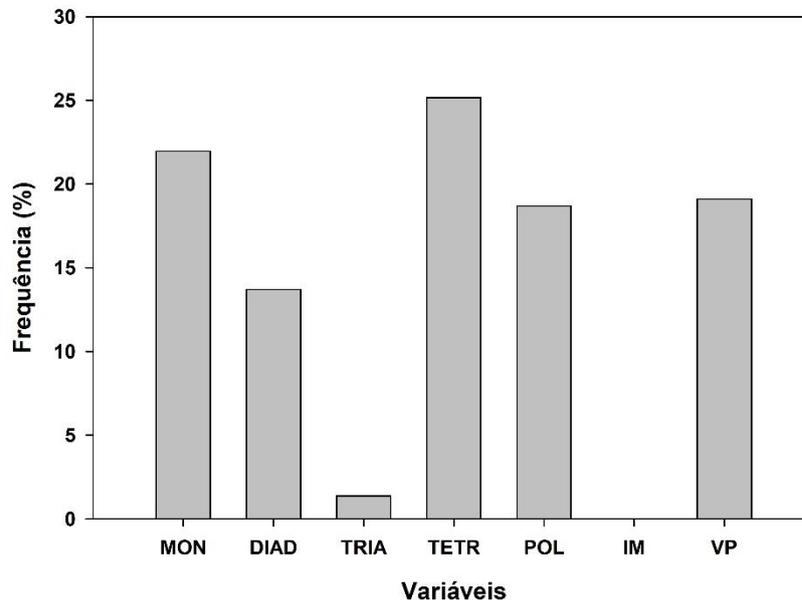


Figura 12. Contribuição relativa das variáveis mônade (MON), díade (DIAD), tríade (TRIA), tétrade (TETR), políade (POL), índice meiótico (IM) e viabilidade polínica (VP) para diversidade (Singh, 1981), baseado na Distância Generalizada (D^2) de Mahalanobis.

Pelo agrupamento, gerado pelo método UPGMA com base na distância generalizada de Mahalanobis e linha de corte estabelecida de acordo com Mojena (1977), foi possível visualizar os graus de similaridade e dissimilaridade para os acessos dentro dos grupos formados. Esse método formou dois grupos distintos e reuniu a maior quantidade de acessos distribuídos no grupo 2, com acessos de *H. densiflora* e *H. psittacorum* (11, 3, 10, 1, 15, 9, 14, 2, 12, 5, 7, 6, 8), sugerindo que esses acessos possuem maior grau de similaridade; e o outro grupo composto por apenas um acesso de *H. psittacorum* (16), que é o acesso com maior divergência genética (Figura 13).

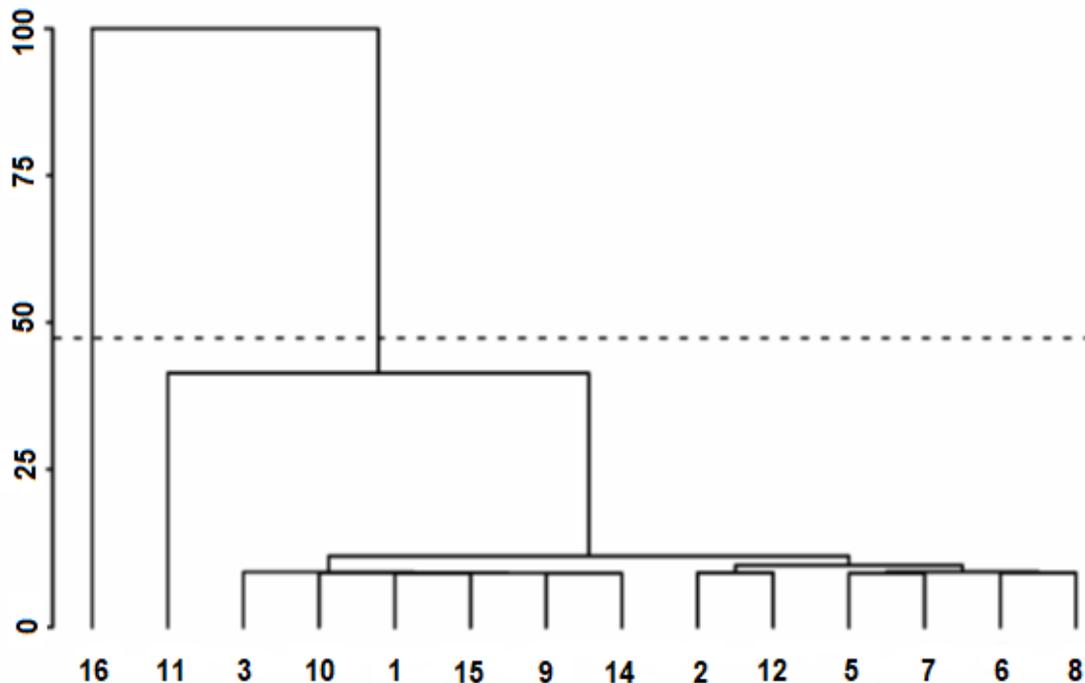


Figura 13. Análise de agrupamento de 14 acessos de *Heliconia* estabelecido pelo método UPGMA com base nas distâncias genéticas generalizada de Mahalanobis, calculadas através dos valores genéticos padronizados e correlações genéticas das variáveis mônade (MON), díade (DIAD), tríade (TRIA), tétrade (TETR), políade (POL), índice meiótico (IM) e viabilidade polínica (VP). A linha tracejada representa a divisão dos grupos, calculada através de Mojena (1977). Correlação cofenética = 0.89

O grupo 2, apresentou 4 subgrupos, o primeiro formado pelo acesso 11; segundo, pelos acessos 3, 10, 1, 15, 9, 14; terceiro 2 e 12, e quarto, pelos acessos 5, 7, 6, e 8. Os acessos que formam esse grande grupo apresentam características que são desejáveis para os genótipos e muito semelhantes entre si, como a quantidade de tétrades normais, percentuais de IM e baixas quantidades de tétrades anormais observadas, exceto para o acesso 11, o qual, entre todos os acessos desse grupo, ficou bem distante de todos. Dessa forma, o grupo 2 apresenta variabilidade genética, observada pela formação de subgrupos dentro desse grupo.

O agrupamento pelo método de Tocher formou três grupos distintos envolvendo os 14 acessos de *Heliconia*. O grupo 1 abrangeu o maior número de acessos (9, 14, 7, 5, 10, 15, 6, 12, 8, 1, 3, 2), e os outros dois grupos, 2 (11) e 3 (16), foram constituídos por apenas um acesso cada (Tabela 18).

Tabela 18. Agrupamento (Tocher) de Distancias de Mahalanobis Genéticas, com base nos valores genotípicos das variáveis mônade (MON), díade (DIAD), tríade (TRIA), tétrade (TETR), políade (POL), índice mitótico (IM) e viabilidade polínica (VP) de acessos de *Heliconia*

| Grupos | Genótipos | | | | | | | | | | | | |
|--------|-----------|----|---|---|----|----|---|----|---|---|---|---|--|
| 1 | 9 | 14 | 7 | 5 | 10 | 15 | 6 | 12 | 8 | 1 | 3 | 2 | |
| 2 | 11 | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 16 | | | | | | | | | | | | |

O método de agrupamento UPGMA se diferenciou de Tocher pela quantidade de grupos formados, o UPGMA formou 2 grupos; e Tocher, 3 grupos; e modificações na ordem de apresentação dos acessos no grupo 1. Os dois métodos de agrupamento, apesar de não apresentarem distribuição idêntica dos acessos, se mostraram muito semelhantes.

Ordenamento de acessos superiores

Os 14 acessos de *Heliconia* foram ordenados quanto ao IM e viabilidade polínica, baseados em seus valores genotípicos livre de interação (u + g) (Figura 14). Para as variáveis IM e viabilidade polínica, são ordenados os acessos com maiores médias. Logo, para a característica IM, é possível visualizar os melhores acessos, sendo 10, 9, 14, 15, 1, 2, 12, 8, 6, 5, 7, 3, e 16. O acesso 11 possui a menor média. Os acessos superiores para viabilidade polínica são, apenas, 9, 6, 7, 5, 10, 15, 14, 8, 12 (*H. psittacorum*); e os com menores médias são os acessos 1, 3, 2 e 16 (*H. densiflora*).

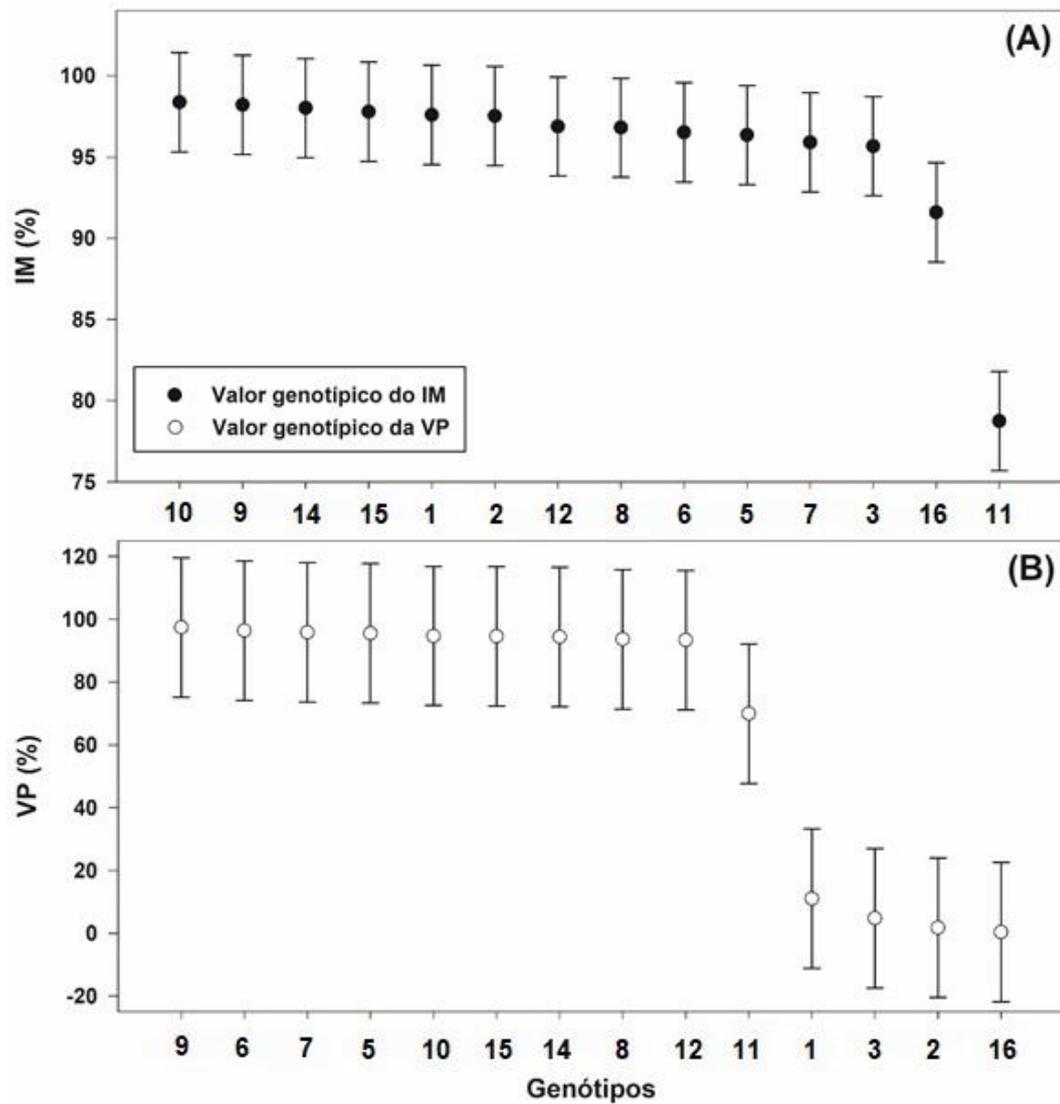


Figura 14. Valores genotípicos (●,○, u + g) e limites superior e inferior dos intervalos de confiança (LSIC, LIIC), com nível de significância de 5%, a partir das análises do ordenamento dos 14 genótipos das características (A) índice meiótico (IM, %) e (B) viabilidade polínica (VP, %) de genótipos de *Heliconia*.

DISCUSSÃO

Índice meiótico

A maioria dos acessos apresentou comportamento meiótico altamente regular, considerando esse mesmo comportamento na megasporogênese, cujos acessos não apresentam problemas de produtividade e viabilidade de sementes, garantindo, assim, a formação de novas gerações (Battistin e Matos, 2002). No entanto, algumas irregularidades foram observadas para os acessos deste estudo e esses resultados são similares aos obtidos por Lee et al. (1994) e Franco et al. (2012) em espécies e cultivares de *H. psittacorum*.

Pozzobon et al. (2015) e Pagliarini (2000) relacionaram essas irregularidades causadas por fatores ambientais e mutações, ou até mesmo às formas de manejo realizadas, que podem causar estresse, afetando o metabolismo das plantas (Picoli et al., 2003). Além desses fatores, os componentes ativos, como defensivos agrícolas e metais pesados no solo, também podem levar à fragmentação do material genético, gerando células com micronúcleos (Diegues et al., 2015).

As variações de umidade também podem ser causadores da formação de micronúcleos na fase de tétrades (Spósito et al., 2015). Em estudo meiótico com trigo, Omidí et al. (2014) observaram que as variedades apresentaram a menor quantidade de irregularidades em condições ambientais adequadas. Com o aumento da temperatura, houve um aumento significativo de alterações meióticas em diversas variedades. A formação de micronúcleos se deve a alterações cromossômicas, muitas vezes ligadas a fatores ambientais (Majer et al., 2001). Assim, as causas citadas podem ser fatores que induziram as irregularidades meióticas observados nos acessos deste estudo.

Viabilidade polínica

A viabilidade polínica estimada pela coloração de TTC na concentração de 0,30% e 0,075% para acessos de *H. densiflora* foram baixos, sendo necessário adequar essa metodologia em estudos posteriores de viabilidade polínica, como tempos e temperaturas de exposição às concentrações de TTC. Essa ineficiência em estimar a viabilidade dos pólenes também pode estar relacionada a fatores genéticos dos acessos. Resultados similares foram verificados em *Heliconia rostrata* Ruiz & Pavan, cuja estimativa da viabilidade dos grãos de pólen foi alta com o uso da concentração de 0,30% de TTC, porém, na concentração de 0,075%, os

percentuais foram baixos e médios (Mello et al., 2016). No entanto, Ramos et al. (2016), ao avaliarem o uso do TTC como teste colorimétrico em *Passiflora cristalina* Vanderpl. & Zappi, verificaram maior viabilidade polínica com a concentração de 0,075%.

O corante TTC cora os pólenes viáveis quando as enzimas desidrogenases, especificamente a do ácido málico, reduz os sais de tetrazólio e entra em contato com tecidos vivos, formando o formazan, um composto de cor vermelha. Quando esse evento acontece, indica que há atividade respiratória nas mitocôndrias, comprovando que há viabilidade celular e tecidual. Nesse sentido, as células ou tecidos não viáveis não reagem e, como resultado, não apresentam cor (Costa et al., 2007b; Zonta et al., 2009; Santos et al., 2016). Por ocorrer uma reação enzimática e indicar a viabilidade por meio da respiração celular, é considerado um corante confiável para estudos de viabilidade polínica.

Os estudos realizados a fim de investigar a viabilidade polínica de *Heliconias* utilizando o corante TTC somente foram realizados até o momento para a espécie *H. rostrata* (Mello et al., 2016). Além de *Heliconia*, o teste com TTC foi eficiente para outras espécies, como *Bixa orellana* L. (Fernandes et al., 2016), *Momordica charantia* L. (Ramos et al., 2017), *Jacaranda copaia* (Aubl.) (Leite et al., 2016), e até para outras espécies da ordem Zingiberales, como *Costus spiralis* (Jacq.) Roscoe (Santos et al., 2016) e *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burt & Smith (Macedo et al., 2016).

O acesso 11, assim como se diferenciou na análise do IM com relação aos outros acessos, também divergiu quanto à viabilidade polínica. O percentual baixo de viabilidade polínica encontrada para esse acesso pode ser explicado pelo alto número de produtos pós-meióticos anormais do tipo díade e tríade. O mesmo resultado foi observado para o acesso 16. A instabilidade genética, diminuição da endogamia e mutações podem ser causadores de esterilidade polínica (Yadav e Kogje, 2015). Além de causas genéticas, podem estar envolvidos muitos fatores, como a idade do pólen e exposição a estresses ambientais, como temperatura e umidade (Stone et al., 1995; Kelly et al., 2002).

O teste de TTC leva em consideração as condições fisiológicas do grão de pólen, assim, esse corante não é afetado por diversas condições que geralmente prejudicam os testes de viabilidade, como o pólen abortado ainda conter alguma substância de reserva e ser corado, subestimando os percentuais de viabilidade,

além disso, é diferencial por apresentar clara diferenciação do viável e inviável, o que não pode não ser possível em alguns corantes.

Parâmetros genéticos e ANADEV

As características díade, tríade, tétrade, IM e viabilidade polínica apresentam elevado controle genético, com possibilidade de obtenção de ganhos genéticos com a seleção de acessos para esses caracteres. No entanto, isso não pode ser observado para mônade e políade, que, se usadas para a seleção, apresentam menores ganhos genéticos, e a herança dessas características pela próxima geração será baixa, pois há uma maior influência ambiental atuando sobre essas duas características.

Os percentuais de viabilidade polínica para os acessos de *H. densiflora* (1, 2, 3 e 16) foram baixos. Por meio dos parâmetros genéticos, pode-se observar para essa característica um maior controle genético do que ambiental. Logo, a viabilidade polínica encontrada sofreu ação de fatores ambientais, mas de pequena escala, sendo os fatores genéticos os maiores responsáveis pela baixa viabilidade nesses acessos.

Para o melhoramento genético, um dos fatores importantes que está relacionado ao sucesso dos cruzamentos é a seleção de genótipos com alto percentual de células reprodutivas viáveis (Techio et al., 2006). Isso implica em acessos que possuem um comportamento meiótico regular, com formação de tétrades normais, dando origem a células reprodutivas funcionais (pólen viáveis). Desse modo, a viabilidade polínica é usada como medida de fertilidade do gameta masculino (Oliveira et al., 2001). Nesse sentido, as tétrades normais, IM e viabilidade polínica são características desejáveis e necessárias ao sucesso dos cruzamentos em programas de melhoramento genético vegetal e, neste estudo, apresentaram alta herdabilidade.

Conforme Horner e Palmer (1995), grãos de pólen anormais ou inviáveis podem ser resultado de alterações no número e estrutura dos cromossomos. Essas alterações decorrem de irregularidades que podem ocorrer durante as fases de pré-meiose, meiose e pós-meiose. Como, por exemplo, as mônade, díade, tríade e políade, que são produtos pós meióticos anormais e afetam diretamente a viabilidade polínica, se encontradas em alta quantidade. Vale ressaltar, então, que essas características são indesejáveis, pois alteram os genótipos levando-os à

instabilidade meiótica. Esse fator dificulta os cruzamentos em programas de melhoramento por levar à perda de material genético (Defani-Scoarize et al., 1996). Assim, a baixa herdabilidade observada para mônade e políade é um resultado muito satisfatório ao utilizar os acessos de *H. densiflora* e *H. psittacorum* como parentais em programas de melhoramento genético. Como os parâmetros genéticos foram estimados com acurácias alta e muito alta para a maioria das características avaliadas, elas podem ser recomendadas para seleção dos genótipos superiores, exceto políades.

Para o coeficiente de variação genética individual (CVgi%), a obtenção de altos valores é desejável, e indica se há possibilidade de seleção quando o valor for superior a 1,0. Contudo, quanto maior o percentual de CVgi, maior a probabilidade em identificar genótipos que proporcionem ganhos da seleção favoráveis (Resende, 2002; Pimentel et al., 2014; Vencovsky e Barriga, 1992). As características analisadas possuem percentuais de CVgi superiores aos percentuais de CVe, desse modo, mostram pouca interferência ambiental atuando sobre essas características e evidenciam condições adequadas para ganhos na seleção, com exceção de mônade e políade, com percentuais CVe menores que 1,0.

As ações ambientais atuam sobre as características de mônade e políade e podem ser decorrentes das práticas de manejo realizadas nos acessos, que podem causar algum estresse, afetando o metabolismo das plantas e, inclusive, componentes presentes no solo, como defensivos agrícolas ou metais pesados (Pagliarini, 2000; Picolet et al., 2003; Pozzobon et al., 2015; Diegues et al., 2015).

A análise de deviance demonstrou a existência de variabilidade genética para mônade, díade, tríade, tétrade, IM e viabilidade polínica, logo, os acessos de *H. densiflora* e *H. psittacorum* são promissores para uso em programas de melhoramento genético, podendo selecionar acessos por meio dessas características. No entanto, a variável políade não contribuiu para a divergência genética entre os acessos, portanto, não é adequado usá-la como critério de seleção.

Correlações genéticas

Pesquisas com correlações genéticas estimam o comportamento de uma característica quando se realiza a seleção em outra correlacionada (Oliveira et al.,

2011). Dessa forma, estão associadas à natureza herdável, que é dos grandes interesses para programas de melhoramento genético (Nogueira et al., 2012).

Conforme Falconer (1996), uma das causas para altas correlações é o pleiotropismo, em que um mesmo gene influencia na expressão de mais de um caráter. Assim, de acordo com os resultados obtidos, se o IM for selecionado, resultará em seleção indireta de tétrades ou vice e versa. Essa informação é útil em programas de melhoramento, pois, à medida que duas ou mais características têm correlação genotípica positiva, podem-se obter ganhos simultâneos pela seleção indireta de uma característica que está associada a outra (Oliveira et al., 2011; Nogueira et al., 2012).

Esses resultados são favoráveis à prática de seleção das características de tetrade e IM, pois, selecionando-as, não se está selecionando indiretamente as tétrades anormais (mônade, díade, tríade e políade), que não são características interessantes para os acessos. Isso ocorre por tétrades e IM estarem correlacionadas geneticamente entre si, assim, os genes que expressam essas duas características não são os mesmos que expressam as demais.

Diversidade genética

Como os dois primeiros componentes principais permitiram estimativas acima do mínimo (80%), o percentual encontrado no presente estudo é satisfatório e explica com confiabilidade a variabilidade entre os acessos (Cruz e Regazzi, 1997; Cruz et al., 2012).

A utilização simultânea de métodos de dispersão gráfica com os de agrupamentos é uma forma mais adequada para estimar a diversidade genética. Especificamente, a análise de dispersão gráfica por componentes principais é muito usada no melhoramento genético, pois simplifica os conjuntos de dados de forma resumida nas variáveis em poucos componentes, que são responsáveis por reterem o máximo da variação disponível (Cruz e Carneiro, 2014).

Estimar a diversidade genética dos acessos de helicônia é importante para um melhor aproveitamento desse recurso em programas de melhoramento do gênero. Logo, a diversidade genética existente em acessos de coleções e banco de germoplasma ex situ reflete indiretamente no progresso genético, na obtenção de genótipos melhorados (Chen et al., 2012).

As características de tétrade, mônade, viabilidade polínica e políade são descritores eficientes para explicar a divergência existente entre os acessos, pois apresentaram as maiores contribuições para a divergência genética.

Segundo Rocha et al. (2016), o método da distância de Mahalanobis (D^2) considera que as variáveis de maior contribuição expressam maior variabilidade e menores contribuições, menor variabilidade. No entanto, alguns fatores podem limitar a capacidade dos descritores de estimar a diversidade genética existente em uma espécie, como o próprio genótipo de interesse e as ações ambientais sobre o caráter (Nagalakshmi et al., 2010; Mafakheri et al., 2017).

As características de tétrades e viabilidade polínica são altamente desejáveis e importantes, pois estão totalmente relacionadas com a quantidade de pólen produzida pela espécie, necessária à sua fertilidade e manutenção. Nesse estudo, as contribuições para esses caracteres foram altas, assim, esses descritores podem ser priorizados e utilizados para a seleção dos acessos superiores para programas de melhoramento genético de helicônias.

O agrupamento gerado pelo método UPGMA formou dois grupos, grupo 1, com o acesso 16, e o grupo 2, com os acessos 11, 3, 10, 1, 15, 9, 14, 2 e 12, 5, 7, 6, e 8. Os acessos que formam o grupo 2 apresentam características que são desejáveis para os genótipos e muito semelhantes entre si, como a quantidade de tétrades normais, percentuais de IM e baixas quantidades de tétrades anormais observadas, exceto para o acesso 11, o qual, entre os acessos desse grupo, ficou bem distante dos demais. Dessa forma, o grupo 2 apresenta variabilidade genética, observada pela formação de subgrupos dentro desse grupo.

O isolamento do acesso 16 é decorrente do alto percentual de tétrades anormais encontradas para esse acesso e, conseqüentemente, baixo valor de IM. Os acessos com elevados números de irregularidades não são os mais recomendados para serem utilizados como parentais em cruzamentos nos programas de melhoramento genético, uma vez que essas irregularidades alteram o material genético e conseqüentemente influenciam na expressão de genes.

O agrupamento pelo método de Tocher também mostrou que existe variabilidade genética entre os genótipos. Os dois métodos de agrupamento, apesar de não apresentarem distribuição idêntica dos acessos, se mostraram muito semelhantes e permitiram explicar a ocorrência de diversidade genética para os acessos de *H. densiflora* e *H. psittacorum*.

Nascimento (2016) identificaram variabilidade genética a nível de espécie em *Heliconia* com a análise de agrupamentos e inferiram que a obtenção desses resultados possibilita a utilização dos acessos de *Heliconia* em cruzamentos para obtenção de ganhos genéticos, com o objetivo de criar híbridos visando ao mercado ornamental. Estudos de diversidade genética desempenham um papel muito importante para o melhoramento genético, avaliação de impactos nos recursos genéticos vegetais, esclarecem mecanismos evolutivos atuantes na diversificação das espécies, manutenção de bancos de germoplasma e para a conservação da biodiversidade, já que tais estudos de diversidade objetivam entender as relações genéticas (Lorenzoni, 2016).

Ordenamento de acessos superiores

Com base nas informações do método hierárquico UPGMA, observou-se que os acessos 10, 15, 9 e 14 (subgrupo 1) são mais divergentes que os acesso 12 (subgrupo 2), e acesso 5, 7, 6, 8 (subgrupo 3), e representam potencial para serem utilizados como parentais em cruzamentos nos programas de melhoramento genético de *Heliconia*. Os acessos do sugrupo 1 podem ser cruzados com os acessos do subgrupo 2 e 3, sendo assim, há várias possibilidades de cruzamentos entre os acessos, já que eles apresentam altas médias de IM e viabilidade polínica, assim como divergência genética.

CONCLUSÃO

Os acessos deste estudo são promissores para uso em programas de melhoramento genético com relação à viabilidade polínica e IM. A maioria das características tem alto controle genético, e mostra que há possibilidade de utilizá-las como descritores para a seleção de genótipos com sucesso, principalmente para tétrades e viabilidade polínica, que são características altamente desejáveis e importantes, as quais devem ser priorizadas para a seleção de acessos superiores, na criação de novos híbridos de helicônias.

Os acessos que apresentaram maiores médias para IM foram 10, 9, 14, 15, 1, 2, 12, 8, 6, 5, 7, 3, e 16. Enquanto que para viabilidade polínica são apenas os acessos 9, 6, 7, 5, 10, 15, 14, 8 e 12 (*H. psittacorum*). Todos os acessos de *H. densiflora* apresentaram as menores médias de viabilidade polínica.

Recomenda-se o uso dos acessos 10, 15, 9 e 14 com os acessos 12, 5, 7, 6, 8, pois apresentam altas médias de IM e viabilidade polínica e são grupos formados por acessos com maior divergência, as quais podem ser usados como parentais em cruzamentos nos programas de melhoramento genético de *Heliconia*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, M.; MACEDO, W. A.; FERNANDES, L.; DAMASIO, J. F.; MONTEIRO, M.; PRAÇA-FONTES, M. M.; KARSBURG, I. V. Viabilidade polínica de *Passiflora quadrangularis* L. (Passifloraceae) com o uso de Cloreto de Trifeniltetrazolio (TTC). **Scientific Electronic Archives**. Especial Edition:15-17, 2016.
- BATTISTIN, A.; MATTOS, A. C. F. Número de cromossomos, comportamento meiótico e viabilidade do pólen em três espécies de *Stylosanthes* sw. (Leguminosae-Papilionoideae) nativas do Sul do Brasil. **Bioikos**. 16:13-17, 2002.
- BERRY, F.; KRESS, W. J. **Heliconia**: An Identification Guide. Washington: Smithsonian Institution, 1991.
- BIONDO, E.; BATTISTIN, A. Comparação da eficiência de diferentes corantes na estimativa da viabilidade de grãos de pólen em espécies dos gêneros *Eriosema* (DC.) G.Don e *Rhynchosia* Lour (Leguminosae – Faboideae), nativas na Região Sul do Brasil. **Bioikos**. 15:39-44, 2001.
- BORGES, R. M. E.; RESENDE, G. M.; LIMA, M. A. C.; DIAS, R. C. S.; LUBARINO, P. C. C.; OLIVEIRA, R. C. S.; GONÇALVES, N. P. S. Phenotypic variability among pumpkin accessions in the Brazilian Semiarid. **Horticultura Brasileira**. 29:461-464, 2011.
- BRAMBATTI, A.; BRAMMER, S. P.; WIETHOLTER, P.; JUNIOR, A. N. Estabilidade genética em tritcale estimada pela viabilidade polínica. **Arquivos do Instituto Biológico**. 83:1-7, 2016.
- BURLE, M. L.; OLIVEIRA, M. S. P. **Manual de curadores de Germoplasma – Vegetal**: Caracterização morfológica. Brasília: Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia, 2010. 15p.
- CASTRO, C. E. F.; GONÇALVES, C.; MAY, A. Atualização da nomenclatura de espécies do gênero *Heliconia* (Heliconiaceae). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. 13:38-62. 2007.
- CHEN, X.; DONGHONG, M.; TAUGEER, A. Y.; YIN-GANG, H. Genetic diversity, population structure and linkage disequilibrium in elite chinese winter wheat investigated with SSR markers. **Plos One**. 7:1-9, 2012.
- COSTA, A. S.; LOGES, V.; CASTRO, A. C.; BEZERRA, G. J. D. M.; SANTOS, V. F. Variabilidade genética e correlações entre caracteres de cultivares e híbridos de *Heliconia psittacorum*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. 2:187-192, 2007a.
- COSTA, N. P.; NETO, J. B. F.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A. Metodologia **alternativa para o teste de tetrazólio em semente de soja - Série Sementes**. Londrina: Embrapa soja, 2007b. 8p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Métodos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 1997. 390p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4.ed. Viçosa: UFV, 2012. 514p.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2014. 668 p.

DAFNI, A. **Pollination ecology: a practical approach** University Press, New York, 1992.

DAMASCENO, P. C.; PEREIRA, T. N. S.; FREITAS-NETO, M.; PEREIRA, M. G. Meiotic behavior of *Carica papaya* and *Vasconcellea monoica*. **Caryologia**. 63:229-236, 2010.

DAMASIO, J. F.; SANTOS, B. N. V.; MACEDO, W. A.; MELLO, V. S.; KARSBURG, I. V.; LEITE, D. M.; SANTOS, L. C. B. Viabilidade polínica de Tulipa Africana. **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB**. 8: 2016.

DEFANI-SOARIZE, M. A.; PAGLIARINI, M. S.; AGUIAR, C. G. Meiotic behavior of inbred lines of maize (*Zea mays* L.). **Nucleus**. 39:10-18, 1996.

DIEGUES, P. I.; JUNIOR, P. C. D.; RIBEIRO, N. V. S.; REIS, M. V. M.; ABBOUD, A. C. S. Comportamento meiótico e viabilidade polínica na espécie *Jatropha curcas* L.. **Ciências Agrárias**. 36:141-150, 2015.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. ed. 4. Harlow: Longmans Green, 1996. 464p.

FERNANDES, L.; MELLO, V. S.; SANTOS, L. C. B.; KARSBURG, I. V. Armazenamento e viabilidade polínica de *Bixa orellana* L. (Bixaceae) com uso do teste colorimétrico de tetrazólio. **Scientific Electronic Archives**. 58-160, 2016.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. **ExpDes: Experimental Designs package**. R package version 1.1.2, 2013.

FRANCO, V. R.; ZUCCARI, L. D. A.; PINTO-MAGLIO, C. A. F.; CASTRO, C. E. F. Comportamento meiótico e viabilidade polínica em *Heliconia pogonantha* e *Heliconia psittacorum*. In: XI CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, Jaguariúna, SP. 2012. **Anais do congresso interinstitucional de iniciação científica**, Jaguariúna: CIIC, 2012. p.1-10.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002. 131p.

HORNER, H. T.; PALMER, R. G. Mechanisms of genetic male sterility. **Crop Science**. 35:1527-1535, 1995.

KELLY, J. K., RASCH A.; KALISZ S. A method to estimate pollen viability from pollen size variation. **American Journal of Botany**. 89:1021–1023, 2002.

LAMAS, A. M. **Floricultura Tropical: técnicas de cultivo**. Recife: SEBRAE, 2004. 65p.

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

LEITE, D. M.; SANTOS, B. N. V.; SANTOS, L. C. B.; DAMASIO, J.; MELLO, V. S.; MACEDO, W. A.; KARSBURG, I. V. Avaliação da viabilidade polínica de pará-pará com uso de trifênil cloreto de tetrazólio. **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB**. 8, 2016.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 1120p.

LORENZONI, R. M. **Evidências cariotípicas e moleculares da hexoploidia em *Annona mucosa***. Alegre: Universidade Federal do Espírito Santo, 2016. 51p. (Dissertação - Mestrado em Produção vegetal).

LOVE, R. A. **Estudos citológicos preliminares de trigos Riograndenses**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul, 1949, 14p.

MACEDO, W. A.; SANTOS, B. N. V.; MELLO, V. S.; DAMASIO, J. F.; SANTOS, L. C. B.; LEITE, D. M.; KARSBURG, I. V. Teste do cloreto de trifêniltetrazólio (ttc) na viabilidade polínica da colônia. **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB**. Jaboticaba, 8, 2016.

MAJER, B. J.; LAKY, B.; KNASMÜLLER, S.; KASSIE, F. Use of the Micronucleus Assay with Exfoliated Epithelial Cells as a Biomarker for Monitoring Individuals at Elevated Risk of Genetic Damage and in Chemoprevention Trials. **Mutation Research**. 489:147-172, 2001.

MELLO, V. S.; SANTOS, B. N. V.; MACEDO, W. A.; DAMASIO, J. F.; KARSBURG, I. V. Estimação da viabilidade polínica de *Heliconia rostrata* L. (Heliconiaceae) por meio do teste colorimétrico de Tetrazólio. In: IV SEMINÁRIO DE BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS, Alta Floresta, 2016. **Anais do seminário de biodiversidade e agroecossistemas amazônicos**, Alta Floresta: UNEMAT, 2016, p.693-697.

MAFAKHERI, K.; BIHAMTA, M. R.; ABBASI, A. R. Assessment of genetic diversity in cowpea (*Vigna unguiculata* L.) germplasm using morphological and molecular characterisation. **Food & Agriculture**. 3:1-20, 2017.

MOJENA, R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. **The Computer Journal**. 20:359-363, 1977.

NAGALAKSHMI, R. M.; KUMARI, R. U.; BORANAYAKA, M. B. Assessment of genetic diversity in cowpea (*Vigna unguiculata*). **Electronic Journal of Plant Breeding**. 1:453-461, 2010.

NASCIMENTO, T. O.; SILVA, P. C.; SILVA, C. G.; BOTINI, A. F.; FRANÇA, R. P. A.; SANTOS, J. L.; SILVA, C. A. Durabilidade floral, viabilidade polínica e receptividade

estigmática em *Heliconia psittacorum* (Heliconiaceae). **Scientific Electronic Archives**. 316-319, 2016.

NOGUEIRA, A. P. O.; SEDIYAMA, T.; SOUSA, L. B.; HAMAWAKI, O. T.; CRUZ, C. D.; PEREIRA, D. G.; MATSUO, E. Análise de trilha e correlações entre caracteres em soja cultivada em duas épocas de semeadura. **Bioscience Journal**. 28:877-888, 2012.

OLIVEIRA, M. S.; PADILHA, M. M. M.; KALUME, M. A. A. Viabilidade de pólen in vivo e in vitro em genótipos de açaizeiro. **Acta Botânica Brasílica**. 15:27-33, 2001.

OLIVEIRA, E. J.; SANTOS, V. S.; LIMA, D. S.; MACHADO, M. D.; LUCENA, R. S.; MOTTA, T. B. N.; Estimativas de correlações genotípicas e fenotípicas em germoplasma de maracujazeiro. **Bragantia**. 70:255-261, 2011.

OMIDI, M.; SIAHPOOSH, M. R.; MAMGHANI, R.; MODARRESI, M. The Influence of terminal heat stress on meiosis abnormalities in pollen mother cells of wheat. **Cytologia**. 79:49-58, 2014.

PAGLIARINI, M. S. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. **Genetics and Molecular Biology**. 23:997-1002, 2000.

PICOLI, E. A. T.; CARVALHO, C. R.; FÁRI, M.; OTONI, W. C. Associação de fases meióticas e estádios dos micrósporos com características morfológicas de botões florais de pimentão. **Ciência e Agrotecnologia**. 27:708-713, 2003.

PIMENTEL, A. J. B., GUIMARÃES, J. F. R., DE SOUZA, M. A., DE RESENDE, M. D. V., MOURA, L. M., RIBEIRO, G. Estimação de parâmetros genéticos e predição de valor genético aditivo de trigo utilizando modelos mistos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 49:882-890, 2014.

PINTO-MAGLIO, C. A. F.; PIEROZZI, N. I. Caracterização citogenética. In: VEIGA, R. F. A.; QUEIRÓZ, M. A. **Recursos fitogenéticos**. Viçosa: UFV, 2015. p. 204-213.

POZZOBON, T. M.; BIANCHETTI, L. B.; SANTOS, S.; CARVALHO, S. I. C.; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; RIBEIRO, C. S. C. Comportamento meiótico em acessos de *Capsicum chinense* Jacq. do Banco de Germoplasma da Embrapa, Brasil. **Brazilian Journal of Biosciences**. 13:96-100, 2015.

RAMOS, L. P. N.; FERNANDES, L.; DAMASIO, J. F.; MONTEIRO, M.; SANTOS, B. N. V.; FONTES, M. M. P.; KARSBURG, I. V. Viabilidade polínica de *Passiflora cristalina* Vanderpl. & Zappi (Passifloraceae) com uso do teste colorimétrico de tetrazólio. **Scientific Electronic Archives**. 371-373, 2016.

RAMOS, L. P. N.; ANDRÉ, V. L. S.; MELLO, V. S.; WINK, F.; KARSBURG, I. V. Estimativa da viabilidade polínica do Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) com diferentes métodos de coloração. **Agrarian academy**. 4:236-245, 2017.

R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.Rproject.org/>. 2016.

ROCHA, A. C. B.; OLIARI, L. S.; SIMÃO, L. A.; FRANÇA, J. M.; GILES, J. A. D.; SILVA, W. S.; SCHMILDT, E. R.; SCHMILDT, O. Divergência genética de ciriguela do Norte do Espírito Santo. **Nucleus**. 13:143-152, 2016.

RESENDE, M. D. V.; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. 37:182-194, 2007.

RESENDE, M. D. V. **Software Selegen: REML/BLUP**. Colombo: Embrapa Florestas, 2002. 67p.

RESENDE, M. D. V. **Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007. 362p.

RESENDE, M. D. V.; **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa. 2009. 976p.

RESENDE, M. D. V. **Genética quantitativa e de populações**. Viçosa: Suprema, 2015. 463p.

RESENDE, M. D. V. Software Selegen-REML/BLUP: a useful tool for plant breeding. **Crop Breeding and applied Biotechnology**. 16:330-339, 2016.

RUGGIERO, C. **Estudos sobre floração e polinização do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.)**. Jaboticabal: Faculdade de Medicina Veterinária e Agronomia de Jaboticabal, 1973. 92p. (Tese - Doutorado em Ciências).

SANTOS, B. N. V.; MACEDO, W. A.; MELLO, V. S.; DAMASIO, J. F.; SANTOS, L. C. B.; LEITE, D. M.; KARSBURG, I. V. Estimativa da viabilidade polínica de Cana-de-macaco baseado no uso de 2,3,5 Cloreto de Trifeniltetrazolio. **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB**. 7, 2016.

SPÓSITO, J. C. V.; CRISPIM, B. A.; MUSSURY, R. M.; A. B.; Genetic instability in plants associated with vehicular traffic and climatic variables. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 120:445–448, 2015.

STONE, J. L.; THOMSON J. D.; DENTACOSTA, S. J. Assessment of pollen viability in hand-pollination experiments areview. **American Journal of Botany**. 82:1186–1197, 1995.

TECHIO, V. H.; DAVIDE, L. C.; PEREIRA, A. V. Meiosis in elephant grass (*Pennisetum purpureum*), pearl millet (*Pennisetum glaucum*) (Poaceae, Poales) and their interspecific hybrids. **Genetic and Molecular Biology**. 29:353-362, 2006.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**, Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496p.

ZONTA, J. B.; SOUZA, L. T.; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M. Comparação de metodologias do teste de tetrazólio para sementes de cafeeiro. **Idesia (Arica)**. 27:17-23, 2009.

YADAV, V. K.; KOGJE, K. K. Microsporogenesis, structure and viability of pollen in *Canscora decurrens* Dalzell a potent medicinal plant. **International Journal of Herbal Medicine**. 3:01-04, 2015.

5. CONCLUSÕES GERAIS

O banco ativo de germoplasma da Universidade do Estado de Mato Grosso conserva acessos de *H. psittacorum* e *H. densiflora* promissores para uso em programas de melhoramento genético com base em dados citogenéticos, de IM e viabilidade polínica.

Os acessos estudados apresentam variabilidade para características de grande interesse para o melhoramento de plantas, como alto índice meiótico e viabilidade polínica. Logo, alguns podem ser selecionados para cruzamentos com obtenção de ganhos genéticos.

Os acessos apresentam o mesmo número cromossômico $2n = 24$, com um par de NORs, o que sugere um possível comportamento diploide. As variações citológicas foram observadas quanto ao tamanho cromossômico e morfologia a nível intra e interespecífico. Os cariótipos são constituídos de cromossomos com classificação metacêntrica e submetacêntrica.

Os dados de assimetria cromossômica mostraram que os acessos de *H. densiflora* possuem cariótipo mais simétrico quando comparados aos acessos de *H. psittacorum*.