

FÁBIO RODRIGO ARAÚJO PEREIRA

CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E  
MOLECULAR DE MEIOS IRMÃOS DE *Heliconia bihai* L.,  
*H. chartacea* Lane ex Barreiros e *H. wagneriana* Petersen.

Recife-PE  
2012

FÁBIO RODRIGO ARAÚJO PEREIRA

CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E  
MOLECULAR DE MEIOS IRMÃOS DE *Heliconia bihai* L.,  
*H. chartacea* Lane ex Barreiros e *H. wagneriana* Petersen

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

**COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:**

Professora Dra. Vivian Loges- Orientadora-UFRPE

Professora Dra. Angélica Virgínia Valois Montarroyos- Co-orientadora-UFRPE

Recife - PE  
2012

CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA E  
MOLECULAR DE MEIOS IRMÃOS DE *Heliconia bihai* L.,  
*H. chartacea* Lane ex Barreiros e *H. wagneriana* Petersen

Fábio Rodrigo Araújo Pereira

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 29/02/2012

Orientadora: \_\_\_\_\_

Prof<sup>a</sup>. Dra. Vivian Loges  
Departamento de Agronomia/UFRPE

Examinadores: \_\_\_\_\_

Prof<sup>a</sup>. Dra. Luiza Suely Semen Martins (UFRPE/DB)

\_\_\_\_\_  
Prof<sup>a</sup>. Dra. Angélica Virgínia Valois Montarroyos (UFRPE/DEPA)

\_\_\_\_\_  
Dra. Walma Nogueira Ramos Guimarães (UFRPE/DB)

Recife - PE  
Fevereiro-2012

À Trindade Santa,

Pai, Filho e Espírito Santo, força  
motora da minha vida...

### **OFEREÇO**

### **DEDICO**

Aos meus pais, José Pinto Pereira e Severina Araújo Pereira, pela dedicação, humildade, despojamento em meu favor, sabedoria no ofício, me revelando a face de Cristo em todos os instantes da vida.

## AGRADECIMENTOS

As Instituições Fomentadoras: Universidade Federal Rural de Pernambuco (formação de Mestre), CNPq (concessão da bolsa).

À Dra. Vivian Loges pelo acolhimento e orientação.

À Dra Angélica pela co-orientação, amizade, conversas e confiança. Muito obrigado!

À Walma Nogueira pelas ajudas necessárias.

À querida Sandra Maranhão pela amizade, força, conversas, sempre disposição nas ajudas. Muito obrigado viu! Por onde for levarei você no coração.

Ao corpo docente da Pós-Graduação em Melhoramento Genético de Plantas da UFRPE pela importante contribuição no aperfeiçoamento de minha formação profissional.

Á minha Irmã, Adriana, tesouro que Deus me concedeu e que sempre acreditou em mim, apesar das minhas limitações humanas.

Ao meu irmão Márcio e minha cunhada Cinthya, pela amizade e presença de Deus em minha vida.

A Afonso, pelo companheirismo e amizade.

A minha avó Maria e Tia Socorro pelas orações que me sustentaram longe de casa.

À Mary pelas risadas, choros, orações e fortaleza. Obrigado minha amiga, também levo você no coração por onde eu for!

Às minhas amigas Emília, Aluska e Rúbia Rafaela, pelas palavras, amizade verdadeira e por serem como irmãs, ali juntas nas horas em que mais precisei. Amo vocês de coração.

À Uiara Cavalcante e Morganna Pollyne pela acolhida inicial em Recife, pelas refeições conjuntas, pelas ajudas nos trabalhos da universidade e principalmente pela fé que compartilhamos na superação dos obstáculos.

Aos colegas do laboratório dos laboratórios de Floricultura e Biotecnologia da UFRPE. Em especial a Horace, Fabiana, Renata, Murilo, Júlio, Jocelane, Nívea, Gil, Ítalo e João José pelas brincadeiras, acolhimento, amizade e ajuda.

Aos colegas de turma, Samy, Gaião, Ivanildo, Renata, Pedro, Lela, Tiago, Georgia, Silvany, Kaline, Gemima, Amanda, Paulo, Carliane, Taciana, Kessya, pelo companheirismo durante o curso.

Com carinho, agradeço às “minhas meninas”, Naiara, Lorena, Leokatia, Maiara e Josy, que me ajudaram muito, lavando areia e coletando dados. Saibam que colocarei sempre a vida de vocês no coração de Deus com eterna gratidão.

## RESUMO

As helicônias destacam-se como uma das espécies mais apreciadas pelos consumidores de flores devido sua exotividade, durabilidade pós-colheita e beleza das inflorescências, além de apresentarem brácteas vistosas com cores intensas e contrastantes. O trabalho objetivou caracterizar 15 famílias de meios irmãos de *Heliconia bihai* (HB), *H. chartacea* (HC) e *H. wagneriana* (HW), por marcadores morfoagronômicos e moleculares ISSR. Foram observadas as maiores médias em HC<sub>3</sub>, HB<sub>9</sub> e HW<sub>20</sub> para Número de folhas (NF) e Número de perfilhos (NP). Para Comprimento do limbo (CPL) as maiores médias foram obtidas em HC<sub>4</sub>, HB<sub>9</sub> e HW<sub>20</sub>. HC<sub>8</sub>, HB<sub>9</sub> e HW<sub>20</sub> atingiram as maiores médias para Largura máxima do limbo (LML) e HC<sub>7</sub>, HB<sub>9</sub> e HW<sub>20</sub> para Altura da planta (APL). Considerando-se o erro padrão empregado para os caracteres morfoagronômicos na última avaliação, verificou-se que dentre as famílias de meios irmãos, HB<sub>14</sub> obteve maior valor de NF, HB<sub>9</sub> e HC<sub>4</sub> obtiveram maiores valores de CPL, todas as famílias de *H. bihai* e *H. chartacea* tiveram as melhores médias de LML e para APL não foi registrada diferença entre as famílias. Os caracteres morfoagronômicos possibilitaram a detecção de variabilidade genética entre e dentro de famílias de meios irmãos das espécies de *H. bihai*, *H. chartacea* cv. Sexy Scarlet e *H. wagneriana*. Os oligonucleotídeos utilizados geraram 4023 fragmentos, amplificando de 3 a 7 bandas por *primer*. O produto da análise de similaridade genética com marcadores ISSR mostrou que os genótipos foram agrupados por espécies, sendo HB<sub>11</sub>(5) e HC<sub>5</sub>(8) os mais divergentes, O polimorfismo gerado com os marcadores moleculares ISSR mostrou variabilidade genética entre e dentro de famílias de meios irmãos das espécies de *H. bihai* e *H. chartacea* cv. Sexy Scarlet estudadas, como também detectou a ausência de variabilidade genética dentro da família de meios irmãos dos genótipos de *H. wagneriana*, levando a suposição da elevada taxa de autofecundação na referida espécie.

**Palavras-chave:** Melhoramento genético, diversidade genética, marcadores moleculares, floricultura, flores tropicais.

## ABSTRACT

The heliconias stand out as one of the species most appreciated by consumers due to its exoticity flowers, postharvest durability and beauty of the flowers, and showy bracts present with intense colors and contrasting. The study aimed to characterize 15 half-sib families of *Heliconia bihai* (HB), *H. chartacea* (HC) and *H. Wagneriana* (HW), morphological and molecular markers by ISSR. Obtained higher means in HC<sub>3</sub>, HB<sub>9</sub> and HW<sub>20</sub> for number of leaves (NL) and number of tillers (NP). For the limb length (CPL) the highest averages were obtained in HC<sub>4</sub>, HB<sub>9</sub> and HW<sub>20</sub>. HC<sub>8</sub>, HB<sub>9</sub> HW<sub>20</sub> and reached the highest averages for maximum width of the lamina (LML) and HC<sub>7</sub>, HB<sub>9</sub> and HW<sub>20</sub> for plant height (APL). Considering the standard error for the morphological characteristics used in the last evaluation, it was found that among the half-sib families, HB<sub>14</sub> obtained a higher value of NF, HB<sub>9</sub> and HC<sub>4</sub> obtained higher values of CPL, all the families of *H. bihai* and *H. chartacea* had the best average to LML and APL. There was no difference between families. The morphological characteristics enabled the detection of genetic variability among and within half-sib families of the species *H. bihai*, *H. chartacea* cv. Sexy Scarlet and *H. Wagneriana*. The oligonucleotides used 4023 fragments generated by amplifying 3-7 bands by primer. The product of genetic similarity analysis with ISSR markers showed that the genotypes were grouped by species, and HB<sub>11</sub>(5) and HC<sub>5</sub>(8) the most divergent, polymorphism generated with ISSR markers showed genetic variability between and within families sib species *H. bihai* and *H. chartacea* cv. Sexy Scarlet evaluated, and detected the absence of genetic variability within the family half-sib genotypes of *H. Wagneriana*, leading to the assumption of high rate of selfing in this species.

Key words: breeding, genetic diversity, molecular markers, flowers, tropical flowers.



## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

**Figura 1.** Hábitos de crescimento das helicônias: (A) Musóide; (B) Canóide; (C) Zingiberóide. Adaptado de Abalo (1999) .....05

**Figura 2.** Inflorescência de *Heliconia bihai* L.....10

**Figura 3.** Inflorescência da espécie *Heliconia wagneriana* Petersen.....11

**Figura 4.** Inflorescência da espécie *Heliconia chartacea* Lane ex Barreiros cv. Sexy Scarlet.....12

### CAPÍTULO 2

**Figura 1.** Dendrogramas de similaridade genética, obtido pelo método UPGMA, de meios irmãos das famílias *Heliconia bihai* L.(A), *H. chartacea* Lane ex Barreiros cv. Sexy Scarlet (B) e *H. wagneriana* Petersen (C). Legenda: Lê-se T=HB; SS=HC e W=HW. UFRPE, Recife/PE. 2012 .....30

**Figura 2.** Dendrograma de similaridade genética de meios irmãos e parentais de *Heliconia bihai* L.(HB<sub>x</sub>), *H. chartacea* Lane ex Barreiros cv. Sexy Scarlet (HC<sub>x</sub>) e *H. wagneriana* Petersen (HW), obtidos a partir de marcadores ISSR. UFRPE, Recife/PE. 2012.....32

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 2

- Tabela 1.** Famílias de meios irmãos de *Heliconia bihai* L., *H. chartacea* Lane ex Barreiros cv. Sexy Scarlet e *H. wagneriana* Petersen obtidas por propagação *in vitro* e relação de dos genótipos utilizados na caracterização morfoagronômica e molecular, UFRPE, Recife-PE, 2011.....36
- Tabela 2.** Características morfológicas empregadas na avaliação de meios irmãos de *Heliconia bihai* L., *H. chartacea* Lane ex Barreiros cv. Sexy Scarlet e *H. wagneriana* Petersen. UFRPE, Recife/PE. 2012.....37
- Tabela 3.** Sequências de *primers* ISSR (Inter-simple sequence repeat), temperatura de anelamento e número de ciclos utilizados no estudo de diversidade de genótipos de meios irmãos e parentais de helicônias, UFRPE, Recife/PE. 2012.....38

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	viii
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	ix
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	x
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	01
<b>CAPITULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	03
1. O GÊNERO <i>Heliconia</i> .....	03
2. DESCRIÇÃO BOTÂNICA E MORFOLOGIA DAS HELICÔNIAS.....	04
3. PROPAGAÇÃO DE HELICONIAS.....	06
4. ESPÉCIES DE HELICÔNIAS E O AGRONEGÓCIO DA FLORICULTURA.....	07
4.1 <i>Heliconia bihai</i> L. ....	09
4.2 <i>Heliconia wagneriana</i> Petersen.....	10
4.3 <i>H. chartacea</i> Lane ex Barreiros cv. Sexy Scarlet.....	11
5. CARACTERIZAÇÃO DE HELICÔNIAS.....	12
5.1 Marcadores genéticos.....	13
5.1.1 Marcadores moleculares.....	13
5.1.1.1 Marcadores moleculares ISSR ( <i>Inter Simple Sequence Repeats</i> ).....	14
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15
<b>CAPÍTULO 2 – Caracterização morfoagronômica e molecular por ISSR de meios irmãos de <i>Heliconia bihai</i> L., <i>H. chartacea</i> Lane ex Barreiros e <i>H. wagneriana</i> Petersen.....</b>	<b>22</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>23</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>23</b>
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>24</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>25</b>
Caracterização morfológica.....	26
Caracterização molecular.....	26
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>28</b>

<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	34
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	34
<b>ANEXO</b> .....	39

## INTRODUÇÃO GERAL

---

O gênero *Heliconia* pertencente a ordem Zingiberales, contém cerca de 176 espécies de ocorrência neotropical e seis nas ilhas do Pacífico (CASTRO et al., 2007), sendo registrado em torno de 40 espécies nativas do Brasil (KRESS, 1990b).

As heliconeaceae caracterizam-se como monocotiledôneas, herbáceas e perenes (ALONSO e SOUSA-SILVA, 2009), que possuem rizomas dos quais surgem brotos, pseudocaule e uma única inflorescência terminal ereta ou pendente, com diversidade de forma, tamanho e cor (BERRY e KRESS, 1991). As flores são hermafroditas e polinizadas especialmente por beija-flores. Seus frutos, de cor azulada a violeta quando maduros, contêm sementes rígidas que podem levar de 120 dias à três anos para germinar (MARQUES et al., 2004). São vegetais de reprodução sexuada e assexuada que tem na propagação por meio de rizomas a principal forma de multiplicação com fins comerciais.

O estudo da variabilidade genética e a propagação de helicônias têm sido auxiliado pelo emprego do cultivo de embriões zigóticos, que permite uma propagação rápida, superação da dormência de sementes e propicia a recuperação de plantas livres de doenças (TORRES et al., 2005). Esta forma de propagação também auxilia nos estudos básicos de fisiologia do desenvolvimento do embrião, programas de melhoramento genético e recuperação de híbridos de interesse de cruzamentos incompatíveis (CARVALHO e ARAÚJO, 2007).

Castro et al. (2011), relataram que a *Heliconia bihai*, *H. chartacea* e *H. wagneriana* são as espécies mais utilizados na comercialização como flor de corte. Bem cultivada no país, com cerca de 40 cultivares, a *H. bihai* é tida como uma planta de fácil manuseio, embalagem e transporte, sendo portanto, bem adaptada à comercialização (CASTRO et al., 2007). A *H. wagneriana* caracteriza-se como sazonal tendo a exploração das suas inflorescências entre os meses de janeiro a setembro, com picos de produção de abril a maio (CRILEY, 2000). Semelhante a *H. bihai*, a espécie *H. chartacea* tem seu

florescimento durante todo o ano (MOSCA et al., 2005), permitindo que suas inflorescências pendentes sejam exploradas com facilidade. Apesar destas três espécies já serem amplamente exploradas como flor de corte, elas apresentam ainda, certos caracteres indesejáveis para comercialização e devem, portanto, serem utilizadas em pesquisas de seleção entre e dentro de progênies, a exemplo de meios irmãos, a fim de que o progresso genético dessas espécies seja atingido de forma rápida e que genótipos promissores sejam selecionados para integrarem programas de melhoramento genético vegetal ou de hibridação, como também serem recomendados aos agricultores.

Guimarães (2011), afirma que os marcadores morfológicos vem sendo empregados no processo de caracterização de germoplasma de helicônias e que a geração de um determinado banco de dados possibilita o armazenamento e manejo de informações geradas ao longo de trabalhos desenvolvidos com germoplasma destes bancos e coleções. Além destes, os marcadores moleculares de DNA têm sido aplicados nos mais variados campos do estudo genético de espécies cultivadas, como por exemplo, em análises de diversidade genética (REZENDE et al., 2009), caracterização e variabilidade genética (MARQUES et al., 2004; GUIMARÃES, 2011; GUTIERREZ et al., 2011) e estudos de filogenia (MARQUELLI, 2009), com a vantagem de que as análises podem ser efetuadas com amostra da planta em qualquer período do seu desenvolvimento.

O presente trabalho teve como objetivo determinar a variabilidade genética existente entre e dentro de famílias de meios irmãos das espécies de *H. bihai*, *H. chartacea* cv. Sexy Scarlet e *H. wagneriana* obtidas a partir do cultivo *in vitro*, por meio de marcadores morfoagronômicos e moleculares do tipo ISSR.

## CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

---

### 1. O GÊNERO *Heliconia*

Lineu, em 1771, estabeleceu o nome do gênero em alusão ao Monte Helicon da cidade grega de Beócia. O gênero *Heliconia* era incluído na família das Musaceae, porém, por apresentar características próprias e baseando-se em caracteres como flores invertidas, estigma captado, um óvulo por lóculo e sementes sem arilo, foi criada uma nova família, a Heliconiaceae, na qual o gênero *Heliconia* é o único representante (BERRY e KRESS, 1991).

O gênero *Heliconia*, pertencente a ordem Zingiberales, apresenta de 200 a 250 espécies de ocorrência neotropical (KRESS, 1990a; ANDERSSON, 1998), com grande distribuição nas Américas Central e do Sul e um grupo paleotropical contendo cerca de seis espécies, encontradas nas ilhas do Pacífico Sul (KRESS, 1990a; ANDERSSON, 1998), que pertencem ao subgênero *Heliconiopsis*. Castro et al. (2007), ao realizarem revisão sobre o gênero, estipularam 182 espécies de helicônias, com 176 de ocorrência neotropical e seis nas ilhas do Pacífico. A Colômbia foi a região de maior número de espécies descritas (94), seguido pelo Equador (60), Panamá (56), Costa Rica (47), Brasil (37), Peru (32), Venezuela (26), Nicarágua (22), Guatemala (16), Bolívia (15), Honduras e México com 14 e Suriname (13).

No Brasil, há em torno de 40 espécies de helicônias nativas, e a região da floresta atlântica costeira, cujo índice endêmico de helicônias é elevado, em conjunto com a bacia do rio Amazonas, correspondem às primeiras áreas de distribuição do país (KRESS, 1990b). São denominadas popularmente de bananeira de jardim, bananeirinha de jardim, bico de guará, falsa ave do paraíso e paquevira (CASTRO, 1995). Também são conhecidas como banana-do-mato, banana de macaco, caetê, pássaro-de-fogo, pacová, (MOSCA et al., 2005) e pacó uvávú (MELLO FILHO e SANTOS, 1977).

Primariamente, Griggs utilizando critérios como hábito e tamanho do vegetal, orientação da inflorescência e morfologia das brácteas (ANDERSSON, 1992; KRESS et al., 1999), classificou o gênero *Heliconia* em dois subgêneros

(*Platyklamys* e *Stenochlamys*) e seis taxas. Posteriormente, uma nova classificação foi definida por Andersson (1985), onde foram considerados quatro subgêneros: *Heliconia* (*Platyklamys* Baker); *Taeniostrabus* (Kuntze) Griggs; *Stenochlamys* Baker; *Griggsia* L. Anders., 19 secções e grupos de espécies vegetais melhor definidas. Nesta classificação, a bráctea cimbfórmica ou lanceolado-conduplicada, foi um dos caracteres importantes na separação dos quatro subgêneros. Hoje, o gênero contém cinco subgêneros, *Taeniosrobis* (Kuntze) Griggs; *Heliconia*, *Stenochlamys* Baker; *Griggsia* L. Anders.; e *Heliconiopsis* (Miq.) Kress. (KRESS, 1990b; ANDERSSON, 1992).

O gênero *Heliconia* agrupa vegetais que ocorrem em altitudes de 0 a 2.000m desenvolvendo-se em locais sombreados e a pleno sol, variando de acordo com a espécie e distribuindo-se predominantemente nas bordas das florestas e matas ciliares e clareiras ocupadas por vegetação pioneira, com poucos registros em campos, matas de galeria ou pântanos (CASTRO, 1995). Podem ainda, desenvolver-se até em áreas secas, em função da sazonalidade (ALONSO e SOUSA-SILVA, 2009). Em habitat de campo aberto, caracterizado por alta irradiação solar, as helicônias podem apresentar mais de seis metros de altura e formam densos agrupamentos com 50 perfilhos ou mais (RUNDEL et al., 1998).

Castro e Graziano (1997) destacaram a existência de vários fatores que tornam a identificação das espécies de helicônias dificultada, como, por exemplo, a ampla distribuição geográfica; grande número de espécies e dificuldade de coleta e preservação de inflorescências. No entanto, com a criação da *Heliconia Society International* e mais atualmente com a visão do potencial econômico e ornamental em projetos paisagísticos e em arranjos florais, vários incentivos para pesquisas com este gênero vêm sendo gerados (TERAO et al., 2005) e irá favorecer a identificação de espécies e híbridos de helicônias.

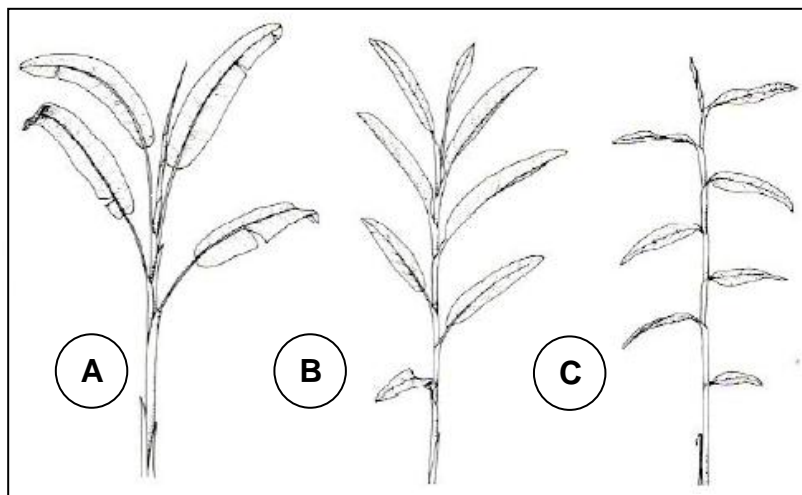
## 2. DESCRIÇÃO BOTÂNICA E MORFOLOGIA DAS HELICÔNIAS

As helicônias são monocotiledôneas, herbáceas, perenes e rizomatosas que apresentam porte ereto, com 0,5m a 10m de altura dependendo da



espécie (ALONSO e SOUSA-SILVA, 2009; CASTRO, 1995). Seus rizomas emitem brotações à superfície que podem se apresentar afastados ou próximos ao pseudocaule da planta que o deu origem (COSTA, 2005; COSTA et al., 2009a e 2009b). Esse pseudocaule possui folhas e uma única inflorescência terminal que pode ser ereta ou pendente contendo brácteas arranjadas disticamente ou em espiral e que variam em forma, tamanho e cor (BERRY e KRESS, 1991).

As folhas geralmente verdes, contendo ou não cera na face abaxial, apresentam-se opostas e distribuídas em duas fileiras (dísticas), com longa bainha basal e pecíolo longo e expandido, podendo apresentar três diferentes hábitos de crescimentos (Figura 1): a) Musóide: folhas com pecíolos grandes, em posição vertical, tomando a aparência de musaceae; b) Canóide: folhas com pecíolos curtos e médios, disposição oblíqua e aparência com plantas dos gêneros *Canna* e *Alpinia*; c) Zingiberóide: folhas com pecíolo curto, disposição mais horizontal, tomando a aparência de gengibre (ABALO, 1999). De acordo com Pancoast (1991), espécies como *H. chartacea*, *H. platystachys* e *H. spissa*, possuem o limbo foliar rasgado naturalmente.



**Figura 1.** Hábitos de crescimento das helicônias: (A) Musóide; (B) Canóide; (C) Zingiberóide. Adaptado de Abalo, 1999.

Segundo Berry e Kress (1991), suas flores hermafroditas, tubulares longas, com glândulas de néctar bem desenvolvidas possuem cor variável de amarelo a branco, contendo seis estames, dos quais, cinco são férteis e um modificado em estaminóide estéril. A polinização se dá principalmente por meio

de beija-flores e morcegos. Os beija-flores são atraídos especialmente pela coloração das brácteas transferindo então o pólen de uma planta para outra, realizando a polinização cruzada. Comprimento e curvatura da flor geralmente determinam quais são as espécies de beija-flor que podem polinizá-las (DOORN, 1999).

Os frutos são drupas, indeiscentes com endocarpo lignificado, amarelos ou verdes quando imaturos e, alaranjados, vermelhos ou de coloração azul escura a violeta quando maduros (KRESS e ROESEL, 1987; CASTRO, 1995), que abrigam em torno de três sementes, com aproximadamente 1,5 cm de diâmetro cada uma (DANIELS e STILES, 1979). As sementes são dispersas por pássaros, roedores, e esquilos que utilizam a polpa dos frutos como alimento (ABALO, 1999).

### **3. PROPAGAÇÃO DE HELICÔNIAS**

As helicônias apresentam um elevado crescimento vegetativo formando, com facilidade, touceiras grandes de população monoclonal com crescimento simpodial, ou seja, com emissão de brotos laterais (CRILEY e BROCHAT, 1992). A propagação desses vegetais, pode se dar tanto por sementes quanto por rizomas.

A propagação via rizomas é a forma mais utilizada na produção comercial das helicônias para flor de corte, porém este tipo de propagação vegetativa muitas vezes pode conduzir à disseminação e acúmulo de agentes causadores de doenças que são transmitidas e disseminadas entres os plantios por meio de rizomas contaminados (TORRES et al., 2005).

A reprodução sexuada embora seja uma das principais formas de se obter a variabilidade genética, nas helicônias, é um evento bem limitado mesmo havendo a polinização e fertilização, haja vista que, as sementes contidas nos frutos são revestidas por um endocarpo rígido. Isso dificulta o processo de germinação que pode atingir o período de 120 dias à três anos para acontecer, como também os embriões contidos nessas sementes podem não estar desenvolvidos ou pouco desenvolvidos, o que leva a não germinação (MARQUES et al., 2004). Salienta-se que a partir da variabilidade

genética gerada por esta forma de propagação, plantas mais adequadas à comercialização e com características diferenciadas e que atendam ao mercado, possam ser selecionadas através da seleção massal de indivíduos.

A técnica de resgate de embriões tem sido empregada no cultivo de helicônias e vem contribuindo para resolver algumas restrições, como o longo período necessário para a germinação das sementes (TORES et al., 2005).

Por serem constituídos de tecidos com elevada totipotência, o emprego da técnica de cultivo de embriões zigóticos permite uma propagação rápida do vegetal, superação da dormência das sementes e propicia a recuperação de plantas livres de doenças (TORRES et al., 2005), além disso, auxilia nos estudos básicos de fisiologia do desenvolvimento do embrião, programas de melhoramento genético e recuperação de híbridos de interesse de cruzamentos incompatíveis. Pode-se também citar como vantagens no cultivo de embrião a obtenção de informações precoces sobre o fenótipo, auxiliando a escolha de genótipos para cruzamentos e a consequente obtenção de populações segregantes com características desejáveis (FERREIRA et al., 1990; ULISSES et al., 2010).

#### **4. ESPÉCIES DE HELICÔNIAS E O AGRONEGÓCIO DA FLORICULTURA**

A floricultura brasileira vem apresentando notável desenvolvimento, com a produção se destacando em crescimento e diversidade, capaz de atingir novas regiões de cultivo no país (JUNQUEIRA e PEETZ, 2011). É um setor que vem apresentando-se com grande importância econômica e social, por proporcionar o desenvolvimento da agricultura familiar, fixando mão-de-obra no campo, diversificando a produção e gerando emprego e renda.

Corresponde ao cultivo de plantas ornamentais, plantas em vaso, produção de sementes, bulbos, mudas de árvores de grande porte, flores de corte (PEREIRA et al., 2006) e flores secas (COSTA, 2003), sendo uma das melhores alternativas para investimento agrícola segundo Santos et al. (2006), pois demanda pouca área e o ciclo de produção é geralmente curto, dando

rápido retorno do capital investido. No entanto, é um setor bastante competitivo que exige tecnologias avançadas, conhecimento técnico por parte do produtor, sistema eficaz de distribuição e comercialização (MATSUNAGA, 1995; PEREIRA et al., 2006) e investimentos em pesquisas a fim de que novas variedades sejam geradas com maior potencial produtivo, características mais atrativas, bem como ausência de fatores fenotípicos que torne a comercialização limitada ou inviável.

No Brasil a produção está dividida em flores de corte, flores de vaso, sementes, plantas de interiores, plantas de paisagismo e folhagens (BATALHA e BUAINAIN, 2007), ocorrendo principalmente nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Alagoas, Pernambuco, Bahia, Ceará, Rio Grande do Sul e Santa Catarina. A região sudeste, apresenta-se como a de maior produção e consumo dos produtos da floricultura, no entanto, o Norte e Nordeste apresentam-se como sendo as regiões de maior potencial de expansão do setor florícola, nessa ordem, devido às condições favoráveis de clima e solo (BATALHA e BUAINAIN, 2007).

Das 200 espécies de flores mais cultivadas no território brasileiro, cerca de 166 são consideradas tropicais (CARLINI JUNIOR, 2003). De acordo com Loges et al. (2005), características como durabilidade, beleza, diversidade de cores e formatos, foi o que levou às flores tropicais a ter grande aceitação pelo mercado consumidor e elevado potencial de crescimento no mercado nacional e internacional. Nesse contexto, as helicônias aparecem como uma das espécies mais cultivadas pelos produtores e bem apreciadas pelos consumidores (LOGES et al., 2007), contendo brácteas vistosas de cores intensas e contrastantes (CASTRO et al., 2007). São vegetais cultivados principalmente nos Estados de Pernambuco, Alagoas, Ceará, Bahia, Sergipe, Pará, Amazonas, Rio de Janeiro, São Paulo e no Distrito Federal (JUNQUEIRA e PEETZ, 2005).

Com investimentos no setor, o Estado de Pernambuco apresentou um desenvolvimento significativo não apenas em produção, mas também em pesquisas e exportação de espécies de flores de corte das famílias Heliconiaceae, Zingiberaceae, Costaceae e Araceae, além de espécies com

folhagens de corte (MEDEIROS et al., 2009; CASTRO, 2010). Segundo Castro et al., (2011), dentre as espécies e híbridos mais utilizados na comercialização como flor de corte no Brasil estão: *H. bihai*, *H. chartaceae*, *H. wagneriana*, *H. acuminata*, *H. angusta*, *H. auriculata*, , *H. caribaea*, *H. hirsuta*, *H. latispatha*, *H. marginata*, *H. orthotricha*, *H. pendula*, *H. psittacorum*, *H. rostrata*, *H. stricta*, *H. velerigera*, , *H. xanthovillosa*, e os híbridos *H. psittacorum* x *H. spathocircinata* ‘Golden Torch’, ‘Golden Torch Adrian’, ‘Alan Carle’, *H. caribaea* x *H. bihai* ‘Carib Flame’, Jacquinii’, ‘Richmond Red’.

#### 4.1 *Heliconia bihai* L.

A *H. bihai* L. apresenta inflorescências eretas em um único plano, longas, com brácteas rijas, dispostas em um mesmo plano, de coloração vermelho à alaranjada e com tons de verdes em faixas na margem em direção ao ápice em parte do dorso (Figura 2), com frutos brancos que quando maduros apresentam coloração azulada (GUIMARÃES, 2011, PAIVA, 1998). Apresenta hábito musóide, com 2,0 a 5,0 metros de altura, com ocorrência natural do nível do mar a 1.500 metros no norte do país, nos Estado do Pará, Amazonas, Amapá e Roraima, em margens de rios de florestas úmidas, em clareiras e mesmo na vegetação secundária (CASTRO et al., 2011). Tem seu florescimento natural entre os meses de outubro e fevereiro (ANDERSSON, 1981).

Castro et al.(2007) ressaltam que a *H. bihai* é uma das espécie mais cultivada no país, sendo tido como espécie de fácil manuseio, embalagem e transporte,cujas inflorescências resistentes ao transporte possuem rigidez na haste e longevidade, sendo portanto uma das espécies mais bem adaptadas à comercialização com cerca de 40 cultivares. Embora as inflorescências de *H. Bihai* apresentem beleza exuberante que refletem no seu valor comercial, suas brácteas permitem o acúmulo de água, exsudados e partes florais, que formam um micro-habitat ideal para presença de insetos, o que acaba sendo um fator limitante para comercialização das mesmas. (BERRY e KRESS, 1991; OLIVEIRA et al., 2010).



**Figura 2.** Inflorescência de *Heliconia bihai* L.

#### **4.2 *Heliconia wagneriana* Petersen**

De origem da América Central, Colômbia e possivelmente da Amazônia brasileira, a *H. wagneriana* Petersen é classificada como arbusto, herbáceo, rizomatoso, entouceirada, capaz de atingir de 1,5 a 3,0 m de altura. São plantas de dias curtos (CRILEY, 2000), com florescimento dando-se de janeiro a setembro com picos de produção de abril a maio (MOSCA et al., 2005).

Suas inflorescências são exploradas comercialmente, apresentando-se eretas com brácteas em número de seis a vinte com mancha vermelho-clara lateral, quilha e ponta verdes e área da base amarela, haste vermelha e sépalas com coloração verde-escura e branca na parte posterior (MOSCA et al., 2005). A sazonalidade da espécie permite o planejamento comercial quanto a obtenção das hastes florais por parte dos produtores.

Com isso, estes podem manter uma diversidade de genótipos em sua área de cultivo comercial, segundo os picos de produção das espécies em diferentes partes do ano, respondendo então, de forma positiva à comercialização e evitando problemas de instabilidade de produção como é relatado por Pizano (2005).

Mesmo estando dentre as espécies mais exploradas para cultivo comercial, a *H. wagneriana* apresenta características desfavoráveis ao comércio de suas hastes. As inflorescências classificadas como grandes ou muito grandes, indicam um alto grau de dificuldade para o manuseio, preparo, embalagem e o transporte (CASTRO et al., 2007).



**Figura 3.** Inflorescência da espécie *Heliconia wagneriana* Petersen.

#### **4.3 *Heliconia chartacea* Lane ex Barreiros cv. Sexy Scarlet**

Plantas de origem das Guianas e região Amazônica a *H. chartacea* cv. Sexy Scarlet, tem hábito de crescimento do tipo musóide, apresenta de 4,5 a 6 m altura; folhas com pecíolo 26 a 55 cm de comprimento, lâmina 85-130 x 24-32 cm e inflorescências longas e pendentes (Figura 4) com brácteas escarlates em número de 4 a 28 contendo faixa estreita verde claro e flores verdes (ARRUDA et al., 2008). Ocorre naturalmente em altitudes de 100 a 800 metros, nos Estados do Amazonas e Pará, em locais semi abertos de florestas pluviais tropicais (CASTRO et al., 2011). Seu florescimento ocorre durante todo o ano, se desenvolvem com 50% de sombra até completa exposição ao sol (MOSCA et al., 2005).

Embora seja uma espécie bastante valorizada comercialmente, a *H. chartacea* cv. Sexy Scarlet apresenta grande intensidade de cera nas brácteas, caráter negativo do ponto de vista comercial. Também é ressaltado por Castro et al. (2007) que, essa espécie apresenta restrições quanto ao embalagem, que deve ser individual, a proteção das brácteas, tamanho e ao transporte, que quando é feito em maço provoca ruptura do eixo, queda de brácteas e atrito entre inflorescências resultando na minimização da qualidade do produto.



**Figura 4.** . Inflorescência da espécie *Heliconia chartacea* Lane ex Barreiros cv. Sexy Scarlet

## 5. CARACTERIZAÇÃO DE HELICÔNIAS

No planejamento de um programa de melhoramento genético dois fatores são fundamentais, primeiro a seleção dos genitores, segundo, os mecanismos de herança dos caracteres a serem selecionados (BERED et al., 1997). A caracterização e conhecimento da variabilidade genética existente são de fundamental importância para seleção e escolha dos genitores.

Silva et al., (1999), afirmaram que as etapas de caracterização e avaliação são fundamentais à classificação e à utilização do germoplasma, pois possibilitam a identificação de cultivares promissoras, sendo passíveis de serem empregadas nos programas de melhoramento genético ou para que sejam recomendadas aos produtores.

Guimarães (2011), afirma que marcadores morfológicos vêm sendo empregados no processo de caracterização de germoplasma de helicônias, e que esta caracterização consiste em fornecer uma identidade para cada acesso por meio do conhecimento de dados capazes de analisar a variabilidade genética de cada amostra, constituindo uma etapa fundamental para o efetivo uso dos recursos genéticos conservados em bancos de germoplasma, propiciando o uso dos mesmos em programas de melhoramento.

Um bom descritor deve possibilitar a diferenciação entre indivíduos de



uma mesma cultura, ambientalmente estável, mono ou oligogênico e de acessível manipulação pelo melhorista (HOWES, 1981; CHAPMAN, 1989). Estudos em helicônias, a partir de avaliações por descritores morfoagronômicos, tem sido conduzido na Coleção de Germoplasma de Helicônias da UFRPE desde 2003 (CASTRO et al., 2007; LOGES et al., 2007; COSTA et al., 2009a; COSTA et al., 2009b; ROCHA et al., 2010; CASTRO et al., 2011; LOGES et al., 2011; GUIMARÃES, 2011) visando detectar variabilidade genética.

## **5.1 MARCADORES GENÉTICOS**

São caracteres qualitativos, com herança mendeliana simples, facilmente reconhecidos, cuja expressão não é influenciada pelo ambiente e que podem ser empregados para avaliar diferenças genéticas entre dois ou mais indivíduos (FREITAS e BERED, 2003; BORÉM e CAIXETA, 2009). Dos quatro tipos de marcadores utilizados em plantas, destacamos os marcadores morfológicos, que controlam a morfologia da planta, porém, seu emprego depende do desenvolvimento do vegetal ou da expressão gênica, que está sujeita às variações do ambiente, e os marcadores moleculares, que vem sendo utilizados para estimar a diversidade genética, facilitar a seleção genotípica, identificar germoplasma, construir mapas genéticos e obter informações sobre a estrutura das características quantitativas (ALMEIDA, 2007).

### **5.1.1 MARCADORES MOLECULARES**

Os marcadores moleculares podem ser definidos como todo e qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso, ou de um segmento específico de DNA, o qual pode corresponder a uma região expressa do genoma ou não (WUNSCH e HORMAZA, 2007; BORÉM e CAIXETA, 2009).

Essa ferramenta da biotecnologia permite a obtenção de um grande número de marcas moleculares com herança dominante ou codominante, e com ampla cobertura genômica. A tendência geral da utilização de marcadores

moleculares no melhoramento de plantas é a integração destes com as técnicas clássicas de melhoramento, levando em consideração as vantagens e limitações de cada uma dessas técnicas. Assim, se um determinado marcador, de fácil identificação fenotípica, estiver fisicamente ligado à pequena distância de um gene que controla um caráter de interesse agrônomico, a seleção deste marcador resulta na seleção indireta do gene de interesse (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998; OLIVEIRA et al., 2007).

Em helicônias, o uso de marcadores moleculares, vem favorecer a detecção da variabilidade no início do desenvolvimento da planta de forma rápida, já que para se obter a variabilidade genética destas espécies em campo, barreiras como rigidez do endocarpo das sementes e o tempo para identificação do híbrido e a variabilidade resultante do cruzamento, são enfrentadas (MARQUES et al., 2004).

De forma geral os marcadores moleculares têm sido utilizados nos mais variados campos do estudo genético de espécies cultivadas, como por exemplo, no estudo de diversidade genética em plantas ornamentais (REZENDE et al., 2009), caracterização e variabilidade genética (GOWDA et al., 2012; GUIMARÃES, 2011; GUTIERREZ, 2011; MAROUELLI et al., 2010 ; MARQUES et al., 2004) e estudos de filogenia (MAROUELLI, 2009).

#### **5.1.1.1 MARCADORES MOLECULARES ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*)**

Os *Inter Simple Sequence Repeats* ou simplesmente ISSR, tem sido uma das técnicas moleculares que vem sendo amplamente utilizada para estudos de variabilidade genética (MORAES FILHO et al., 2011). Concebido pela primeira vez por Zietkiewicz et al., (1994), baseia-se na amplificação de fragmentos de DNA presentes em uma distância amplificável entre dois microssatélites idênticos repetidos, orientados em direções opostas (REDDY et al., 2002). Os ISSR permitem a detecção de polimorfismos em *locus* localizados entre os microssatélites simples repetidas como “*primers*” (ZIETKIEWICZ et al., 1994). Estes marcadores não exigem informações prévias de sequências de DNA da espécie-alvo e quando comparados com

outros tipos de marcadores moleculares baseados em PCR, produzem fragmentos com grande reprodutibilidade (WOLFE e LISTON, 1998), além disso, exigem pouca infraestrutura laboratorial (SOUZA et al., 2008).

Assim sendo, os marcadores ISSR combinam as vantagens dos marcadores AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) e SSR (Simple Sequence Repeat) com a universalidade dos marcadores RAPD. Como desvantagem, os ISSR são marcadores dominantes como os RAPD e AFLP (BORÉM e CAIXETA, 2009).

Diante do exposto, marcadores ISSR aparecem como sendo de importância significativa no estudo da variabilidade genética em helicônias, porque além de ser uma técnica simples e de baixo custo, é informativa por apresentar maior especificidade e não requer conhecimento preliminar para desenho de *primers* (SALIMATH et al., 1995), além de possuir alta reprodutibilidade e gerar altos índices de polimorfismo (REDDY et al., 2002; MORAES FILHO et al., 2011).

Em plantas ornamentais e especialmente na ordem Zingiberales, família heliconiaceae, os marcadores ISSR tem sido usados, por exemplo, na caracterização e estudos filogenéticos, análise de diversidade genética (MONTES et al., 2011), divergência e similaridade genética, dentre outras.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ALMEIDA, V.C. **Caracterização genética e *in situ* de *Gossypium barbadense* na região norte do Brasil**. 2007.67f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

ALONSO, A. M.; SOUSA-SILVA, J. C. **Heliconia angusta Vell.: caracterização de uma planta ornamental para cultivo no Cerrado**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2009. 24 p. (Embrapa Cerrado. Documentos, 272).

ANDERSSON, L. Heliconiaceae. In: K. Kubitzki (ed.). **The Families and Genera of Vascular Plants. IV. Flowering Plants. Monocotyledons**.

**Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae).** Berlin: Springer Verlag, p. 226-230,1998.

ANDERSSON, L. Revision of *Heliconia* subgen. *Taeniostrobos* and subgen. *Heliconia* (Musaceae-Heliconioideae). **Opera Botanic**, Bélgica, v.111, p.1-98, 1992.

ANDERSSON, L. Revision of *Heliconia* subgen. *Stenochlamys* (Musaceae-Heliconioideae). **Opera Botanic**, Bélgica, v.82, p.5-123, 1985.

ANDERSSON, L. Revision of *Heliconia* sect. *Heliconia* (Musaceae). **Nordic Journal of Botany**, Lund, v. 1, n.6, p. 759-786. 1981.

ARRUDA, R. et al. Helicônias da Reserva Extrativista do Baixo Juruá: potencial econômico para comunidades amazônicas. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 38, n. 4, p. 611 – 616, 2008.

BATALHA, M.O.; BUAINAIN, A.M. Cadeias Produtivas de Flores e Mel. **Serie Agronegocios**, v. 9. MAPA/SPA/IICA, 2007. 142p.

BERRY, F.; KRESS, W.J. *Heliconia: An Identification Guide*. Washington: **Smithsonian Institution Press**, 1991. 334 p.

BERED, F.; BARBOSA NETO, J. F.; CARVALHO, F. I. F. de. Marcadores moleculares e sua aplicação no melhoramento genético de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.27, n.3, p. 513-520, 1997.

BORÉM, A. ; CAIXETA, E.T. **Marcadores moleculares**. 2ª. Ed. UFV – Viçosa, 2009. 532p.

CARVALHO, J. M. F. C.; ARAÚJO, S. de S. **Aplicação do cultivo de embrião zigótico ou imaturo, no melhoramento vegetal**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2007. 35 p. (Documentos, 170).

CASTRO, C. E. F. et al. Heliconias brasileiras: características, ocorrência e usos. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**.Campinas, v. 17, p. 5-24, 2011.

CASTRO, C.E.F. **Zingiberales ornamentais: diversificando a floricultura tropical**. Horticultura Brasileira (Impresso), v. 28, p. capa-capá, 2010.

CASTRO, C.E.F; MAY, A.; GONÇALVES, C. Atualização da nomenclatura de espécies do gênero *Heliconia* (Heliconiaceae). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. Campinas, v.13, n.1, p.38-62, 2007a.

CASTRO, C.E.F. ; MAY, A.; GONÇALVES, C. Espécies de helicônias como flores de corte. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.12, n.2, p.87-96, 2007b.

CASTRO, C. E. F. **Helicônia para exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília: EMBRAPA, 1995, 43 p.

CASTRO, C. E. F.; GRAZIANO, T. T. Espécies do gênero *Heliconia* (Heliconiaceae) no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 3, n. 2, p. 15-18, 1997.

CHAPMAN, C. **Principes of germplasm evaluation**. In: STALKER, H. T.; CHAPMAN, C. Scientific management of germoplasm: characterization, evaluation and enhancement. Rome: IBPGR, p.55-63. 1989.

COSTA, A.S. et al. Heliconia Genotypes under Partial Shade: I. Shooting and Blooming. **Acta Horticulturae**. v.813, p.171-176, 2009a.

COSTA, A.S.; LOGES, V.; CASTRO, A.C.R.; GUIMARÃES, W.N.R.; NOGUEIRA, L.C. Heliconia Genotypes Under Partial Shade: II. Evaluation of Flowering Stems. **Acta Horticulturae**. v.813, p.171-176, 2009b.

COSTA, A. S. **Características agronômicas e genéticas de helicônias na Zona da Mata de Pernambuco**. 2005. 80p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

COSTA, M. P. B **Uma análise dos fatores determinantes da competitividade do setor de flores no estado do Ceará**. 2003. 210 p. Dissertação (Mestrado em Negócios Internacionais) – Universidade de Fortaleza, Fortaleza.

CRILEY R.A. Seasonal Flowering Patterns For Heliconia Shown By Grower Records. **Acta Horticulturae**, v. 541, p.159-165. 2000.

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

DANIELS, G.S.; STILES, F.G. The heliconia taxa of Costa Rica keys and descriptions. **Brenesia**, San Jose, v.15, n.1, 150p. 1979.

DOORN, W.G.V. Water relations of cut flowers. II. Some species of tropical provenance. **Acta Horticulturae**, v.482, p.65-69, 1999.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3ªed. Embrapa: Brasília, p. 37, 56, 57, 84, 121-124, 1998.

FERREIRA, A. G.; HU, C. Y.; SANTAREM, E. R. **Somatic embryogenesis of soybean (*Glycine max* (L.) Merril), Brazilian cultivars ivorá and IAS-5**. Phytan, v. 51, pp. 139-144, 1990.

PEREIRA, F.R.A. Caracterização morfoagronômica e molecular de meios irmãos de *Heliconia bihai* L., *H. chartacea* Lane ex Barreiros e *H. wagneriana* Petersen.

FREITAS, L. B.; BERED, F. **Genética e Evolução Vegetal**. 1ª ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, p.311-325, 329, 330, 2003.

GOWDA; V.; ERICKSON, D. L.; KRESS, W. J.. Development and characterization of microsatellite loci for two Caribbean *Heliconia* (*Heliconiaceae*: *H. bihai* and *H. caribaea*). **American Journal of Botany**, v.99. pp.81-83, 2012.

GUIMARÃES, W. N. R. **Marcadores moleculares e descritores qualitativos na caracterização de espécies de *Heliconia*** (*Heliconiaceae*). 2011.127p. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Recife.

GUTIERREZ, F. et al. Caracterización molecular de *Heliconia* sp. Utilizando la técnica RAPD. **Revista Eciperú**, v.8, n.2, 2011.

HOWES, C. Guidelines for developing descriptors lists. **Plant Genetic Resources Newsletter**, Rome, n.45, p.26-32, 1981.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. **Análise conjuntural do comércio exterior da floricultura brasileira**. Disponível em: <<http://www.hortica.com.br/news.php>>. Acesso em: 05/07/2012.

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

JUNIOR, REGINALDO J. C.; FILHO, WALDECK L. **Produção de flores tropicais em Pernambuco: uma nova alternativa de diversificação após a crise da agroindústria canavieira**. Recife, 2003.

KRESS, W.J.; BETANCUR, J.; ECHEVERRY, B. **Heliconias- Llamaradas de La selva colombiana**. Cristina Uribe Editores, Bogota, 200p. 1999.

KRESS, W.J. **The phylogeny and classification of the Zingiberales**. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v. 77, n.4, p. 698-721, 1990a.

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

KRESS, W.J.; ROESEL, C. Seed germination trials in *H. stricta* cv. Jamaica. *Bulletin Heliconia Society International*, FL. Lauderdale, USA, v.2, n.2, p.6-7, 1987.

LOGES, V. et al. Agronomic traits of *Heliconia* for cut flowers use and molecular markers. **Acta Horticulturae**, 2011.

PEREIRA, F.R.A. Caracterização morfoagronômica e molecular de meios irmãos de *Heliconia bihai* L., *H. chartacea* Lane ex Barreiros e *H. wagneriana* Petersen.

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

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

MARQUELLI, L.P. et al. Genetic relationships among *Heliconia* (Heliconiaceae) species based on RAPD markers. **Genetics and Molecular Research**, v.9, n.3, pp. 1377-1387, 2010.

MARQUELLI, L.P. **Análise Filogenética de acessos do gênero *Heliconia* L. (Heliconiaceae) utilizando marcadores moleculares.** 2009. p.88. Dissertação (Mestrado)- Universidade de Brasília, Brasília.

MARQUES, J.M. et al. Estudos da variabilidade genética entre indivíduos de populações de *Heliconia bihai* e *Heliconia rostrata*. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, Embrapa, Brasília, n. 69, 2004, 15p.

MATSUNAGA, M.. Potencial da floricultura brasileira. **Agroanalysis**, v.15, pp.56-57, 1995.

MEDEIROS, S. R. R. et al. Potencial agroclimático para a *Alpinia purpurata*, no Estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, v.13, n.2, p.165–169, 2009.

MELLO FILHO, L. M.; SANTOS, E. Novas considerações sobre o gênero *Heliconia* L. na Flora Fluminense: comentários à margem da edição de J. M. da Conceição Velloso – Plantas Fluminenses. **Bradea**, v. 2, n. 23, p. 159-164, 1977.

MONTES, P. S.; FORNONI, J.; FARFÁN, J. N. Conservation Genetics of the Endemic Mexican *Heliconia uxpanapensis* in the Los Tuxtlas Tropical Rain Forest. **Biotropica**, v. 43, n. 1, pp.114-121, 2011.

MORAES FILHO, R. M. et al. Variabilidade genética em genótipos da coleção de germoplasma de *Citrus*, do Instituto Agronômico de Pernambuco Brejão-PE, por meio de marcadores moleculares ISSR. **Citrus Research e Technology**, v.32, n.2, p.67 - 76, 2011.

MOSCA, J. L. et al. **Helicônia: Descrição, Colheita e Pós-Colheita.** Fortaleza-CE: Embrapa Agroindústria Tropical, 1ª Ed, 2005, 33p.

OLIVEIRA, T. R. S. DE; SENA, D. C. DE A.; LOGES, V.; CAMARA, C.A. G. DA); REIS, A. C. Insetos (Arthropoda, Insecta) em inflorescências de *Heliconia bihai* (L.) L. (Heliconiaceae). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 16, n.2, 2010, p. 174-178.

PEREIRA, F.R.A. Caracterização morfoagronômica e molecular de meios irmãos de *Heliconia bihai* L., *H. chartacea* Lane ex Barreiros e *H. wagneriana* Petersen.

OLIVEIRA, A. C. B.; CAIXETA, E. T.; ZAMBOLIM, E. M.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N. S. Aplicação técnica de marcadores moleculares no melhoramento de plantas. Campinas: Instituto Agronômico, 2007. 17p. (**Documentos IAC, 81**).

PAIVA, W.O. **Cultura de helicônias**. Fortaleza, EMBRAPA-CNPAT (Circular técnica, 2), 1998.

PANCOAST, L. **Heliconias in ornamental design**. p. 314-320. In: BERRY, F.; KRESS W.J. *Heliconia: An identification guide*. Smithsonian Institution Press. Washington and London, 334p. 1991.

PEREIRA, C. M. M. A.; MELO, M. R.; DIAS, P. B. Cadeia de produção de rosas na região de Barbacena, Estado de Minas Gerais. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 36, n. 7, p. 22-31, jul. 2006.

PIZANO, M. International Market Trends – Tropical flowers. **Acta Horticulturae** (ISHS), Paraná. n.683, p.79-86, 2005.

REDDY, M. P.; SARLA, N.; SIDDIQ, E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, Dordrecht, v. 128, p. 9-17, 2002.

REZENDE R. K. S. et al. Divergência genética entre cultivares de gérbera utilizando marcadores RAPD. **Ciência Rural**, v.39, n.8, 2009.

ROCHA, F. H. A. et al. Genetic study with *Heliconia psittacorum* and interspecific hybrids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** (Impresso), v.10, p.282 - 288, 2010.

RUNDEL, P. W. et al. Structural and physiological adaptation to light environment in neotropical *Heliconia* (Heliconiaceae). **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v.14, p.789-801, 1998.

SALIMATH S.S.; OLIVEIRA A.C.; GODWIN I.D. Assesment of genomic origins and genetic diversity in the genus *Eleusine* with DNA markers. **Genome**, v.38, p.757-763, 1995.

SANTOS M.R.A.; TIMBÓ A.L.O.; CARVALHO A.C.P.P.; MORAIS J.P.S. 2006. Estudo de adubos e substratos orgânicos no desenvolvimento de mudas micropropagadas de helicônia. **Horticultura Brasileira**, v.24, p.273-278.

SILVA S.O. et al. **Catálogo de germoplasma de bananeira (*Musa spp*) Embrapa Mandioca e Fruticultura**, Documentos: 90. 1999. 152 p.

SOUZA G. A. et al. Diversidade genética estimada com marcadores ISSR em populações brasileiras de *Zabrotes subfasciatus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.43, n.7, p.843-849, 2008.



PEREIRA, F.R.A. Caracterização morfoagronômica e molecular de meios irmãos de *Heliconia bihai* L., *H. chartacea* Lane ex Barreiros e *H. wagneriana* Petersen.

TERAO, D.; CARVALHO, A. C. P. P.; BARROSO, T. C. da S. F. **Flores tropicais**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2005. 225 p.

TORRES, A.C. et al. Efeito da sacarose, cinetina, isopentenil adenina e zeatina no desenvolvimento de embriões de *Heliconia rostrata* *in vitro*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.3, p.789-792, 2005.

ULISSES, C. et al. *In vitro* propagation of *Heliconia bihai* (L.) L. from zygotic embryos. **Acta Botanica Brasílica**, v. 24, p.184-192, 2010.

WOLFE, A.D.; LISTON, A. **Contributions of PCR-based methods to plant systematics and evolutionary biology**. In: SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S.; DOYLE, J.J. (Ed.). Molecular systematics of plants II: DNA sequencing. Boston: Kluwerp.p.43-86, 1998.

WUNSCH, A.; HORMAZA, J.I. Characterization of variability and genetic similarity of European pear using microsatellite loci developed in apple. **Scientia Horticulturae**, v.113, p. 37-43, 2007.

ZIETKIEWICZ, E.; RAFALKI, A.; LABUDA, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics**. v. 20.p. 176-183, 1994.

**CAPÍTULO 2** – Caracterização morfoagronômica e molecular por ISSR de meios irmãos de *Heliconia bihai* L., *H. chartacea* Lane ex Barreiros e *H. wagneriana* Petersen

---

---

Manuscrito será enviado à revista:

CBAB - Crop Breeding and Applied Biotechnology

**Caracterização morfológica e molecular por ISSR de meios irmãos de *Heliconia bihai* L., *H. chartacea* Lane ex Barreiros e *H. wagneriana* Petersen**

Fábio Rodrigo Araújo Pereira<sup>\*1</sup>, Angélica Virgínia Valois Montarroyos<sup>1</sup>, Walma Nogueira Ramos Guimarães<sup>1</sup>, Luiza Suely Semen Martins<sup>1</sup> e Vivian Loges<sup>\*1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) Av. D. Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900 Recife-PE; 5 UFRPE-DEPA, Fitotecnia, Brasil.

**Resumo-** Caracterizou-se 15 famílias de meios irmãos de *Heliconia bihai* (HB), *H. chartacea* (HC) e *H. wagneriana* (HW), por marcadores morfológicos e moleculares (ISSR). A ausência de pêlos no pseudocaulo, pecíolo e folhas (limbo e nervura principal) e a presença de cera no pseudocaulo foram observadas em todos os genótipos das famílias das três espécies avaliadas. A nervura principal da face superior das folhas apresentou uma coloração verde nas famílias HB, HC e HW, no entanto, se mostrou com tonalidade púrpura nas de HW. Os *primers* utilizados geraram 4.023 fragmentos, amplificando cada um de 3 a 7 bandas. A análise molecular dos meios irmãos mostrou os genótipos agrupados por espécies, sendo o HB<sub>11</sub>(5) e HC<sub>5</sub>(8) os mais divergentes. Foi observada variabilidade genética entre e dentro das famílias de meios irmãos das espécies HB e HC, não tendo sido detectada dentro da família de meios irmãos de HW.

**Termos para indexação:** Melhoramento genético, diversidade genética, marcadores moleculares, floricultura, flores tropicais.

\*Autores para correspondência. Email: [fraper21@gmail.com](mailto:fraper21@gmail.com). Tel:(083)88455135.  
Email: [vloges@yahoo.com](mailto:vloges@yahoo.com). Tel: (081)33206250

**Molecular ISSR and morphological characterization of half-sib *Heliconia bihai* L., *H. chartacea* Lane ex Barreiros and *H. wagneriana* Petersen**

**Abstract** - Characterized 15 families half sib *Heliconia bihai* (HB), *H. chartacea* (HC) and *H. Wagneriana* (HW), by morphological and molecular markers (ISSR). The absence of hair on the pseudostem, leaves and petioles (leaf blade and midrib) and the presence of wax in pseudostem were observed in all genotypes of the families of the three species evaluated. The midrib of upper leaves showed a green color families HB, HC and HW, however, showed purple in tinted HW. The primers 4023 fragments generated by amplifying each of bands 3-7. Molecular analysis of sib showed genotypes grouped by species, but the HB<sub>11</sub> (5) and HC<sub>5</sub> (8) the most divergent. Genetic variability was observed among and within half-sib families of HB and HC species has not been detected within the family half sib of HW.

**Index terms:** Genetic breeding, genetic diversity, molecular markers, floriculture, tropical flowers.

## Introdução

No contexto da floricultura tropical, as espécies do gênero *Heliconia* destacam-se por serem apreciadas pelos consumidores devido a exotividade, durabilidade pós-colheita e beleza das inflorescências (Loges et al., 2007), além de apresentar brácteas vistosas com cores intensas e contrastantes (Castro et al., 2007).

*Heliconia bihai* L., *H. chartacea* Lane ex Barreiros e *H. wagneriana* Petersen estão incluídas entre as espécies de helicônias mais cultivadas e comercializadas como flor de corte (Castro et al., 2007). Estas e outras espécies do gênero *Heliconia* apresentam algumas características indesejáveis que poderiam ser melhoradas para melhor adequação para exploração como flor de corte.

As helicônias são plantas que se propagam tanto por sementes quanto por rizomas. A multiplicação por rizomas tem sido empregada intensamente na produção de genótipos como flor de corte, mas a reprodução sexuada é interessante por se constituir na principal forma de geração de variabilidade genética (Araújo et al., 2012). Devido à dureza do endocarpo e a presença de embriões não desenvolvidos ou imaturos, a obtenção de plantas por sementes é difícil no gênero *Heliconia* (Marques et al., 2004). Desta forma, o emprego do cultivo de embriões zigóticos em helicônias, favorece a propagação (Torres et al., 2005), permitindo a caracterização e escolha de genótipos em um programa de melhoramento genético vegetal de forma mais precoce.

Os marcadores morfológicos vêm sendo empregados na caracterização de germoplasma a fim de se obter uma identidade para cada acesso, por meio do conhecimento de dados que possibilitem o estudo da variabilidade genética entre os genótipos amostrados. Isso constitui uma etapa fundamental para o efetivo uso dos recursos genéticos conservados em bancos de germoplasma, propiciando a utilização dos mesmos

em programas de melhoramento (Guimarães, 2011), permitindo assim a identificação de cultivares promissoras, passíveis de serem recomendadas aos produtores.

Embora haja escassez no uso de marcadores genéticos cuja base seja a PCR (*Polymerase Chain Reaction*) no estudo da variabilidade genética de helicônias, (Guimarães et al., 2011), estes possibilitam a obtenção de um grande número de marcas moleculares com herança dominante ou codominante e com ampla cobertura genômica, que auxiliam no estudo da variabilidade e diversidade genéticas, caracterização de genótipos e estudos filogenéticos das espécies. Portanto, marcadores morfológicos e moleculares podem contribuir na identificação de indivíduos promissores e na diferenciação dos mesmos, de forma mais eficaz.

O presente trabalho teve como objetivo determinar a variabilidade genética existente entre e dentro de famílias de meios irmãos das espécies de *H. bihai*, *H. chartacea* e *H. wagneriana*, obtidas a partir do cultivo *in vitro* de embriões zigóticos, por meio de marcadores morfológicos e moleculares do tipo ISSR.

## **Material e Métodos**

Sementes das espécies de *Heliconia bihai* (HB), *H. chartacea* cv. Sexy Scarlet (HC) e *H. wagneriana* (HW) foram coletadas em área de produção comercial no município de Paulista-PE, entre os meses de setembro de 2009 e março de 2010.

Por meio do cultivo de embriões zigóticos, gerou-se oito famílias de meios irmãos de HB (1 a 8), cinco de HC (1 a 5) e duas de HW (1 a 2), cada uma contendo de 8 a 10 genótipos por família (Tabela 1).

Após 90 dias de aclimatização em telado os genótipos foram transplantados para vasos de 8 litros contendo substrato comercial Plantmax e areia lavada na proporção 1:1. Cada vaso continha duas plântulas do mesmo genótipo oriundas de propagação *in*

*in vitro* e foram mantidas em casa de vegetação localizada no Departamento de Agronomia, Área de Fitotecnia da UFRPE.

Aos 120 dias de cultivo das plantas, estas foram transferidas para o campo experimental na Coleção de Germoplasma de Helicônias da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CGH-UFRPE) localizado na fazenda Bem-Te-Vi no município de Camaragibe-PE, latitude 8°1'19'' Sul e longitude 34°59'33'' Oeste e a 100 m de altitude. A temperatura média anual da região é de 25.1 °C e a precipitação média mensal de 171 mm, com máxima de 377 mm e mínima de 37 mm (Itep, 2008).

Os genótipos de cada família de meios irmãos foram cultivados a pleno sol, com espaçamento de 2,0m entre plantas e 4,0m entre linhas, em três áreas experimentais, uma para cada espécie.

### **Caracterização morfológica**

Com as plantas em campo, as avaliações dos descritores morfológicos foram realizadas por seis meses, quinzenalmente. baseada em dezesseis descritores qualitativos (Tabela 2) (Loges et al., 2007, Costa et al., 2009 e Guimarães, 2011).

### **Caracterização molecular**

O DNA dos diferentes genótipos parentais e meios-irmãos foi extraído a partir de amostras de folhas jovens, utilizando-se o protocolo proposto por Doyle e Doyle, (1991) com modificações propostas por Guimarães (2011). A quantificação do DNA foi realizada por eletroforese em gel de agarose a 0,8%, por comparação da intensidade de fluorescência de amostras de concentrações conhecidas do fago *lambda*, coradas com Syber Gold (Invitrogen) e visualizada em transluminador de luz ultravioleta.

Considerando que 10 genótipos não sobreviveram em campo, as análises por marcadores ISSR foram realizadas com 140 genótipos, sendo 125 meios-irmãos e 15

parentais das famílias, utilizando-se 20 pares de *primers* (Tabela 3), selecionados dos 37 testados previamente.

As reações com os *primers* (BIONEER OLIGO SYNTHESIS REPORT) foram realizadas para um volume total de 25 µL, contendo: 10 ng de DNA genômico, 0,15 mM de cada oligonucleotídeo, 0,20mM de dNTP, 50 mM de KCl, 10 mM de Tris-HCl pH 8,3, 1 unidade de Taq DNA polimerase e 1 a 1,25 mM de MgCl<sub>2</sub>, conforme descrito, para cada um dos pares de *primers* utilizados. Durante a reação de PCR, as amostras foram submetidas a uma desnaturação inicial de 95°C por 15 minutos, seguindo-se 30 ou 35 ciclos (de acordo com a especificação de cada *primer*) de 30 segundos a 95°C para desnaturação, 45 segundos a 50°C para anelamento e 72°C a 2 minutos para extensão. Ao final do número de ciclos foram submetidas durante 7 minutos a 72°C para extensão final.

Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese horizontal, em géis de agarose a 1,2% em tampão TBE (0,09M de Tris, 0,09M de ácido bórico e 2 mM de EDTA). Os géis foram corados com SYBER Gold (Invitrogen), visualizados em transluminador de luz ultravioleta e fotografados em fotodocumentador digital Vilber Lourmat. Para análise dos dados foram considerados os produtos de PCR com tamanho na faixa de 100 a 3000 pb, tendo estes sido tabulados como 1 ou 0, correspondendo a presença e ausência de bandas, respectivamente.

A partir dos dados obtidos, foi construída uma matriz de similaridade genética, com base no coeficiente de Jaccard. Para a construção do dendrograma, foi utilizado o método de agrupamento UPGMA (Unweighted pair Group Method with Arithmetic Average) no programa Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System-NTSYS, versão 1.70, Exeter software, NY, USA (Rohlf, 1992).

## Resultados e Discussão

Com base na caracterização morfológica, pôde-se constatar que a pilosidade no pseudocaule, pecíolo e folhas (limbo e nervura principal), era ausente em todos os genótipos das famílias. Essa característica torna-se importante, pois como é relatado por Castro et al. (2007), a presença de pêlos, especialmente em excesso, interfere negativamente nas atividades de manuseio e transporte, por exigir limpeza adicional, já que estas estruturas promovem a retenção de detritos.

A cerosidade foi constante no pseudocaule das famílias de meios irmãos das três espécies avaliadas. Guimarães (2011) observou esta característica nas espécies *H. wagneriana*, *H. bihai*, e híbridos interespecíficos de *H. bihai* como *H. caribaea* x *H. bihai* cv. Carib Flame. No entanto, a cerosidade no pecíolo das folhas esteve presente apenas nos genótipos das famílias de meios irmãos de *H. wagneriana* e *H. chartacea*.

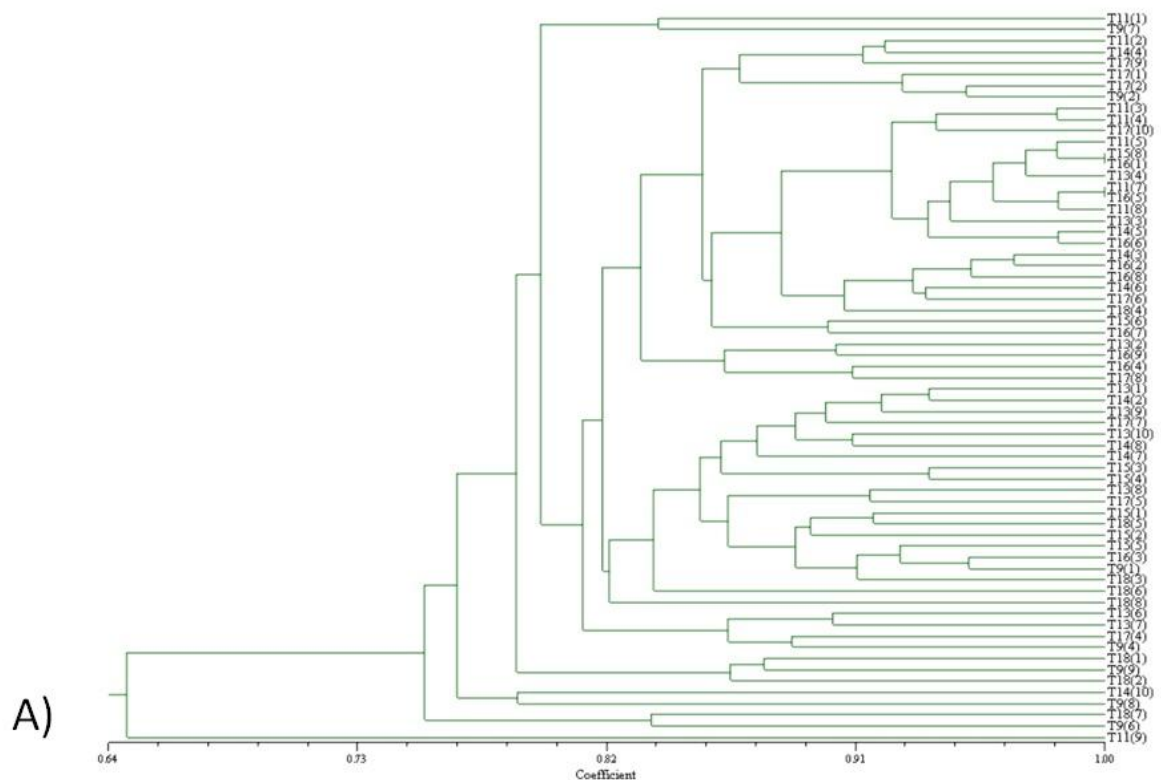
A nervura principal da face superior das folhas apresentou uma coloração verde nos genótipos de *H. bihai* e *H. chartacea*, no entanto, mostrou-se com tonalidade púrpura nos indivíduos das famílias de *H. wagneriana*. Já a nervura principal da face inferior de cor verde predominou nas três espécies, a exceção dos genótipos HB<sub>9</sub>(7), HB<sub>13</sub>(9), HB<sub>14</sub>(8), HB<sub>15</sub>(4), HB<sub>16</sub>(4), HB<sub>17</sub>(7,8) e HB<sub>18</sub>(2) que apresentaram tonalidade púrpura nesta face da nervura. Guimarães (2011) verificou as mesmas características, quanto à coloração púrpura da nervura principal para *H. wagneriana* e verde para *H. bihai*, em sua pesquisa. Estes resultados apontam que esta característica morfológica poderia ser usada como um marcador para distinção entre meios irmãos de *H. bihai*.

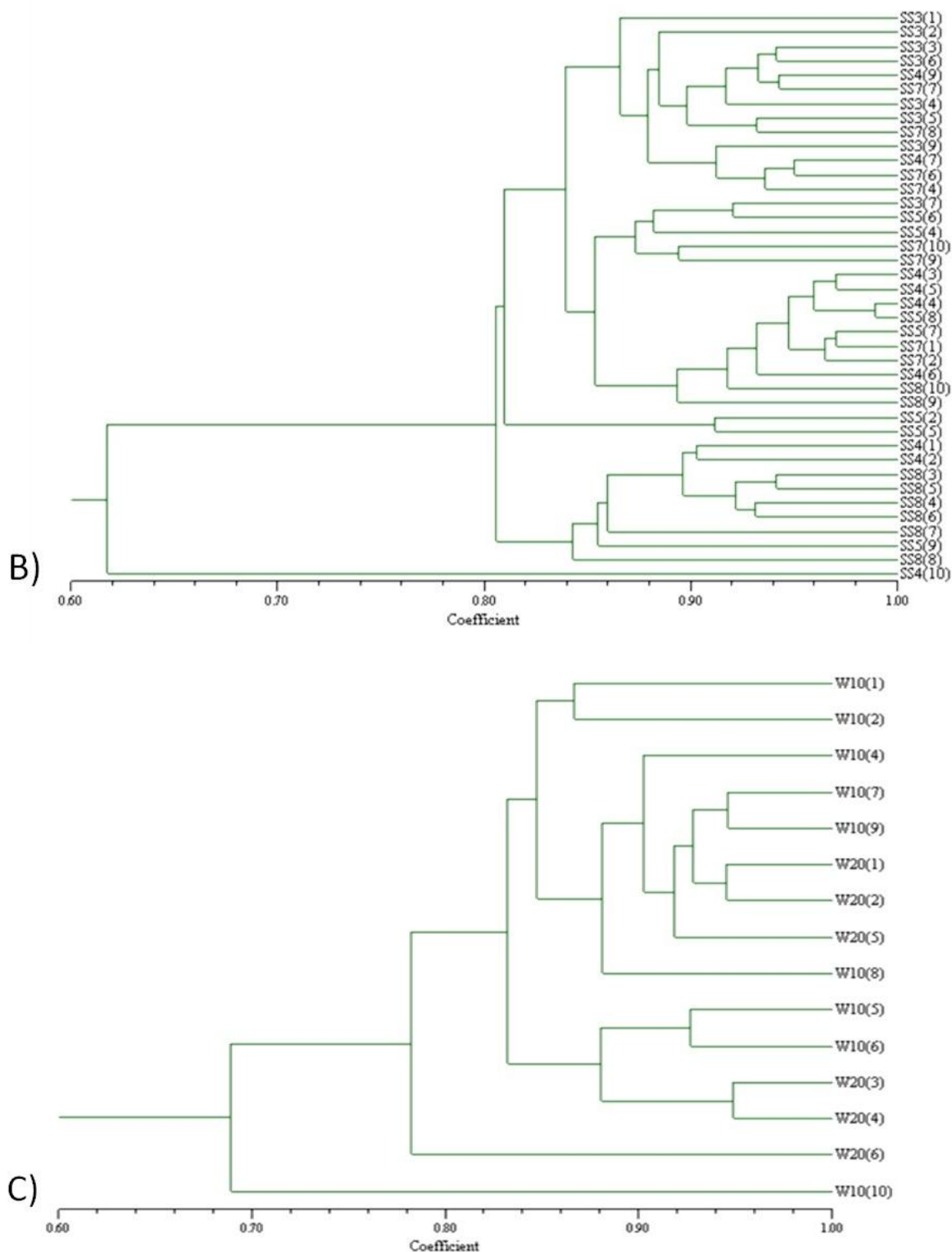
A presença de cera na nervura principal foi observada exclusivamente nos genótipos das famílias de *H. chartacea*. O limbo foliar de todas as espécies não continham cera, nem mancha. O limbo rasgado foi registrado apenas nos meios irmãos



de *H. chartacea* que, juntamente com os indivíduos das famílias *H. bihai*, continham a margem púrpura. Todos os genótipos apresentaram base do limbo do tipo igual, a exceção dos genótipos HC<sub>4</sub>(2) e HB<sub>11</sub>(1) que apresentaram base do limbo desigual.

O dendrograma de similaridade genética, gerado a partir da caracterização morfológica, separou as espécies em três grupos com ramificações internas (Figuras 1). Os genótipos de meios irmãos de cada uma das espécies ficaram agrupados juntos por espécie em um mesmo ramo, indicando um grau de parentesco elevado entre eles. Este resultado pode ser justificado uma vez que, embora as sementes tenham sido colhidas de inflorescências de touceiras (parentais) diferentes, estas foram originalmente propagadas vegetativamente a partir de uma mesma matriz.

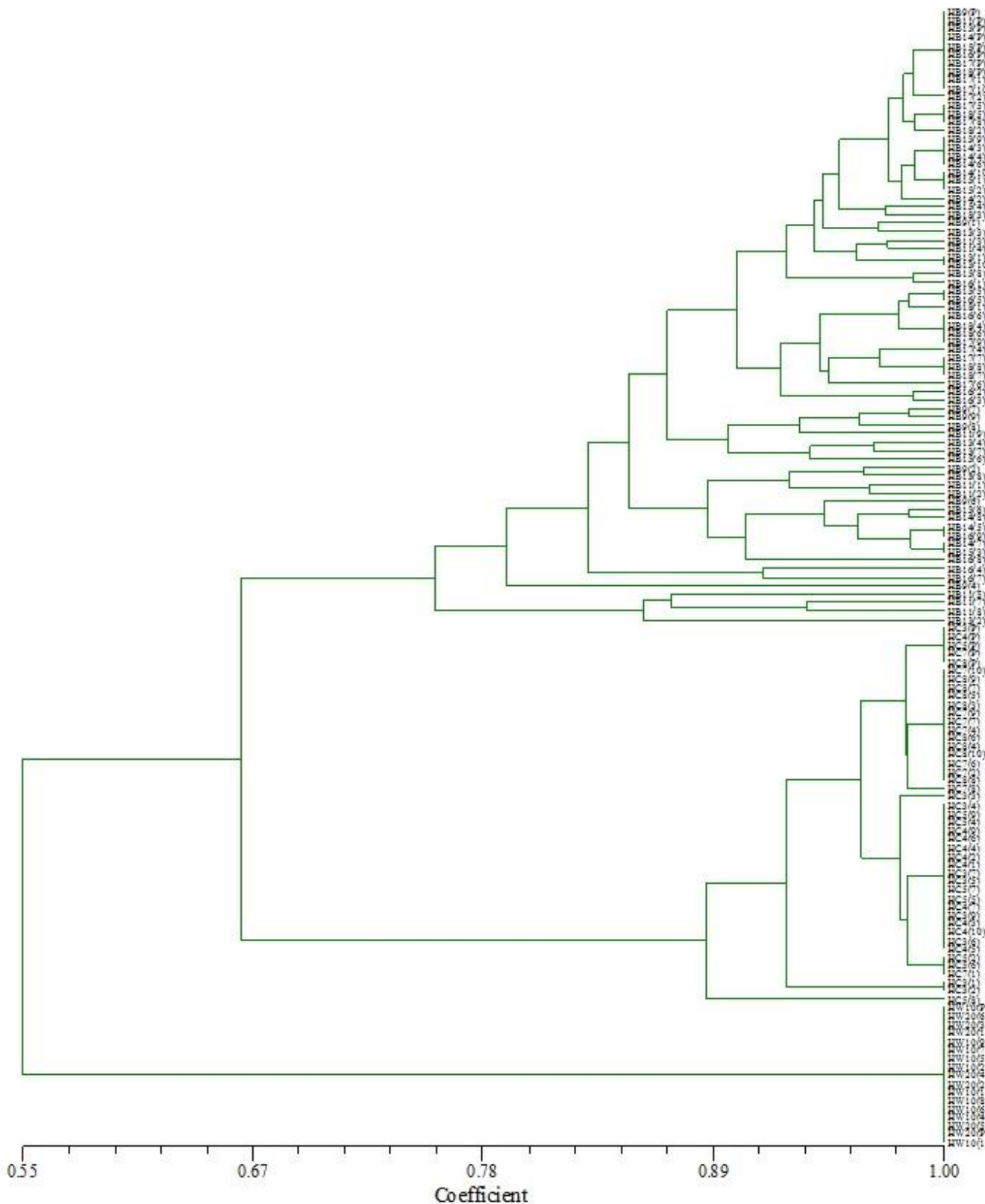




**Figura 1.** Dendrogramas de similaridade genética, obtido pelo método UPGMA, gerado a partir da caracterização morfológica de meios irmãos das famílias *Heliconia bihai* L.(A), *H. chartacea* Lane ex Barreiros cv. Sexy Scarlet (B) e *H. wagneriana* Petersen (C). Legenda: Lê-se T=HB; SS=HC e W=HW. UFRPE, Recife/PE. 2012.

Os genótipos HB<sub>11</sub>(9), HC<sub>4</sub>(10) e HW<sub>10</sub>(10) foram os que mais divergiram nas famílias de meios irmãos de *H. bihai* (HB), *H. chartacea* cv. Sexy Scarlet (HC) e *H. wagneriana* (HW), respectivamente (Figura 1). Esta divergência é consequência dos caracteres diferentes que os genótipos apresentavam em relação aos demais indivíduos das famílias dentro de cada espécie. No genótipo HB<sub>11</sub>(9) foi observada rasgadura no limbo, o qual apresentava margem de tonalidade púrpura, e pseudocaule e nervura principal com presença de cerosidade. Na *H. chartacea*, o genótipo HC<sub>4</sub>(10) distinguiu-se dos demais por apresentar rasgadura no limbo, coloração verde escuro nas folhas, ausência de cera no pecíolo, pseudocaule verde claro e nervura principal verde na sua face inferior. Em *H. wagneriana*, o genótipo W<sub>10</sub>(10) foi o mais divergente dos demais devido a coloração da nervura principal verde na face superior, rasgadura no limbo com margem de cor púrpura e pecíolo com presença de cera. Verificou-se que os coeficientes de similaridade entre os meios irmãos das mesmas espécies, variaram de 0.80 a 0.99.

Dos 37 pares de *primers* testados, 20 foram utilizados por apresentarem melhor padrão de bandas, ausência de sinais de degradação durante a corrida, e melhor polimorfismo (Tabela 3), permitindo a avaliação molecular da variabilidade genética entre e dentro das espécies de meios irmãos de helicônias estudadas. A partir dos *primers* utilizados foram gerados 4.023 fragmentos, com uma amplificação média de 3 a 7 bandas por *primer*. Os resultados da análise de similaridade genética mostraram que os genótipos foram agrupados por espécies (Figura 2).



**Figura 2.** Dendrograma de similaridade genética de meios irmãos e parentais de *Heliconia bihai* L.(HB<sub>x</sub>), *H. chartacea* Lane ex Barreiros cv. Sexy Scarlet (HC<sub>x</sub>) e *H. wagneriana* Petersen (HW), obtidos a partir de marcadores ISSR. UFRPE, Recife/PE. 2012.

Os genótipos mais divergentes foram HB<sub>11</sub>(5) e HC<sub>5</sub>(8) dentre os meios irmãos de *H. bihai* e *H. chartacea*, respectivamente. Esses resultados podem estar associados em *H. bihai* com os caracteres morfológicos base do limbo desigual e nervura principal da face inferior de coloração com tonalidade púrpura.

Já na população dos meios irmãos de *H. wagneriana*, não foi verificada diferença entre os genótipos. Isto pode ser consequência de fatores como o tamanho da população estudada, presença de polinizadores específicos e sazonalidade, pois, como as espécies de *H. bihai* e *H. chartacea* tinham uma população grande na área comercial e com grande quantidade de inflorescências, os agentes polinizadores foram visualizados com frequência e diversidade de espécies, enquanto que em *H. wagneriana* a população muito menor em tamanho e número de inflorescências, provavelmente ocasionou uma redução da visitação de polinizadores. Além disso, e diferente das outras espécies, a *H. wagneriana* apresenta pouca coloração de tonalidade avermelhada em suas brácteas, o que segundo Faegri e Pijl (1979), é um dos fatores que favorece a presença dos agentes polinizadores e por consequência um maior índice de fecundação cruzada, o que por sua vez acarretaria em maior variabilidade genética entre os genótipos da população. Sendo assim, pode-se dizer que a autopolinização nessa espécie se torna mais intensa.

Os parentais de cada uma das espécies apresentaram 100% de similaridade. Isso pode ser explicado devido à predominância da forma de propagação vegetativa em helicônias, especialmente quando se trata de área destinada à produção comercial, onde foram originados os parentais utilizados neste estudo.

Considerando os resultados obtidos neste trabalho, pode-se afirmar que os caracteres morfológicos e moleculares, podem ser empregados como ferramentas

importantes nos estudos da variabilidade genética de meios irmãos de helicônias de forma que genótipos divergentes sejam identificados e empregados nos programas de melhoramento genético da espécie.

### **Agradecimentos**

Ao CNPq pela concessão de bolsa e financiamento do projeto, à Universidade Federal Rural de Pernambuco pela formação e Fazenda Bem-Te-Vi pela disponibilidade para desenvolvimento da pesquisa e à FLORIX, pelo fornecimento do material vegetal.

### **Referências Bibliográficas**

Araújo SS, Willadino L, Ulisses C, Loges V and Cuquel FL (2012). Heliconia grown in vitro from zygotic embryos. **Acta Horticulturae**, 953: 313-318.

Castro CEF, May A and Gonçalves C (2007). Espécies de helicônia como flores de corte. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. 12: 87-96.

Costa AS, Loges V, Castro ACR, Guimarães WNR and Nogueira LC (2009). Heliconia Genotypes Under Partial Shade: II. Evaluation of Flowering Stems. **Acta Horticulturae**. 813:171-176.

Doyle JJ and Doyle JL (1991). Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**. 1: 13-15.

Faegri K and Van Der Pijl L (1979). **The principles of Pollination Ecology**. Pergamon Press, Oxford.1966pp.

PEREIRA, F.R.A. Caracterização morfoagronômica e molecular de meios irmãos de *Heliconia bihai* L., *H. chartacea* Lane ex Barreiros e *H. wagneriana* Petersen.

Guimarães WNR (2011). **Marcadores moleculares e descritores qualitativos na caracterização de espécies de *Heliconia* (Heliconiaceae)**.127p. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Recife.

Itep – Instituto de Tecnologia de Pernambuco (2008). 14 de maio. Disponível em: <http://www.itep.br/lamepe.ASP>.

Loges V, Castro ACR, Costa AS, Guimarães, WNR, Castro MFA and Nogueira LC (2007). Ornamental Attributes of Heliconia Plants for Landscape Design in Brazil. **Acta Horticulturae**.743:75 – 80.

Marques JM, Coelho PJA, Ferreira MA, Amaral ZPS, Torres AC, Amorim JC and Buso GSC (2004). **Estudos da variabilidade genética entre indivíduos de populações de *Heliconia bihai* e *Heliconia rostrata***. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, Embrapa. 69: 15p.

Rohlf JF (1992). **NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system: version 1.70**. Applied Biostatistics.

Torres AC, Duval FG, Ribeiro DG, Barros AFF and Aragão FAD (2005). Efeito da sacarose, cinetina, isopentenil adenina e zeatina no desenvolvimento de embriões de *Heliconia rostrata in vitro*. **Horticultura Brasileira**: 23:789-792.

### Lista de tabelas

**Tabela 1.** Famílias de meios irmãos de *Heliconia bihai* L., *H. chartacea* Lane ex Barreiros cv. Sexy Scarlet e *H. wagneriana* Petersen obtidas por propagação *in vitro* e relação dos genótipos utilizados na caracterização morfológica e molecular, UFRPE, Recife-PE, 2011

Espécie*	Famílias de meios irmãos propagadas <i>in vitro</i> (x)	Genótipos - Caracterização Morfológica e Molecular
HC <sub>x</sub>	(3,4,5,7 e 8)	HC <sub>3</sub> (1,2,3,4,5,6,7,9); HC <sub>4</sub> (1,2,3,4,5,6,7,9,10); HC <sub>5</sub> (2,4,5,6,7,8,9); HC <sub>7</sub> (1,2,4,6,7,8,9,10) e HC <sub>8</sub> (3,4,5,6,7,8,9,10)
HB <sub>x</sub>	(9,11,13,14,15,16 17 e 18)	HB <sub>9</sub> (1,2,4,6,7,8,9); HB <sub>11</sub> (1,2,3,4,5,7,8,9); HB <sub>13</sub> (1,2,3,4,6,7,8,9,10); HB <sub>14</sub> (2,3,4,5,6,7,8,10); HB <sub>15</sub> (1,2,3,4,5,6,8); HB <sub>16</sub> (1,2,3,4,5,6,7,8,9); HB <sub>17</sub> (1,2,4,5,6,7,8,9,10) e HB <sub>18</sub> (1,2,3,4,5,6,7,8)
HW <sub>x</sub>	(10 e 20)	HW <sub>10</sub> (1,2,4,5,6,7,8,9,10) e HW <sub>20</sub> (1,2,3,4,5,6)

\*HC (*H. chartacea* Lane ex Barreiros cv. Sexy Scarlet); HB (*Heliconia bihai* L.); HW (*H. wagneriana* Petersen).



**Tabela 2.** Características morfológicas empregadas na avaliação de meios irmãos de *Heliconia bihai* L., *H. chartacea* Lane ex Barreiros cv. Sexy Scarlet e *H. wagneriana* Petersen UFRPE, Recife/PE. 2012.

Descritores	Siglas	Classe
Cerosidade do pseudocaule <sup>(1)</sup>	CES	(0) Ausente / (1) Presente
Pilosidade do pseudocaule <sup>(1)</sup>	PIS	(0) Ausente / (1) Presente
Tonalidade de cor verde no pseudocaule <sup>(2)</sup>	TCV	(0) Verde Escuro / (1) Verde Claro
Cerosidade do pecíolo <sup>(2)</sup>	CEP	(0) Ausente / (1) Presente
Pilosidade do pecíolo <sup>(2)</sup>	PIP	(0) Ausente / (1) Presente
Tonalidade de cor verde da face superior da nervura principal <sup>(2)</sup>	NFS	(0) Ausente / (1) Presente
Tonalidade de cor verde da face inferior da nervura principal <sup>(2)</sup>	NFI	(0) Ausente / (1) Presente
Cerosidade da nervura principal <sup>(2)</sup>	CEN	(0) Ausente / (1) Presente
Pilosidade na nervura principal <sup>(2)</sup>	PIN	(0) Ausente / (1) Presente
Pilosidade na folha <sup>(1)</sup>	PIF	(0) Ausente / (1) Presente
Cerosidade na folha <sup>(1)</sup>	CEF	(0) Ausente / (1) Presente
Coloração da folha	COF	(0) Verde Claro/ (1) Verde escuro
Margem da folha com tonalidade de cor púrpura <sup>(2)</sup>	COM	(0) Ausente / (1) Presente
Mancha no limbo <sup>(2)</sup>	MLB	(0) Ausente / (1) Presente
Rasgadura no limbo <sup>(2)</sup>	LIB	(0) Ausente / (1) Presente
Base do limbo <sup>(2)</sup>	BLB	(0) desigual / (1) Igual

Descrição proposta por <sup>(1)</sup> Costa et al.,(2009b), Loges et al. (2007) e <sup>(2)</sup> Guimarães (2011).

**Tabela 3.** Sequências dos *primers* de ISSR (Inter-simple sequence repeat), temperatura de anelamento e número de ciclos utilizados no estudo de diversidade de genótipos de meios irmãos e parentais de helicônias, UFRPE, Recife/PE. 2012.

<i>Primers</i>	Sequência 5'-3'	TA(°C)	Nº de Ciclos
1	ACA CAC ACA CAC ACA CT	50	35
2	GAG AGA GAG AGA GAG AT	50	35
3	CTC TCT CTC TCT CTC TG	50	35
4	AGA GAG AGA GAG AGA GC	50	35
5	GAG AGA GAG AGA GAG AT	50	35
6	GAG AGA GAG AGA GAG AA	50	35
7	CAC ACA CAC ACA CAC AA	55	35
8	GTG TGT GTG TGT GTG TC	50	35
9	ACA CAC ACA CAC ACA CG	50	35
10	CTC TCT CTC TCT CTC TRG	50	35
11	CAC ACA CAC ACA CAC ARG	50	35
12	GTG TGT GTG TGT GTG TYA	50	35
13	GTG TGT GTG TGT GTG TYG	50	35
14	ACA CAC ACA CAC ACA CYG	50	35
15	HBH AGA GAG AGA GAG AG	50	30
16	VDV CTC TCT CTC TCT CT	55	30
17	DVD TCT CTC TCT CTC TC	50	35
18	BDB CAC ACA CAC ACA CA	50	30
19	HVH TGT GTG TGT GTG TG	50	35
20	CCG ACT CGA GNN NNN NAT GTG G	50	30

TA = temperatura de anelamento; R = (A, G); Y = (C, T); V = (A, C, G); H = (A, T, C);

B = (G, T, C); D = (G, A, T); N = (A, C, G, T).

## **ANEXO – GUIA PARA AUTORES DA REVISTA.**

---

---

### **CBAB - CROP BREEDING AND APPLIED BIOTECHNOLOGY**

#### **Instruções aos Autores**

#### **Política geral e escopo da revista**

A **CBAB - CROP BREEDING AND APPLIED BIOTECHNOLOGY** (ISSN 1518-7853, versão impressa, ISSN 1984-7033, versão on line) - é a revista trimestral oficial da Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas (<http://www.sbmp.org.br>). O nome internacional abreviado é CROP BREED APPL BIOTECHNOL.

A revista está indexada na ISI Thomson Reuters, Scopus, AGRIS, CAB International Abstracts, Biosys, Latindex, Periódica, Chemical Abstracts Service, Agrícola, Agrobase, Wilson, Ebsco, DOAJ, Acervo Documental da Embrapa and Portal da Capes e destina-se à publicação de artigos científicos originais que possam contribuir para o desenvolvimento científico e tecnológico do melhoramento e da agricultura.

Os artigos deverão contemplar as pesquisas básica e aplicada em melhoramento de plantas perenes e anuais, nas áreas de genética, conservação de germoplasma, biotecnologia, genômica, citogenética, estatística experimental, sementes, qualidade de alimentos, estresse biótico e abiótico, e áreas correlatas. O artigo deve ser inédito, sendo vetada a submissão do mesmo a outro periódico. As opiniões e conceitos emitidos são de exclusiva responsabilidade dos autores, não refletindo necessariamente as idéias da Editoria. A Editoria, porém se reserva o direito de sugerir ou solicitar as modificações que se fizerem necessárias. A reprodução completa ou parcial dos artigos é permitida, desde que citada a fonte.

### **Informação para aquisição**

Para associar-se à Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas ou adquirir exemplares avulsos da CBAB envie e-mail para [cbab@ufv.br](mailto:cbab@ufv.br).

### **Artigo**

A **CBAB** publica artigo exclusivamente em inglês, porém faculta ao autor a possibilidade de submetê-lo em português para, após o aceite, providenciar a sua tradução.

O ônus da tradução é de responsabilidade do autor, porém a **CBAB** recomenda que ela seja feita por seu tradutor oficial. Contribuições são submetidas via WEB acessando <http://www.sbmp.org.br/cbab/siscbab/index.php>, clicando **Submission**.

O sistema de gerenciamento de artigos solicitará o e-mail do autor correspondente e a geração de uma senha. **Os manuscritos deverão ser inseridos sem os nomes dos autores e seus endereços, os quais deverão ser disponibilizados em um formulário à parte.**

Como a CBAB opera com revisão do tipo duplo cego, autores não devem revelar suas identidades no manuscrito. Com seu e-mail e sua senha pessoal, o autor poderá acompanhar toda a tramitação do seu artigo. A avaliação do artigo será feita por revisores **ad hoc** especialistas, para auxiliar a Editoria quanto à decisão final de aceite, modificações ou rejeição do mesmo.

O artigo completo deverá conter, preferencialmente, a seguinte sequência: title, abstract, key words, introduction, material and methods, results and discussion, acknowledgements, título, resumo, palavras-chave, references, and tables and black-and-white figures. Ilustrações coloridas serão permitidas, porém com ônus para o autor correspondente.

A digitação deverá ser feita em Word for Windows versão 6.0 em diante, em fonte times new roman, tamanho 12, espaçamento duplo, formato A4, com margens de 20 mm e paginação consecutiva no topo à direita. O artigo não deverá exceder a 18 páginas, incluindo tabelas e figuras digitadas em páginas separadas (uma por página) ao final do texto. O Título deverá ser claro, conciso e refletir a essência do artigo. Escrito com a inicial maiúscula e posto a esquerda, não deve conter mais de 15 palavras digitadas em times new roman 14, bold. O Abstract, tanto quanto o Resumo, não deve exceder a 150 palavras. Um máximo de cinco palavras-chave, diferentes do título, será permitido.

A introdução deve incluir uma breve revisão de literatura sobre o tema e os objetivos da pesquisa. O Material e Método deve ser redigido de modo que outro pesquisador possa repetir a experiência. Preferencialmente, Resultados e Discussão devem ser apresentados em conjunto, para maior dinâmica de leitura. Os agradecimentos devem ser sucintos, limitados a colaboradores efetivos e agências financiadoras. O Resumo deve ser precedido do título do artigo em português.

### **Cuidado com as Referências.**

Não citar resumos de eventos, teses e nem artigos não publicados. Esses cuidados darão maior credibilidade ao artigo e a revista. As citações feitas no texto pelo sobrenome do autor e ano (por exemplo, Liu 1998, Pereira and Amaral Júnior 2001, William et al. 1990) deverão ser ordenadas alfabeticamente no item Referências, seguindo os exemplos abaixo:

#### **Artigos em periódicos:**

Pereira MG and Amaral Júnior AT (2001) Estimation of genetic components in popcorn based on the nested design. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** 1: 3-10.

**Livro:**

Ramalho MAP, Ferreira DF and Oliveira AC (2000) **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. Editora UFLA, Lavras, 326p.

**Capítulo de livro:**

Sakiyama NS, Pereira AA and Zambolim L (1999) Melhoramento do café arábica. In: Borém A (ed.) **Melhoramento de espécies cultivadas**. Editora UFV, Viçosa, p. 189-204.

**Congresso:**

Frey KJ (1992) Plant breeding perspectives for the 1990s. In: Stalker HT and Murphy JP (eds.) **Proceedings of the Symposium on Plant Breeding in the 1990s**. CAB, Wallingford, p. 1-13.

A **CBAB** publica ainda outras modalidades de trabalhos, todos submetidos ao crivo de revisores **ad hoc**, do mesmo modo que os artigos.

**Revisões**

As Revisões, também limitadas a 18 páginas digitadas, serão solicitadas pela Editoria a(os) autor(es) consolidados nas pesquisas que envolvem o tema da revisão. Elas serão elaboradas com o objetivo de lançar luz a um tema instigante que mereça uma análise aprofundada sobre o seu estado-da-arte.

**Notas**

As Notas são limitadas a 12 páginas digitadas e destinadas a informar pesquisas ou observações novas, para as quais as ferramentas analíticas não se aplicam. Elas podem focar tema de amplo interesse; relato curto de uma pesquisa original; relato de pesquisa participativa; observações de especial interesse nas áreas de pesquisa, ensino, extensão; lançamento de um novo software relacionado com a área de melhoramento.

### **Programas de melhoramento**

Programas de melhoramento inovadores ou que se destaquem pela eficiência, impacto e/ou continuidade poderão ser retratados na **CBAB**, limitados a 18 páginas digitadas.

### **Lançamento de cultivares**

Os novos cultivares merecerão uma seção especial pela importância que representam para o melhoramento e, por conseguinte, para a agricultura nacional. A seção Lançamento de novos cultivares deverá conter abstract, limitado a 50 palavras, palavras chaves, introdução, métodos de melhoramento utilizados, características de desempenho, produção de sementes básicas e um mínimo de referências, tabelas e figuras. Todo o texto ficará limitado a 12 páginas digitadas.

### **Resenha de livro**

Esta nova seção foi criada para anunciar novos livros relacionados ao melhoramento de plantas. A contribuição para essa seção se dará mediante envio, pelo autor, de dois exemplares da obra. O livro será encaminhado para um revisor especializado, escolhido pela Editoria, para elaborar a resenha.

### **Pontos de vista**

Pontos de vista, assim como as revisões, serão elaborados para a **CBAB** a convite da Editoria, para retratar temas de interesse dos melhoristas e da sociedade.

### **Cartas**

Cartas breves, também de interesse geral, serão aceitas para publicação. A Editoria se reserva o direito de editar as cartas por limitações de espaço e clareza de exposição.

PEREIRA, F.R.A. Caracterização morfoagronômica e molecular de meios irmãos de *Heliconia bihai* L., *H. chartacea* Lane ex Barreiros e *H. wagneriana* Petersen.

Autores de artigos na **CBAB - CROP BREEDING AND APPLIED**

**BIOTECHNOLOGY** terão como benefícios:

- Submissão e revisão de artigos eletronicamente
- Rápida publicação: tempo médio de 6 meses, em 2008
- Artigos disponibilizados em pdf na WEB