

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
BRUNA ZIRPOLI LEITE PARISI

DUAS ESPÉCIES E DOIS CARIÓTIPOS? DIFERENCIAÇÃO CARIOTÍPICA
ENTRE *Passiflora foetida* L. E *P. vesicaria* L. (Passifloraceae)

RECIFE

2022

BRUNA ZIRPOLI LEITE PARISI

**DUAS ESPÉCIES E DOIS CARIÓTIPOS? DIFERENCIAÇÃO CARIOTÍPICA
ENTRE *Passiflora foetida* L. E *P. vesicaria* L. (Passifloraceae)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Mariela Analía Sader

Co-orientadora: Andrea Pedrosa-Harand

RECIFE

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Parisi, Bruna Zirpoli Leite.

DUAS ESPÉCIES E DOIS CARIÓTIPOS? DIFERENCIAÇÃO CARIOTÍPICA
ENTRE *Passiflora foetida* L. E *P. vesicaria* L. (Passifloraceae) / Bruna Zirpoli
Leite Parisi. - Recife, 2022.

33 p. : il., tab.

Orientador(a): Mariela Analía Sader

Coorientador(a): Andrea Pedrosa Harand

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2022.

1. Bandeamento CMA/DAPI. 2. Citometria de fluxo. 3. Citotaxonomia. 4.
DNA ribossomal 5S e 35S. 5. FISH. I. Sader, Mariela Analía. (Orientação). II.
Harand, Andrea Pedrosa. (Coorientação). III. Título.

580 CDD (22.ed.)

BRUNA ZIRPOLI LEITE PARISI

**DUAS ESPÉCIES E DOIS CARIÓTIPOS? DIFERENCIAÇÃO CARIOTÍPICA
ENTRE *Passiflora foetida* L. E *P. vesicaria* L. (Passifloraceae)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Coordenação do Curso de Bacharelado em Ciências
Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco
- UFPE, como um dos requisitos exigidos para
obtenção do título de Bacharel em Ciências
Biológicas, sob orientação da Dr (a). Mariela
Analía Sader

Data de aprovação: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Andrea Pedrosa-Harand (Co-orientadora)

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr. Marcelo Guerra (Titular)

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Ma. Jessica Nascimento de Aguiar (Titular)

Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Dr. Lucas Costa (Suplente)

Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

RESUMO

O gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae) é amplamente distribuído, principalmente nos neotrópicos, e apresenta mais de 500 espécies, divididas em quatro subgêneros principais. O subgênero *Passiflora* é o de maior importância econômica e apresenta um número cromossômico básico $x = 9$, sendo *P. foetida* L. a única espécie do subgênero que apresenta o número haploide $n = 10$, além de muitas variedades. Duas delas foram recentemente recircunscritas como *Passiflora vesicaria* L. e *Passiflora vesicaria* var. *galapagensis*. Nesse trabalho, nosso objetivo foi caracterizar citogeneticamente ambas as espécies estimando os tamanhos do genoma por citometria de fluxo, mapeando regiões heterocromáticas mediante coloração CMA/DAPI, e sítios de DNA ribossomal 5S e 35S, através de hibridização *in situ* fluorescente (FISH). Os tamanhos dos genomas foram similares entre os três acessos analisados, com $2C = 1,07 \pm 0,07$ pg para *P. foetida*, $2C = 1,16 \pm 0,01$ pg para *P. vesicaria* e para *P. vesicaria* var. *galapagensis* $2C = 0,99 \pm 0,02$ pg, caracterizando genomas pequenos. Todos os três acessos apresentaram $2n = 20$, confirmando a contagem para *P. foetida* e revelando, pela primeira vez, os números cromossômicos dos dois acessos de *P. vesicaria*. Foram observadas seis bandas CMA⁺ para *P. foetida*, duas bandas de CMA⁺ para *P. vesicaria* e quatro bandas de CMA⁺ para *P. vesicaria* var. *galapagensis*, todas colocadas com os sinais de DNAr 35S. A FISH com DNAr 5S e 35S mostrou em *P. foetida* seis sítios de 35S pericentroméricos de diferentes intensidades, e quatro sítios de 5S intersticiais. *P. vesicaria* mostrou quatro sítios de 35S também pericentroméricos assim como dois sítios de 5S, enquanto *P. vesicaria* var. *galapagensis* que apresentou quatro sítios de 35S pericentroméricos, e dois sítios de 5S. Portanto, apesar das espécies apresentarem o mesmo número cromossômico ($n = 10$) e um tamanho genômico similar, existem variações cariotípicas quanto ao número de bandas CMA⁺ e de sítios de DNAr, que permitem diferenciá-las.

PALAVRAS CHAVE: Bandejamento CMA/DAPI, Citometria de fluxo, Citotaxonomia, DNA ribossomal 5S e 35S, FISH.

ABSTRACT

The genus *Passiflora* L. (Passifloraceae) is widely distributed, mainly in the Neotropics, and consists of more than 500 species, divided into four main subgenera. The subgenus *Passiflora* is the most economically relevant subgenus and has a basic chromosome number of $x = 9$, with *P. foetida* L. being the only species in the subgenus having the chromosome number of $n = 10$, in addition to large morphological variation between its varieties. Two of them were recently reclassified as *Passiflora vesicaria* L. and *Passiflora vesicaria* var. *galapagensis*. The aim of this study was to cytogenetically characterize both species by estimating genome sizes by means of flow cytometry, mapping heterochromatic regions by CMA/DAPI staining, and 5S and 35S ribosomal DNA sites, using fluorescent in situ hybridization (FISH). The genome sizes were similar among the three accessions analyzed, with $2C = 1.07 \pm 0.07$ pg for *P. foetida*, $2C = 1.16 \pm 0.01$ pg for *P. vesicaria*, and for *P. vesicaria* var. *galapagensis* $2C = 0.99 \pm 0.02$ pg, characterizing small genomes. All three accessions showed $2n = 20$, confirming the count for *P. foetida* and revealing, for the first time, the chromosome numbers of the two *P. vesicaria* accessions. Six CMA⁺ bands were observed for *P. foetida*, two CMA⁺ bands for *P. vesicaria* and four CMA⁺ bands for *P. vesicaria* var. *galapagensis*, all co-localized within the 35S rDNA signals. FISH with 5S and 35S rDNA showed six pericentromeric 35S sites of different intensities in *P. foetida*, and four interstitial 5S sites. *P. vesicaria* showed four 35S sites also pericentromeric, as well as two 5S sites, while *P. vesicaria* var. *galapagensis* that presented four pericentromeric 35S sites, and two 5S sites. Therefore, despite the species having the same chromosome number ($n = 10$) and a similar genomic size, there are karyotypic variations in the number of CMA⁺ bands and rDNA sites, which allow them to be differentiated.

KEYWORDS: 5S and 35S ribosomal DNA, CMA/DAPI banding, Cytotaxonomy, Flow cytometry, FISH.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	8
1.1 OBJETIVOS.....	9
1.1.1 Geral.....	9
1.1.2 Específicos.....	9
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
2.1 GENOMA DE PLANTAS.....	10
2.1.1 Poliploidia e Displóidia.....	10
2.2 CITOTAXONOMIA.....	11
2.2.1 Heterocromatina.....	12
2.2.2 Hibridização <i>in situ</i> Fluorescente (FISH).....	13
2.3 PASSIFLORA SUBGÊNERO PASSIFLORA.....	13
2.3.1 Importância Econômica.....	13
2.3.2 Citogenética e filogenia no Subgênero <i>Passiflora</i>	14
2.3.3 <i>Passiflora foetida</i> e <i>P. vesicaria</i>	15
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
3.1 MATERIAL VEGETAL.....	16
3.2 ANÁLISE CITOGENÉTICA.....	16
3.3 CITOMETRIA DE FLUXO.....	16
4 RESULTADOS.....	16
4.1 ARTIGO: Duas espécies e dois cariótipos? Diferenciação cariotípica entre <i>Passiflora foetida</i> L. e <i>P. vesicaria</i> L. (Passifloraceae).....	16
5 CONCLUSÃO.....	30
6 REFERÊNCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae) possui mais de 525 espécies, sendo um gênero tropical e subtropical de trepadeiras e lianas, o maior da família Passifloraceae (Cervi & Imig, 2013), com número cromossômico variável entre os principais subgêneros (Sader *et al.*, 2019a). O subgênero *Passiflora* é conhecido por sua importância econômica, como o maracujá azedo, *P. edulis* Sims, o maracujá doce, *P. alata*, os quais são utilizados pela indústria tanto por seu potencial farmacêutico como alimentício (Chiavaroli *et al.*, 2020, Vijay *et al.*, 2021), sendo o Brasil o maior produtor de maracujá há mais de duas décadas (Meletti, 2011). Devido à diversidade de espécies para o gênero, é de suma importância a correta identificação dessas plantas para um manejo adequado, inclusive por seu potencial invasor em alguns países (Cowie & Werner, 1993; Hopley *et al.*, 2021), além de vir a auxiliar no melhoramento genético de espécies com potencial econômico (Song *et al.*, 2018; Chiavaroli *et al.*, 2020; Elangovan *et al.*, 2022; Vijay *et al.*, 2021).

Uma forma de complementar os dados morfológicos para identificação dessas espécies é a caracterização do seu cariótipo, com metodologias de citogenética clássica e citomoleculares (Guerra, 2008). As espécies do subgênero *Passiflora* L., em sua grande maioria, possuem cromossomos meta e submetacêntricos, com número cromossômico básico de $x = 9$, e a estabilidade desse número na grande maioria das espécies (Sader *et al.*, 2019b). A exceção, até o momento, é apenas *Passiflora foetida*, com número cromossômico $n = 10$ (Melo *et al.*, 2001), a qual se apresenta como espécie irmã dos demais representantes do subgênero *Passiflora* (Cauz-Santos *et al.*, 2020). *Passiflora foetida* é um táxon que possui uma ampla distribuição geográfica e diversas variedades, uma das quais, *P. vesicaria* L., foi reconhecida nos últimos anos como espécie separada, sendo diferenciada apenas por características morfológicas. A esta última também foi atribuída uma variedade, denominada *Passiflora vesicaria* var. *galapagensis* (Killip) Vanderplank, que apesar de apresentar diferenças morfológicas não tão significantes, se encontra geograficamente isolada (Vanderplank, 2013).

Utilizando as técnicas de dupla coloração CMA/DAPI, Melo *et al.* (2001) identificou que *P. foetida* possui $n = 10$ cromossomos, com três pares de bandas CMA⁺, sendo uma subtelomérica e duas proximais no acesso analisado. Esses pares de bandas provavelmente estão relacionados aos três pares de sítios proximais descritos para o

DNAr 35S, além de dois pares de sítios de DNAr 5S (Melo & Guerra, 2003). Quanto à *P. vesicaria*, não existem dados cromossômicos disponíveis até o momento. A caracterização citogenética das espécies *P. foetida* e *P. vesicaria* pode não apenas contribuir para a taxonomia desse complexo, mas também é de fundamental importância para entender a evolução cariotípica do gênero e do subgênero *Passiflora* em particular.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Geral

Caracterizar os cariótipos de *Passiflora foetida* e *P. vesicaria* a fim de definir se há diferenças citogenéticas entre os taxa de *Passiflora foetida sensu lato* que suportem a nova circunscrição e inferir as possíveis causas das eventuais diferenças cromossômicas em relação as demais espécies do subgênero.

1.1.2 Específicos

- Realizar a primeira contagem cromossômica para *P. vesicaria*;
- Quantificar o tamanho do genoma de acessos de *P. foetida* e *P. vesicaria*;
- Comparar a distribuição da heterocromatina entre as duas espécies por meio da dupla coloração CMA e DAPI;
- Realizar o mapeamento dos sítios de DNA ribossomal 5S e 35S no cariótipo das espécies.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 GENOMA DE PLANTAS

Os genomas vegetais nucleares são diversos em sua composição e muito dinâmicos. Essa plasticidade genotípica faz com que as plantas tenham a capacidade de se adaptar com maior facilidade e contribui para a domesticação de espécies de interesse econômico (Krasileva, 2019). Os genomas são constituídos por sequências únicas e repetitivas, e podem ser muito diversos em tamanho, conteúdo e ploidia (Michael & VanBuren, 2020). As sequências únicas ou de baixo número de cópias incluem grande parte dos genes codificadores de proteínas. Quanto às sequências repetitivas, elas são as mais abundantes na maioria dos genomas vegetais (Heslop-Harrison & Schwarzacher, 2011). O acúmulo desse tipo de sequência vem sendo relacionado a eventos de aumento no tamanho do genoma em plantas, como observado em alguns táxons de *Cuscuta* L., que apresentam um maior número de bandas heterocromáticas quando comparadas com o resto do gênero (Ibiapino *et al.*, 2020), e em *Passiflora*, onde foi notada uma expansão de linhagens de retroelementos como Ty1-copia/Angela e Ty3-gypsy/Tekay nos genomas do subgênero *Passiflora* (Sader *et al.*, 2021).

2.1.1 Displóidia e Poliplóidia

Outro fator que pode estar relacionado ao aumento do tamanho do genoma e evolução cariotípica são as alterações cromossômicas numéricas. Existem dois tipos de mudanças no número cromossômico que impactam na evolução cariotípica, a poliplóidia e a displóidia (Guerra, 2012; Guerra, 2000).

As displóidias são mudanças no número cromossômico devido, por exemplo, a translocações Robertsonianas dos tipos fusão e fissão (Melo & Guerra, 2021). A displóidia é considerada ascendente quando o número cromossômico haploide aumenta e o cariótipo passa a ter um ou mais cromossomos. Ao comparar os registros cromossômicos e as filogenias da família Bignoniaceae, pode-se deduzir que seu número básico é provavelmente $n = 18$, seguido de uma displóidia ascendente ($n = 18 \rightarrow n = 20$) nos clados mais derivados (Cordeiro *et al.*, 2020). Já a displóidia descendente é o contrário, quando há diminuição do número cromossômico. Um exemplo em plantas foi relatado no gênero *Gossypioides*. Nativo do continente africano, esse gênero tem número cromossômico haploide $n = 12$, enquanto seu gênero irmão tem $n = 13$, assim como os outros táxons relacionados. Portanto, o número cromossômico de *Gossypioides* foi resultado de várias reestruturações cromossômicas que levaram à uma displóidia

descendente (Udall *et al.*, 2019). Esse tipo de disploidia aparentemente é mais frequente nas plantas (Guerra, 2000).

A poliploidia, por outro lado, consiste na duplicação de todo o complemento cromossômico de uma espécie (Guerra, 1998). Acontece muitas vezes na história evolutiva de vários grupos e se mostra um processo importante na evolução das plantas, inclusive por estar associado ao surgimento das flores, na base das angiospermas (Wendel, 2000). Estima-se que a grande maioria das angiospermas e quase todas as pteridófitas, por exemplo, tem origem poliploide, e por isso sua imensa diversidade (Guerra, 2020). Os poliploides podem ser classificados de diferentes formas, como em alo- ou autopoliploides, sendo esses dois conjuntos cromossômicos de parentais diferentes ou dois conjuntos cromossômicos similares do mesmo parental, respectivamente (Guerra, 2008). Também são frequentemente classificados em neo- ou paleopoliploides, sendo os neopoliploides resultado de uma poliploidização recente, fáceis de reconhecer e caracterizar, enquanto os paleopoliploides tem origem antiga e talvez seus ancestrais já estejam extintos, dificultando seu reconhecimento (Soltis *et al.*, 2015). Comparações nas taxas de diversificação de diversas linhagens indicam que duplicações de genoma completo, ou seja, os eventos de poliploidia, podem ter levado ao aumento da riqueza em várias linhagens de angiospermas, inclusive Poaceae, Solanaceae, Fabaceae e Brassicaceae (Soltis *et al.*, 2009).

2.2 CITOTAXONOMIA

O cariótipo, ou conjunto cromossômico de uma espécie, nada mais é do que o próprio genoma, tendo a vantagem de, diferentemente de outros caracteres fenotípicos, não depender de expressão gênica, condições ambientais, idade ou fase de desenvolvimento (Guerra, 2012). Além do número de cromossomos, o cariótipo pode ser caracterizado também quanto à morfologia dos cromossomos, que, quando monocêntricos, podem ser classificados em metacêntricos, submetacêntricos e acrocêntricos; quanto ao número de bandas de heterocromatina; e utilizando sondas de sequências conservadas entre as espécies em hibridizações *in situ* fluorescentes (FISH). Essas características podem ser úteis para distinguir táxons relacionados e para fazer inferências evolutivas quando associadas a dados filogenéticos (Guerra, 2008).

O uso de dados cariotípicos na taxonomia, conhecido como citotaxonomia, contribui para avaliar as relações entre espécies ou populações e para uma melhor compreensão da forma como eles divergiram. Dentre os dados que podem ser usados na citotaxonomia, o número cromossômico é a maneira mais rápida, barata e fácil para obter informação sobre o genoma de uma espécie ou relacionar genomas para melhor compreender suas relações evolutivas (Guerra, 2008).

2.2.1 Heterocromatina

O conjunto de DNA e proteínas associadas é chamado de cromatina, que pode ser classificada em dois tipos principais. A eucromatina compreende a porção codificante, sendo mais rica em bases nitrogenadas adenina e timina, enquanto a heterocromatina, que pode ser constitutiva ou facultativa tende a conter as frações mais repetitivas do genoma (Guerra, 1998). Esses tipos, quando localizados ao longo dos cromossomos, formam padrões que muitas vezes são conservados entre espécies ou grupos, sendo possível a identificação dos táxons através desses padrões (Souza, 2012; Da Costa Silva et al., 2015).

Dentre as técnicas para identificar as regiões heterocromáticas nos cromossomos, a dupla coloração com os fluorocromos cromomicina A3 (CMA) e 4'6-diamidino-2-phenilindol (DAPI) é a mais utilizada em análises citogenéticas comparativas em plantas (Souza, 2012). A dupla coloração CMA/DAPI permite uma coloração diferencial da heterocromatina constitutiva, revelando com o CMA regiões ricas em bases GC (guanina e citosina), enquanto o DAPI cora mais fortemente regiões ricas em AT (adenina e timina; Guerra & Souza, 2002). As RONS (Regiões Organizadoras de Nucléolo), sendo regiões ricas em GC, também são reveladas através dessa técnica (Besendorfer *et al.*, 2002).

Em Caesalpinoideae, essa técnica evidenciou diferenças significativas e altas taxas de diversificação dos padrões de bandas entre espécies (Van-Lume & Souza, 2018), e também demonstrou correlação entre dados ecológicos e padrões de distribuição específicos da heterocromatina em diferentes ambientes (Van-Lume *et al.*, 2017). Em citrus, onde as espécies apresentam o mesmo número e morfologia cromossômica, os padrões de bandas evidenciados pela dupla coração CMA/DAPI permitem diferenciar as espécies muito populares no mercado alimentício (Guerra, 2009).

2.1.2 Hibridização *in situ* Fluorescente (FISH)

A hibridização *in situ* fluorescente (FISH) tornou possível visualizar sequências de DNA nos cromossomos, através de sondas fluorescentes, dando início à citogenética molecular. Essas sondas consistem em um segmento complementar de DNA ou RNA selecionado, isolado, amplificado e marcado, que é hibridizado nas células de interesse. Elas podem ser marcadas direta ou indiretamente com fluorocromos, permitindo sua visualização por microscópios de fluorescência (Guerra, 2004).

As sequências mais utilizadas na FISH são os DNAs ribossomais, 5S e 35S, pois essas sequências repetitivas são dispostas no genoma em tandem, ou seja, formando blocos os quais podem ser facilmente detectados pela técnica (Guerra, 2004). Além disso, as sequências dos DNAr 35S e 5S são altamente conservadas, podendo ser detectadas com sondas heterólogas em análises comparativas entre táxons. O feijão comum, por exemplo, apresenta um acúmulo de números de sítios de DNAr nas linhagens dos Andes em relação às linhagens mesoamericanas (Pedrosa-Harand *et al.*, 2006).

2.3 PASSIFLORA SUBGÊNERO *PASSIFLORA*

O gênero *Passiflora* compreende mais de 500 espécies e tem mais de 95% da sua diversidade na América do Sul (Pacheco *et al.*, 2020). Atualmente é dividido em 4 subgêneros, sendo eles *Astrophea* (DC.) Mast., *Decaloba* (DC.) Rchb., *Deidamioides* (Harms) Killip, e *Passiflora* Feuillet & MacDougal (MacDougal & Feuillet, 2003), apesar de alguns autores considerarem outros subgêneros como *Tryphostemmatoides* (Muschner *et al.*, 2012, Buitrago, MacDougal & Coca, 2018) e *Tetrapatheia* (Krosnick, Ford, & Freudenstein, 2009).

O subgênero *Passiflora* conta com cerca de 250 espécies, sendo um subgênero tropical e subtropical de trepadeiras e lianas (Cervi & Imig, 2013). Tem flores relativamente grandes com filamentos coronais unisseriados a multisseriados, cinco estames e o estigma e o ovário são elevados por uma coluna chamada androginóforo. Está amplamente distribuído, principalmente nos trópicos, além de ser o subgênero mais conhecido devido à sua importância econômica (Ulmer & MacDougal, 2004).

2.3.1 Importância Econômica

O subgênero *Passiflora* inclui espécies como *P. edulis* Sims e *P. alata* Curtis, mais conhecidos como maracujá azedo e maracujá doce respectivamente, sendo o Brasil

o maior produtor de maracujá do mundo (Meletti, 2011), além de produzir quase em sua totalidade os maracujás azedos (Sebrae, 2016). Também inclui outras espécies como *P. incarnata* L., usada no mercado farmacológico, entre outros subprodutos aproveitados dos compostos secundários dessas plantas (Leal *et al.*, 2022). Em relação a *P. foetida*, tem o fruto comestível, sendo considerada uma planta de potencial nutracêutico (Song *et al.*, 2018) e já existem estudos que detalham seu uso farmacológico (Chiavaroli *et al.*, 2020), além de potencial antifúngico (Elangovan *et al.*, 2022), e até o uso dos seus genes para introgressão em plantas comerciais (Vijay *et al.*, 2021).

2.3.2 Citogenética e filogenia no subgênero *Passiflora*

O subgênero *Passiflora* apresenta o número cromossômico básico $x = 9$ (Melo & Gerra, 2001; Hansen *et al.*, 2006; Sader *et al.*, 2019), com exceção de *P. foetida*. De todas as espécies analisadas do subgênero, apenas *P. foetida* apresenta o número cromossômico $n = 10$. Em estudos filogenéticos, *P. foetida* é a primeira linhagem a divergir e aparece como irmã das demais espécies do subgênero (Cauz-Santos *et al.*, 2020; Krosnick *et al.*, 2013). Considerando o ancestral do gênero com $x = 12$ (Melo & Guerra, 2021), é possível que o $n = 10$ seja um número intermediário em uma série de disloidia descendente até o $n = 9$.

Em relação às bandas heterocromáticas e DNAr no subgênero, todas as espécies analisadas até o momento apresentaram os sítios de DNAr tanto 35S quanto 5S terminais ou subteloméricos (Dias *et al.*, 2020, Coelho *et al.*, 2016). A exceção é *P. foetida*, que apresenta sítios subteloméricos de 5S, porém DNAr 35S pericentroméricos (Melo e Guerra, 2003), sugerindo alterações cromossômicas estruturais ou mudança nas posições dos sítios.

Os tamanhos de genoma para o subgênero *Passiflora* variam de 0,263 para *P. palmeri* Rose, indo até 2,68 para *P. quadrangularis* L. são os maiores dentro do gênero, com *P. foetida* apresentando o menor tamanho dentro do subgênero (Yotoko *et al.* 2011). Sendo assim, novamente *P. foetida* aparenta caracteres cariotípicos intermediários entre os outros subgêneros e as demais espécies do seu subgênero, corroborando sua posição filogenética.

2.3.3 *Passiflora foetida* e *P. vesicaria*

Passiflora foetida é uma espécie trepadeira, amplamente distribuída. Tem raízes lenhosas, caule sólido, gavinhas e folhas que variam no tamanho e forma, carregando tricomas em toda a extensão da planta, os quais secretam um líquido com cheiro específico, dando a fama da espécie de maracujá fedorento. Suas flores coloridas, variam indo desde roxas à brancas e apresentam uma grande diversidade morfológica, sendo possível a identificação de seis variedades: elas *P. foetida* var. *foetida* L., var. *nigelliflora* (Hooker), var. *oaxacana* Killip, var. *acapulsensis* Killip, var. *ellisonii* Vanderplank e var. *baraquiniana* (Lem.) Vanderplank. Além disso, táxons que antes eram considerados também suas variedades, foram elevados à categoria de espécie com base em dados morfológicos como cor da flor, forma do fruto e sementes, e quantidade de lóbulos foliares, sendo eles *P. vesicaria* e *P. vesicaria* var. *galapagensis*. Esses dois taxa não apresentam diferenças morfológicas tão significantes, embora *P. vesicaria* var. *galapagensis* se encontre geograficamente muito isolada (Vanderplanck, 2013).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAL VEGETAL

O trabalho foi realizado com três acessos, um de *P. foetida* e dois de *P. vesicaria*, os quais foram obtidos em parceria com o Jardim Botânico do Recife, ou através de coletas feitas por pesquisadores do Laboratório de Citogenética e Evolução Vegetal. Os acessos foram mantidos em cultivo no Jardim Experimental do Laboratório de Citogenética e Evolução Vegetal do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e vouchers foram depositados no Herbário UFP – Geraldo Mariz. Sementes foram colocadas para germinar em placas de Petri e, após germinação, raízes foram coletadas e pré-tratadas com 2mM 8-hidroxiquinoleína (8-HQ) por 4,5 horas, a 10 °C, fixadas em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético glacial) por 1-24 h, à temperatura ambiente, e estocadas em freezer a -20°C para utilização nas preparações mitóticas.

3.2 ANÁLISE CITOGENÉTICA

Para a preparação das lâminas, o material foi lavado duas vezes em água destilada e digerido a 37 °C em uma solução contendo 2% de celulase (Onozuka) e 20% de pectinase (Sigma) (v/v) por 1 h em câmara úmida. As lâminas foram preparadas segundo o protocolo de secagem ao ar (Ribeiro *et al.*, 2017). O bandeamento cromossômico por dupla coloração com os fluorocromos chromomicina A3 (CMA) e 4'6-diamidino-2-phenilindol (DAPI), para caracterização das bandas de heterocromatina ricas em GC e AT, respectivamente, foi realizado de acordo com Vaio *et al.* (2018).

As hibridizações *in situ* fluorescente foram realizadas segundo descrito em Fonsêca *et al.* (2010), usando duas sondas de DNAr: oligonucleotídeos correspondendo a regiões conservadas do 5S rDNA pré-marcados - PLOPs (Waminal *et al.*, 2018) com Cy3dUTP (5S) e o clone pTa71 de trigo (25-28S, 5,8S, e 18S DNAr; Gerlach e Bedbrook, 1979) marcado por *Nick translation* com Alexa-488-dUTP (35S). Após bandeamento CMA/DAPI e FISH, as imagens foram capturadas em microscópio de epifluorescência Leica DM5500B com sistema de captura Leica las-AF. As melhores células fotografadas foram selecionadas para sobreposição e ajuste de brilho e contraste no Adobe Photoshop CS6.

3.3 CITOMETRIA DE FLUXO

Com o intuito de estimar o tamanho genômico das espécies de cada táxon, foram realizadas análises de citometria de fluxo das folhas de um a três indivíduos de cada acesso em cultivo em réplicas, seguindo o protocolo revisado por Pellicer & Leitch (2014). Folhas frescas de um indivíduo e do padrão interno (*Lycopersicon esculentum* Mill. 2C = 1,96 pg, Doležel *et al.*, 1998) foram picotadas simultaneamente em 1 mL de tampão Woody Plant Buffer-WPB (Loureiro *et al.*, 2007) ou Marie Buffer. A amostra foi filtrada em um filtro de 30 µm, sendo posteriormente adicionado 50 mg/mL de iodeto de propídeo, um agente fluorescente intercalante à molécula de DNA. As amostras foram submetidas a análise em um citômetro de fluxo CyFlow Partec Space (Sysmex, Norderstedt, Alemanha). Os histogramas de fluorescência relativa foram interpretados com o auxílio do software Flomax v.2.3.0. (Sysmex, Norderstedt, Alemanha).

4 RESULTADOS

4.1 ARTIGO: Duas espécies e dois cariótipos? Diferenciação cariotípica entre *Passiflora foetida* L. e *P. vesicaria* L. (Passifloraceae)

Bruna Zirpoli, Mariela A. Sader*, Pablo E. Rodriguez*, Andrea Pedrosa-Harand

Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Recife- Brasil.

*Present address Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

Resumo

O gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae) é amplamente distribuído, principalmente nos neotrópicos, e apresenta mais de 500 espécies, divididas em quatro subgêneros principais. O subgênero *Passiflora* é o de maior importância econômica e apresenta um número cromossômico básico $x = 9$, sendo *P. foetida* L. a única espécie do subgênero que apresenta o número haploide $n = 10$, além de um grande número de variedades. Duas delas foram recentemente recircunscritas como *Passiflora vesicaria* L. e *Passiflora vesicaria* var. *galapagensis*. Nesse trabalho, nosso objetivo foi caracterizar citogeneticamente ambas as espécies estimando os tamanhos do genoma por citometria de fluxo, mapeando regiões heterocromáticas mediante coloração CMA/DAPI, e sítios de

DNA ribossomal 5S e 35S, através de hibridização *in situ* fluorescente (FISH). Os tamanhos dos genomas foram similares entre os três acessos analisados, com $2C = 1,07 \pm 0,07$ pg para *P. foetida*, $2C = 1,16 \pm 0,01$ pg para *P. vesicaria* e $2C = 0,99 \pm 0,02$ pg para *P. vesicaria* var. *galapagensis*, caracterizando genomas pequenos. Todos os três acessos apresentaram $2n = 20$, confirmando a contagem para *P. foetida* e revelando pela primeira vez os números cromossômicos dos dois acessos de *P. vesicaria*. Foram observadas seis bandas CMA⁺ para *P. foetida*, duas bandas de CMA⁺ para *P. vesicaria* e quatro bandas de CMA⁺ para *P. vesicaria* var. *galapagensis*, todas colocalizadas com os sinais de DNAr 35S. A FISH com DNAr 5S e 35S mostrou em *P. foetida* seis sítios de 35S pericentroméricos de diferentes intensidades, e quatro sítios de 5S intersticiais. *P. vesicaria* mostrou quatro sítios de 35S também pericentroméricos assim como dois sítios de 5S, enquanto *P. vesicaria* var. *galapagensis* que apresentou quatro sítios de 35S pericentroméricos, e dois sítios de 5S. Portanto, apesar das espécies apresentarem o mesmo número cromossômico ($n = 10$) e um tamanho genômico similar, existem variações cariotípicas quanto ao número de bandas CMA⁺ e de sítios de DNAr que permitem diferenciá-las. A conservação do $n = 10$ nessa linhagem também reforça o $x = 10$ como número básico ancestral para o subgênero *Passiflora*, apenas de $n = 9$ ser mais frequente nesse subgênero.

PALAVRAS CHAVE: Bandeamento CMA/DAPI, Citotaxonomia, DNA ribossomal 5S e 35S, FISH, Citometria de fluxo.

Introdução

O gênero *Passiflora* L. é o maior gênero da família Passifloraceae, e engloba aproximadamente 560 espécies, em sua maioria trepadeiras, lianas e lenhosas, apesar de terem plantas com hábito arbustivo ou arbóreo (Krosnick et al., 2013; Koch & Ilkiu-Borges, 2016), distribuídas especialmente nos Neotrópicos (Ulmer & MacDougal, 2004). Apresenta relações coevolutivas com muitos organismos, incluindo polinizadores (OCampo Perez & Coppens d'Eeckenbrugge, 2017). Devido à sua ampla variação morfológica, o gênero foi anteriormente dividido em 22 subgêneros (Killip, 1938), mais recentemente reunidos em quatro subgêneros principais: *Astropheia* (DC.) Mast., *Decaloba* (DC.) Rchb., *Deidamioides* (Harms) Killip, e *Passiflora* Feuillet & MacDougal (Ulmer e MacDougal, 2004).

O subgênero *Passiflora* compreende cerca de 250 espécies, sendo o maior dentre os subgêneros de *Passiflora* (Cervi & Imig, 2013). Apresenta trepadeiras e lianas com flores relativamente grandes, com filamentos coronais uni- a multisseriados, cinco estames, com estigma e ovário elevados por uma coluna chamada androginóforo. Está amplamente distribuído, principalmente nos trópicos, além de ser o subgênero mais conhecido devido à sua importância econômica (Ulmer & MacDougal, 2004).

Passiflora foetida foi a primeira linha a divergir dentro do subgênero *Passiflora* sendo, portanto, irmã das demais espécies do subgênero (Cauz-Santos *et al.*, 2020). *Passiflora foetida* é uma espécie amplamente distribuída (Patil *et al.*, 2015), com altas taxas de reprodução e dispersão, e por isso considerada invasora em alguns países (Cowie & Werner, 1993, Hopley *et al.*, 2021). Alguns trabalhos apontam *P. foetida* como uma planta com potencial de uso dos seus genes para introgressão em plantas comerciais (Vijay *et al.*, 2021) e potencial antifúngico (Elangovan *et al.*, 2022), além do uso farmacológico conhecido em todo gênero (Leal *et al.*, 2022, Chiavaroli *et al.*, 2020). A espécie apresenta uma grande diversidade morfológica, sendo possível a identificação de seis variedades. Além disso, táxons que antes eram considerados também suas variedades, foram elevados à categoria de espécie apenas com base em dados morfológicos, sendo eles *P. vesicaria* e *P. vesicaria* var. *galapagensis* (Vanderplanck, 2015). Numa caracterização de *Passiflora foetida* a fim de investigar a origem de acessos invasores na Austrália, foram reconhecidas três linhagens: Brasil (Clado I), Caribe (Clado II) e Equador (Clado II) (Hopley *et al.*, 2021). No entanto, não foi possível diferenciar suas variedades, sendo todos os taxa tratados como *P. foetida lato sensu*. Como complementar às caracterizações morfológicas e moleculares, a caracterização cariotípica pode auxiliar nas delimitações desses táxons numa abordagem citotaxonômica (Guerra, 2008).

Dentre as principais características cariotípicas usadas em citotaxonomia estão o número cromossômico, tamanho genômico, bandas heterocromáticas e número e localização de sítios de DNAs ribossomais 35S e 5S (Guerra, 2012). Para a identificação das bandas de heterocromatina é comum o uso da dupla coloração CMA/DAPI, os quais são fluorocromos que coram respectivamente as regiões ricas em GC e AT (Cordeiro *et al.*, 2022). Já o DNAr 5S e 35S são sequências repetidas em tandem que codificam os RNAr 5S, 5,8S, 18S, e 25-28S, de extrema importância para a montagem dos ribossomos (Richard *et al.*, 2008) e que são usadas como marcadores citomoleculares nos estudos de evolução cromossômica (Jiang *et al.*, 2019).

Apesar de *Passiflora* apresentar número cromossômico variável entre os subgêneros (Sader *et al.*, 2019a), o subgênero *Passiflora*, em sua grande maioria, possui cromossomos meta- e submetacêntricos e número cromossômico básico $x = 9$ (Sader *et al.*, 2019b), além de apresentarem os sítios de DNAr sempre terminais ou subteloméricos (Dias *et al.*, 2020, Coelho *et al.*, 2016). No entanto, os acessos analisados de *P. foetida* apresentaram $n = 10$ (Mikovski *et al.*; 2021; Barros *et al.*, 2021; Ferreira *et al.*, 2020; Melo *et al.*, 2001), e apresentando sítios de DNAr 35S proximais (Melo e Guerra, 2003). Em nenhum dos trabalhos, no entanto, os materiais foram classificados a nível de variedade.

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar os cariótipos de três acessos das espécies *P. foetida* e *P. vesicaria*, recentemente separado de *P. foetida*, com dupla coloração CMA/DAPI e mapeamento do DNA ribossomal 5S e 35S, além de estimar o tamanho genômico de cada acesso, com o intuito de possibilitar discussões taxonômicas e evolutivas em relação ao subgênero *Passiflora*.

Materiais e métodos

Material Vegetal

Três acessos das espécies *P. foetida* e *P. vesicaria* foram adquiridos a partir de parceria com o Jardim Botânico do Recife e através de coletas realizadas por pesquisadores do Laboratório de Citogenética e Evolução Vegetal. As plantas foram cultivadas no Jardim Experimental do Laboratório de Citogenética e Evolução Vegetal do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e as exsicatas e seus vouchers foram depositados no Herbário UFP – Geraldo Mariz. Os dados das espécies e de coletas estão sumarizados na Tabela 1.

Análise Citogenética

As sementes das espécies foram colocadas em placas de Petri para germinar e, após germinação, as pontas das raízes foram coletadas e pré-tratadas com 8-hidroxiquinoleína (8-HQ) por 4,5 horas, a 10° C, fixadas em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético glacial) por no mínimo uma hora à temperatura ambiente e estocadas em freezer a -20°C para utilização posterior. Para as preparações mitóticas, as raízes foram lavadas

duas vezes em água destilada e digeridas em uma solução contendo 2% de celulase (Onozuka) e 20% de pectinase (Sigma) (v/v) a 37°C, por uma a três horas.

As preparações foram realizadas segundo o protocolo de secagem ao ar (Ribeiro *et al.*, 2017). O bandeamento cromossômico por dupla coloração com os fluorocromos Cromomicina A3 (CMA) e 4'6-diamidino-2-phenilindol (DAPI) foi realizado de acordo com Vaio *et al.* (2018). As hibridizações *in situ* fluorescentes foram realizadas segundo disponível em Fonsêca *et al.* (2010) com oligos pré-marcados com Cy3dUTP – PLOPs para o 5S rDNA (Waminal *et al.*, 2018). O clone pTa71 de trigo (25-28S, 5,8S, e 18S DNAr; Gerlach e Bedbrook, 1979) marcado por *Nick translation* com Alexa-488-dUTP e usado para localizar os sítios de DNAr 35S. Microscópios de epifluorescência Leica DM5500B com sistema de captura Leica las-AF foram utilizados para captura de imagens e o programa Adobe Photoshop CS6 foi usado para ajustes das imagens de modo uniforme para brilho e contraste.

Citometria de fluxo

Para as análises de citometria foram utilizadas folhas frescas de três indivíduos de cada acesso em cultivo em réplicas, simultaneamente com o padrão interno (*Lycopersicon esculentum* Mill. 2C = 1,96 pg, Doležel *et al.* 1998), de acordo com o protocolo revisado por Pellicer & Leitch (2014), em 1 mL de tampão Woody Plant Buffer-WPB (Loureiro *et al.*, 2007) ou Marie Buffer. Foi usado um filtro de 30 µm, e adicionado 50 mg/mL de iodeto de propídeo, como fluorocromo intercalante de DNA. O citômetro de fluxo utilizado foi CyFlow Space (Sysmex, Norderstedt, Alemanha) e os histogramas de fluorescência relativa gerados com o software Flomax v.2.3.0. (Sysmex, Norderstedt, Alemanha).

Resultados

As preparações mitóticas dos três acessos das duas espécies analisadas apresentaram o mesmo número cromossômico, $2n = 20$, com cromossomos metacêntricos e submetacêntricos (Tabela 1, Fig. 1). Essas contagens corroboram análises anteriores para *P. foetida* (Guerra, 2001; Melo & Guerra, 2003), e adicionam novas contagens cromossômicas para *P. vesicaria* e *P. vesicaria* var. *galapagensis*.

Tabela 1. Acessos analisados de *P. foetida* com informações de voucher e dados citogenéticos

Espécies	Voucher	2n	2C (pg)/ cv	Número de bandas CMA+
<i>P. foetida</i>	UFP85988	20	1,07 ± 0,07/ 3,65	6p
<i>P. vesicaria</i>	UFP89157	20	1,16 ± 0,01/ 4,12	2p
<i>P. vesicaria</i> var. <i>galapagensis</i>	UFP85083	20	0,99 ± 0,02/ 3,77	4p

A dupla coloração CMA/DAPI revelou bandas heterocromáticas CMA positivas em três pares cromossômicos de *P. foetida*, totalizando seis bandas na região pericentromérica (Fig.1a), enquanto *P. vesicaria* apresentou apenas um par de bandas CMA+ forte no pericentrômero (Fig.1c). *P. vesicaria* var. *galapagensis* mostrou um par forte e outro par mais fraco de bandas CMA⁺ (Fig. 1e), assemelhando-se mais ao cariótipo de *P. vesicaria*.

Em relação às FISHs com os DNAs ribossomais, *P. foetida* apresentou dois pares de sítios de DNAr 5S em posições intersticiais e três pares de DNAr 35S proximais (Fig. 1b), correspondendo às bandas de CMA⁺. *Passiflora vesicaria* apresentou apenas um par de DNA 5S intersticial e dois de 35S, um forte e outro bem mais fraco, também proximais (Fig. 1d). Os sinais de DNAr 35S foram co-localizados com as bandas de CMA⁺ (Fig.3), o que é comum, inclusive para outros grupos de plantas (Guerra, 2009), embora o par mais fraco não tenha sido visível como bandas de CMA⁺. *Passiflora vesicaria* var. *galapagensis* apresentou quatro sítios de DNAr 35S (Fig. 1f), o que era esperado, tendo em vista o padrão CMA/DAPI observado anteriormente (Fig. 1e). Não houve diferença no número de sítios de DNAr em relação ao outro acesso de *P. vesicaria*, apenas no tamanho dos sítios de 35S, apresentando inclusive o mesmo número de sítios de DNAr 5S (Fig 1d e 1f).

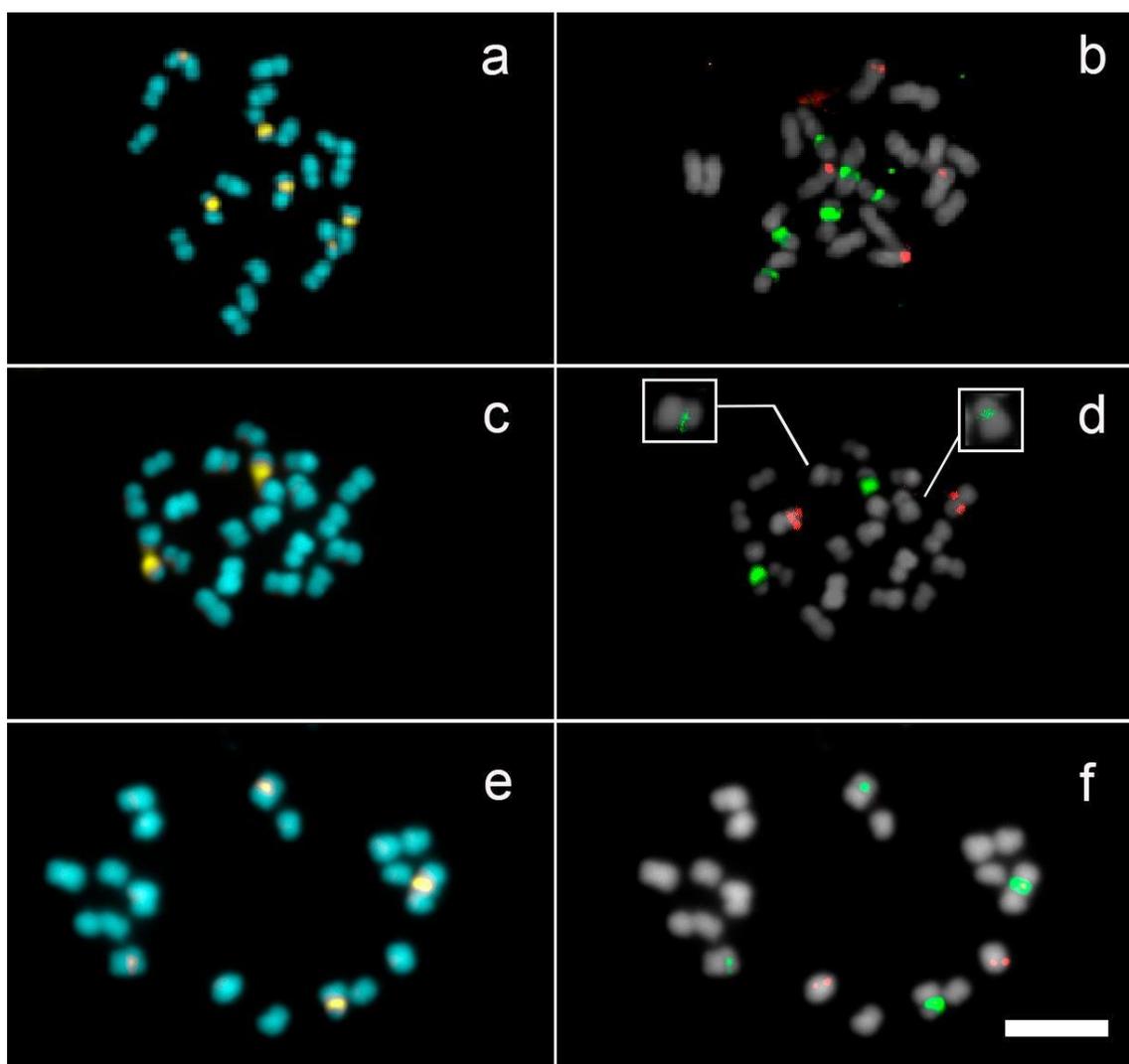


Figura 1. Distribuição de bandas heterocromáticas CMA(amarelo) e DAPI (azul; a, c, e) e hibridização *in situ* fluorescente com o DNAr 5S (cy3, em vermelho) e 35S (Alexa, em verde) (b, d e f). (a-b) *P. foetida*; (c-d) *P. vesicaria* com insertos dos dois menores sítios de 35S; (e-f) *P. vesicaria var. galapagensis*. Barra em (f) corresponde a 10 μ m.

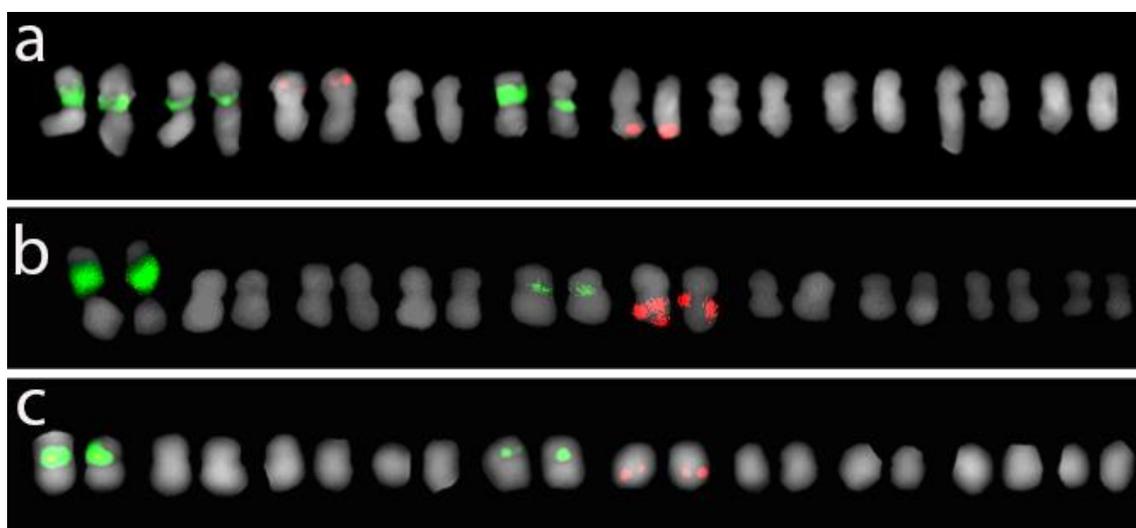


Figura 2. Cariogramas de *P. foetida* (a), *P. vesicaria* (b) e *P. vesicaria* var *galapagensis* (c) com sítios de DNAr 5S (vermelho) e 35S (verde).

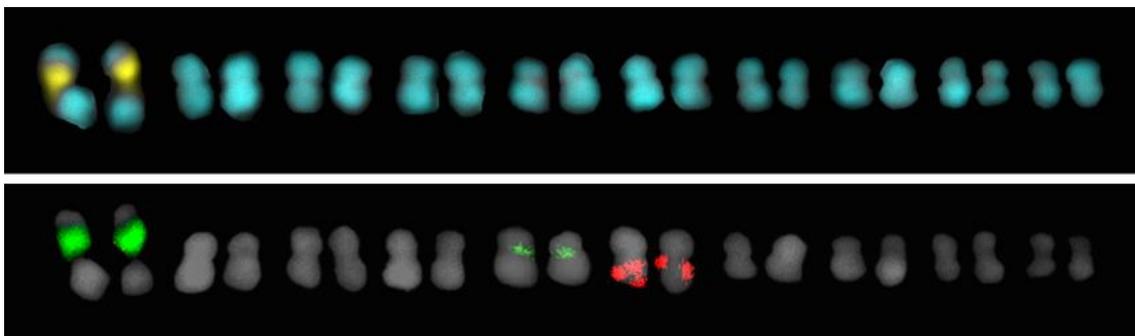


Figura 3. Cariogramas comparativos da dupla coloração CMA/DAPI (amarelo e azul) e da FISH de DNAr 5S (vermelho) e 35S (verde) de *P. vesicaria*, mostrando a colocação das bandas mais intensas CMA⁺ (amarelo) e sítios de DNAr 35S (verde).

As estimativas dos tamanhos dos genomas indicam $2C = 1,07 \pm 0,07$ pg para *P. foetida*, $2C = 1,16 \pm 0,01$ pg para *P. vesicaria* e $2C = 0,99 \pm 0,02$ pg para *P. vesicaria* var *galapagensis*. Os três acessos apresentam uma pequena variação no tamanho do genoma entre si.

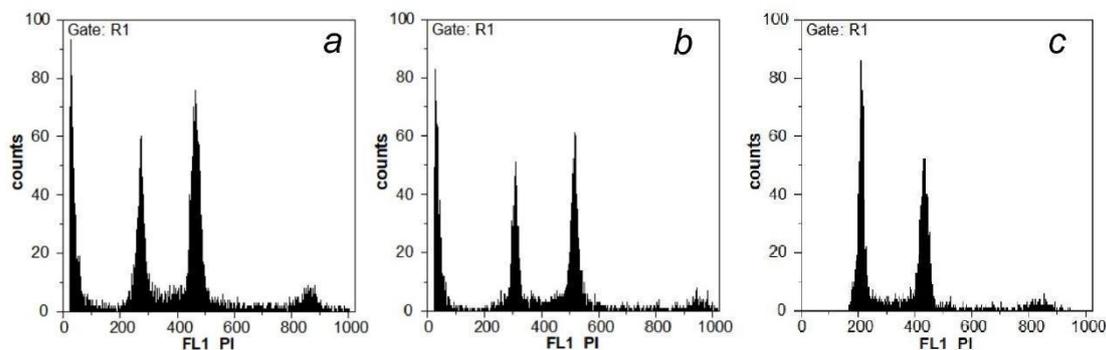


Figura 4. Histogramas de citometria de fluxo. O primeiro pico em cada histograma corresponde às espécies (a) *P. foetida*, (b) *P. vesicaria* e (c) *P. vesicaria* var. *galapagensis*, e o segundo ao controle, *Lycopersicon esculentum*.

Discussão

Neste trabalho, apresentamos a caracterização citogenética inédita de duas variedades de *P. vesicaria* e comparamos com dados similares para um acesso de *P. foetida*, corroborando dados prévios para essa espécie (Mikovski *et al.*; 2021; Barros *et al.*, 2021; Ferreira *et al.*, 2020; Melo & Guerra, 2003; Melo *et al.*, 2001). As variações no número cromossômico já apresentadas para *P. foetida*, $2n = 18$ (Janaki-Ammal, 1945) e $2n = 22$

(Bowden, 1945; Harvey, 1966), provavelmente resultaram de constrições secundárias distendidas, ou contagens incertas, levando os autores a interpretação incorreta do número diploide da espécie. Embora os três táxons apresentem $2n = 20$, corroborando a proximidade entre eles (Vanderplank, 2013), foi possível diferenciar citogeneticamente as espécies quanto ao número de bandas heterocromáticas CMA⁺ e sítios de DNAr 35S e 5S, atestando que existem diferenças cariotípicas entre *P. foetida* e *P. vesicaria*, e sustentando a classificação de espécie de *P. vesicaria*. Quanto à variedade *P. vesicaria* var. *galapagensis*, os dados se mostram similares aos de *P. vesicaria*, com uma pequena diferença em relação a intensidade de um sítio de DNAr 35S que se reflete em uma banda de CMA⁺ menos visível na variedade típica, assim como observado em *Citrus reticulata* cv. Cravo (Da Costa Silva *et al.*, 2015).

As variações na quantidade de sítios de DNAr são significativas do ponto de vista taxonômico dentro do subgênero, uma vez que, outras espécies mais distantes entre si já apresentaram números de sítios diferentes, como é o caso de *P. edulis* (quatro sítios de DNAr 35S) (Melo & Guerra, 2003; Sader *et al.*, 2019a) e *P. watsoniana* (seis sítios de DNAr 35S) (Dias *et al.*, 2020), sendo possível a diferenciação de algumas espécies com base no número de sítios de DNAr (Melo & Guerra, 2003). A posição dos sítios também pode variar entre espécies, embora tenha se mostrado conservada entre espécies mais próximas. Enquanto em *P. edulis* e outras espécies do subgênero *Passiflora* os sítios de DNAr 35S foram terminais, em *P. foetida* e *P. vesicaria* os sítios foram proximais, como em *P. misera* e *P. tricuspis*, do subgênero *Decaloba* (Dias *et al.*, 2020, Coelho *et al.*, 2016, Melo & Guerra, 2003).

Considerando a posição filogenética basal de *P. foetida* no subgênero (Cauz-Santos *et al.*, 2020) e um provável cariótipo ancestral para o gênero com $x = 12$ (Melo & Guerra, 2021), o $n = 10$ de *P. foetida* e *P. vesicaria* provavelmente representa um estágio intermediário originado por disploidia descendente, que posteriormente resultaria no número haploide mais ocorrente nas demais espécies do subgênero $x = 9$. Sendo assim, $x = 10$ deve ser considerado o número cromossômico básico ancestral para o subgênero *Passiflora*, e não $x = 9$, que representa apenas o número mais frequente.

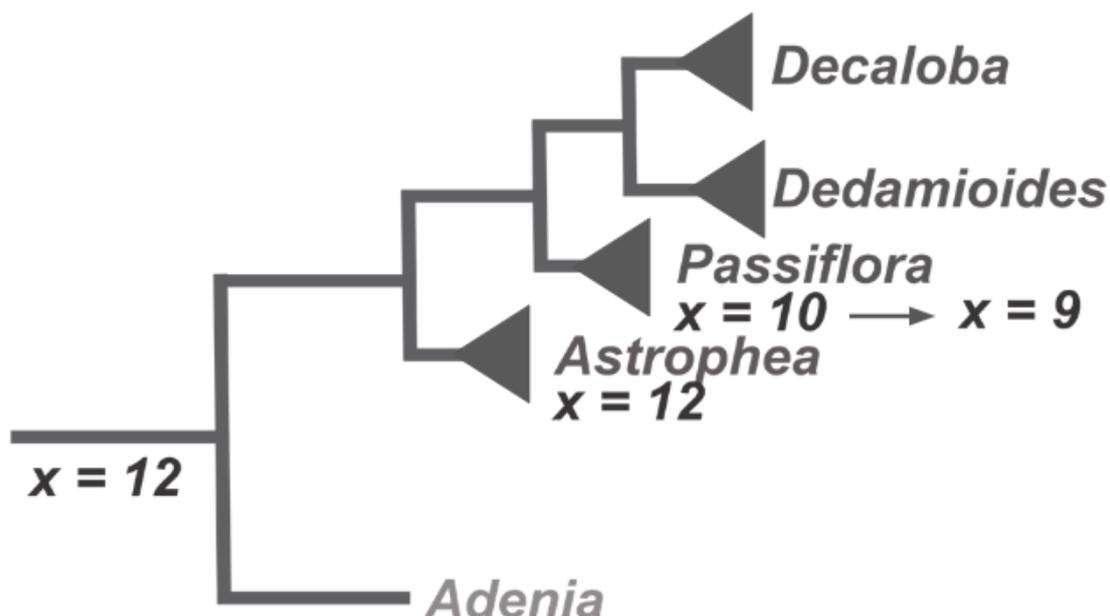


Figura 5. Representação simplificada das relações filogenéticas e reconstrução do número cromossômico ancestral e sua mudança no subgênero *Passiflora*, inicialmente para $x = 10$ e posteriormente para $x = 9$, o número mais ocorrente atualmente no subgênero.

Nesse cenário, os sítios proximais poderiam ser fruto da fusão de cromossomos com sítios terminais como observado em espécies do subgênero *Astrophea*, com $n = 12$ (Melo e Guerra, 2003). No entanto, a maioria das espécies do subgênero tem $n = 9$ e sítios de DNAr 35S terminais (Dias *et al.*, 2020), sugerindo rearranjos estruturais mais complexos nos cariótipos durante os eventos de displóidia. No grupo de *Senna* Mill., ao comparar *Senna occidentalis* (L.) Link e *S. tora* (L.) Roxb, a displóidia descendente ocorreu através de diversos rearranjos estruturais, envolvendo duplicações do genoma inteiro e fusões cromossômicas (Waminal *et al.*, 2021). A hipótese alternativa para essa mudança na localização dos sítios de DNAr seria a transposição do DNAr independente de rearranjos estruturais, assim como reportado em Triticeae (Dubcovsky e Dvorak 1995; Raskina *et al.* 2004a, b).

O tamanho do genoma em *Passiflora* varia consideravelmente entre suas espécies, indo de $2C = 0.21$ pg em *P. organensis* a 5.36 pg em *P. quadrangularis*, com genomas maiores no subgênero *Passiflora* (Souza *et al.*, 2004; Yotoko *et al.*, 2011) Os valores encontrados no presente trabalho não sugerem variação significativa entre as duas espécies ($2C = 1,07 \pm 0,07$ pg para *P. foetida*, $2C = 1,16 \pm 0,01$ pg para *P. vesicaria* e $2C = 0,99 \pm 0,02$ pg para *P. vesicaria var galapagensis*), e são similares às previamente descritas para *P. foetida* ($2C = 0,96$ pg) (Yotoko *et al.*, 2011). Seu genoma relativamente pequeno é compatível com o aumento do genoma observado em outras espécies do

subgênero *Passiflora* (Sader et al, 2019b). Uma amostragem mais ampla de vários indivíduos de diferentes localidades de cada uma das variedades das duas espécies seria necessária para verificar se esse caráter poderia diferenciar os táxons a nível intraespecífico.

Referências

- BARROS, J. O. Caracterização citogenética, comportamento meiótico e viabilidade polínica de plantas triploides de *Passiflora foetida* L. 2021.
- BOWDEN, W. M. A List of Chromosome Numbers in Higher Plants. II. Menispermaceae to Verbenaceae. **American Journal of Botany**, v. 32:(4): p. 191-201, 1945.
- CAUZ-SANTOS et al. A repertory of rearrangements and the loss of an inverted repeat region in *Passiflora* chloroplast genomes. **Genome biology and evolution**, v. 12, n. 10, p. 1841-1857, 2020.
- CHIAVAROLI, A. et al. Pharmacological properties and chemical profiles of *Passiflora foetida* L. extracts: Novel insights for pharmaceuticals and nutraceuticals. **Processes**, v. 8, n. 9, p. 1034, 2020.
- COELHO, M. S. E. et al. Cytogenetic characterization of the *Passiflora edulis* Sims × *Passiflora cincinnata* Mast. interspecific hybrid and its parents. **Euphytica**, v. 210, n. 1, p. 93-104, 2016.
- CORDEIRO, J. M. P. et al. Chromosome number, heterochromatin, and genome size support recent polyploid origin of the *Epidendrum nocturnum* group and reveal a new species (Laeliinae, Orchidaceae). **Botany**, v. 100, n. 5, p. 409-421, 2022.
- COWIE, I. D.; WERNER, P. A. Alien plant species invasive in Kakadu National Park, tropical northern Australia. **Biological Conservation**, v. 63, n. 2, p. 127-135, 1993.
- DA COSTA SILVA, S. et al. Chromosome homologies between Citrus and Poncirus—the comparative cytogenetic map of mandarin (*Citrus reticulata*). **Tree genetics & genomes**, v. 11, n. 1, p. 1-9, 2015.
- DIAS, Y. K. S. et al. Comparative cytogenetic maps of *Passiflora alata* Curtis and *P. watsoniana* Mast. (Passifloraceae) using BAC-FISH. **Plant Systematics and Evolution**, v. 306, p. 51, 2020.
- DOLEŽEL, J. et al. Plant genome size estimation by flow cytometry: inter-laboratory comparison. **Annals of botany**, v. 82, n. suppl_1, p. 17-26, 1998.
- DUBCOVSKY, Jorge; DVORÁK, Jan. Ribosomal RNA multigene loci: nomads of the Triticeae genomes. **Genetics**, v. 140, n. 4, p. 1367-1377, 1995.
- ELANGO VAN, D. et al. Coating of wallpaper with green synthesized silver nanoparticles from *Passiflora foetida* fruit and its illustrated antifungal mechanism. **Process Biochemistry**, v. 112, p. 177-182, 2022.
- FERREIRA, D. A. T. et al. Karyotype and nuclear DNA content variation in *Passiflora* L. **Scientia Horticulturae**, v. 272, p. 109532, 2020.

- FONSÊCA, A. et al. Cytogenetic map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Chromosome Research**, v. 18, n. 4, p. 487-502, 2010.
- GALBRAITH, D. W. et al. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. **Science**, v. 220, n. 4601, p. 1049-1051, 1983.
- GERLACH, W. L, BEDBROOK, J.R. Cloning and characterization of ribosomal RNA genes from wheat and barley. **Nucleic Acids Res.** 1979 Dec 11;7(7):1869-85. doi: 10.1093/nar/7.7.1869.
- GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and Genome research**, v. 120, n. 3-4, p. 339-350, 2008.
- GUERRA, M. Cytotaxonomy: the end of childhood. **Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, v. 146, n. 3, p. 703-710, 2012.
- GUERRA, M. et al. Poliploidia: a mutação que mudou a história dos seres vivos. **Genética na Escola**, v. 15, n. 2, p. 128-141, 2020.
- GUERRA, M. Introdução a Citogenética Geral. **Editora Guanabara-** RJ, 1998.
- HARVEY, M. J. IOPB chromosome number reports VIII. **Taxon**. 15:155-163, 1966.
- HOPLEY, T. et al. Revealing the Introduction History and Phylogenetic Relationships of *Passiflora foetida* sensu lato in Australia. **Frontiers in plant science**, p. 1453, 2021.
- JANAKI-AMMAL, E.K.; DARLINGTON, C.D. Chromosome Atlas of cultivated plants. **London: George Allen and Unwin**, 1945, 397p.
- JIANG, J. Fluorescence in situ hybridization in plants: recent developments and future applications. **Chromosome Research**, v. 27, n. 3, p. 153-165, 2019.
- KILLIP, E. P. et al. The American species of Passifloraceae. **The American species of Passifloraceae.**, n. 407, 1938.
- KOCH, Ana Kelly; ILKIU-BORGES, Anna Luiza. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Passifloraceae. **Rodriguésia**, v. 67, p. 1431-1436, 2016.
- LEAL, A. E. B. P. et al. Pharmacological activities of the genus *Passiflora* (Passifloraceae): a patent review. **Current topics in medicinal chemistry**.
- MELO, N. F.; CERVI, A. C.; GUERRA, M. Karyology and cytotaxonomy of the genus *Passiflora* L.(Passifloraceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 226, n. 1-2, p. 69-84, 2001.
- MELO, N. F.; GUERRA, M. The karyotype of *Adenia* and the origin of the base number $x=12$ in Passifloroideae (Passifloraceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, 2021.
- MELO, N. F.; GUERRA, M. Variability of the 5S and 45S rDNA sites in *Passiflora* L. species with distinct base chromosome numbers. **Annals of Botany**, v. 92, n. 2, p. 309-316, 2003.
- MIKOVSKI, A. I. et al. From endosperm to triploid plants: a stepwise characterization of the de novo shoot organogenesis and morpho-agronomic aspects of an ornamental passion fruit (*Passiflora foetida* L.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 147, n. 2, p. 239-253, 2021.

- OCAMPO PÉREZ, J.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G. Morphological characterization in the genus *Passiflora* L.: an approach to understanding its complex variability. **Plant Systematics and Evolution**, v. 303, n. 4, p. 531-558, 2017.
- PATIL, A. S.; LADE, B. D.; PAIKRAO, H. M.. A scientific update on *Passiflora foetida*. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 5, n. 2, p. 145, 2015.
- RASKINA, O.; BELYAYEV, A.; NEVO, E. Activity of the En/Spm-like transposons in meiosis as a base for chromosome repatterning in a small, isolated, peripheral population of *Aegilops speltoides* Tausch. **Chromosome Research**, v. 12, n. 2, p. 153-161, 2004.
- RASKINA, O.; BELYAYEV, A.; NEVO, E.. Quantum speciation in *Aegilops*: molecular cytogenetic evidence from rDNA cluster variability in natural populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 41, p. 14818-14823, 2004.
- RIBEIRO, T. et al. Centromeric and non-centromeric satellite DNA organisation differs in holocentric *Rhynchospora* species. **Chromosoma**, v. 126, n. 2, p. 325-335, 2017.
- RICHARD, G.; KERREST A.; DUJON, B. Comparative genomics and molecular dynamics of DNA repeats in Eukaryotes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 72, p. 686-727, 2008.
- SADER, M. A. et al. Identification of passion fruit (*Passiflora edulis*) chromosomes using BAC-FISH. **Chromosome Research**, v. 27, n. 4, p. 299-311, 2019b.
- SADER, M. A. et al. The role of chromosome changes in the diversification of *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Systematics and biodiversity**, v. 17, n. 1, p. 7-21, 2019a.
- SOUZA, M. M. et al. Flow cytometric analysis of genome size variation in some *Passiflora* species. **Hereditas**, v. 141, n. 1, p. 31-38, 2004.
- SOUZA, M.M. et al. Variação interespecífica do tamanho do genoma em *Passiflora* spp. (Passifloraceae). In **2º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**, v. 1, p. 297-302, 2003.
- ULMER, T.; MACDOUGAL, J. M. **Passiflora: passionflowers of the world**. Timber Press (OR), 2004.
- VAIO, M. et al. Multiple karyotype changes distinguish two closely related species of *Oxalis* (*O. psoraleoides* and *O. rhombo-ovata*) and suggest an artificial grouping of section Polymorphae (Oxalidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 188, n. 3, p. 269-280, 2018.
- VANDERPLANK, J. A. REVISION OF *PASSIFLORA* SECTION DYSOSMIA: Passifloraceae. **Curtis's botanical magazine**, v. 30, n. 4, p. 31-387, 2013.
- VIJAY, A. et al. Comparative study of ovule development between wild (*Passiflora foetida* L.) and cultivated (*P. edulis* Sims) species of *Passiflora* L. provide insights into its differential developmental patterns. **Journal of Zoological and Botanical Gardens**, v. 2, n. 3, p. 502-516, 2021.
- WAMINAL N.E. et al. Rapid and Efficient FISH using Pre-Labeled Oligomer Probes. **Sci Rep**. 2018 May 29;8(1):8224. doi: 10.1038/s41598-018-26667-z.

- WAMINAL, N. E. et al. Chromosomal mapping of tandem repeats revealed massive chromosomal rearrangements and insights into *Senna tora* dysploidy. **Frontiers in plant science**, v. 12, p. 629898, 2021.
- WENDEL, J. F. Genome evolution in polyploids. **Plant molecular evolution**, p. 225-249, 2000.
- YOTOKO, K. S. C. et al. Does variation in genome sizes reflect adaptive or neutral processes? New clues from *Passiflora*. **Plos One** v. 6, p. 127–131, 2011.

5 CONCLUSÃO

A caracterização cariotípica em número e posição de bandas CMA⁺ e sítios de DNAr 5S e 35S corroboram dados prévios para *P. foetida* e trazem caracteres cariotípicos inéditos para *P. vesicaria*, assim como para a variedade *P. vesicaria* var. *galapagensis*. Esses dados dos cariótipos corroboram as análises morfológicas prévias indicando a separação dos acessos em duas espécies distintas (*P. foetida* e *P. vesicaria*). As diferenças apresentadas indicam que houve mudanças cariotípicas por disploidia descendente, de $n = 12$ para $n = 10$ e posteriormente $n = 9$, sugerindo $x = 10$ como número básico ancestral para o subgênero e reforçando a necessidade do uso de outros métodos citomoleculares comparativos, a fim de entender a evolução desses cariótipos.

6 REFERÊNCIAS

- BARROS, J. O. Caracterização citogenética, comportamento meiótico e viabilidade polínica de plantas triploides de *Passiflora foetida* L. 2021.
- BESENDORFER, V. et al. Chromosomal organization of ribosomal genes and NOR-associated heterochromatin, and NOR activity in some populations of *Allium commutatum* Guss.(Alliaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 139, n. 1, p. 99-108, 2002.
- BOWDEN, W. M. A List of Chromosome Numbers in Higher Plants. II. Menispermaceae to Verbenaceae. **American Journal of Botany**. 32:(4):191-201, 1945. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1945.tb05108>.
- BUITRAGO, A. et al. *Passiflora kumandayi* (Passifloraceae), a new species from the Colombian Andes in a new section within subgenus *Decaloba*. **Phytotaxa**, v. 344, n. 1, p. 13-23, 2018.
- CAUZ-SANTOS et al. A repertory of rearrangements and the loss of an inverted repeat region in *Passiflora* chloroplast genomes. **Genome biology and evolution**, v. 12, n. 10, p. 1841-1857, 2020.

- CERVI, A. C.; IMIG, D. C.. A new species of *Passiflora* (Passifloraceae) from Mato Grosso do Sul, Brazil. **Phytotaxa**, v. 103, n. 1, p. 46-50, 2013
- CHIAVAROLI, A. et al. Pharmacological properties and chemical profiles of *Passiflora foetida* L. extracts: Novel insights for pharmaceuticals and nutraceuticals. **Processes**, v. 8, n. 9, p. 1034, 2020.
- COELHO, M. S. E. et al. Cytogenetic characterization of the *Passiflora edulis* Sims × *Passiflora cincinnata* Mast. interspecific hybrid and its parents. **Euphytica**, v. 210, n. 1, p. 93-104, 2016.
- CORDEIRO, J. M.P. et al. Chromosome number, heterochromatin, and genome size support recent polyploid origin of the *Epidendrum nocturnum* group and reveal a new species (Laeliinae, Orchidaceae). **Botany**, v. 100, n. 5, p. 409-421, 2022.
- CORDEIRO, J. M.P. et al. Heterochromatin and numeric chromosome evolution in Bignoniaceae, with emphasis on the Neotropical clade *Tabebuia* alliance. **Genetics and Molecular Biology**, v. 43, 2020.
- COWIE, I. D.; WERNER, P. A. Alien plant species invasive in Kakadu National Park, tropical northern Australia. **Biological Conservation**, v. 63, n. 2, p. 127-135, 1993.
- DA COSTA SILVA, S. et al. Chromosome homologies between Citrus and Poncirus—the comparative cytogenetic map of mandarin (*Citrus reticulata*). **Tree genetics & genomes**, v. 11, n. 1, p. 1-9, 2015.
- DIAS, Y. K. S. et al. Comparative cytogenetic maps of *Passiflora alata* Curtis and *P. watsoniana* Mast. (Passifloraceae) using BAC-FISH. **Plant Systematics and Evolution**, v. 306, p. 51, 2020.
- DOLEZEL J. et al. Plant genome size estimation by flow cytometry: inter-laboratory comparison. **Ann Bot**, v. 82, p. 17–26, 1998.
- ELANGO VAN, D. et al. Coating of wallpaper with green synthesized silver nanoparticles from *Passiflora foetida* fruit and its illustrated antifungal mechanism. **Process Biochemistry**, v. 112, p. 177-182, 2022.
- FERREIRA, D. A. T. et al. Karyotype and nuclear DNA content variation in *Passiflora* L. **Scientia Horticulturae**, v. 272, p. 109532, 2020.
- FONSÊCA, A. et al. Cytogenetic map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Chromosome Research**, v. 18, n. 4, p. 487-502, 2010.
- GALBRAITH, D. W. et al. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. **Science**, v. 220, n. 4601, p. 1049-1051, 1983.
- GERLACH W.L.: BEDBROOK J.R. Cloning and characterization of ribosomal RNA genes from wheat and barley. **Nucleic Acids Res.** 1979 Dec 11;7(7):1869-85. doi: 10.1093/nar/7.7.1869.
- GUERRA M (2000) Chromosome number variation and evolution in monocots. In: WILSON, Karen L; MORRISON, David A (eds) Monocots - **Systematics and Evolution**. CSIRO, Melbourne, pp127-13
- GUERRA M.: SOUZA M.J. (2002) **Como observar cromossomos: Um Guia de Técnicas em Citogenética Vegetal, Animal e Humana**. 1a edição, Ribeirão Preto, FUNPEC, pp23
- GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and Genome research**, v. 120, n. 3-4, p. 339-350, 2008.
- GUERRA, M. Cytotaxonomy: the end of childhood. **Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, v. 146, n. 3, p. 703-710, 2012.
- GUERRA, M. Hibridização in situ: princípios básicos. In: Conceitos e aplicações na citogenética. 1a edição, Ribeirão Preto, **Sociedade Brasileira de Genética**, 2004, p.1-32.

- GUERRA, M. Introdução a Citogenética Geral. **Editora Guanabara-** RJ, 1998.
- GUERRA, Marcelo. Chromosomal variability and the origin of Citrus species. **Genetic diversity. Nova Science, New York**, p. 51-68, 2009.
- HANSEN, A. K. et al. Phylogenetic relationships and chromosome number evolution in *Passiflora*. **Systematic Botany**, v. 31, n. 1, p. 138-150, 2006.
- HARVEY, M. J. IOPB chromosome number reports VIII. *Taxon*. 15:155-163, 1966
- Waminal NE, Pellerin RJ, Kim NS, Jayakodi M, Park JY, Yang TJ, Kim HH. Rapid and Efficient FISH using Pre-Labeled Oligomer Probes. **Sci Rep**. 2018 May 29;8(1):8224. doi: 10.1038/s41598-018-26667-z.
- HESLOP-HARRISON J.S, SCHWARZACHER, T. Organisation of the plant genome in chromosomes. **Plant J**, v. 66, p. 18–33, 2011.
- HOPLEY, T. et al. Revealing the Introduction History and Phylogenetic Relationships of *Passiflora foetida* sensu lato in Australia. **Frontiers in plant science**, p. 1453, 2021.
- IBIAPINO, A., et al. (2020). Intense proliferation of rDNA sites and heterochromatic bands in two distantly related *Cuscuta* species (Convolvulaceae) with very large genomes and symmetric karyotypes. **Genetics and Molecular Biology**, 43(3).
- JANAKI-AMMAL, E.K.; DARLINGTON, C.D. Chromosome Atlas of cultivated plants. **London: George Allen and Unwin**, 1945, 397p
- JIANG, J. Fluorescence in situ hybridization in plants: recent developments and future applications. **Chromosome Research**, v. 27, n. 3, p. 153-165, 2019.
- KILLIP, E. P. et al. The American species of Passifloraceae. **The American species of Passifloraceae.**, n. 407, 1938.
- KRASILEVA, K. V. (2019). The role of transposable elements and DNA damage repair mechanisms in gene duplications and gene fusions in plant genomes. **Current opinion in plant biology**, 48, 18-25.
- KROSNICK, S. E. et al. New insights into the evolution of Passiflora subgenus Decaloba (Passifloraceae): phylogenetic relationships and morphological synapomorphies. **Systematic Botany**, v. 38, n. 3, p. 692-713, 2013.
- KROSNICK, S. E.; FORD, A. J.; FREUDENSTEIN, J. V. Taxonomic revision of *Passiflora* subgenus *Tetrapathea* including the monotypic genera *Hollrungia* and *Tetrapathea* (Passifloraceae), and a new species of *Passiflora*. **Systematic Botany**, v. 34, n. 2, p. 375-385, 2009.
- KROSNICK, S. E. et al. New insights into the evolution of Passiflora subgenus Decaloba (Passifloraceae): phylogenetic relationships and morphological synapomorphies. **Systematic Botany**, v. 38, n. 3, p. 692-713, 2013.
- LEAL, A. E. B. P. et al. Pharmacological activities of the genus *Passiflora* (Passifloraceae): a patent review. **Current topics in medicinal chemistry**.
- LOUREIRO, J. et al. Two new nuclear isolation buffers for plant DNA flow cytometry: a test with 37 species. **Annals of botany**, v. 100, n. 4, p. 875-888, 2007.
- MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. SPE1, p. 83-91, 2011.
- MELO, N. F.; CERVI, A. C.; GUERRA, M. Karyology and cytotaxonomy of the genus *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 226, n. 1-2, p. 69-84, 2001.
- MELO, N. F.; GUERRA, M. The karyotype of *Adenia* and the origin of the base number $x=12$ in Passifloroideae (Passifloraceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, 2021.
- MELO, N. F.; GUERRA, M. Variability of the 5S and 45S rDNA sites in *Passiflora* L. species with distinct base chromosome numbers. **Annals of Botany**, v. 92, n. 2, p. 309-316, 2003.

- MICHAEL, T. P.; VANBUREN, R. (2020). Building near-complete plant genomes. *Current opinion in plant biology*, 54, 26-33.
- MIKOVSKI, A. I. et al. From endosperm to triploid plants: a stepwise characterization of the de novo shoot organogenesis and morpho-agronomic aspects of an ornamental passion fruit (*Passiflora foetida* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, v. 147, n. 2, p. 239-253, 2021.
- MUSCHNER, V. C. et al. Phylogeny, biogeography and divergence times in *Passiflora* (Passifloraceae). *Genetics and Molecular Biology*, v. 35, p. 1036-1043, 2012.
- OCAMPO PÉREZ, J.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G. Morphological characterization in the genus *Passiflora* L.: an approach to understanding its complex variability. *Plant Systematics and Evolution*, v. 303, n. 4, p. 531-558, 2017.
- PACHECO, T. G. et al. Plastome sequences of the subgenus *Passiflora* reveal highly divergent genes and specific evolutionary features. *Plant Molecular Biology*, v. 104, n. 1, p. 21-37, 2020.
- PATIL, A. S.; LADE, B. D.; PAIKRAO, H. M.. A scientific update on *Passiflora foetida*. *European Journal of Medicinal Plants*, v. 5, n. 2, p. 145, 2015.
- PEDROSA-HARAND, A. et al. Extensive ribosomal DNA amplification during Andean common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) evolution. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 112, n. 5, p. 924-933, 2006.
- PELLICER, J.; LEITCH, I. J. The Application of Flow Cytometry for Estimating Genome Size and Ploidy Level in Plants. In: BESSE, P. (Ed.). *Molecular Plant Taxonomy*. Totowa, NJ: Humana Press, v. 1115, p. 279–307, 2014.
- RIBEIRO, T. et al. Centromeric and non-centromeric satellite DNA organisation differs in holocentric *Rhynchospora* species. *Chromosoma*, v. 126, n. 2, p. 325-335, 2017.
- RICHARD, G.; KERREST A.; DUJON, B. Comparative genomics and molecular dynamics of DNA repeats in Eukaryotes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 72, p. 686-727, 2008.
- SADER, M. A. et al. Identification of passion fruit (*Passiflora edulis*) chromosomes using BAC-FISH. *Chromosome Research*, v. 27, n. 4, p. 299-311, 2019b.
- SADER, M. A. et al. Large vs small genomes in *Passiflora*: The influence of the mobilome and the satellitome. *Planta*, v. 253, n. 4, p. 1-18, 2021.
- SADER, M. A. et al. The role of chromosome changes in the diversification of *Passiflora* L. (Passifloraceae). *Systematics and biodiversity*, v. 17, n. 1, p. 7-21, 2019a.
- SEBRAE. O cultivo e o mercado do maracujá. 2016. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-domaracuja,108da5d3902e2410VgnVCM100000b272010aRCRD>>. Acesso em: 18 out. 2022
- SOLTIS, D. E. et al. Polyploidy and angiosperm diversification. *American journal of botany*, v. 96, n. 1, p. 336-348, 2009.
- SOLTIS, P. S. et al. Polyploidy and genome evolution in plants. *Current opinion in genetics & development*, v. 35, p. 119-125, 2015.
- SONG, Y. et al. Nutritional composition and antioxidant properties of the fruits of a Chinese wild *Passiflora foetida*. *Molecules*, v. 23, n. 2, p. 459, 2018.
- SOUZA, L. G. R. et al. Cytogenetic and molecular evidence suggest multiple origins and geographical parthenogenesis in *Nothoscordum gracile* (Alliaceae). *Annals of Botany*, v. 109, n. 5, p. 987-999, 2012.
- SOUZA, M. M. et al. Flow cytometric analysis of genome size variation in some *Passiflora* species. *Hereditas*, v. 141, n. 1, p. 31-38, 2004.

- SOUZA, M. M. et al. Variação interespecífica do tamanho do genoma em *Passiflora* spp. (Passifloraceae). In **2º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**, v. 1, p. 297-302, 2003.
- STEBBINS, G. L. Chromosomal evolution in higher plants. **Chromosomal evolution in higher plants**, 1971.
- UDALL, J. A. et al. The genome sequence of *Gossypioides kirkii* illustrates a descending dysploidy in plants. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 1541, 2019.
- ULMER, T.; MACDOUGAL, J. M. **Passiflora: passionflowers of the world**. Timber Press (OR), 2004
- VAIO, M. et al. Multiple karyotype changes distinguish two closely related species of *Oxalis* (*O. psoraleoides* and *O. rhombeo-ovata*) and suggest an artificial grouping of section Polymorphae (Oxalidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 188, n. 3, p. 269-280, 2018.
- VANDERPLANK, J. A. REVISION OF *PASSIFLORA* SECTION DYSOSMIA: Passifloraceae. **Curtis's botanical magazine**, v. 30, n. 4, p. 31-387, 2013.
- VAN-LUME, B. et al. Heterochromatic and cytomolecular diversification in the Caesalpinia group (Leguminosae): relationships between phylogenetic and cytogeographical data. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 29, p. 51-63, 2017.
- VAN-LUME, B.; SOUZA, G. Cytomolecular analysis of species in the Peltophorum clade (Caesalpinioideae, Leguminosae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 41, n. 2, p. 385-392, 2018.
- VIJAY, A. et al. Comparative study of ovule development between wild (*Passiflora foetida* L.) and cultivated (*P. edulis* Sims) species of *Passiflora* L. provide insights into its differential developmental patterns. **Journal of Zoological and Botanical Gardens**, v. 2, n. 3, p. 502-516, 2021.
- WAMINAL N. E. Rapid and Efficient FISH using Pre-Labeled Oligomer Probes. **Sci Rep**. 2018 May 29;8(1):8224..
- WAMINAL, N. E. et al. Chromosomal mapping of tandem repeats revealed massive chromosomal rearrangements and insights into *Senna tora* dysploidy. **Frontiers in plant science**, v. 12, p. 629898, 2021.
- YOTOKO, K. S. C. et al. Does variation in genome sizes reflect adaptive or neutral processes? New clues from *Passiflora*. **Plos One** v. 6, p. 127–131, 2011.