

# VIABILIDADE DOS GRÃOS DE PÓLEN DE HÍBRIDOS DIPLÓIDES DE BANANEIRA

Taliane Leila Soares<sup>1</sup>, Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa<sup>2</sup>, Everton Hilo de Souza<sup>3</sup>, Janay Almeida dos Santos-Serejo<sup>4</sup>, Leila Cristina Rosa de Lins<sup>5</sup> e Sebastião de Oliveira e Silva<sup>6</sup>

## Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de pólen de diplóides (AA) melhorados de bananeira coletados em diferentes horas após a antese. Os grãos de pólen foram inoculados em meio de cultura contendo 15% de sacarose, 0,01% H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0,01% de KNO<sub>3</sub>, 0,03% Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O, 0,02% MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, solidificado com 0,8% de ágar, e pH ajustado para 5,8 ou 7,0. A análise estatística foi realizada no delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 4 x 5 x 2 (genótipo x de coleta do pólen x pH do meio) com 8 repetições. A viabilidade do pólen foi avaliada pela coloração com carmim acético a 2%. A mais alta percentagem de germinação foi obtida no genótipo 9187-01, cujo valor foi de 44,5% obtido às 8:00 horas (antese). O percentual médio de germinação e fertilidade do pólen em carmim acético em bananeiras diplóides foi negativamente influenciado pelo número de horas após a antese.

## Introdução

Informações sobre a viabilidade dos grãos de pólen são fundamentais para trabalhos de biologia reprodutiva e melhoramento genético, pois permitem maior direcionamento e segurança nos cruzamentos realizados, aumentando a eficiência na obtenção de híbridos.

No melhoramento genético convencional da bananeira onde se busca a obtenção de híbridos tetraplóides mediante cruzamentos de diplóides com cultivares triplóides, atenção especial tem que ser voltada ao germoplasma diplóide (AA), acessos que concentram o maior número de características desejáveis, tais como partenocarpia, bom número de pencas, dedos compridos, cachos bem formados, porte baixo e resistência a pragas e doenças, que se queira transferir. Portanto, é imprescindível o conhecimento da fertilidade polínica desses materiais, já que serão usados como genitores masculinos.

A viabilidade do pólen pode ser obtida através de um grande número de técnicas (DAFNI, 1992; KEARNS & INOUE, 1993). Entretanto, a germinação *in vitro* é o mais adequado e seguro método para testar a viabilidade de grãos de pólen (MARCELLÁN & CAMADRO, 1996), e por isto é o mais utilizado nos programas de melhoramento genético. A viabilidade é influenciada por diferentes fatores, dentre eles: espécie vegetal, estado nutricional das plantas, fotoperíodo, método de coleta, aplicação de agrotóxicos nas plantas, período e condição de armazenamento do pólen (NEVES, 1997). Além disso, o grão de pólen requer uma ótima concentração e combinação de substâncias para a sua germinação e formação do tubo polínico. Assim, o meio de cultura adequado e a hora de coleta dos grãos de pólen de bananeira, têm grande influência na taxa de germinação e desenvolvimento do tubo polínico.

Esse trabalho teve como objetivo determinar o período (horas) de coleta das flores masculinas e o pH do meio mais adequado para a germinação de grãos de pólen *in vitro* e viabilidade polínica dos híbridos diplóides de bananeiras.

<sup>1</sup> Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, UFRB, Cruz das Almas, BA. E-mail: [talialeila@gmail.com](mailto:talialeila@gmail.com);

<sup>2</sup> Professora do Programa de Pós Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. E-mail: [mapcosta@ufrb.edu.br](mailto:mapcosta@ufrb.edu.br);

<sup>3</sup> Mestrando do Programa de Pós Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, UFRB, Cruz das Almas, BA. E-mail: [hilosouza@gmail.com](mailto:hilosouza@gmail.com);

<sup>4</sup> Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, CP 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, Brasil. E-mail: [janay@cnpmf.embrapa.br](mailto:janay@cnpmf.embrapa.br);

<sup>5</sup> Graduanda em Agronomia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia. E-mail: [leila\\_agronoma@yahoo.com.br](mailto:leila_agronoma@yahoo.com.br);

<sup>6</sup> Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, CP 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, Brasil. E-mail: [ssilva@cnpmf.embrapa.br](mailto:ssilva@cnpmf.embrapa.br).

## Material e Métodos

Como material vegetal utilizou-se grãos de pólen de quatro diplóides (AA): 091087-01 088079-01, 013018-01 e 050012-02 oriundos de flores na antese, retirados da mesma bráctea, coletados em cinco horários distintos (8, 10, 12, 14 e 16 h) (Tabela 1). Os grãos de pólen foram retirados de cinco anteras de cada genótipo, com auxílio de um bisturi e inoculados em placas de Petri com diâmetro de 9 cm e altura de 1 cm contendo 35 mL de meio de cultura, sendo distribuídos com auxílio de pincel, de modo a promover uma distribuição homogênea do material. As placas foram subdivididas em quadrantes, cada uma representando uma repetição.

Utilizou-se um meio de cultura com 15 % de sacarose, 0,01 % de ácido bórico, 0,01 % de nitrato de potássio, 0,03 % de nitrato de cálcio e 0,02 % de sulfato de magnésio, solidificado com 0,8 % de Agar, pH ajustado em 5,8 ou 7,0, e autoclavado a 121 °C por 20 minutos. As placas foram mantidas em condições controladas de temperatura de 27±1 °C, no escuro. Após 24 horas nesse ambiente, foi avaliada a porcentagem de germinação dos grãos de pólen, com auxílio de um estereomicroscópio binocular com objetiva 10X, contabilizando-se todos os grãos da placa. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 5 x 2 (genótipo x hora de coleta x pH), com oito repetições.

A análise da viabilidade dos grãos de pólen, através da coloração com carmim acético a 2% e contagem do pólen viáveis, sob estereomicroscópio, seguiram a metodologia estabelecida por SOARES *et al.* (2008). O percentual de fertilidade do pólen foi calculado mediante a proporção entre o número de grãos de pólen corados (viáveis) e não corados (inviáveis). O estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três repetições para cada genótipo. Foram analisadas três anteras por genótipo, sendo contabilizados 100 grãos de pólen por lâmina.

Os dados de porcentagem foram transformados para  $\arcsin(\sqrt{x/100})$  antes da análise estatística. Para comparação das médias, os dados foram submetidos à análise de variância pelo programa Sisvar v. 5.1 e utilizou-se o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

## Resultados e Discussão

Na Tabela 1 são apresentadas as médias da porcentagem de viabilidade em carmim acético e viabilidade *in vitro*, em dois pH's, de grãos de pólen de bananeiras diplóides (AA) coletados na antese em diferentes horas. Observou-se que a porcentagem de germinação *in vitro* de pólen de bananeiras coletado de flores às 8:00 horas foi maior em relação aquelas de pólen coletados em outros horários. À medida que aumentou a hora de coleta houve redução na germinação (Figura 1A e 1B). Fato semelhante foi observado na viabilidade do pólen (Figura 1C e 1D).

A porcentagem de germinação e viabilidade polínica decresceram consideravelmente, passando 44% a 12% e 96,17% a 70,83%, nas observações respectivas de 8:00 h e de 16:00 h (Tabela 1). A perda da viabilidade polínica em função do tempo de abertura da flor foi também observada em maracujá amarelo (SOUZA *et al.*, 2002). Outros fatores, tais como, umidade relativa, temperatura, pressão osmótica do conteúdo celular do pólen e resistência da parede polínica podem afetar viabilidade polínica (SOUZA, 1994; VARA *et al.*, 1999).

Dentre os genótipos de bananeira, observou-se que o 091087-01 e 013018-01 apresentaram maior fertilidade e viabilidade independente do meio de cultura e da hora de coleta (Tabela 1 e Figura 1A). A mais baixa porcentagem de germinação foi observada no genótipo 050012-02 (Tabela 1) e de viabilidade do pólen pelo 088079-01.

De maneira geral, após 24 horas de inoculação, verificou-se que meio de cultura ajustado para pH 7,0 proporcionou em média maior germinação do pólen (29,2%). Estes resultados corroboram com os obtidos por Soares *et al.* (2008), que identificaram o meio de cultura ajustado para 7,0, como o mais indicado para a germinação dos grãos de pólen de diplóides (AA) de bananeira.

A maturação do pólen é um dos estádios de desenvolvimento no ciclo de vida das plantas. A germinação do pólen não ocorre dentro da antera, mas este deve estar pronto para germinar logo após deiscência da mesma (LIN & DICKINSON, 1984), desde que encontre condições favoráveis. Portanto, para maior eficiência na hibridações faz-se o uso de pólen no estágio adequado.

Os resultados obtidos no presente trabalho permitiram verificar que a hora de coleta do pólen interfere no percentual de germinação e viabilidade polínica resultados semelhantes foram relatados

por Luz *et al.* (2008), em variedades de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) e por Cruz *et al.* (2008), que trabalharam com *Passiflora suberosa*.

## Conclusão

A hora de coleta do pólen é importante para sua viabilidade;

Os genótipos 9197-01 e 1318-01 são os mais adequados para genitor masculino, pois produzem pólen mais eficiente.

## Referências

CRUZ, T. V.; SOUZA, M. M.; ROZA, F. A.; VIANA, A. J. C.; BELO, G. O. FONSECA, J. W. S. Germinação in vitro de grãos de pólen em *Passiflora suberosa* L. para sua utilização em hibridação interespecífica. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v.30, n.4, p.875-879, 2008.

DAFNI, A. *Pollination ecology: a practical approach* (the practical approach series). New York: University Press, 1992. 250p.

KEARNS, C. A. & INOUE, D. *Techniques for pollinations biologists*. Niwot, Colorado: University press of Colorado. 1993. 579p.

LIN, J. J.; DICKINSON, D. B. Ability of pollen to germinate prior to anthesis and effect of desiccation on germination. *Plant Physiology* v.74, p. 746-748, 1984.

LUZ, C. L.; SCHUELTER, A. R.; LUZ, C. L.; DAL'MASO, A.; VIEIRA, E. S. N.; BARRETO, R. R. Germinação in vitro de grãos de pólen e efeito da proteção das plantas na frutificação de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal). *Acta Scientiarum Agronomy*. Maringa, v. 30, n.4, p.539-545, 2008.

MARCELLÁN, O. N.; CAMADRO, E. L. The viability of asparagus pollen after storage at low temperatures. *Scientia Horticulturae*, v. 67, p. 101-104, 1996.

NEVES, T. S.; MACHADO, G. M. E.; OLIVEIRA, R. P. Efeito de diferentes concentrações de carboidratos e ácido bórico na germinação de grãos de pólen de cubiuzeiro e cupuaçuzeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.19, p.207-211, 1997.

SOARES, T. L.; SILVA, S. O.; COSTA, M. A. P. C.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, A. S.; LINO, L. S. M.; SOUZA, E. H.; JESUS, O. N. In vitro germination and viability of pollen grains of banana diploids. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.8, p.111-118, 2008.

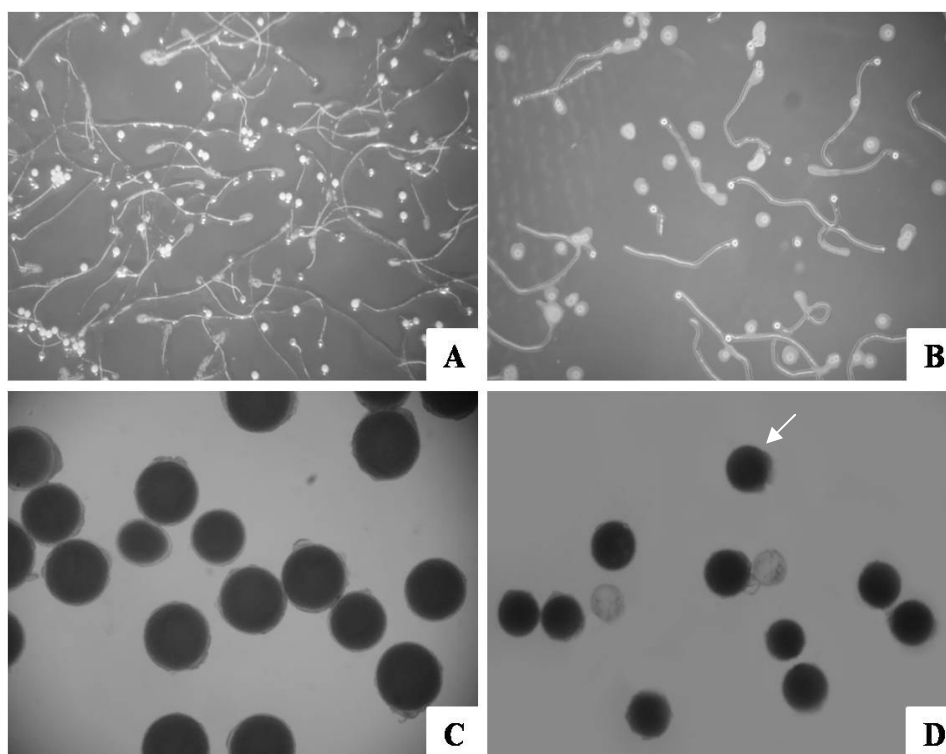
SOUZA, P. J. S. Polinização em maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.) *Maracujá: produção e mercado*. Vitória da Conquista: UESB, p.65-70, 1994.

SOUZA, M. M.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.26, p.1209-1217, 2002.

VARA PRASAD, P. V.; CRAUFURD, P. Q.; SUMMERFIELD, R. J. Fruit number in relation to pollen production and viability in Groundnut exposed to short episodes of heat stress. *Annals of Botany*, London, v. 84, p.381-386, 1999.

**Tabela 1.** Médias da porcentagem de germinação em carmim acético e viabilidade *in vitro*, em dois pH's, de grãos de pólen de bananeiras diplóides (AA) coletados em diferentes horas após a antese.

<b>Hora de coleta do pólen</b>	<b>Médias de germinação (%)</b>	<b>Viabilidade (%)</b>
8 horas	44,50 a	96,17 a
10 horas	28,15 b	89,33 b
12 horas	22,50 c	81,00 c
14 horas	18,17 d	76,50 d
16 horas	12,23 e	70,83 e
<b>pH do Meio de cultura</b>		
5,8	21,00 b	-
7,0	29,20 a	-
<b>Genótipo</b>		
091087-01	37,30 a	83,80 ab
088079-01	21,60 b	80,06 c
013018-01	35,90 a	85,13 a
050012-02	5,60 c	82,06 bc
<b>Média Geral</b>	<b>25,10</b>	<b>82,76</b>
<b>CV (%)</b>	<b>15,60</b>	<b>3,85</b>



**Figura 1.** Germinação *in vitro* de pólen do genótipo 091087-01 às 8 horas (A) e às 16 horas (B) após a antese e viabilidade em carmim acético dos grãos de pólen do genótipo 013018-01 às 8 horas (C) e às 16 horas (D). Seta corresponde aos grãos de pólen eclodido e inviável (não corado).