

VIABILIDADE DE PÓLEN DE GENÓTIPOS TETRAPLÓIDES DE BANANEIRA

Leila Cristina Rosa de Lins¹, Taliane Leila Soares², Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa³,
Everton Hilo de Souza⁴, Janay Almeida dos Santos-Serejo⁵, Sebastião de Oliveira e Silva⁶

Resumo

Cultivares de bananeira triplóides normalmente não produzem pólen. No entanto, não é raro, a ocorrência de pólen em tetraplóides. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a viabilidade dos grãos de pólen de híbridos tetraplóides de bananeiras, por meio da identificação de sua integridade com o uso de carmim acético, bem como examinar a capacidade de emissão do tubo polínico, testando-se diferentes meios de cultura. Foram avaliados seis híbridos YB42-47, B42-08, YB42-03, YB42-17, YB42-07 e YB42-21. O pólen coletado na antese foi inoculado em três diferentes meios de cultura. As variáveis analisadas foram comprimento do tubo polínico, percentagem de germinação e viabilidade em carmim acético a 2%. O genótipo YB42-47 apresentou maior percentagem de germinação e comprimento do tubo polínico com valores respectivos de 61,5% e 5 mm. Com relação à análise de viabilidade com carmim acético, observou-se que quatro genótipos apresentaram viabilidade alta (acima de 80%). O Meio de Cultura 1 é o mais adequado para a germinação *in vitro* dos grãos de pólen de bananeiras tetraplóides.

Introdução

As cultivares triplóides de bananeira normalmente não produzem pólen, não é raro, a ocorrência de pólen em tetraplóides, no entanto, a maioria dos diplóides são poliníferos. Em bananeira, a fertilidade dos grãos de pólen através da germinação *in vitro* e viabilidade com carmim acético vem sendo estudada com o objetivo de levantar os entraves relacionados à formação de híbridos, uma vez que nesta espécie as polinizações nem sempre resultam na formação de sementes.

A busca de pólen em tetraplóides é importante no melhoramento de bananeira, por permitir a síntese de triplóides (constituição mais encontrada em variedades de bananeira) mediante o cruzamento com diplóides melhorados (SILVA, *et al.*, 2002).

A viabilidade do pólen pode ser obtida através de um grande número de técnicas, entretanto, a germinação *in vitro* é o mais adequado e seguro método para testar a viabilidade de grãos de pólen, sendo por isto 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.

Para se obter estimativas confiáveis de viabilidade do pólen, é necessário dispor de um meio de cultura que possibilite a expressão do potencial fisiológico do pólen para a formação do tubo polínico. Diferentes meios de cultura para a germinação *in vitro* de grãos de pólen têm sido relatados para um

¹ 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;

² 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;

³ Professora do Programa de Pós Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. E-mail: mapcosta@ufrb.edu.br;

⁴ 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;

⁵ Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, CP 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, Brasil. E-mail janay@cnpmf.mbrapa.br;

⁶ 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.

Apoio financeiro: Embrapa/ CNPq/ Fapesb.

grande número de espécies, com considerável variação entre e dentro de espécies (PFAHLER *et al.*, 1997).

Apesar da existência de trabalhos que tratam da germinação *in vitro* de bananeiras, especialmente de espécies diplóides, até o momento não há pesquisas relatando a viabilidade e germinação *in vitro* de grãos de pólen de bananeiras de cultivares triplóides ou tetraplóides.

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a viabilidade dos grãos de pólen de híbridos tetraplóides de bananeiras, por meio da identificação de sua integridade com o uso de carmim acético, bem como examinar a capacidade de emissão do tubo polínico testando-se diferentes meios de cultura.

Material e Métodos

No estudo de germinação *in vitro* de grãos de pólen de bananeiras tetraplóides foram analisados seis genótipos tetraplóides de bananeiras YB42-47, B42-08, YB42-03, YB42-17, YB42-07 e YB42-21 (Tabela 1). Utilizaram-se, como material vegetal, grãos de pólen oriundos de anteras provenientes de flores masculinas coletadas pela manhã na antese, que foram encaminhados ao Laboratório de Biotecnologia Vegetal. Os grãos foram inoculados em placas de Petri com 9 cm de diâmetro e altura de 1 cm contendo três meios de cultura distintos:

Meio 1: 0,03% de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_4\text{H}_2\text{O}$; 0,02% de $\text{Mg}(\text{SO}_4)_7\text{H}_2\text{O}$; 0,01% de KNO_3 ; 0,01% de H_3BO_3 ; 15% de sacarose, solidificado com 0,8% de ágar e pH ajustado para 7,0;

Meio 2: 0,08% de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_4\text{H}_2\text{O}$; 0,02% H_3BO_3 ; 10% de sacarose, solidificado com 1,0% de ágar, com pH ajustado para 6,5;

Meio 3: 0,015% de H_3BO_3 ; 0,045% de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; 25% de sacarose, solidificado com 0,6% de ágar e pH ajustado para 6,5.

Após a inoculação, as placas foram mantidas em condições controladas de temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$, no escuro. Vinte e quatro e 48 horas após a inoculação em meio de cultura, foram realizadas a contagem dos grãos de pólen germinados e a medição do comprimento do tubo polínico, respectivamente, mediante observação em um estereomicroscópio na magnitude de 10x.

As variáveis analisadas foram comprimento do tubo polínico (mm), percentagem de germinação dos grãos de pólen e viabilidade do pólen através do carmim acético. No estudo de germinação foram contabilizados todos os grãos de pólen da placa de Petri, enquanto para a característica comprimento do tubo polínico foram mensurados aleatoriamente 40 tubos polínicos por genótipo. Consideraram-se grãos de pólen germinados aqueles que o comprimento do tubo polínico foi igual ou maior ao diâmetro do próprio grão de pólen. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 6 x 2 (genótipos x meio de cultura) com oito repetições cada.

Para o estudo da viabilidade, os grãos de pólen foram retirados de anteras oriundas de flores recém abertas (antese), corados com carmim acético a 2%, mediante o preparo de lâminas, e observados em microscópio óptico. Foram considerados viáveis os grãos de pólen que adquiriram cor vermelha, enquanto que os inviáveis foram os que permaneceram incolores.

Os dados expressos em percentagem foram transformados em $\arcsen(\sqrt{x/100})$ antes da análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Na Tabela 1 são apresentadas as médias do comprimento do tubo polínico e da percentagem de germinação de grãos de pólen de seis tetraplóides de bananeira submetidos a diferentes meios de cultura. De acordo com os resultados obtidos, observaram-se diferentes respostas significativas em relação aos genótipos avaliados, tanto para percentagem de germinação como para o comprimento do tubo polínico nos diferentes meios de cultura testados, ocorrendo também interação entre estes fatores.

Dentre os híbridos avaliados, as mais altas médias de comprimento do tubo polínico e percentagens de germinação dos grãos de pólen foram obtidas pelo genótipo YB42-47 com valores respectivos de 5 mm e 61,5% e. Por outro lado, os valores mais baixos, para essas mesmas características foi

observados no 'YB42-03' com uma média de 2% de germinação e comprimento médio do tubo polínico de 1,0 mm quando cultivado no meio 3.

O meio de cultura 1 independentemente dos genótipos apresentou maior percentagem de germinação do pólen (35,1%) bem como maior comprimento do tubo polínico (3,7 mm) em relação aos demais meios. Por outro lado, as menores médias de comprimento de tubo polínico (1,55 mm) e de percentagem de germinação (3,41%) foram observadas no meio 3, provavelmente devido a pobreza em nutrientes.

Com relação à análise de viabilidade com carmin acético, não houve grande variação entre os genótipos, uma vez que quatro deles (YB42-08, YB42-03, YB42-07 e YB42-21) apresentaram viabilidade alta (acima de 80%), e os outros dois, YB42-47 e YB42-17 tiveram valores respectivos de 74% e 76%.

Estudos têm indicado que diferenças na germinação dos grãos de pólen in vitro é o resultado de uma complexa interação entre a morfologia e a fisiologia dos grãos de pólen e os componentes do meio (GALLETA, *et al.* 1983). A eficiência do Meio 1, para estudos de germinação de pólen, observada nesse estudo, corroboram com os resultados obtidos por Soares *et al.* (2008) na germinação in vitro de bananeiras comerciais e ornamentais e abacaxi ornamental.

Mesmo em meios com concentrações adequadas de açúcar e ou complementados com alguns elementos estimulantes, nem sempre é possível obter altas taxas de germinação de pólen maduro de bananeira, uma vez que, na espécie de bananeiras tetraplóides sempre tem sido observada valores baixos para essa característica.

Conclusões

O meio de cultura 1 é o mais adequado para a germinação in vitro dos grãos de pólen de bananeiras tetraplóides. O genótipo YB42-47 pode ser usado como genitor masculino em programas de hibridação.

Referências

- GALLETTA, G. J. Pollen and seed management. In: MOORE, J. N.; JANINICK, J. (eds.). *Methods in fruit breeding*, Indiana: Purdue University Press, 1983, p.23-47.
- 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.
- PFAHLER, P. L.; PEREIRA, M. J.; BARNETT, R. D. 1997. Genetic variation for in vitro sesame pollen germination and tube growth. *Theoretical and Applied Genetic*, v.95, p.1218-1222, 1997.
- SILVA, S.O.; ALVES, E.J.; LIMA, M. B.; SILVEIRA, J. R. S. Bananeira. In: BRUCKNE, C. H. (Org.). *Melhoramento de Fruteiras Tropicais*. 1 ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002, p. 101-157.
- 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.

Tabela 1. Germinação in vitro dos grãos de pólen e comprimento do tubo polínico de bananeiras tetraplóides submetidos a diferentes meios de cultura.

Genótipos	Comprimento do tubo polínico (mm)			Germinação de pólen (%)		
	Meio 1	Meio 2	Meio 3	Meio 1	Meio 2	Meio 3
YB42-47	5,0aA	3,3abB	1,6abC	61,5aA	25,5abB	4,1aB
YB42-08	3,1cA	3,5aA	1,6abB	24,1cA	11,1bAB	5,7aB
YB42-03	3,4cA	3,1abcA	1,0bB	12,3cB	17,0aA	2,1aB
YB42-17	3,9cA	2,5cB	2,0aB	54,1abA	9,3bB	3,6aB
YB42-07	4,1bA	2,7bcB	1,8abC	29,1bcA	12,4bAB	2,0aB
YB42-21	2,8cA	1,4dB	1,3abB	29,5bcA	4,1bB	3,0aB
Média	3,72	2,75	1,55	35,1	13,23	3,41
CV(%)	46,48			39,48		

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

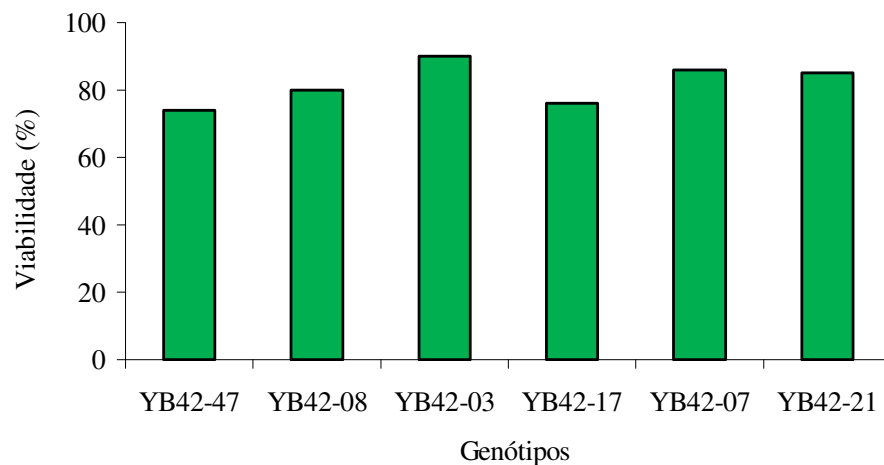


Figura 1. Viabilidade de grãos de pólen de bananeiras tetraplóides.