



GERMINAÇÃO DE PÓLEN *IN VITRO*, CRESCIMENTO DO TUBO POLÍNICO E ANÁLISE HISTOQUÍMICA DE ACESSOS DE *Passiflora cincinnata* Mast.

Resumo: O objetivo do trabalho foi avaliar a viabilidade polínica de sete acessos de *P. cincinnata* por meio da germinação de pólen *in vitro*, bem como a emissão do comprimento do tubo polínico e análise histoquímica. O pólen foi coletado de flores em antese e inoculado em meio de cultura 0,03% de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,02% de $\text{Mg}(\text{SO}_4) \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,01% de KNO_3 , 0,01% de H_3BO_3 , 0,8% de ágar e pH 7,0. A viabilidade do pólen foi avaliada análise histoquímica com 2,3,5-cloreto de trifeniltetrazólio (TTC). Houve diferenças significativas para a germinação *in vitro*, comprimento do tubo polínico e viabilidade polínica em relação aos acessos de *P. cincinnata* estudados. As mais altas taxas de germinação *in vitro*, crescimento do tubo polínico e viabilidade com corante foi verificada para os acessos BGP 002 e BGP 016, podendo ser utilizados como parentais masculinos em hibridações.

Palavras-chave: maracujazeiro, viabilidade de pólen, melhoramento genético

Introdução

A espécie silvestre *Passiflora cincinnata* Mast. popularmente conhecida como maracujá do mato, maracujá- mochila e de casca verde (Bernacci et al., 2003) tem sido utilizada como bom parental em programas de hibridação, por apresentar genes de resistência a doenças, longevidade, autoincompatibilidade, maior adaptação a condições climáticas adversas, maior concentração de componentes químicos destinados à indústria farmacêutica, além de outras características pouco exploradas a exemplo do potencial ornamental. Apesar da passicultura estar voltado comercialmente a produção de maracujá amarelo, atualmente *P. cincinnata* vem sendo explorada de forma particular para industrialização em pequenas fábricas caseiras, por se constituir em um produto diferenciado, de sabor característico, em relação a *P. edulis* (Kiill et al., 2010).

Em função do potencial da espécie *P. cincinnata* para estudos de melhoramento, e a escassez de informações sobre sua viabilidade polínica, este trabalho tem como objetivo avaliar a viabilidade de pólen de sete acessos de *P. cincinnata* por meio da capacidade de germinação desenvolvimento do tubo polínico em condições *in vitro* bem como a análise histoquímica (corante).

Material e Métodos

Germinação in vitro e comprimento do tubo polínico



Para a germinação de pólen *in vitro* foram avaliados sete acessos de *P. cincinnata*: BGP 002; BGP 016; BGP 077; BGP 085; BGP 280; BGM 299 e BGP 322. Os grãos de pólen coletados na antese foram inoculados em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo 35 mL de meio de cultura 0,03% de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,02% de $\text{Mg}(\text{SO}_4)_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,01% de KNO_3 , 0,01% de H_3BO_3 , solidificado com 0,8% de ágar e pH ajustado para 7,0.

O pólen foi distribuído sobre o meio de cultura de modo a promover uma distribuição mais homogênea do material. Cada placa foi composta por grãos de pólen oriundos de cinco flores de cada acesso. Após 24 horas, foram avaliados a germinação do pólen e o comprimento do tubo polínico. Para a germinação do pólen foi avaliada toda a placa de Petri enquanto para o comprimento do tubo polínico foram mensurados 40 tubos polínicos por acesso. O delineamento foi inteiramente casualizado com sete acessos e oito repetições.

Análise histoquímica (corante)

Para a viabilidade do pólen por meio da análise histoquímica utilizou-se o corante 2,3,5 trifeniltetrazólio (TTC) a 1%. Uma amostra de pólen, retirada de três anteras oriundas de flores coletadas em antese foi distribuída sobre uma lâmina de vidro e em seguida colocou-se uma gota do corante. Foram contabilizados 100 grãos de pólen/lâmina/acesso com quatro repetições cada, perfazendo um total de 400 grãos de pólen. Os dados de porcentagem foram transformados para *arc sen* ($\sqrt{x/100}$). Em seguida foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas no programa SAS.

Resultados e Discussão

Observou-se a formação de diferentes agrupamentos pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade entre os acessos de *P. cincinnata* para as variáveis porcentagem de germinação *in vitro*, crescimento do tubo polínico e viabilidade de grãos de pólen pelo método de coloração (Tabela 1).

As maiores porcentagens de germinação foram obtidas para o acesso BGP016 (65,83%) (Figura 1a-b), embora sem diferença significativa com BGP002 (63,49%). Por outro lado, a menor porcentagem de germinação foi observada no acesso BGP280, com uma taxa de 2,64 % (Figura 1c). Acredita-se que a baixa germinação *in vitro* verificada nesse acesso ocorreu, provavelmente, devido à excessiva hidratação apresentada pelos grãos de pólen. Isso contribui para eclosão do grão pólen, dificultando a emissão do tubo polínico e conseqüentemente a germinação. Pio et al. (2004) afirmam que, além da composição do meio, a alta umidade pode ocasionar aumento na pressão osmótica e baixa

resistência na parede celular, causando assim o rompimento dos grãos de pólen. Estudos têm indicado diferentes respostas na germinação dos grãos de pólen *in vitro* como resultado da complexa interação entre a morfologia e a fisiologia do grão de pólen e os componentes do meio (Gwata et al., 2003). Para a variável comprimento do tubo polínico, verificou-se a formação de dois grupos, o primeiro constituído pelos acessos BGP016 e BGP002 apresentando os maiores comprimentos de tubo polínico com 2,34 mm e 2,47 m, respectivamente, e o segundo representado pelos outros cinco acessos com menores valores com faixa variação de 1,07 a 1,52 mm.

Tabela 1. Germinação *in vitro*, crescimento do tubo polínico e viabilidade de grãos de pólen de *P. cincinnata*.

Acessos	Germinação (%)	Comprimento do tubo polínico (mm)	Viabilidade (%)
BGP002	63,49 a	2,47 a	87,03 b
BGP016	65,83 a	2,34 a	94,77 a
BGP077	25,87 c	1,07 b	64,27 d
BGP085	13,99 e	1,52 b	65,17 d
BGP280	2,64 f	1,13 b	63,20 d
BGP299	17,05 d	1,22 b	71,03 c
BGP322	59,34 b	1,32 b	83,33 b
CV (%)	6,31	46,81	3,25

A viabilidade dos grãos de pólen dos acessos estudados pelo método de coloração com TTC foi superior a 80% para os acessos BGP016, BGP002 e BGP322 (Figura 1d). Em contrapartida, os demais acessos apresentaram viabilidade de pólen entre 63,20 e 71,03%. De acordo com Souza et al. (2002), valores acima de 70% são considerados como alta viabilidade do pólen, de 31 a 69% como média e até 30%, baixa. Em cultivares de maracujazeiro o grão de pólen parece ser pegajoso, por ser recoberto por uma substância chamada *pollenkitt* que, dentre outras funções, atua como protetor, minimizando a desidratação do grão de pólen e consequentemente a perda de viabilidade nesta espécie (Souza et al., 2002), A Figura 1e sugere a liberação de uma substância que poderia exercer função similar e que deveria, portanto ser melhor estudada.

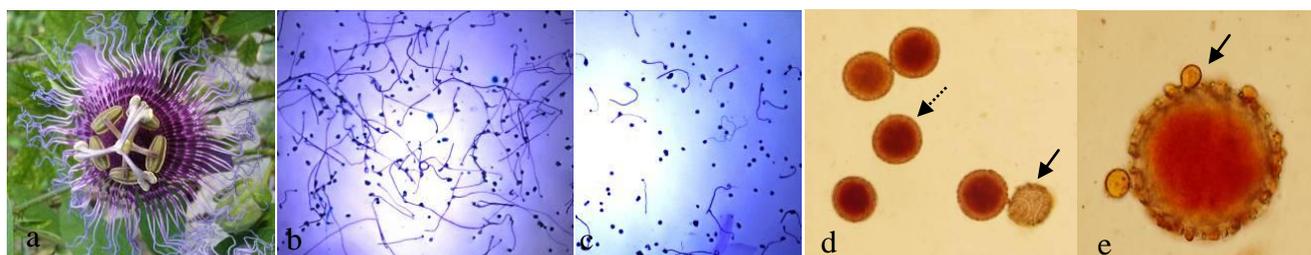




Figura 1. Comportamento polínico de *P. cincinnata*. a) Aspecto geral da flor do BGP 322; b) BGP 016, alta porcentagem de germinação de pólen e comprimento do tubo polínico; c) BGP 280, baixa germinação e tubo polínico curto; d) BGP 016, grãos de pólen após coloração com TTC viáveis (seta pontilhada) e inviáveis (seta cheia) e e) Presença de *pollenkitt* (seta).

Conclusão

Os acessos BGP002 e BGP016 podem ser utilizados como parentais masculinos em programas de melhoramento, por apresentarem os maiores índices de viabilidade de pólen e de tubo polínico.

Referências Bibliográficas

- BERNACCI L.C.; VITTA F.A.; BAKKER Y.V. Passifloraceae. In: WANDERLEY M.G.L.; SHEPPERD G.J.; MELHEM T.S.; GIULIETTI A.M.; KIRIZAWA M. (Eds.) **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. RIMA/FAPESP, v.3, p. 247-274. 2003.
- GWATA, E.T.; WOFFORD, D.S.; PFAHLER, P.L.; BOOTE, K.J. Pollen morphology and *in vitro* germination characteristics of nodulation and nonnodulating soybean (*Glycine max* L.) genotypes. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 106, p. 837-839, 2003.
- KILL, L.H.P.; SIQUEIRA, K.M.M.; ARAÚJO, F.P.; TRIGO, S.P.M.; FEITOZA, E.A.; LEMOS, I.B. Biologia reprodutiva de *Passiflora cincinnata* Mast. (Passifloraceae) na região de Petrolina (Pernambuco, Brasil). **Oecologia Australis**, v. 14, p. 115-127, 2010.
- PIO, L.A.S. RAMOS, J.D; PASQUAL, M.; SANTOS, F.C.; JUNQUEIRA, K.P.J. Receptiveness of the stigma and *in vitro* germination of orange pollen, submitted to different temperatures. **Ciência e Agrotecnologia**, v.5, p.1087- 1091, 2004.
- 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, n.6, p.1209-1217, 2002.