

VIABILIDADE DE GRÃOS DE PÓLEN E CRESCIMENTO *IN VITRO* DO TUBO POLÍNICO EM BANANEIRAS TETRAPLÓIDES

Taliane Leila Soares¹, Janay Almeida dos Santos-Serejo², Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa¹, Everton Hilo de Souza³, Antônio da Silva Souza², Leila Rosa Cristina Lins¹, Sebastião de Oliveira e Silva²

¹ Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, talialeila@gmail.com, mapcosta@ufrb.edu.br, leila_agronomia@yahoo.com.br; ²Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, Bahia. janay@cnpmf.embrapa.br, assouza@cnpmf.embrapa.br, ssilva@cnpmf.embrapa.br; ³Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, SP, hilosouza@cena.usp.br

INTRODUÇÃO

Os diplóides silvestres e melhorados de bananeira produzem grãos de pólen em abundância e com alta viabilidade, enquanto as variedades cultivadas apresentam baixa produção de pólen e também problemas de viabilidade (FORTESCUE & TURNER, 2004). Assim, um melhor conhecimento sobre a viabilidade dos grãos de pólen nos híbridos tetraplóides de bananeira é importante para a identificação de genitores masculinos com alto potencial de fertilidade para serem utilizados nos programas de hibridação, de modo a aumentar o leque de possíveis cruzamentos que apresentam alguma incompatibilidade sexual, visando à obtenção de novas cultivares.

Apesar da existência de trabalhos que trata da germinação *in vitro* do pólen de bananeiras, especialmente de espécies diplóides, até o momento existem poucas informações a respeito da viabilidade e germinação *in vitro* de grãos de pólen de bananeiras destinadas ao comércio, a exemplo das cultivares tetraplóides.

Nesse sentido, este trabalho teve por objetivo avaliar a viabilidade dos grãos de pólen de híbridos tetraplóides de bananeira por meio da identificação de sua integridade com o uso do carmim acético e o TTC (2,3,5 trifeniltetrazólio), bem como examinar a capacidade de emissão do tubo polínico em diferentes meios de cultura para verificar sua capacidade de fecundação e posterior utilização como genitor masculino em programas de melhoramento.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados grãos de pólen oriundos de flores masculinas coletados na antese, de doze híbridos tetraplóides de bananeira (AAAB), provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, listados na Tabela 1. Foram conduzidos dois

experimentos para comparar a viabilidade dos grãos de pólen, sendo um colorimétrico utilizando dois corantes específicos, e o outro o de germinação, em três meios de cultura.

Testes colorimétricos

A viabilidade do pólen foi realizada mediante coloração com dois corantes, carmim acético 2% e TTC 1%, sendo contabilizados 100 grãos de pólen/lâmina/genótipo com três repetições cada, perfazendo um total de 300 grãos de pólen para cada corante investigado, com auxílio de um microscópio óptico com lente objetiva de 10x. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 12 x 2 (genótipos x corantes) com três repetições cada.

Teste germinativo in vitro

Os grãos de pólen, foram inoculados em placas de Petri contendo 35 mL de cada meio de cultura, com as seguintes especificações:

Meio M1: 0,03% de $\text{Ca}(\text{NO}_3) \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 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 , 15% de sacarose, solidificado 0,8% de ágar e pH ajustado para 7,0;

Meio M2: 0,03% de $\text{Ca}(\text{NO}_3) \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,01% de KNO_3 , 0,01% de H_3BO_3 , 10% de sacarose, solidificado com 1% de ágar, e pH ajustado para 6,5;

Meio M3: 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 de escuro até a realização da contagem dos grãos de pólen germinados e medição do comprimento do tubo polínico 24 e 48 horas após a inoculação em meio de cultura, respectivamente.

O delineamento experimental foi em esquema fatorial 12 x 3 (genótipos x meios de cultura) com oito repetições cada, sendo contabilizados todos os grãos de pólen da placa para a determinação do percentual de germinação. Para o comprimento do tubo polínico foram selecionados aleatoriamente e mensurados 40 tubos polínicos de cada genótipo estudado. Os dados de percentagem de germinação foram transformados para $\text{arc sen}(\sqrt{x/100})$ antes da análise estatística e as médias foram comparadas pelo teste de agrupamento Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade, pelo programa SAS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Testes colorimétricos

Analisando-se inicialmente os dados obtidos nos testes de coloração, pode-se constatar que embora a diferença de viabilidade de pólen tenha sido perceptível entre genótipos de mesmo grupo (AAAB), as maiores variações foram encontradas comparando-se os dois corantes (Tabela 1). Quanto à integridade da cromatina com carmim acético, observou-se que entre os tetraplóides estudados dez apresentaram viabilidade acima de

80,0%, à exceção dos genótipos YB42-17 e Caprichosa com 76,0% e 70,0% de pólen viáveis, respectivamente (Figura 1a-b). Já o teste com o corante TTC indicou a presença de enzimas desidrogenases ativas com amplitude de variação de 31,0% a 62,6% através da coloração vermelha dos grãos de pólen (Tabela 1 e Figura 1b). Os grãos de pólen não corados apresentam tonalidade acinzentada (Figura 1b, seta).

Teste germinativo *in vitro*

Com relação ao estudo de germinação de pólen *in vitro*, observou-se que a mais alta percentagem de germinação de pólen foi verificada para o genótipo YB42-47 (61,5%) (Figura 1d) seguida por YB42-17 com 54,1%, ambos os casos no meio M1. Ainda nesse mesmo meio, a menor taxa de germinação foi 8,1% observada na Caprichosa (Figura 1e). Com relação ao comprimento do tubo polínico, a variação foi de 5,00 mm (YB42-47 e Fhia-21) (Figura 1c) a 1,9 mm (Preciosa) nesse mesmo meio (Tabela 1).

Tabela 1. Percentagem de germinação do pólen de bananeiras tetraplóides (AAAB) cultivados em diferentes meios de cultura e viabilidade polínica obtida com dois corantes diferentes.

Genótipos	Tipo	Viabilidade (%)		Germinação (%)			Tubo polínico (mm)		
		Carmim	TTC	M1	M2	M3	M1	M2	M3
Caprichosa	Prata	70,0 bA	35,7 cB	8,1 dA	3,5 dB	0,4 cC	3,2 cA	1,6 dB	1,2 cC
FHIA-21	Terra	90,0 aA	45,3 bB	31,8 cA	31,3 aA	0,1 cB	5,0 aA	4,0 aB	0,1 dC
Garantida	Prata	90,0 aA	35,7 cB	9,9 dA	7,4 cA	4,8 aB	3,8 bA	2,5 cB	0,8 bC
Japira	Prata	84,0 aA	31,0 cB	11,2 dA	3,4 dB	0,1 cC	2,1 dA	1,4 dB	1,6 aC
Preciosa	Prata	82,0 bA	45,7 bB	12,7 dA	5,3 dB	0,0 cC	1,9 dA	1,3 dA	0,3 dB
Tropical	Maçã	80,0 bA	48,0 bB	29,4 cA	4,2 dB	2,8 bB	4,2 bA	1,3 dB	0,0 dC
Vitória	Prata	88,0 aA	36,3 cB	8,2 dA	10,6 cA	2,2 bB	2,7 cA	1,8 dB	0,0 dC
YB42-03	Maçã	90,0 aA	36,3 cB	12,3 dA	17,3 bA	2,3 bB	4,2 bA	3,0 cB	1,0 bC
YB42-07	Maçã	85,0 aA	47,7 bB	29,1 cA	12,4 cB	2,0 bC	4,1 bA	2,7 cB	1,8 aC
YB42-08	Maçã	86,0 aA	41,0 cB	24,0 cA	9,9 cB	5,1 aC	3,1 cA	3,5 bA	1,5 aB
YB42-17	Maçã	76,0 bA	59,0 aB	54,1 bA	9,2 cB	3,6 bC	3,8 bA	2,5 cB	1,9 aB
YB42-47	Maçã	94,0 aA	62,6 aB	61,5 aA	25,5 aB	4,9 aC	5,0 aA	3,3 bB	1,6 aC

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha fazem parte do mesmo agrupamento pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

O meio M1, por ser mais completo em termos de sua constituição química, apresentou maior percentagem de germinação e tubos polínicos mais desenvolvidos nos híbridos tetraplóides de bananeira. Por outro lado, os menores valores para esses caracteres foi verificado no meio M3, considerado mais pobre em nutrientes essenciais a germinação e crescimento do tubo polínico. Além disso, observou-se que pólen cultivado neste meio houve rompimento da exina de muitos pólenes, o que pode ser consequência da presença de ágar em menor concentração quando comparados aos meios M1 e M2.

O teste com TTC foi o método colorimétrico que forneceu resultados mais próximos à estimativa de viabilidade polínica dada pelos testes de germinação *in vitro*. Este teste

constitui uma estimativa confiável da viabilidade polínica, sendo próxima àquela fornecida pelos testes de germinação *in vitro* (HUANG et al., 2004). Além disso, o TTC é muito utilizado por ser um procedimento relativamente rápido e simples (HESLOP-HARRISON & HESLOP-HARRISON, 1970).



Figura 1. Fotomicrografias de grãos de pólen de bananeiras tetraplóides. a) Grãos de pólen de 'YB42-47' corados com carmim acético b) Grãos de pólen de 'Caprichosa' corados com TTC viável (corado) e inviáveis (não corados – seta). c) Detalhe do comprimento do tubo polínico no genótipo YB42-47. d) Alta percentagem de germinação de pólen de YB42-47,. e) Baixa percentagem de germinação de pólen de 'Caprichosa'. Barra = 0.9 mm.

CONCLUSÕES

Os híbridos tetraplóides de bananeira apresentaram alta viabilidade do grão de pólen em carmim acético. Esse resultado não se repetiu nos testes de germinação *in vitro*, nos quais a composição dos meios de cultura influenciou a taxa de viabilidade dos grãos de pólen.

O corante TTC mostra-se como uma ferramenta rápida e eficaz para estimar a viabilidade polínica em bananeira.

O meio de cultura M1 é o mais indicado para analisar a capacidade de germinação do pólen e emissão do tubo polínico em *Musa*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FORTESCUE, J. A.; TUNER, D. W. Pollen fertility in *Musa*: Viability in cultivars grown in Southern Australia. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 55, p.1085-1091. 2004.
- HESLOP-HARRISON, J.; HESLOP-HARRISON, Y. Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence; intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate. **Stain Technology**, v. 45, p. 115-120, 1970.
- HUANG, Z., ZHU, J., MU, X. & LIN, J. Pollen dispersion, pollen viability and pistil receptivity in *Leymus chinensis*. **Annals of Botany**, v. 93, p. 295-301, 2004.