

ADEQUAÇÃO DA TÉCNICA DE MASSA ESPECÍFICA NA DIFERENCIAÇÃO DE DIPLÓIDES E POLIPLÓIDES DE *Musa acuminata* Cola

Manuela Ramos da Silva¹, Frederico Henrique da Silva Costa², Sebastião de Oliveira e Silva³, Lucymeire Souza Morais Lino⁴, Leila Aparecida Salles Pio⁴, Antonio Mauth Pinheiro dos Santos Junior⁵, Janay de Almeida Santos-Serejo⁶

¹Mestranda em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas - BA, e-mail: manuelaagronomia@yahoo.com.br; ²Pós-doutorando Embrapa Cenargen email: fredericohenrique@yahoo.com.br; ³Pesquisador, Embrapa CNPMF – Cruz das Almas – BA, e-mail: ssilva@cnpmf.embrapa.br; ⁴Pós-doutoranda, Embrapa CNPMF Ismorais@yahoo.com.br, email: leilapio.ufla@gmail.com; ⁵Aluno de Graduação – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, mauthjr_@yahoo.com.br; ⁶Pesquisador, Embrapa CNPMF – Cruz das Almas – BA, e-mail: janay@cnpmf.embrapa.br.

INTRODUÇÃO

A duplicação cromossômica de diplóides, com a produção de autotetraplóides, é uma técnica que vem sendo usada no melhoramento genético de bananeira para obtenção de triplóides secundários. Mediante cruzamento desses tetraplóides com diplóides melhorados (Silva et al., 2005). Desta forma é possível, produzir híbridos com boas características agronômicas e resistentes a pragas que podem ser recomendados como novas cultivares (Bakry et al., 2007).

Vários são os fatores que podem determinar o sucesso da poliploidização em bananeira, dentre eles destaca-se o uso de técnicas práticas e seguras para identificação dos poliplóides putativos. Dentre essas, são usadas a citometria de fluxo, estudo da estrutura de estômatos e contagem de cromossomos (Ganga & Chezhiyan, 2002; Bakry et al., 2007; Dolezel, 2007).

A pré-seleção de indivíduos tratados com antimetabólito é uma prática, que se observou necessária para redução do número de indivíduos que necessitam ter a ploidia confirmada por citometria ou outros métodos. A pré-seleção é feita na fase de aclimatização e baseia-se em características morfológicas e ou estruturais, como espessura das folhas, uma vez que, os tetraplóides normalmente são plantas vigorosas e com folhas mais espessas. Plantas com folhas mais espessas podem ser identificadas por pessoas treinadas por meio do tato. A espessura foliar pode ser medida por vários métodos e de forma indireta, com base na massa de discos foliares.

O trabalho teve por objetivo estimar a espessura foliar, com base no peso de discos foliares de genótipos com diferentes ploidias.

MATÉRIAS E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido na Área Experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical Cruz das Almas, BA.

Foram utilizadas plantas micropropagadas dos genótipos diplóides AA (Lidi, Ouro, Tong Dok Mak, Malbut e NBA-14), triplóides AAA (Gros Michel e Grande Naine) e tetraplóide AAAA (Bucaneiro), aclimatizadas por 150 dias. As plantas foram desenvolvidas (substrato vegetal) em sacos de polietileno de três litros de capacidade. A irrigação foi conduzida de modo manual, no final da tarde do dia anterior à coleta das folhas.

Os discos foliares foram retirados na região mediana do limbo foliar da primeira, segunda e terceira folha expandida (direção ápice base). Para tanto, utilizou-se um vazador de 1,608 cm de diâmetro ($2,0297 \text{ cm}^2$ de área interna). A massa fresca (MF) e seca (MS) de cada disco foi determinada em balança de precisão (0,001 g), sendo a massa seca obtida após secagem em estufa de ventilação forçada ($60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 48 horas). Já a massa específica de cada disco, em mg cm^{-2} , foi determinada dividindo-se a massa fresca (MDF) ou seca (MDS) em miligrama de cada disco pela área do vazador (cm^2). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes à massa fresca e seca, bem como a massa específica dos discos foliares e umidade dos discos da primeira, segunda e terceira folha estão apresentados respectivamente nas Tabelas 1, 2 e 3. Os resultados praticamente foram os mesmos, independente da folha usada, embora tenha havido um pequeno aumento nos valores das características avaliadas da primeira para terceira folha à exceção da umidade dos discos. Isto indica que trabalhos dessa natureza pode ser feito com qualquer uma das folhas.

Como pode ser observado nas três tabelas, foi possível distinguir plantas diplóides de triplóides e tetraplóides, no entanto as características estudadas não permitiram distinguir triplóide e tetraplóide.

Tabela 1. Valores médios para massa fresca (MAF) e seca (MSS), em miligramas (mg); massa específica do disco foliar (base na massa fresca) (MDF) e seca (MDS), em miligramas por centímetro quadrado (mg cm^{-2}), em função da ploidia. Cruz das Almas-BA, 2010¹.

Genótipo ²	MAF (mg)		MAS (mg)		MDF (mg cm^{-2})		MDS (mg cm^{-2})	
NBA-14 (AA)	95,73	ef	15,57	def	47,18	ef	7,67	def
TDM (AA)	93,6	f	14,63	f	46,15	f	7,21	f
Lidi (AA)	91,74	f	15,19	ef	45,19	f	7,49	ef
Malbut (AA)	101,26	de	16,30	cd	49,89	de	8,03	cd
Ouro (AA)	103,24	d	15,66	de	50,87	d	7,72	de
G. Naine(AAA)	128,73	b	20,33a		63,42	b	10,01a	
Gros Michel (AAA)	118,21	c	16,33	c	58,24	c	8,29	c
Bucaneiro (AAAA)	136,73a		18,28	b	67,36a		9,01	b
F (Trat)	191,96**		62,48**		181,95**		62,45**	
CV (%)	9,29		10,51		9,29		10,51	
Média geral	108,08		16,44		53,25		8,10	

¹Médias seguidas por letras distintas, em cada variável resposta, diferem entre si pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade. ²Plantas com 150 dias de aclimatização, sob condições de telado.

Tabela 2. Valores médios para massa fresca (MAF) e seca (MSS), em miligramas (mg); massa específica do disco foliar (base na massa fresca) (MDF) e seca (MDS), em miligramas por centímetro quadrado (mg cm^{-2}) de plantas de bananeira, em função da ploidia. Cruz das Almas-BA, 2010¹.

Genótipo ²	MAF (mg)		MSS (mg)		MDF (mg cm^{-2})		MDS (mg cm^{-2})	
NBA-14 (AA)	100,23	d e	16,04	bc	49,38	de	7,90	c
TDM (AA)	98,94	e	15,21	c	48,75	e	7,49	d
Lidi (AA)	98,38	e	15,16	c	48,47	e	7,47	d
Malbut (AA)	105,49	d	16,34	bc	51,97	d	8,05	c
Ouro (AA)	112,75	c	16,11	bc	55,55	c	7,94	c
G. Naine (AAA)	140,93a		21,94a		69,43a		10,81a	
Gros Michel (AAA)	122,18	b	19,63a	b	60,20	b	8,27	c
Bucaneiro (AAAA)	144,88a		18,45a	bc	71,38a		9,09	b
F (Trat)	206,39**		5,58**		206,39**		136,13**	
CV (%)	8,76		42,69		8,76		8,08	
Média geral	115,57		17,27		56,94		8,34	

¹Médias seguidas por letras iguais, em cada variável resposta, pertencem ao mesmo grupo pelo teste de agrupamento Scott-Knott, a 1% de probabilidade. ²Plantas com 150 dias de aclimatização, sob condições de telado.

Como esperado os diplóides apresentaram menores valores para massa fresca (MAF) e seca (MSS), massa específica do disco foliar (base na massa fresca) (MDF) e seca (MDS) e conseqüentemente uma menor espessura de folhas.

Tabela 3. Valores médios para massa fresca (MAF) e seca (MSS), em miligramas (mg); massa específica do disco foliar (base na massa fresca) (MDF) e seca (MDS), em miligramas por centímetro quadrado (mg cm⁻²) de plantas de bananeira, em função da ploidia. Cruz das Almas-BA, 2010¹.

Genótipo ²	MAF (mg)		MSS (mg)		MDF (mg cm ⁻²)		MDS (mg cm ⁻²)	
NBA-14 (AA)	105,37	d	15,71	cd	51,91	d	7,74	cd
TDM (AA)	102,81	d	14,60	e	49,76	d	7,20	e
Lidi (AA)	103,91	d	15,76	cd	51,20	d	7,76	cd
Malbut (AA)	105,59	d	16,64	c	52,02	d	8,20	c
Ouro (AA)	119,53	c	15,66	cde	58,89	c	7,72	cde
Grande Naine (AAA)	142,40a		21,01a		70,16a		10,35a	
Gros Michel (AAA)	127,99	b	15,57	de	63,06	b	7,67	de
Bucaneiro (AAAA)	140,07a		17,74	b	69,01a		8,74	b
F (Trat)	131,38**		55,98**		111,20**		55,97**	
CV (%)	8,46		10,29		9,37		10,29	
Média geral	118,19		16,46		58,11		8,11	

¹Médias seguidas por letras iguais, em cada variável resposta, pertencem ao mesmo grupo pelo teste de agrupamento Scott-Knott, a 1% de probabilidade. ²Plantas com 150 dias de aclimatização, sob condições de telado.

CONCLUSÃO

A técnica baseada na determinação da massa específica utilizando discos foliares é eficiente para distinguir diplóides de tri e tetraplóides, com base na espessura foliar.

REFERÊNCIAS

- BAKRY, F.; REBERDIERE, N.P.; PICHOT, S.; JENNY, C. In liquid medium colchicines treatment inducuz non chimerical doubled-diploids in a wide range of mono- and interspecific diploid banana clones. **Fruits**, v. 62, p. 3-12. 2007.
- DOLEZEL, J.; GREILHUBER, J.; SUDA, J. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. **Nature Protocols**, v.2, p.2233-2244, 2007.
- GANGA, M.; CHEZHIAN, N. Influence of the antimetotic agents colchicines and oryzalin on in vitro regeneration and chromosome doubling of diploid bananas (*Musa* spp.). **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 77, n. 5, p. 572-575, 2002.
- SILVA, S. O.; MORAIS, L. S.; SANTOS-SEREJO, J. A. **Melhoramento Genético de Bananeira para Resistência às Doenças**. In: Romano R.; Ramos, R. E. S. (Org). Recursos Genéticos Vegetais no Estado da Bahia. Feira de Santana, UEFS. 2005, v.1 p 49-67.