

**VIABILIDADE POLÍNICA DE *Piper hispidinervum* e *Piper aduncum***

JEANNE DE CÁSSIA GOULART<sup>1</sup>, LUDMILA CRISTINA OLIVEIRA<sup>2</sup>, GIOVANA AUGUSTA TORRES<sup>3</sup>

**RESUMO**

Este trabalho foi realizado com o objetivo estabelecer um protocolo de avaliação da viabilidade dos grãos de pólen de *Piper hispidinervum* e *Piper aduncum*, para comparar populações de Lavras e as do Banco de Germoplasma da Embrapa-Acre. Foram utilizados dois corantes para testar a viabilidade (Alexander e carmim propiônico 1%) e os dados foram submetidos à análise de variância. Os dois corantes mostraram-se eficazes no estudo da viabilidade e não houve diferença significativa entre eles. As espécies diferiram significativamente a 5 % de probabilidade sendo que *Piper hispidinervum* apresentou viabilidade média de 91,4% enquanto *Piper aduncum* de 34,6%. A alta viabilidade de *Piper hispidinervum* é explicada pela meiose regular relatada na literatura. A meiose de *Piper aduncum* precisa ser investigada para verificação de anormalidades que expliquem a taxa de inviabilidade observada. O uso do protocolo estabelecido deverá gerar informação de grande valia para o uso dos acessos do Banco de Germoplasma da EMBRAPA Acre em cruzamentos intra e interespecíficos controlados no programa de melhoramento de *P. hispidinervum*.

**Palavras-chaves:** *Piper hispidinervum*, *Piper aduncum*, Viabilidade do pólen, Melhoramento

**INTRODUÇÃO**

Nos últimos anos tem-se buscado na Amazônia novas alternativas para a exploração do safrol, um composto de alto valor comercial no mercado mundial. Nesse contexto, a exploração comercial de *Piper hispidinervum* no Estado do Acre vem despertando grande interesse de empresas nacionais e internacionais processadoras de óleos essenciais. Desde a bioprospecção de espécies de *Piper* produtoras de safrol na Amazônia, iniciada na década de 90, a Embrapa-Acre vem se dedicando ao estudo das espécies de *Piper* e à implementação de um programa de melhoramento de *Piper hispidinervum*.

Para o sucesso de um programa de melhoramento é importante a definição de uma estratégia com base no modo de reprodução dos genótipos envolvidos. Métodos de melhoramento e esquemas de cruzamento serão mais eficientes se corretamente aplicados para plantas autógamas, alógamas, mistas ou apomíticas (VALLE, 2007).

O estudo do grão de pólen é um parâmetro de suma importância, pois além de evidenciar a potencialidade reprodutora masculina da espécie, contribui para estudos taxonômicos, ecológicos e palinológicos, fornecendo informações básicas para o planejamento de um programa de melhoramento (ALEXANDER, 1980, ARROYO, 1981, GUINET, 1989). Estudos sobre a viabilidade polínica possibilitam indicar ao melhorista a habilidade do material disponível em produzir grãos de pólen viáveis, além da possibilidade de ser correlacionado com anormalidades meióticas, auxiliar na seleção de materiais genéticos e inferir sobre os melhores cruzamentos (DAVIDE, 1998).

De acordo com Kelly *et al.* (2002) a viabilidade do pólen pode ser medida de várias maneiras, entre elas o método de coloração e a contagem direta. Uma grande variedade de corantes nucleares vitais tem sido usada para testar a viabilidade do pólen como o corante de Alexander e o carmim propiônico (RODRIGUEZ-RIANO e DAFNI, 2000; KELLY *et al.*, 2002; SOUZA *et al.*, 2004).

---

<sup>1</sup> Doutoranda em Genética e Melhoramento de Plantas, DBI/ UFLA, jinybio@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Mestranda em Genética e Melhoramento de Plantas, DBI/ UFLA, lud.oliveira@gmail.com

<sup>3</sup> Professora Titular, DBI/UFLA, torres.giovana@gmail.com

Neste contexto, o objetivo do trabalho foi estabelecer um protocolo para estudar a viabilidade dos grãos de pólen *Piper hispidinervum* e *Piper aduncum*, para comparar populações de Lavras e as do Banco de Germoplasma da Embrapa-Acre e subsidiar a escolha de genótipos para realização de cruzamentos intra e interespecíficos no Programa de Melhoramento da Embrapa Acre.

## MATERIAL E MÉTODOS

Após a antese, as inflorescências de *Piper hispidinervum* foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais e as de *Piper aduncum* na trilha da Universidade Federal de Lavras e armazenadas em solução fixadora (3 álcool etílico : 1 ácido propiônico) a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Anteras de cinco inflorescências fixadas foram seccionadas transversalmente para retirada dos grãos de pólen. Foram retirados grãos de pólen da base de cada inflorescência e confeccionadas cinco lâminas. De cada lâmina foi obtida a porcentagem de grãos de pólen viáveis a partir de 200 microsporócitos maduros.

Foram testados os corantes de Alexander e o carmim propiônico 1% para estimar a viabilidade. No teste com o corante de Alexander, as lâminas foram colocadas em câmara úmida, a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , por 24h. Para o uso do carmim propiônico 1% as lâminas também foram mantidas em câmara úmida, porém à temperatura ambiente, por 1h. As lâminas foram avaliadas em microscópio de campo claro (Leica DMLS), equipado com microcâmara (Nikon Digital Sight DS-Fi1) para digitalização das imagens. A viabilidade foi determinada pelo padrão de coloração dos grãos de pólen, sendo considerados viáveis aqueles que se coraram fortemente enquanto os inviáveis os que se coraram com menor intensidade ou não se coraram.

Os dados foram submetidos à análise de variância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os grãos de pólen considerados viáveis com o corante Carmim propiônico 1% (Fig 1A) foram aqueles corados em vermelho e com o Corante de Alexander (Fig 1B) os corados em azul, já os inviáveis não se coraram intensamente (Fig 1A e 1B).

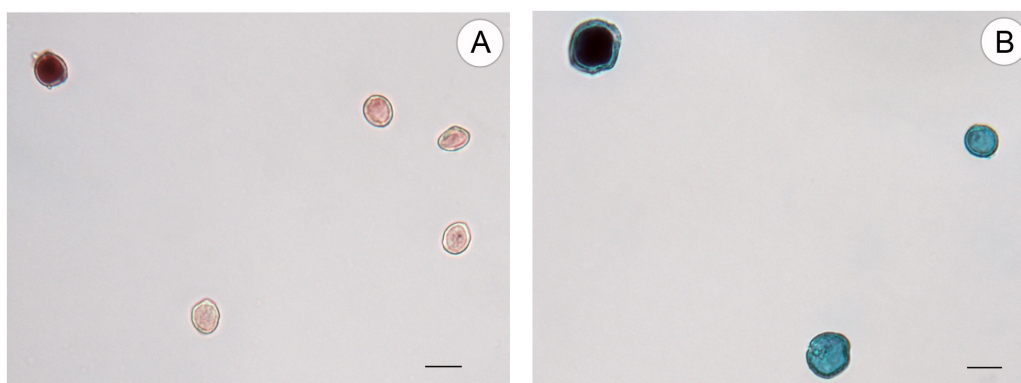


FIGURA 1 - Coloração com Carmim propiônico 1%; (A). Coloração com Corante de Alexander (B) Barra: 10  $\mu\text{m}$ .

A interação espécies x corante foi não significativa (Tabela 1). Os dois corantes mostraram-se eficazes no estudo da viabilidade e não houve diferenças significativas entre eles. Houve diferença significativa a 5% de probabilidade entre as espécies estudadas sendo que *P. hispidinervum* apresentou viabilidade média de 91,4% enquanto *P. aduncum* de 34,6%. O coeficiente de variação foi baixo o que indica uma boa precisão do experimento.

Tabela 1 - Resumos das análises de variância para viabilidade do pólen das espécies de *Piper*.

FV	GL	QM
Espécies	1	14472,2*
Corantes	1	0,8 <sup>ns</sup>
repetição	4	194,0 <sup>ns</sup>
Espécies x corantes	1	28,8 <sup>ns</sup>
Erro	12	74,6
Média		64,5
CV%		13,39

significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste F, <sup>ns</sup> - não significativo

Goulart *et al.* (2009) mostraram que o comportamento meiótico de *P. hispidinervum* é regular. Isso explica a alta viabilidade polínica encontrada para a espécie. A baixa viabilidade dos pólenes de *Piper aduncum* pode estar relacionada a irregularidades meióticas que levam à má formação e à inviabilidade do grão de pólen. Portanto, uma investigação detalhada da meiose masculina dessa espécie deve ser feita para verificar essa hipótese. De qualquer forma, o uso de *P. aduncum* em cruzamento com *P. hispidinervum* exige a avaliação de diferentes genótipos para seleção daqueles mais eficientes na produção de pólen.

O uso do protocolo estabelecido deverá gerar informação de grande valia para o uso dos acessos do Banco de Germoplasma da EMBRAPA Acre em cruzamentos intra e interespecíficos controlados no programa de melhoramento de *P. hispidinervum*.

## CONCLUSÃO

Os corantes de Alexander e carmim propiônico são eficientes para estudo de viabilidade polínica em *Piper*.

A viabilidade polínica de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* é bastante distinta, sendo a baixa para a primeira e alta para a segunda.

## REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

ALEXANDER, M.P. A versatile stain for pollen from fungi, yeast and bacteria. **Stain Technology**, Baltimore, v. 55, p. 13-18, 1980.

ARROYO, M.T.K. Breeding systems and pollination biology in leguminosae. In: POLHILL, M.; RAVEN, P.H. (Eds). *Advances in legumes systematics*, Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. p.723-69.

DAVIDE, L.C. Citogenética aplicada ao melhoramento de plantas na UFLA. In: CONGRESSO MINEIRO DE GENETICISTAS, 5., 1998, Viçosa. Anais.. Viçosa: Sociedade Brasileira de Genética Regional de Minas Gerais, 1998. v um, p.9.

**XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA**  
**27 de setembro a 01 de outubro de 2010**

---

GOULART, J. C. ; Carvalho, I. V. ; TORRES, G. A . Comportamento meiótico da espécie *Piper hispidinervum*. In: 1 Reunião de Citogenética, 2009, Águas de Lindóia. 1 Reunião de Citogenética, 2009.

GUINET, P.H. Advances in legume biology: struture evolution, and biology of pollen in Leguminosae. St. Louis: Missouri Botanical Garden, 1989. 842p.

KELLY, J. K.; RASCH, A.; KALISZ, S. A method to estimate pollen viability from pollen size variation. American Journal of Botany, v. 89, n° 6: 1021-1023, 2002

RODRIGUEZ-RIANO, T.; DAFNI, A. A new procedure to asses pollen viability. Sex Plant Reprod, v.12, p. 241–244, 2000

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; VIANA, A.P.; SILVA, L.C.; SUDRÉ, C.P. Pollen viability and fertility in wild and cultivated *Passiflora* species (Passifloraceae). Beitrage zur Biologie der Pflanzen, Berlin, v.73, p.1-18, 2004.

VALLE, D.B. do. A citogenética e o melhoramento de *Brachiaria*. In: SIMPÓSIO DE ATUALIZAÇÃO E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 11., 2007, Lavras. **Anais...** Lavras, 2007. p. 84-103.