

COMPORTAMENTO MEIÓTICO E VIABILIDADE POLÍNICA EM *HELICONIA* *POGONANTHA* E *HELICONIA PSITTACORUM*

VANESSA R. FRANCO¹; LUIZA D. A. ZUCCARI²; CECÍLIA A. F. PINTO-MAGLIO³;
CARLOS E. F. CASTRO⁴
Nº 12152

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi analisar o comportamento meiótico e a viabilidade do pólen de plantas do gênero *Heliconia* que se encontram no banco de germoplasma de ornamentais do IAC. Na primeira parte deste projeto 14 espécies tiveram a viabilidade do pólen analisada através de contagem de grãos viáveis e estéreis em lâminas coradas com o corante Alexander. A segunda parte consistiu em analisar o comportamento meiótico das espécies *H. psittacorum* e *H. pogonantha* em preparações citológicas com o corante Carmim acético. Ambas as análises foram feitas em microscopia com condensador em contraste de fase. Os resultados mostraram que há diversidade no índice de viabilidade polínica entre as diferentes espécies, algumas delas apresentaram alta viabilidade polínica, outras com média fertilidade e outras espécies completamente estéreis. Nas análises de comportamento meiótico verificou-se também espécies com meiose normal e outras com algumas anomalias como, por exemplo, cromossomos retardatários. Nas espécies com meiose irregular verificou-se uma correspondência com a presença de polens inviáveis.

Palavras-chave: *Heliconia*, pólen, meiose, células mãe de pólen, banco de germoplasma.

¹ Bolsista CNPq: Graduação em Ciências Biológicas, UNIP, Campinas-SP, vanfranco@yahoo.com.br.

² Bolsista CNPq: Graduação em Biotecnologia, UNISO, Sorocaba-SP

³ Orientadora: Pesquisadora, CPDRGV/IAC, Campinas-SP, maglio@iac.sp.gov.br.

⁴ Colaborador: Pesquisador, CAPTAH/ IAC, Campinas-SP

ABSTRACT

The objective of this work was to analyze the meiotic behavior and pollen viability of plants of the genus *Heliconia* found in ornamental germplasm bank of the IAC. In the first part of this project 14 species had pollen viability analyzed by counting fertile grains stained with Alexander dye. The second part was to analyze the meiotic behavior of the species *H. psittacorum* and *H. pogonantha* in cytological preparations with acetic carmine dye. Both analyzes were performed on microscope with phase contrast condenser. The results showed that there are differences in the rate of pollen viability between different species, some of them had high pollen viability, others with medium fertility and other species completely sterile. In the analysis of meiotic behavior was also observed some species with normal meiosis and others with some anomalies, for example, chromosomes laggard. In species with irregular meiosis there was a correlation with the presence of sterile pollen.

INTRODUÇÃO

O gênero *Heliconia* é o único da família *Heliconiaceae*, e possui entre 250-300 espécies. (SIMÃO & SCATENA; 2003). São plantas herbáceas, eretas, com rizoma subterrâneo e altura variando de 0.5 a 8.0 m, nativas das regiões tropicais da América Central e América do Sul, podendo ser encontradas também no Peru, Colômbia e em florestas tropicais brasileiras. Mais de 350 espécies já foram descritas, selvagens e domesticadas, a maioria delas tendo como habitat a região amazônica (RODRIGUES, 2005).

As *Heliconias* conhecidas popularmente como bananeira de jardim, bananeirinha de jardim, bico de guará, entre outros no Brasil são plantas ornamentais com posição de destaque no ramo da floricultura devido a sua beleza exótica, cor, resistência ao transporte, longa durabilidade de suas brácteas florais (SIMÃO & SCATENA; 2003; LOGES et. al; 2005)

Apesar da expansão do cultivo das *Heliconias*, algumas espécies já estão ameaçadas de extinção (RODRIGUES, 2005) sendo portanto a caracterização dos recursos genéticos ainda existentes, de grande importância para a conservação e uso de forma adequada dessas plantas. A caracterização citogenética é feita principalmente pelo registro do número, pela morfologia de cromossomos e também pelo estudo do comportamento meiótico.

Os dados sobre a caracterização citogenética sobre o gênero das *heliconias* são escassos.

ANDERSON (1984) determinou $2n=24$ cromossomos para 31 táxons de *Heliconia* e registrou cromossomos de tamanho pequeno variando de 0.7 e 1.7 μm .

PINTO-MAGLIO et. al (1992) iniciaram as primeiras contagens cromossômicas em quatro espécies de *Heliconia* do banco de germoplasma do IAC: *H. laneana*; *H. rivulans*, *Heliconia* sp var Orange torch e *Heliconia* sp (acesso número 12204). Esses autores registraram um numero cromossômico de $n=11$ e $n=12$ para essas espécies.

Este trabalho teve como objetivo analisar o comportamento meiótico das espécies *Heliconia pogonantha* e *Heliconia psittacorum* e determinar a viabilidade polínica de 14 espécies de *Heliconia* do banco de germoplasma do IAC visando estabelecer o grau de fertilidade e estabilidade genética dessas espécies.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Foram utilizados botões florais coletados de plantas de *Heliconia* retirada do Banco de Germoplasma de Ornamentais do Instituto Agronômico, no Pólo Regional do Vale do Ribeira – UPD – em Ubatuba- S.P em fevereiro de 2012.

Para análise de viabilidade polínica foram estudadas as espécies: *H. collinsiana*, *episcopalis*, *H. flabellata*, *H. híbrido torto*, *H. imbricata*, *H. latispatha*, *H. lingulata*, *H. orange torch*, *H. psittacorum I*, *H. psittacorum II*, *H. raulineana*, *H. rivulares*, *H. subulata*, *H. velerigera*

Para análises do comportamento meiótico foram analisadas as espécies *H. pogonantha* e *H. psittacorum*

Métodos

Para a análise cromossômica meiótica foram coletados botões em diferentes fases de desenvolvimento visando a obtenção de várias fases da divisão meiótica.

Após a retirada das partes externas da inflorescência, os botões florais foram acondicionados em frascos de vidros contendo o fixador Carnoy (3 partes de etanol:1 parte de ácido acético glacial). Em seguida estes frascos foram colocados numa bomba de vácuo para promover a retirada do ar e incrementar a entrada do fixador no tecido dos botões visando maior rapidez de conservação.

Para a preparação de lâminas para análise meiótica, são colocadas 3-4 anteras em uma lâmina contendo 2-3 gota do corante Carmim Acético 1,2%. Após este procedimento, as anteras são esmagadas levemente com uma pequena espátula de ferro. Em seguida coloca-se uma lamínula sobre o material que é em seguida

aquecido sobre chama de lamparina, pressionando-se levemente lâmina e lamínula entre folhas de papel filtro, ficando pronta para visualização em microscópio óptico.

Para o teste de viabilidade polínica, foram utilizados somente botões florais completamente desenvolvidos contendo pólen maduro. Anteras são esmagadas em lâminas com gotas do corante Alexander para retirada dos grãos de pólen e cobertas com uma lamínula. Após estes procedimentos as lâminas estão prontas para a visualização ao microscópio óptico. Neste teste a distinção entre os grãos de pólen viáveis e inviáveis é feita pela observação da coloração do pólen. São viáveis aqueles grãos “cheios” com coloração uniforme e grãos inviáveis aqueles que se apresentam “vazios” e sem coloração ou ainda com a coloração fraca e não uniforme. São considerados grãos desbalanceados aqueles que se apresentam de tamanho irregular (diâmetro muito pequeno ou diâmetro muito grande).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Viabilidade polínica através da coloração dos grãos de pólen

Para a realização do teste de viabilidade polínica, utilizou-se o corante Alexander 1, que em pré-testes mostrou-se mais adequado à parede dos polens. Este foi aplicado em botões florais frescos e maduros com pólen bem formados das espécies *H. collinsiana*, *H. episcopalis*, *H. flabellata*, *H. híbrido torto*, *H. imbricata*, *H. latispatha*, *H. lingulata*, *H. orange torch*, *H. psittacorum I*, *Heliconia psittacorum II*, *H. raulineana*, *H. rivulares*, *H. subulata*, *H. velerigera*..

A contagem de viabilidade de pólen nos testes com o corante Alexander foi realizada a partir da contagem de grãos em dez regiões aleatórias, em três lâminas para cada espécie de *Heliconia*, com exceções da espécie *H. subulata* que foi realizada em uma lâmina e em *H. flabellata* que as contagens foram realizadas em duas lâminas devido a pouca quantidade de material disponível. Os resultados da viabilidade polínica foram expressos em porcentagem (Tabela 1).

Foram registradas espécies de *Heliconia* com diferentes graus de viabilidade de pólen, notando-se desde espécies com pólen completamente fértil a espécies com grãos de pólen totalmente estéreis, bem como espécies com grãos com tamanho/diâmetro bastante heterogêneo (Figura 1A; 1F).

O pólen da espécie *H. collinsiana* apresentou 13.57% de viabilidade e heterogeneidade em tamanho (Figura 1; Tabela 1).

TABELA 1. Viabilidade polínica em diferentes espécies de *Heliconia* por meio de coloração com o corante Alexander.

Espécies	Total de grãos analisados	Pólen viável (%)	Pólen inviável (%)
<i>H. collinsiana</i> *	707	13.57	86.42
<i>H. episcopalis</i> *	514	85.40	14.59
<i>H. flabellata</i> *	225	83.55	16.44
<i>H. híbrido torto</i>	605	-	100
<i>H. imbricata</i>	190	-	100
<i>H. latispatha</i>	554	83.03	16.96
<i>H. lingulata</i>	502	77.68	22.31
<i>H. orange torch</i>	194	-	100
<i>H. psittacorum I</i> *	214	35.51	64.48
<i>H. psittacorum II</i>	365	76.43	23.56
<i>H. raulineana</i> *	401	6.73	93.26
<i>H. rivulares</i>	363	13.22	86.77
<i>H. subulata</i>	127	97.63	2.36
<i>H. velerigera</i> *	447	89.48	10.51

* Espécies que apresentaram heterogeneidade no tamanho do pólen.

Na espécie *H. raulineana* observou-se também expressiva heterogeneidade em tamanho do pólen e 93,26% de esterilidade (Figura 1F; Tabela 1) ficando atrás apenas de *H. imbricata* e *H. híbrido torto* ambas 100% estéreis (Figura 1B; Tabela 1).

As espécies *H. subulata*, *H. lingulata* e *H. velerigera* apresentaram altos índices de grãos viáveis e portanto consideradas as mais férteis: *H. subulata* com 97.63% de viabilidade, *H. lingulata* 77.68% e *H. velerigera* com 89.48% (Figura 1C, 1D 1E; Tabela 1).

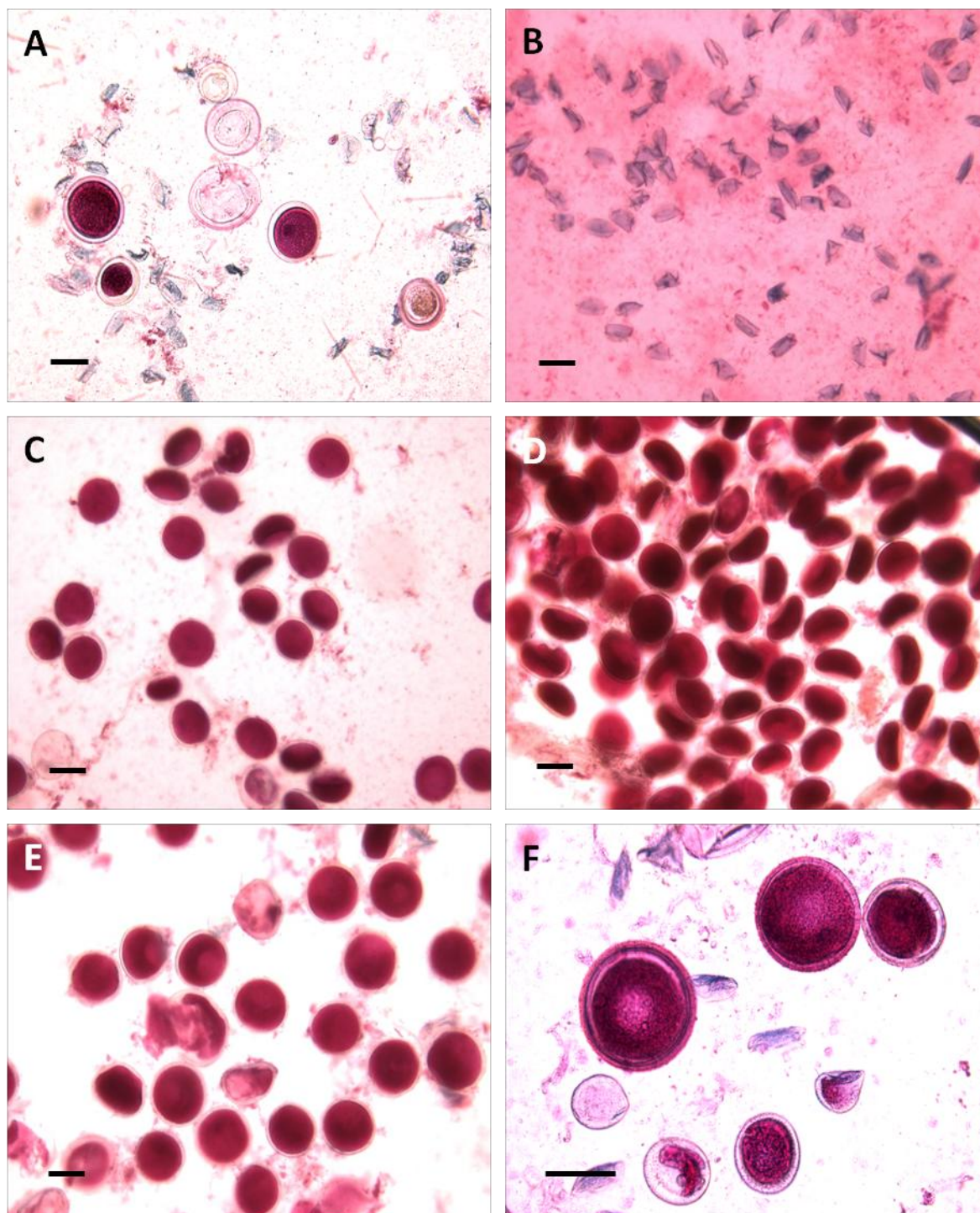


FIGURA 1 - Teste de viabilidade polínica em espécies de *Heliconia* com corante Alexander: (A) *H. collinsiana*; (B) *H. híbrido torto*; (C) *H. subulata*; (D) *H. lingulata*; (E) *H. velerigera*; (F) *H. raulineana*. Barra=50 µm.

Análises meióticas

Foram realizadas análises meióticas nas espécies *H.psittacorum* e *H. pogonantha*.

Na espécie *H. pogonantha* foram observados cromossomos retardatários em células mães de pólen tanto nas fases de anafase I (Figura 2B) como anáfase II (Figura 2A).

Nessa espécie foram também observadas políades, ou seja, conjunto com cerca de 5 a 8 micrósporos, ao invés de quatro micrósporos que seria o número normal (Figura 2C e 2D). Foram observados ainda durante as análises de meiose grãos de pólen vazios e cheios que foram corados com Carmim acético (Figura 2E).

Foi realizada para essa mesma espécie uma contagem de tétrades normais e anormais, utilizando-se o mesmo método da contagem de pólen, ou seja, contagem em dez regiões aleatórias em nove lâminas da espécie. Como resultado foi observado 35.9% de tétrades anormais constituídas por políades, díades e mônades, sendo a maioria composta por tétrades normais 64.09%.

Na espécie *H. psittacorum* foram observadas células mães de pólen em metáfases I com os 12 bivalentes pareados normalmente (Figura 3A e Figura 3B). No entanto foram também observadas políades com micrósporos desbalanceados, ou seja, contendo vários núcleos ou micronúcleos (Figura 3C).

A espécie *H. psittacorum* apresentou ainda grãos de pólen com morfologia heterogênea, alguns de tamanho grande, formato arredondado, e com numerosas ornamentações em toda sua parede externa, e outros de tamanho pequeno com formato mais achatado, apresentando “espículas” apenas em locais específicos (Figuras 3D e 3E). Foram ainda observados grãos de pólen já com núcleos resultantes do processo de gametogênese (Figura 3F).

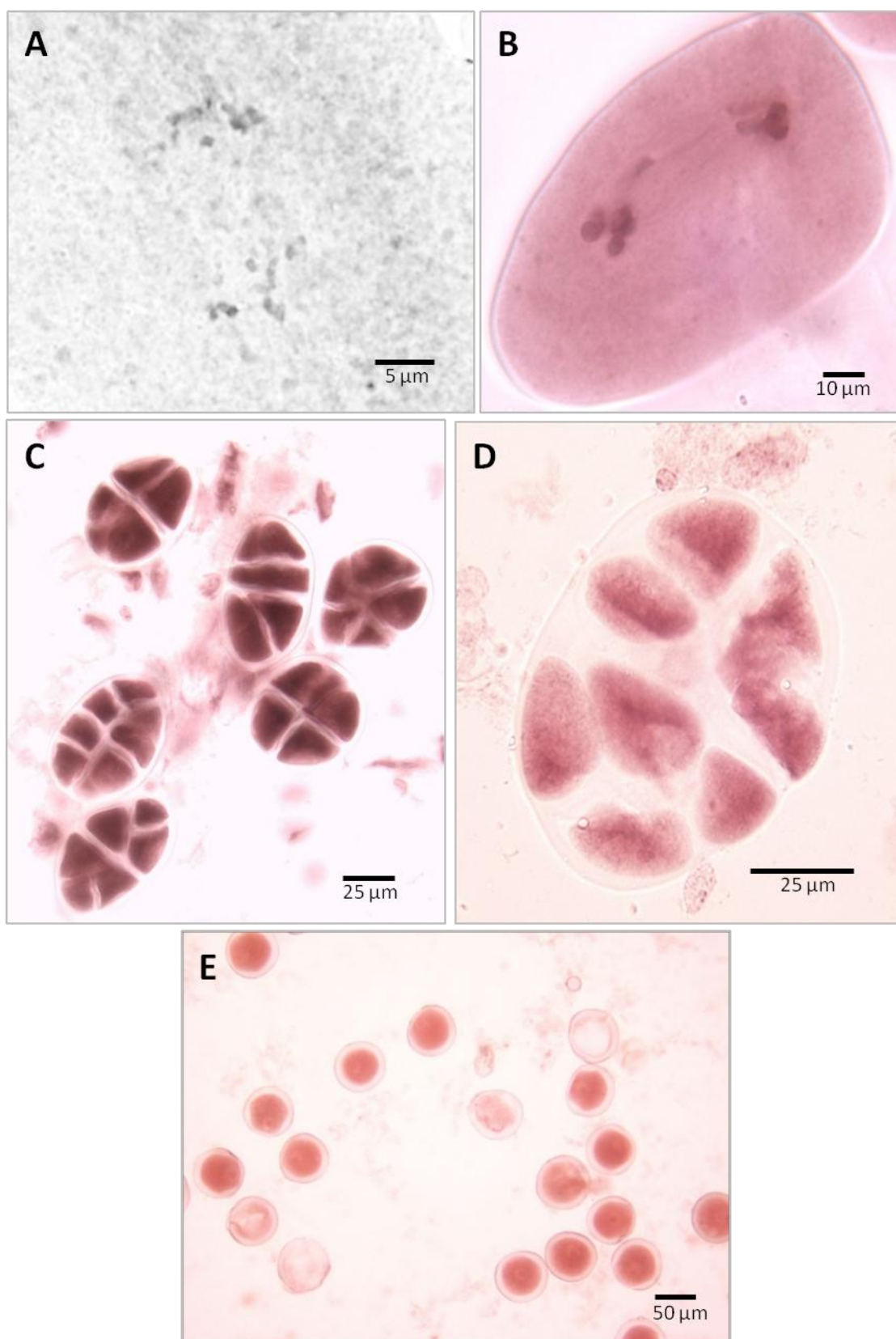


FIGURA 2 - Meiose e formação de pólen em *Heliconia pogonantha*: (A) e (B) anáfase II e anáfase I respectivamente; ambas células apresentando cromossomos retardatários; (C) e (D) Conjuntos de poliades com vários micrósporos; (E) Grãos de pólen viáveis (coloridos) e grãos inviáveis (vazios sem coloração). Coloração com Carmim acético 1,2%.

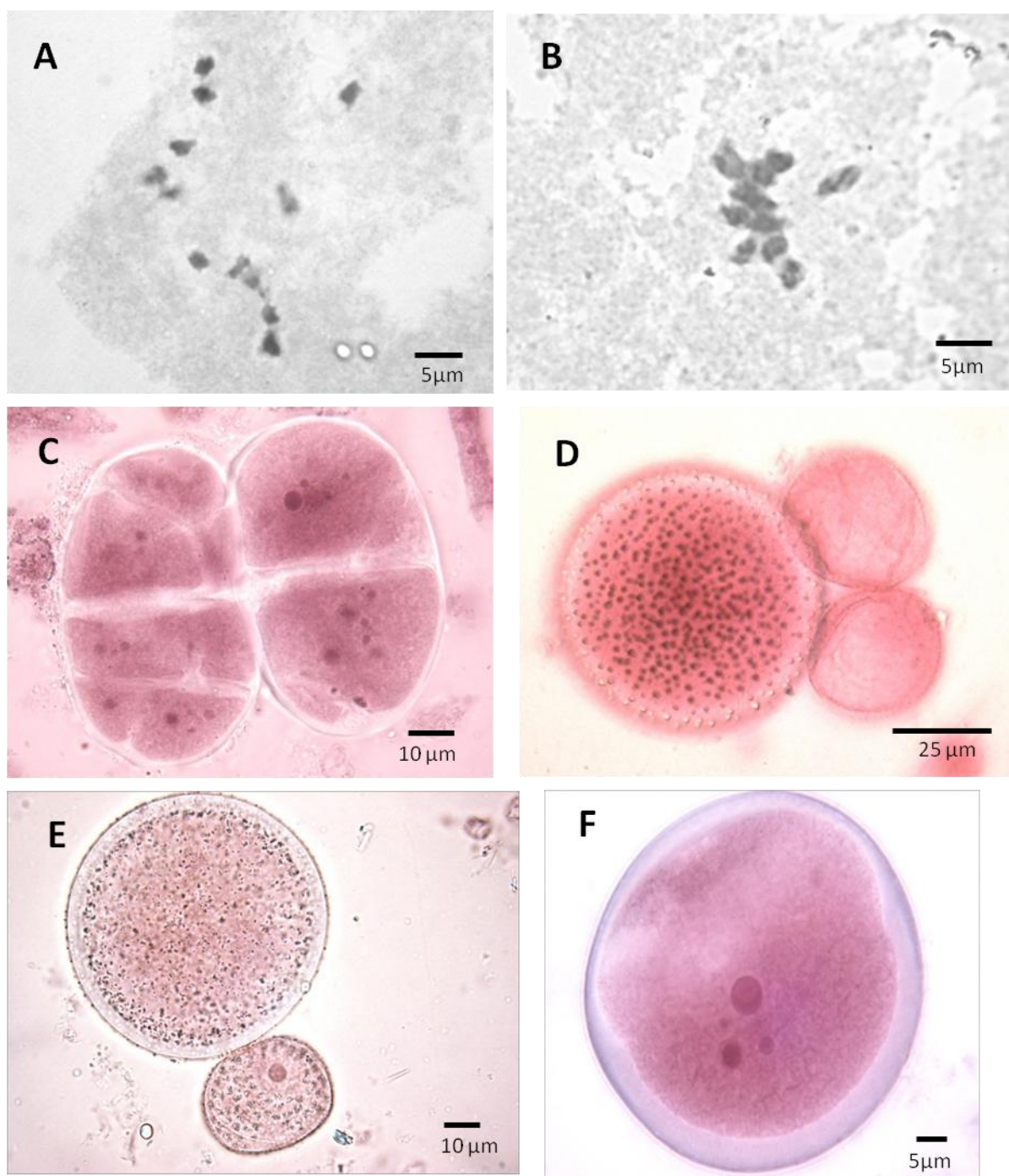


FIGURA 3 - Meiose e pólen de *Heliconia psittacorum*: (A) Metáfase-anáfase I; (B) Metáfase I; (C) Políades com vários micrósporos; (D) e (E) Pólen com grãos de tamanho heterogêneo; (F) Grão de pólen com núcleos resultantes de divisão da gametogênese..Coloração com Carmim acético 1,2%.

CONCLUSÃO

As análises de viabilidade polínica e meiótica conduzidas neste trabalho permitiram concluir que as espécies de *Heliconia* estudadas são heterogêneas em relação aos níveis de fertilidade, observando-se espécies com índices máximos de fertilidade, outras totalmente estéreis e algumas com índices intermediários.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ – PIBIC, pela bolsa concedida.

Ao Centro de P & D Recursos Genéticos Vegetais - IAC, pela oportunidade de estágio.

REFERÊNCIAS

ANDERSSON, L. The chromosome number of *Heliconia* (Musaceae). **Nordic Journal of Botany** – v 4(2), p. 191–193, 1984.

LOGES, V.; TEIXEIRA, M.C. F.; CASTRO, A.C.R.; COSTA, A.S. Colheita, pós-colheita e embalagem de flores tropicais em Pernambuco. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.3, p.699-702, 2005.

PINTO-MAGLIO, C.A.F.; SOARES-SCOTT, M.D.; MIOTTO, C.; CASTRO, C.E.F.; TAVARES, A. Estudos citológicos em *Heliconia*. In: **IX Congresso da Sociedade de Botânica de São Paulo**, 1992, Ilha Solteira, SP. Resumos. São Paulo.SP: SBSP, 1992. v.1. p. 202.

RODRIGUES, P. H. V. *In vitro* establishment of *Heliconia rauliniana* (Heliconiaceae) **Sci. Agric.** Piracicaba, Braz., v.62, n.1, p.69-71, 2005

SIMÃO, D. G.; SCATENA, V. L. Morphological aspects of the propagation in *Heliconia vellosiana* L. Emygd. (Zingiberales: Heliconiaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.46, n.1, p.65-72, 2003.