RELAÇÃO ENTRE OS ESTÁDIOS DE DESENVOLVIMENTO DOS MICRÓSPOROS E AS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DO BOTÃO FLORAL EM PIMENTÃO(*Capsicum annuum* L.)

RELATIONSHIP AMONG THE DEVELOPMENT STAGES OF MICROSPORES AND THE MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE FLORAL BUD IN SWEET PEPPER(*Capsicum annuum* L.)

José Magno Queiroz Luz[1] Renata Silva[2] Lisete Chamma Davide[3]
José Eduardo Brasil Pereira Pinto[4]

RESUMO

Vários fatores influenciam a cultura de anteras, entre eles, o estádio de desenvolvimento dos micrósporos. O presente estudo teve por objetivo verificar a relação entre o estádio de desenvolvimento dos micrósporos com algumas características morfológicas do botão floral do pimentão. Foram utilizados botões florais dos genótipos Agronômico 8, linhagem 004 e o híbrido F_1 (PIX22C#31 x linhagem 004), os quais inicialmente foram separados em seis classes de diferentes tamanhos. Foi determinado o comprimento e o diâmetro do botão floral e o comprimento de suas anteras, além de se observar a presença de antocianina e a relação entre o tamanho das sépalas e pétalas. O estádio de desenvolvimento dos micrósporos foi analisado através da coloração dos mesmos com carmim acético. A análise citológica de cada classe mostrou que o micrósporo não vacuolado, com núcleo central e diâmetro de aproximadamente 24,5µm (ideal para utlização em cultura de anteras), ocorreu em todos os genótipos cujos botões florais tinham pétalas de tamanho igual ou pouco maior que as sépalas e, anteras com traços de antocianina em sua extremidade.

Palavras-chave: microsporogênese, pimentão, ***Capsicum annuum*** **L.**

SUMMARY

A number of factors influence the anther culture, among them, the developmental stage of microspores. The present study had the objective to verify the relationship

[1]Professor Assistente, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Campus do Pici, Caixa Postal 12.168, 60356-001, Fortaleza, CE. Autor para correspondência.

[2]Estudante de Mestrado, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Caixa Postal 37, 37200-000, Lavras, MG.

[3]Professor Adjunto, Departamento de Biologia, UFLA.

[4]Professor Titular, Departamento de Agricultura, UFLA.

Recebido para publicação em 10.05.95. Aprovado em 02.08.95.

among the developmental stage of microspores and a few morphological characteristics of the floral bud of the sweet pepper. Floral buds of the genotypes: Agronômico 8, line 004 and the hybrid PIX22C#31 x line 004, were divided into six classes of different sizes. Length and diameter of the floral bud and the length of their anthers were determined, besides observing the presence of the anthocianin and relationship between the size of sepals and petals. The developmental stage of micropores was analysed through the coloration with acetic carmin. Cytological analysis of each class showed that the non-vacuoled microspore, with central nucleus and diameter approximately 24,5µm (suitable for use in anther culture), ocurred in every genotypes with petals of same size or a little bigger than the sepals and anthers with traces of anthocianin in their end.

Key words: microsporogenesis, sweet pepper, ***Capsicum annuum* L.**

INTRODUÇÃO

A cultura de anteras tem sido um método eficiente para obtenção de plantas haplóides, o que é de grande interesse para diminuir o tempo de seleção nos programas de melhoramento genético, sendo esse período de sete à nove gerações (MORAES FERNANDES, 1990). Há vários fatores que influenciam na eficiência desta técnica, dos quais se destaca o estádio de desenvolvimento dos micrósporos contidos nas anteras. GRANDO & MORAES FERNANDES (1993) sugerem que o potencial embriogênico do grão de pólen pode ser determinado tanto no período da meiose como na período da pré-mitose do micrósporo, pois nestas duas etapas da microsporogênese ainda não se deu a completa eliminação dos fatores determinantes do programa esporofítico, o que permitiria a reativação do programa ontogenético no grão de pólen. Geralmente, estão em estádio adequado para obtenção de haplóides via cultura de anteras, os micrósporos recém liberados da tétrade meiótica até no máximo, estádio binucleado. No pimentão, segundo SIBI et al. (1979), o micrósporo na fase não vacuolada, no último estádio uninucleado ou no início do binucleado, pode ser encontrado em botões florais cujas pétalas e sépalas apresentam-se com igual comprimento.

No presente trabalho verificou-se em genótipos de pimentão do programa de melhoramento da Universidade Federal de Lavras, a relação entre os estádios de desenvolvimento dos micrósporos e algumas características morfológicas do botão floral, de maneira a confirmar se o micrósporo uninucleado ocorre em botões com pétalas e sépalas com tamanhos aproximados.

MATERIAL E MÉTODOS

Três genótipos de pimentão (***Capsicum annuum*** L.) foram usados neste estudo; a cultivar comercial Agronômico 8, resistente à estirpes do vírus Y; a linhagem 004 que possui fruto de formato quadrado, e o híbrido F_1 (PIX 22C#31 x linhagem 004), resistente à nematóides de galhas.

Sementes dos três genótipos foram germinadas em bandejas de 128 células, com substrato comercial, e mantidas em casa de vegetação à temperatura mínima de 25°C, fotoperíodo de aproximadamente 12 horas e irrigação diária. Após 4 a 5 semanas foi feito o transplantio para vasos com capacidade para 5 litros de substrato. A partir da sexta semana pós-transplantio, os botões florais foram coletados e fixados em álcool etílico e ácido acético, na proporção 3:1, durante 24 horas e posteriormente foram armazenados em álcool 70% à 4°C.

Os botões florais foram separados em seis classes de tamanhos diferentes para posterior análise morfólogica e citólogica. Foi determinado o comprimento e o diâmetro do botão floral e o comprimento de suas anteras, além de observar a presença de antocianina na extremidade da antera e a relação entre o tamanho das sépalas e pétalas.

A análise citológica foi feita por classe, a partir de três lâminas coradas com acetocarmim 2%. Para a verificação dos estádios de desenvolvimento e medição do diâmetro dos micrósporos, utilizou-se amostras de 200 e 20 micrósporos, respectivamente. Os dados referentes aos estádios dos micrósporos foram transformados para percentagem, e para o diâmetro foi feita a média das observações. A medida dos diâmetros dos micrósporos foi feita com auxílio da ocular OSM 0,5 a uma magnitude de 400 X.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise morfológica observou-se a evolução do tamanho das anteras em função do comprimento e diâmetro dos botões florais (Figura 1).

Na Tabela 1 verifica-se, para cada classe, os estádios de desenvolvimento dos micrósporos, sendo que para todos os genótipos, nos botões da classe 1, as pétalas ainda não eram visíveis e as anteras continham micrósporos ainda na tétrade meiótica ou, no máximo, micrósporos recém liberados da tétrade com diâmetro médio de 20µm (Figura 2a e 2b). A classe 2 apresentou micrósporos recém liberados, mas também ocorreram micrósporos vacuolados com núcleo não central, com diâmetro médio de 23µm (Figura 2c). Este mesmo estádio ocorreu na classe 3 de todos os genótipos e na classe 4 de Agronômico 8 e linhagem 004, mas com diâmetro por volta de 24,5µm. A partir da clase 4 as anteras apresentaram traços de antocianina em sua extremidade.

O genótipo F_1, na classe 4, e os demais genótipos na classe 5, apresentaram pétalas e sépalas com igual tamanho (Figura 1), contendo anteras com micrósporos não vacuolados, caracterizados por um núcleo central, ainda no estádio uninucleado ou no início do binucleado, logo após a primeira endomitose e com diâmetro médio de 24,5µm (Figura 2d). Na classe 5 o híbrido F_1 apresentou pétalas de comprimento um pouco maior que as sépalas e também contendo em suas anteras o micrósporo uninucleado. Estes resultados confirmam a correlação verificada por SIBI et al. (1979) em que os botões com pétalas de comprimento igual ou pouco maior que as sépalas, continham em suas anteras micrósporos no início do estádio binucleado, logo após o último estádio uninucleado. O mesmo foi constatado por NERVO et al. (1994), que cultivaram ***in vitro*** anteras de botões florais de pimentão que tinham as pétalas e sépalas com comprimentos aproximados ou com pétalas levemente maiores. Já DUMAS et al. (1981) e KRISTIANSEN & ANDERSEN (1993) somente inocularam anteras de botões com pétalas e sépalas de tamanhos iguais, pois estas é que continham os micrósporos uninucleados.

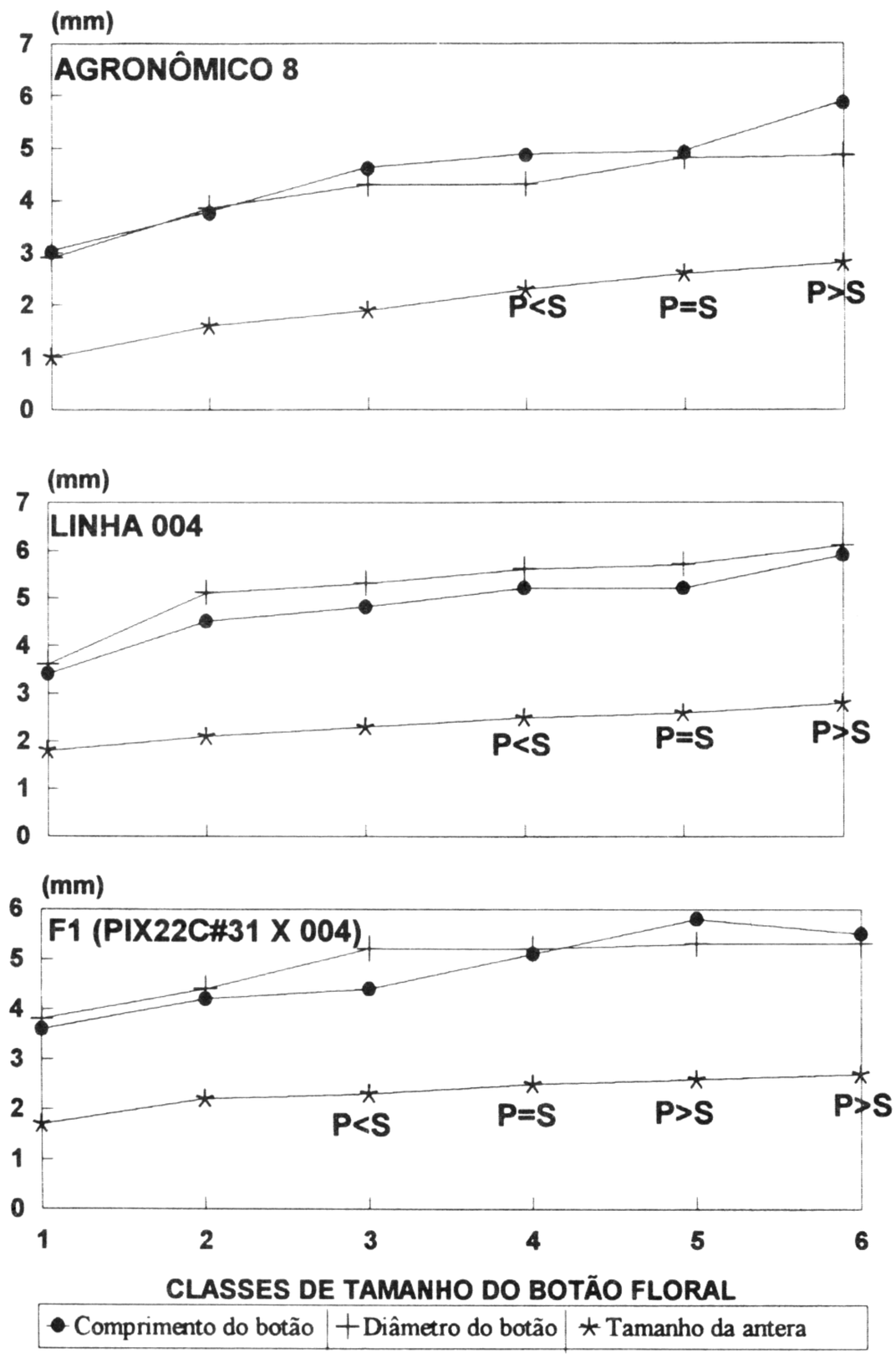

Figura 1. Desenvolvimento das anteras em função do comprimento e do diâmetro do botão floral. (P = Pétalas; S = sépalas).

Tabela 1. Percentagem de micrósporos por estádio de desenvolvimento em cada classe de tamanho do botão floral. Lavras, MG, 1995.

Estádios de desenvolvimento dos micrósporos	Classes de tamanho do botão floral					
	1	2	3	4	5	6
Tétrade	90					
Micrósporo recém liberado da tétrade	10	88				
Micrósporo vacuolado, núcleo não central	.	12	100	70		
Micrósporo não vacuolado, núcleo central*	.			30	100	
micrósporo com camada de exina	.					100
Total (%)	100	100	100	100	100	100

* Estádio adequado para utilização em cultura de anteras .

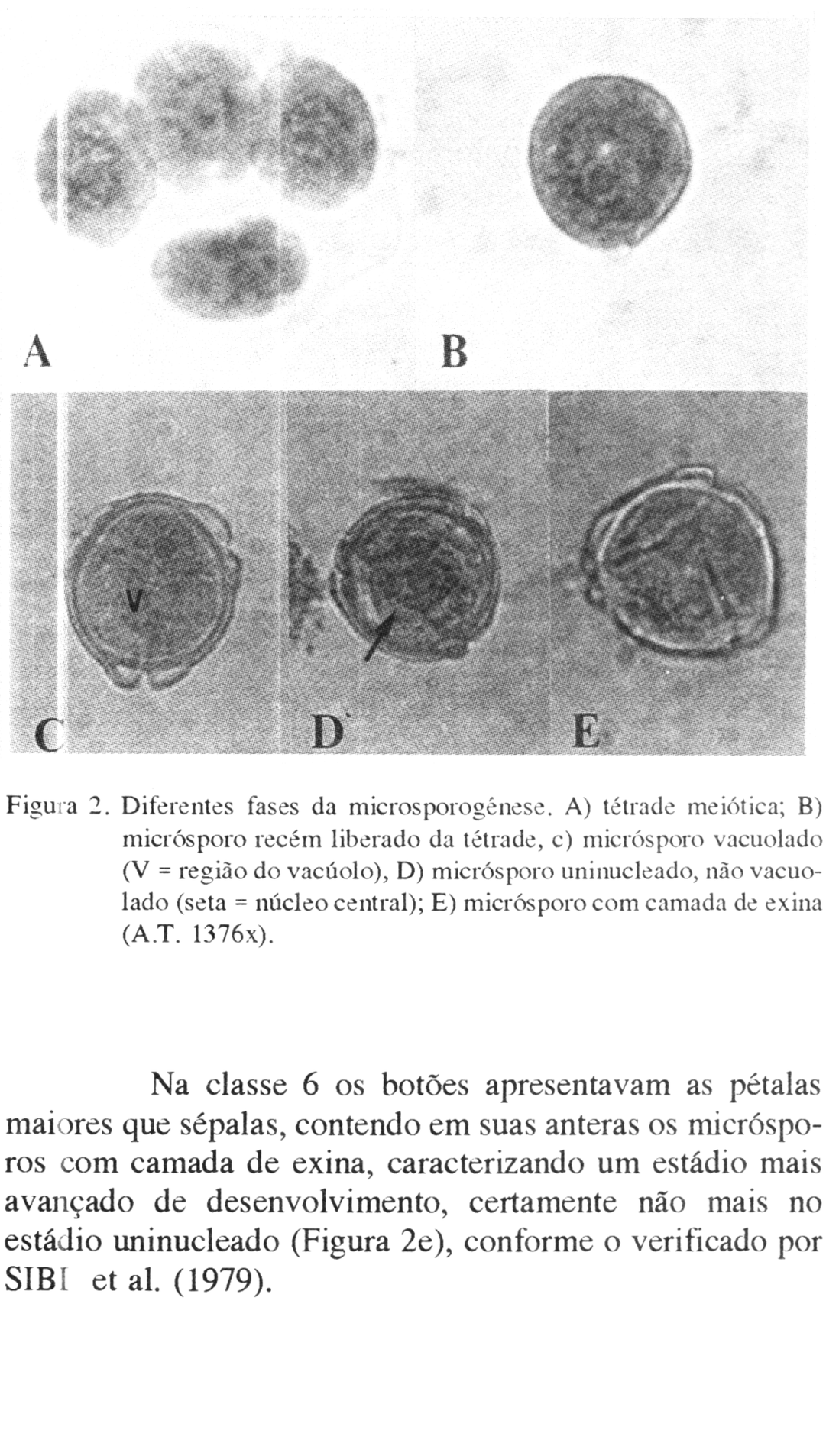

Figura 2. Diferentes fases da microsporogênese. A) tétrade meiótica; B) micrósporo recém liberado da tétrade, c) micrósporo vacuolado (V = região do vacúolo), D) micrósporo uninucleado, não vacuolado (seta = núcleo central); E) micrósporo com camada de exina (A.T. 1376x).

Na classe 6 os botões apresentavam as pétalas maiores que sépalas, contendo em suas anteras os micrósporos com camada de exina, caracterizando um estádio mais avançado de desenvolvimento, certamente não mais no estádio uninucleado (Figura 2e), conforme o verificado por SIBI et al. (1979).

CONCLUSÕES

Os micrósporos em estádio de desenvolvimento uninucleado, adequado para obtenção de haplóides via cultura de anteras, ocorrem para todos os genótipos, em botões florais cujas pétalas e sépalas apresentam comprimentos aproximados. No híbrido F_1 (PIX22C#31 x 004) estes micrósporos também ocorrem em botões com o comprimento de pétalas um pouco maior que o de sépalas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DUMAS DE VAULX, R., CHAMBONNET, D., POCHARD, E. Culture in vitro d'anthéres de piment (***Capsicum annuum*** L.): amélioration des taux d'obtetion de plantes chez différents génotypes par des traitements à + 35°C. **Agronomie**, v. 1, n. 10, p. 859-864, 1981.

GRANDO, M.F., MORAES FERNANDES, M.I.B. Proposta de um modelo para explicar a embriogênese do grão de pólen ***in vitro***. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 1993. Brasília, DF. **Anais...** Brasília, Redbio, 1993, v. 1, res. 69.

KRISTIANSEN, K., ANDERSEN, S.B. Effects of donor plant temperature, photoperiod, and age on anther culture response of ***Capsicum annuum*** L. **Euphytica**, Wageningen, n. 67, p. 105-109, 1993.

MORAES FERNANDES, M.I.B. Obtenção de plantas haplóides através da cultura de anteras. In: TORRES, A.C., CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: Abctp/EMBRAPA/CNPH, 1990. p. 311-332.

NERVO, G., CARANNANTE, G., AZZIMONTI, M.T., et al. Use of anther culture method in pepper breeding: factors affecting plantlets production. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT TISSUE AND CELL CULTURE, 1994. Firenze. **Anais...** Firenze, Iaptc, 1994, v. 8, p. 92.

SIBI, M., DUMAS DE VAULX, R., CHAMBONNET, D. Obtention de plantes haploides par androgenése ***in vitro*** chez le Piment (***Capsicum annuum*** L.). **Ann Amélior Plantes**, v. 29, n. 5, p. 583-606, 1979.