



9ª Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS

6º Simpósio da Pós-Graduação

VERIFICAÇÃO DE PLOIDIA EM AUTOPOLIPLÓIDES ARTIFICIAIS DE BANANEIRA QUATRO ANOS APÓS A INDUÇÃO DE DUPLICAÇÃO CROMOSSÔMICA

Paula A. NASCIMENTO¹; Leila A. S. PIO²; Elaine C. GALVÃO³; Rafael A. A. de ABREU⁴; Martha C. P. RAMOS⁵

RESUMO

Objetivou-se neste trabalho verificar a estabilidade genética, através de análises de citometria de fluxo, dos genótipos resultantes de duplicação cromossômica, possibilitando observar se os autotetraplóides detectados anteriormente continuam com o mesmo nível de ploidia quatro anos depois. As plantas consideradas tetraplóides apresentaram índices de DNA com valores entre 1,85 a 2,58 pg. As plantas com índices de DNA com valores menores que 1,85 são classificadas como diplóides. Foram observadas diversas mudanças no conteúdo de DNA nas análises do ano de 2008 em relação às análises de 2012. Conclui-se que as onze plantas anteriormente classificadas como mixoplóides, hoje são tetraplóides. As duas plantas classificadas como mixoplóides e uma como tetraplóide retornam a sua condição diplóide nos dias de hoje. E onze plantas permanecem classificadas como tetraplóides nas duas análises realizadas.

Palavras-chave: *Musa acuminata* ssp.; Mixoplóides; Tetraplóides; Diplóides; Melhoramento genético

1. INTRODUÇÃO

A utilização de cultivares tradicionais de bananeira apresenta inúmeras limitações no que diz respeito à vulnerabilidade dessas plantas às principais pragas e doenças da cultura (XIAO et al., 2009). Dentre as várias alternativas de melhoramento genético da bananeira, a duplicação de cromossomos induzida por tratamentos com agentes antimitóticos como colchicina, orizalina e 8-hidroxiquinoleína, tem sido proposta como forma de introduzir resistência a doenças nos híbridos gerados pelos programas de melhoramento genético da cultura, devido ao fato de que no gênero *Musa*, o alto vigor das plantas está associado diretamente à ploidia, visto que as variedades triplóides e tetraplóides são bem mais vigorosas que as diplóides (DANTAS et al., 1999). O maior grupo de agentes antimitóticos são os inibidores da metáfase, sendo a colchicina o maior exemplo (DHOOGHE et al., 2011). Entretanto, existem algumas limitações ao uso da técnica de duplicação cromossômica, tais como: dificuldade de se obter uma planta poliplóide de interesse e, conseqüentemente, de manter a sua ploidia durante o passar do tempo e a alta taxa de ocorrência de mixoplóides (ZHANG et al., 2010).

1 Universidade Federal de Lavras - Lavras/MG – paula.alna@yahoo.com.br

2 Universidade Federal de Lavras –Lavras/MG - leilapio.ufla@gmail.com

3 Universidade Federal de Lavras –Lavras/ MG - elaineufla@msn.com

4 Universidade Federal de Lavras –Lavras/MG - rafaelarruda.agro@gmail.com

5 Universidade Federal de Lavras –Lavras/MG - marthinha.ramos@yahoo.com.br



9ª Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS

6º Simpósio da Pós-Graduação

Assim, objetivou-se neste trabalho verificar a estabilidade genética, através de análises de citometria de fluxo, dos genótipos resultantes de duplicação cromossômica, possibilitando observar se os autotetraplóides detectados anteriormente continuam com o mesmo nível de ploidia quatro anos depois.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados genótipos diplóides (AA) de bananeira TDM e NBA-14 submetidos a tratamentos para duplicação cromossômica no ano de 2008. Para análise de citometria de fluxo foram utilizados aproximadamente 50 a 60 mg de folhas jovens de cada planta analisada, juntamente com amostra correspondente de *Pisum sativum* (padrão de referência interno). Esse material foi triturado, com auxílio de um bisturi, em placa de Petri contendo 1 mL de tampão Marie gelado para liberação dos núcleos. A suspensão de núcleos foi então aspirada por meio de duas camadas de gaze e, posteriormente, filtrada em filtros com malha de 50µm. Em seguida, os núcleos foram corados pela adição de 25 µL de iodeto de propídeo, sendo adicionado ainda 5 µL de RNase a cada amostra. Foram analisados 5 mil núcleos para cada amostra, com três repetições. A análise foi realizada no citômetro FACSCalibur quatro cores (Becton Dickinson) e os histogramas foram obtidos com o software Cell Quest e analisados estatisticamente no software WinMDI 2.8 (disponível em <http://facs.scripps.edu/software.html>). O conteúdo de DNA nuclear (pg) das plantas foi estimado por comparação com a posição em relação ao pico G1 do padrão interno de referência (*Pisum sativum*).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Tabela 1 apresenta os resultados das análises da citometria de fluxo no ano de 2008 e as mesmas análises realizadas no ano de 2012, em suas brotações. O coeficiente de variação dos histogramas obtidos variou de 0,78 a 2,85%, sendo que até 3% é considerado bom. Para uma planta ser considerada mixoplóide, pela análise de citometria, ela deve apresentar no mínimo 2 picos nos histogramas, sendo assim apresentando mais de dois valores de DNA, cada valor se refere a um pico (Fig. 1). As plantas consideradas tetraplóides apresentaram índices de DNA com valores entre 1,85 a 2,58 pg. As plantas com índices de DNA com valores menores que 1,85 são classificadas como diplóides.



9ª Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS

6º Simpósio da Pós-Graduação

Tabela 1: Índice de DNA de autotetraplóides sintéticos de *Musa acuminata* submetidos à duplicação cromossômica, analisados nos anos de 2008 e 2012.

Identificação da planta	Análise de citometria de fluxo no ano de 2008		Análise de citometria de fluxo no ano de 2012	
	Índice de DNA em pg	Ploidia	Índice de DNA em pg	Ploidia
460 (25-14 TDM)	2,04 e 4,62	mixoplóide	2,01	tetraplóide
800 (25-18 -TDM)	1,60, 4,08 e 7,58	mixoplóide	1,96	tetraplóide
456 (25-20 TDM)	1,27 e 2,97	mixoplóide	1,3	diplóide
366- (25-21-TDM)	1,81 e 3,72	mixoplóide	1,35	diplóide
TDM (15/7, R4, nº20,)	2,11	tetraplóide	2,05	tetraplóide
TDM 22,5/3 - R4, nº48	2,38	tetraplóide	2,5	tetraplóide
TDM2 3,75/48 - R1, R2, nº18	2,05	tetraplóide	2,18	tetraplóide
TDM 2 (2,5/24, R2, nº3)	2,17	tetraplóide	2,2	tetraplóide
TDM 2 (1,25/48, R5, nº12)	2,23 e 3,72	mixoplóide	2,16	tetraplóide
TDM 2 (5/24, R1, 2, nº40)	2,55	tetraplóide	2,2	tetraplóide
TDM (15/7, R5, nº74)	2,49	tetraplóide	2,1	tetraplóide
TDM 2 (5/24, R1, 2, nº1,	2,11	tetraplóide	2,18	tetraplóide
TDM 2 (2,5/48, R1, 2, 6, nº54,	2,23	tetraplóide	1,37	diplóide
445 (27-20 -TDM)	1,90, 5,63 e 10,29	mixoplóide	2,00	tetraplóide
TDM (22,5/3, R4, nº21,	2,58	tetraplóide	2,1	tetraplóide
448 (27-6 -TDM)	1,76 e 4,87	mixoplóide	1,85	tetraplóide
TDM 2 (3,75/24, R2, 3, 6, nº11,	2,52	tetraplóide	2,15	tetraplóide
418 (28-1 -TDM)	1,76, 4,85 e 8,73	mixoplóide	1,96	tetraplóide
406 (28-18 -TDM)	1,08, 1,35, 1,66 e 3,78	mixoplóide	2,03	tetraplóide
432 (29-1 -TDM)	1,9, 5,6 e 9,31	mixoplóide	2,16	tetraplóide
TDM 2 (5/24, R5, 6, nº58,	2,4	tetraplóide	2,37	tetraplóide
TDM 2 2,5/24, R2, nº6)	2,29	tetraplóide	2,21	tetraplóide
432 (29-1 -TDM)	1,9, 5,6 e 9,31	mixoplóide	2,16	tetraplóide
322 (33-8 -NBA 14)	2,03 e 4,44	mixoplóide	2,41	tetraplóide
708 35-17 (TDM)	0,79, 1,35 e 1,74	mixoplóide	2,21	tetraplóide

Foram observadas diversas mudanças no conteúdo de DNA nas análises do ano de 2008 em relação as análises de 2012. Das 25 plantas analisadas, 11 plantas anteriormente classificadas como mixoplóides, hoje são consideradas tetraplóides. É possível que o passar do tempo o DNA dessas plantas possam ter conseguido se reorganizar e estabilizar como autotetraplóide.



9ª Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS

6º Simpósio da Pós-Graduação

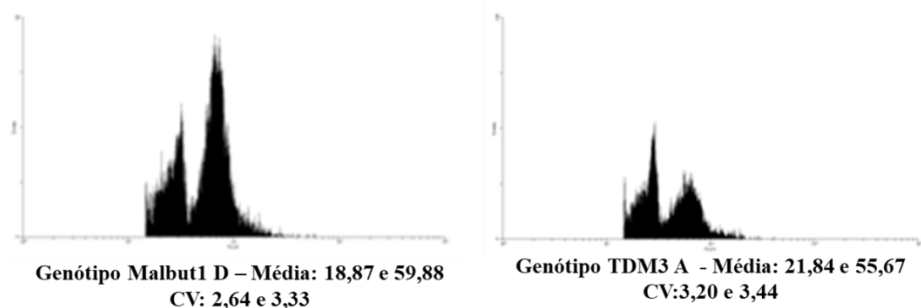


Figura1. Exemplos de histogramas obtidos nas análises de plantas dos diferentes genótipos de bananeiras.

Duas plantas classificadas pela análise de citometria de 2008 como mixoplóides e uma como tetraplóide, hoje retornaram para sua condição diplóide. Essas mudanças possivelmente devem ter ocorrido devido ao fenômeno de eliminação cromossômica, isto é, a eliminação dos cromossomos de uma das variedades devido à falta de compatibilidade entre os mesmos e/ou à maior taxa de multiplicação de células diplóides em relação às poliplóides. Logo, as regiões de uma planta poliplóide que não receberam efetivamente o tratamento podem ter dado origem às brotações diplóides.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que onze plantas anteriormente classificadas como mixoplóides, hoje são tetraplóides. As duas plantas classificadas como mixoplóides e uma como tetraplóide retornam a sua condição diplóide nos dias de hoje. E onze plantas classificadas como tetraplóides em 2008, mantiveram seu índice de DNA até os dias de hoje mantendo a estabilidade genética.

REFERÊNCIAS

- DANTAS, J. L. L. et al. Classificação botânica, origem e distribuição geográfica. In: ALVES, E. J. (Ed.) **A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. 2.ed. Cruz das Almas: Embrapa CNPMF, p.27-34, 1999.
- DHOOGHE, E. et al. Mitotic chromosome doubling of plant tissues *in vitro*. **Plant Cell, Tissue And Organ Culture**, v.104, n.359-373, 2011.
- XIAO, W. et al. Somatic hybrids obtained by asymmetric protoplast fusion between *Musa Silk* cv. Guoshanxiang (AAB) and *Musa acuminata* cv. Mas (AA). **Plant Cell, Tissue And Organ Culture**, v.97, p.313-321, 2009.
- ZHANG, Q. Y. et al. *In vitro* induction of tetraploids in crape myrtle (*Lagerstroemia indica* L.). **Plant Cell, Tissue And Organ Culture**, v.101, p.41–47, 2010.



9ª Jornada Científica e
Tecnológica do IFSULDEMINAS
6º Simpósio da Pós-Graduação