

## Viabilidade e germinação in vitro de grãos de pólen de bananeiras *Musa balbisiana* Cola (BB).

Taliane Leila Soares<sup>1</sup>; Janay Almeida dos Santos-Serejo<sup>2</sup>; Everton Hilo de Souza<sup>3</sup>; Antônio da Silva Souza<sup>2</sup>; Sebastião Oliveira e Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestre em Ciências Agrárias, Bolsista DTI-D/CNPq. Rua Embrapa, s/nº, CP. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8072; <sup>2</sup>Pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, s/nº, CP. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8072, e-mail: janay@cnpmf.embrapa.br, ssouza@cnpmf.embrapa.br, ssilva@cnpmf.embrapa.br. <sup>3</sup>Graduando em Engenharia Agrônômica (UFRB), Campus Cruz das Almas, CEP 45380-000 Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3634-2543, e-mail: hilosouza@gmail.com

### INTRODUÇÃO

A maioria das bananeiras que produz frutos comestíveis é resultante da hibridização intra/inter específica das espécies de diplóides selvagens *Musa acuminata* Colla (genoma A) e *Musa balbisiana* Colla (genoma B). Entretanto, as variedades cultivadas podem apresentar diferentes combinações genômicas: AA, AB, AAA, AAB, ABB, AAAA, AAAB, AABB e ABBB a depender do número básico de cromossomos. Não existem cultivares do grupo BB, BBB ou BBBB, provavelmente devido a ausência de partenocarpia o que não acontece normalmente com os diplóides AA (Ploetz et al., 2007).

O genoma B está presente na maioria das bananeiras produzidas mundialmente (Ssebuliba et al., 2006) e apresenta genes que conferem resistência a doenças e tolerância à seca, bem como maior valor nutritivo. O genoma A, por sua vez, é considerado como fonte de genes de interesse para o programa de melhoramento genético de plantas, já que confere características organolépticas e de produtividade (Oselebe et al., 2005).

Até o momento, existem poucas pesquisas na literatura relatando a viabilidade e germinação in vitro de grãos de pólen de bananeira, especialmente trabalhos envolvendo a *Musa balbisiana*.

A germinação de grãos de pólen in vitro permite verificar a sua fertilidade (viabilidade), sendo de grande importância em programas de melhoramento. Entretanto, este método é influenciado por diferentes fatores, incluindo os constituintes do meio de cultura, o pH, a temperatura e o tempo de incubação (Franzon et al., 2006). O meio básico é constituído de muitas substâncias orgânicas e inorgânicas como sacarose, ácido bórico, nitrato de cálcio, nitrato de potássio e sulfato de magnésio podendo variar ainda a combinação com outros nutrientes (Parton et al., 2002, Moutinho et al., 2001, Galletta, 1983). A viabilidade do pólen também é influenciada pelo estágio de desenvolvimento da flor e pelas condições de armazenamento.

Na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical vêm sendo conduzidos vários experimentos sobre a germinação in vitro de grãos de pólen de diferentes ploidias visando a identificação de gametas masculinos com alta viabilidade para utilização em programas de hibridação (Soares et al., 2006).

O objetivo desse trabalho foi determinar o efeito de diferentes pHs sobre a germinação de grãos de pólen in vitro e o crescimento do tubo polínico, bem como verificar a viabilidade do pólen em bananeiras diplóides do grupo genômico BB.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados grãos de pólen de *Musa balbisiana* (BB) do Banco de germoplasma da Embrapa, listados na Tabela 1, oriundos de flores coletadas na antese. Os grãos de pólen, sem qualquer processo de desinfestação, foram inoculados em 40 mL de meio de cultura contendo 15% de sacarose, 0,01% de ácido bórico, 0,01% de nitrato de potássio, 0,03% de nitrato de cálcio e 0,02% de sulfato de magnésio, solidificado com 0,8% de ágar,

previamente distribuído em placas de Petri, subdivididas em quadrantes, cada uma representando uma repetição, totalizando 8 repetições para cada pH estudado (5,8, 7,0 e 8,0). As placas foram mantidas em condições controladas de temperatura de 27±1°C, no escuro até a realização da contagem dos grãos de pólen germinados e a medição do comprimento do tubo polínico, 24 horas após a inoculação em meio de cultura, respectivamente. Considerou-se grãos de pólen germinados quando o comprimento do tubo polínico foi igual ou maior ao diâmetro do próprio grão de pólen.

Para análise da viabilidade os grãos de pólen foram retirados de anteras oriundas de flores recém-abertas, corados com carmim acético a 2%, e observadas ao microscópio ótico. Estimou-se o percentual de fertilidade do pólen que representou a taxa entre o número de grãos de pólen corados (viáveis) e não corados e com citoplasma retraído (não viáveis). O estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três pHs (5,8, 7,0 e 8,0) e 8 repetições para cada variedade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito da interação dos diplóides (BB) com os diferentes níveis de pHs na porcentagem de grãos de pólen germinados e comprimento do tubo polínico pode ser observado na Tabela 1.

De forma geral, o meio de cultura ajustado para pH 7,0, proporcionou em média melhor germinação do pólen (83%), assim como maior comprimento do tubo polínico (3,86mm), em relação aos pHs 5,8 (66,87% e 1,97mm) e 8,0 (54,6% e 2,63mm). Soares et al. (2006), observaram o efeito do pH na faixa de 5,8 e 7,0 na germinação in vitro de pólen de diplóides melhorados (AA), assim como o alongamento do tubo polínico, e constataram que houve diferenças entre os genótipos e entre os pHs testados, sendo que o meio de cultura ajustado para o pH 7,0, proporcionou em média melhor germinação do pólen (atingindo 90% no diplóide 9187-01), assim como maior comprimento do tubo polínico (4,25mm no diplóide 4154-08).

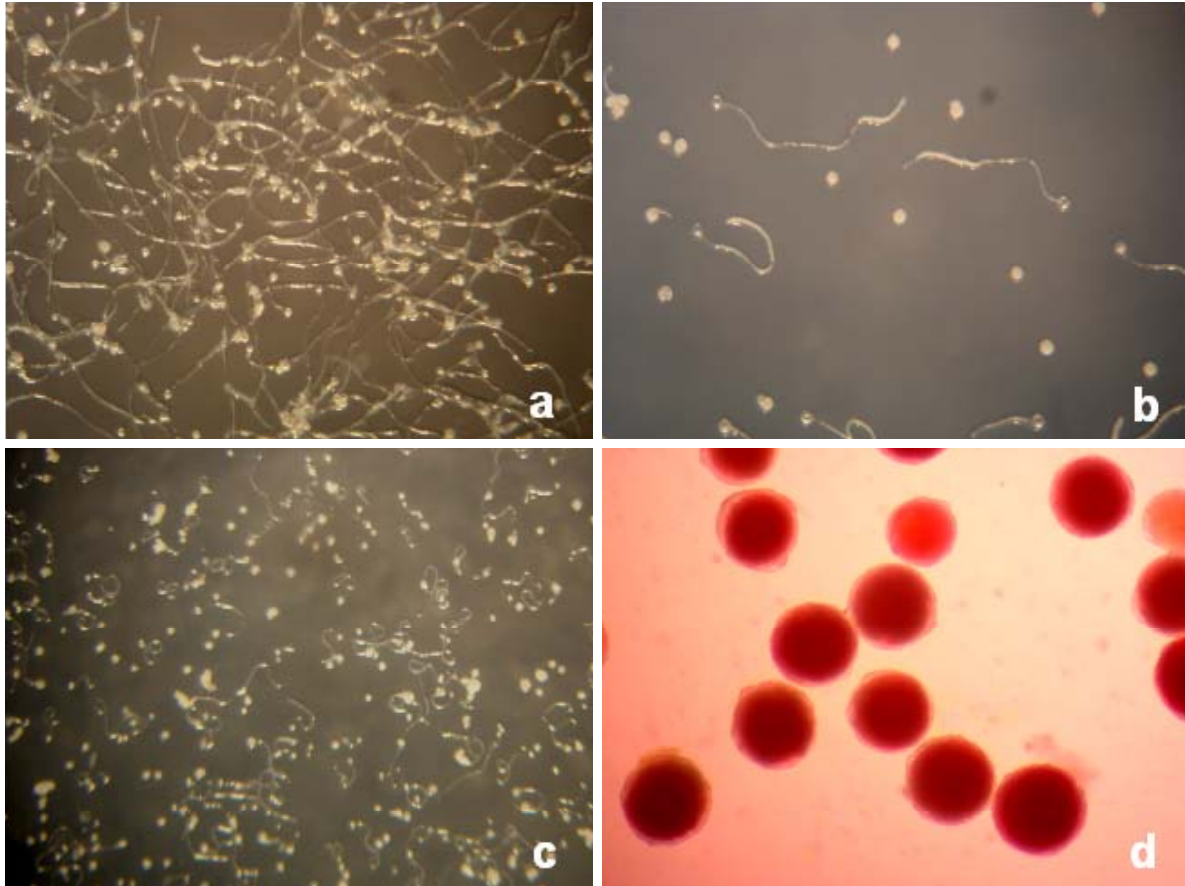
As mais altas percentagens de germinação foram obtidas pelos diplóides BB-Panamá, BB-França e Butuham com valores médios de grãos de pólen germinados de 93,81% e 90,83% e 89,93%, respectivamente, quando cultivados em pH 7,0 (Figura 1a). Entretanto, para variável comprimento do tubo polínico, o diplóide Butuham foi o que se destacou (5,05mm) seguido de BB-Panamá (4,41mm) no pH 7,0. Por outro lado, o diplóide BB-IAC apresentou a mais baixa percentagem de germinação, com 21,92%. O menor crescimento do tubo polínico foi verificado em Butuham com 1,65mm no pH 5,8.

Tabela 1. Germinação, comprimento do tubo polínico e viabilidade dos grãos de pólen em diferentes genótipos de *Musa balbisiana* (BB).

Genótipos	Germinação de pólen (%)			Comprimento do tubo polínico (mm)			Viabilidade (%)
	pH 5,8	pH 7,0	pH 8,0	pH 5,8	pH 7,0	pH 8,0	
<i>Musa balbisiana</i>	66,44	69,38	53,40	2,29	3,02	2,83	95,66
BB-França	82,47	90,83	79,29	2,30	3,38	2,52	95,00
BB-IAC	29,78	71,54	21,92	3,09	3,43	2,04	99,33
BB-Panamá	82,35	93,81	86,50	2,49	4,41	3,51	99,66
Butuham	61,87	89,93	32,69	1,65	5,05	2,26	96,33

Embora as avaliações tenham sido realizadas 24 horas após a inoculação no meio, os grãos de pólen de alguns genótipos começaram a germinar duas horas após a inoculação no meio de cultura.

Através da avaliação dos grãos de pólen de bananeiras (BB), corados com carmim acético para diferenciar grãos de pólen viáveis e inviáveis, verificou-se que todos os genótipos apresentaram uma viabilidade acima de 95%. Entretanto, BB-IAC e BB-Panamá foram os que apresentaram maior percentagem de pólen viáveis acima de 99% (Tabela 1, Figura 2a)



**Figura 1.** Germinação in vitro e viabilidade de grãos de pólen de Musas do genoma (BB). a) BB-Panamá, alta percentagem de germinação e tubo polínico longo em pH 7,0; b) BB-IAC, baixa percentagem de germinação em pH 5,8. c) Butuham, alta percentagem de germinação e tubo polínico curto em pH 5,8; d) BB-IAC, coloração com carmim acético dos grãos de pólen viáveis.

Nota-se, portanto, que é necessário um ajuste adequado do meio de cultivo, já que a viabilidade dos diferentes genótipos foi superior à percentagem de germinação in vitro. Esses resultados da viabilidade provavelmente refletem as respostas diferenciadas dos genótipos, já que as condições de cultivo realizada neste trabalho foi a mesma para todos materiais, a exemplo da temperatura, umidade e coleta das inflorescências masculinas no mesmo estágio fisiológico.

## CONCLUSÃO

As melhores respostas na percentagem de germinação e comprimento do tubo polínico de grão de pólen foram obtidas no meio ajustado em pH 7,0, para todos os genótipos estudados.

A viabilidade do pólen, estimada com o uso de carmim acético foi superior a 95% na maioria dos genótipos testados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FRAZON, R. C.; RASEIRA, M. C. B. Germinação in vitro e armazenamento do pólen de *Eugenia involucrata* DC (MYRTACEAR). Jaboticabal: **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.28, n.1 p. 18-20. 2006.

GALLETTA, G. J. Pollen and seed management. In: MOORE, J. N.; JANINICK, J. (eds.). **Methods in fruit breeding**. Purdue University Press, p.23-47, 1983.

MOUTINHO, A.; CAMACHO, L.; HALEY, A.; PAIS, M. S.; TREWAVAS, A.; MALHÓ, R. Antisense perturbation of protein function in living pollen tubes. **Sex Plant Reprod**. v. 14, p.. 101-104, 2001.

OSELEBE, H. O.; TENKOUANO, A.; PILLAY, M.; OBI, I. U.; UGURU, M.I. Ploidy and genome segregation in *Musa* breeding populations assessed by flow cytometry random amplified polymorphic DNA markers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**. v. 30, não paginado, 2005.

PARTON, E. VERVAEKE, I.; DELEN, R.; VANDENBUSSCHE, B.; DEROOSE, R.; DE PROFT, M. Viability and storage of bromeliad pollen. **Euphytica**. v. 125, p. 155-161, 2002.

PLOETZ, R. C.; KEPLER, A. K.; DANIELLS, J.; NELSON, S. C. Banana and plantain - an overview with emphasis on Pacific island cultivars. **Species Profiles for Pacific Island Agroforestry**. v.1. p.1-27, 2007.

SOARES, T. L.; COSTA, M. A. P. C.; SOUZA, A. S.; MORAIS, L. S.; JESUS, O. J.; SOUZA, E. H.; SILVA, S. O.; SANTOS-SEREJO, J. A. Germinação in vitro e viabilidade de grãos de pólen em bananeiras diploides. **XVII Reunião internacional da Associação para Cooperação nas Pesquisas sobre Banana no Caribe e na América Tropical**. Joenvile: v.1, 2006. 328p.

SSEBULIBA, R.; TALENGERA, D.; MAKUMBI, D.; NAMANYA, P.; TENKOUANO, A.; TUSHEMEREIRWE, W.; PILLAY, M. Reproductive efficiency and breeding potential of East african highland (*Musa* AAA-EA) bananas. **Field Crops Research**. v. 95, p. 250-255, 2006.

## PALAVRAS-CHAVE

*Musa balbisiana*, tubo polínico, pH, grupo genômico BB.