

Caracterização morfológica e fertilidade em *Ensete* sp.

Janay Almeida dos Santos-Serejo¹, Everton Hilo de Souza², Taliane Leila Soares³,
Fernanda Vidigal Duarte Souza¹, Sebastião de Oliveira e Silva¹

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

INTRODUÇÃO

O gênero *Ensete* pertence à família Musaceae, ordem Zingiberales, e é constituído por sete espécies de origem africana e asiáticas: *E. gillettii*, *E. glaucum*, *E. homblei*, *E. perrieri*, *E. superbum*, *E. ventricosum* e *E. wilsonii*. As plantas são monocotiledôneas, herbáceas e perenes, sendo chamadas de "falsas bananeiras" devido às semelhanças morfológicas com as bananeiras, embora não pertençam ao gênero *Musa* (Birmeta et al., 2004a).

A *Ensete* representa 65% da produção agrícola do sul da Etiópia. O rizoma e o pseudocaulo são altamente ricos em carboidratos e utilizados na alimentação para um quarto da população humana que habita o sul e o sudoeste da Etiópia. Além de fonte alimentar, é economicamente utilizada com várias finalidades, devido ao potencial ornamental e produção de fibras para utilização em artesanatos, entre outros (Tsegaye e Struik, 2002; Shigeta, 1990).

A *Ensete* sp. é um diplóide com $n = 9$ cromossomos, enquanto as espécies de *Musa* têm diferentes níveis de ploidias (diplóide, triplóide e tetraplóide) com $n = 9, 10, 11$ e 14 (Birmeta et al., 2004a; Bezuneh, 1971). Dentre as espécies do gênero, a *Ensete ventricosum* (Welw.) Cheesman é a mais importante sócio economicamente em alguns países da África e Ásia (Ploetz, et al., 2007).

Um dos entraves ao cultivo e melhoramento genético das ensetes é a dificuldade na germinação de sementes e o seu longo período vegetativo. Para alguns autores a dificuldade na germinação é explicada pela consistência e forma irregular das sementes. Ainda assim, a maioria das espécies selvagens e as poucas plantas cultivadas são produzidas através de sementes em condições naturais. Apenas algumas ensetes dosmeticadas são propagadas vegetativamente (Constantine, 2006; Birmeta et al. 2004b; Shigeta 1990). Dados da literatura enfocam que o final do ciclo de vida deste gênero acontece após o florescimento, o que leva de 9 a 14 anos (Birmeta et al., 2004a). Isso é explicado pelo fato dessas plantas serem monocárpicas, ou seja elas florescem apenas uma vez e morrem após a frutificação (Birmeta et al., 2004b).

Um acesso do gênero *Ensete* foi introduzido na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical há 25 anos pelo pesquisador Dr. Kenneth Shepherd, e permaneceu sem frutificar e perfilhar por todo este período. Este pode ser o único exemplar do gênero no País. Com a ocorrência do florescimento, vários ensaios vêm sendo realizados na Embrapa, incluindo polinização com diferentes parentais masculinos, avaliação da germinação de grãos de pólen *in vitro* de flores hermafroditas e masculinas, germinação *in vitro* dos embriões zigóticos, além da adequação de protocolo de micropropagação através de gema floral e embriogênese somática, uma vez que a planta não produziu mudas por perfilhamento. O presente trabalho teve como objetivo caracterizar morfológicamente uma *Ensete* sp. e avaliar sua fertilidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Como material vegetal foi utilizada uma planta do gênero *Ensete*, sendo avaliados os seguintes caracteres morfológicos nos estádios de florescimento e colheita do cacho: altura da planta, diâmetro do pseudocaule, peso do cacho, número total de frutos, peso médio dos frutos, comprimento e diâmetro dos frutos.

Para a realização da polinização foram utilizados grãos de pólen de cinco parentais masculinos de bananeira diplóide, selecionados por apresentar características ornamentais e/ou alta viabilidade de pólen, sendo um genótipo de *Musa balbisiana* (Butuham) e quatro de *Musa acuminata* (Monyet, um híbrido ornamental, 0116-01 e 1304-06), além da autopolinização utilizando grãos de pólen das flores hermafroditas da *Ensete* sp. Duas pencas não polinizadas foram utilizadas como controle, para avaliar a eficiência da polinização.

As inflorescências femininas foram protegidas com sacos de polietileno um dia antes da antese (abertura floral), para evitar possíveis contaminações por pólen trazido por insetos. A polinização iniciou-se no dia da abertura das brácteas, quando estas se apresentaram receptivas, ou seja, com os lóbulos livres do estigma, encontrando-se, portanto, aptas para a polinização e fecundação. Foi polinizada uma penca por dia até a emissão da última penca.

As flores dos parentais masculinos foram coletadas na antese e utilizadas para a realização de polinização manual, sendo o pólen distribuído na superfície do estigma. Após a polinização, o cacho foi devidamente identificado e protegido com saco de polietileno até a emissão da última penca, para evitar a entrada de formigas e outros insetos que pudessem trazer pólen de outras plantas ou até mesmo retirar o pólen recém distribuído.

Para análise da viabilidade, os grãos de pólen foram retirados de anteras oriundas de flores recém-abertas, corados com carmim acético a 2% e observados ao microscópio ótico. O percentual de fertilidade do pólen foi estimado pela taxa entre o número de grãos de pólen corados (viáveis) e não corados (não viáveis).

Para o teste de germinação *in vitro*, os grãos de pólen, 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 $27 \pm 1^\circ\text{C}$, no escuro por 24 horas até a realização da contagem dos grãos de pólen germinados.

RESULTADO E DISCUSSÃO

A *Ensete* sp. avaliada apresenta porte baixo e atingiu 84 cm na época da emissão e colheita do cacho. A inflorescência é composta de flores femininas, hermafroditas e masculinas, com produção de elevada quantidade de pólen nas flores hermafroditas e masculinas (Figura 1). Mesmo após a emissão do cacho, não ocorreu perfilhamento. O cacho produzido apresentou um peso total de 4,05 kg, contendo 22 pencas e 119 g por penca. Um total de 351 frutos foi obtido, com uma média de 16 frutos por penca.

Entre os parentais masculinos utilizados para polinização houve diferenças na resposta para as variáveis comprimento e diâmetro dos frutos, em consequência da formação de sementes. Entretanto, as maiores médias para as variáveis comprimento, diâmetro dos frutos e peso das pencas foi observada no cruzamento *Ensete* x 0116-01. As menores médias para as variáveis supracitadas foram obtidas na ausência de polinização (controle) e no cruzamento *Ensete* x híbrido ornamental (designado Binésia) (Tabela 1).



Figura 1. a) Planta do gênero *Ensete*. b) Detalhe da polinização. c) Inflorescência hermafrodita com elevada quantidade de pólen. d) Frutos resultantes de flores femininas não polinizadas (1), auto-polinizadas (2) e (3) polinizadas com o diplóide 1304-06.

Tabela 1. Médias do comprimento, diâmetro dos frutos e peso da penca em *Ensete* sp., nas diferentes polinizações.

Polinização	Comprimento (cm)	Diâmetro (cm)	Peso Penca (g)
Ensete x 0116-01	5,50 a	2,45 a	171,0
Ensete x Butuham	4,80 b	1,70 cd	72,0
Ensete x Ensete	4,73 bc	2,29 ab	164,0
Ensete x 1304-06	4,39 bc	1,46 cd	77,0
Ensete x Monyet	4,36 bc	1,78 bc	50,0
Ensete x Binésia	4,17 c	1,18 d	59,0
Controle	3,50 d	1,40 cd	52,0
MÉDIA	4,58	1,92	119,0
CV	9,0	20,8	-

Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Com relação ao estudo de germinação *in vitro* de pólen, observou-se que as mais altas percentagens de germinação foram obtidas em grãos de pólen provenientes de flores hermafroditas, com um valor médio de 16,73 % de germinação, em relação aos oriundos de flores masculinas, que apresentaram 0,73%.

De maneira geral, os meios de cultura ajustados para 7,0 e 5,8 proporcionaram em média melhor germinação do pólen para ambos os tipos de flores (Tabela 2). Entretanto, as mais altas percentagens de germinação foram obtidas com os grãos de pólen oriundos de flores hermafroditas inoculadas em meio de cultura com pH ajustado para 7,0 (20,77%) seguido pelo pH 5,8 (20,4%). A baixa percentagem de germinação provavelmente foi devida à super hidratação do pólen, já que muitos deles apresentaram-se estourados (Figura 2b). A ocorrência de hidratação excessiva do pólen favoreceu a incidência de contaminantes (fungos e bactérias).

Tabela 2. Germinação de grãos de pólen oriundos de flores masculinas e hermafroditas em diferentes pHs.

pH	Germinação de grãos de pólen (%)	
	Flores masculinas	Flores hermafroditas
5,8	0,55aA	20,40bA
7,0	1,04aA	20,77bA
8,0	0,61aA	9,04bB
Média	0,73	16,73
CV	29,3	

Médias seguidas por mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Figura 2. Germinação in vitro e viabilidade de grãos de pólen de Ensete. a) Flores hermafroditas, grãos de pólen germinados; b) Eclosão de grãos de pólen (seta); c) Coloração com carmim acético dos grãos de pólen viáveis.

A freqüente eclosão dos grãos de pólen e tubo polínico é a maior dificuldade nos trabalhos de cultura de pólen (Baloch *et al.*, 2001). De acordo com Pio *et al.* (2002) os grãos de pólen se rompem devido, entre outros fatores, à alta umidade e à variação do meio, ocasionando pelo aumento da pressão osmótica e de baixa resistência da parede celular.

A coloração com carmim acético revelou 100% de grãos de pólen viáveis, resultado esse obtido tanto para flores masculinas como para flores hermafroditas (Figura 2c). Esses resultados indicam a necessidade de ajuste no meio de cultivo a fim de permitir a germinação in vitro dos grãos de pólen viáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALOCH, M. J.; LAKHO, A. R.; BHUTTO, H.; SOLANGI, M. Y. Impact of concentrations on in vitro pollen germination of Okra, *Hibiscus esculentus*. **Journal of Biological Sciences**, v. 4, n.4, p. 402-403. 2001.

BEZUNEH, T. The role of musaceae in ethiopian agriculture I. The genus *Ensete*. **Acta Horticulturae**, v.1, n.35, 1971.

BIRMETA, G. NYBOM, H. BEKELE, E. Distinction between wild and cultivated enset (*Ensete ventricosum*) gene pools in Ethiopia using RAPD markers. **Hereditas**, v.140 p.139-148. 2004a.

BIRMETA, G. Genetic Variability and Biotechnological **Studies for the Conservation and Improvement of *Ensete ventricosum***. 2004a. 37 p. Dissertação (Doutorado em Ciências Agrárias), Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp/Suecia. 2004b, 37p.

CONSTANTINE, D. Propagating ornamental Musaceae. **Plantsman**. p.110-113. 2006.

PIO, L. A. S.; RAMOS, J. D.; PIO, R.; PASQUAL, M. Utilização de ácido bórico na germinação de pólen de citros. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, **XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura em 2002**. Anais...SBF, Belém, p. 1-4. 2002.

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

SHIGETA, M. Folk in-situ conservation of Ensete (*Ensete ventricosum* (Welw) E.E. Cheesman): towards the interpretation of indigenous agricultural science of the ari. Southwestern Ethiopia. **Agrican Study Monographs**. v.10 n.3, p.93-107, 1990.

TSEGAYE, A.; STRUIK, P. C. Analysis of enset (*Ensete ventricosum*) indigenous production methodos and farbased biodiversity in major ensete-growing regions of southern Ethiopia. **Experimental Agriculture**, v.38 p.291-315, 2002.

TSEGAYE, A.; STRUIK, P. C. Growth, rsdiation use efficiency and yield potential of enset (*Ensete ventricosum*) at diffetent sites in southern Ethiopia. **Annals of Applied Biology**, v.142 p.71-81, 2003.

UDE, G., PILLAY, M., NWAKANMA, D., TENKOUANO, A. Analysis of genetic diversity and sectional relationships in *Musa* using AFLP markers. **Theoretical Applied Genetics** v. 104, p. 1239-1245. 2002.

PALAVRAS-CHAVES:

Ensete sp., Musaceae, viabilidade do pólen, polinização.