



EFEITO DO ACIDO ASCÓRBICO E CARVÃO ATIVADO NA GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE POLÉN DE BANANEIRA

LAECIO FERNANDES SOUZA SAMPAIO¹; TALIANE LEILA SOARES²; JANAY ALMEIDA SANTOS-SEREJO³

INTRODUÇÃO

Estudos dirigidos à fertilidade dos grãos de pólen de bananeira *Musa acuminata* sp. são de grande importância para dimensionar o potencial dessas espécies para utilização em cruzamentos dirigidos visando à criação de novas cultivares.

A germinação *in vitro* é a técnica mais utilizada para estimar a viabilidade dos grãos de pólen, pois simula o verdadeiro estado das reservas, a condição das membranas e a conversão das reservas para a germinação do tubo polínico (MARCELLÁN; CAMADRO, 1996). Entretanto, a germinação *in vitro* é influenciada por muitos fatores, dentre eles se destaca a composição do meio de cultura, pois o grão de pólen requer uma ótima concentração e combinação de substâncias para a sua germinação e formação do tubo polínico (SINIMBU NETO et al., 2011; SOARES et al., 2008). Recentemente foi iniciada ações de pesquisas na Embrapa Mandioca e Fruticultura voltadas para investigação de um meio de cultura em bananeira que possibilite a expressão do potencial fisiológico do pólen para a formação do tubo polínico e que possa dar sustentação ao crescimento dos óvulos fertilizados em futuros trabalhos de fertilização *in vitro*.

Existem relatos na literatura que a adição de carvão ativado e o ácido ascórbico considerados substâncias antioxidantes, podem ser empregados para o cultivo de explantes com alto teor de polifenóis, como exemplo os óvulos de bananeira, cuja oxidação produz o escurecimento e eventual morte dos tecidos.

Com base nessas informações, o objetivo desse trabalho foi verificar a influência do ácido ascórbico e do carvão ativado no meio de cultura para germinação de pólen.

MATERIAL E MÉTODOS

¹ Estudante de Engenharia Agrônoma, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, e-mail: laecio.agro@gmail.com

² Eng. Agrônoma, bolsista PNP/CAPE, Embrapa Mandioca e Fruticultura, e-mail: talialeila@gmail.com

³ Eng. Agrônoma, Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura, e-mail: janay@cnpmf.embrapa.br

Como material vegetal utilizaram-se grãos de pólen de três híbridos diplóides melhorados de bananeira (AA), gerados pelo programa de melhoramento de bananeira da Embrapa (Quadro 1) que foram selecionados devido o fato de apresentar alta porcentagem de germinação polínica (SOARES et al., 2008).

Os grãos de pólen foram coletados de flores na antese (momento em que a flor está completamente aberta, permitindo a liberação do pólen), retirados da mesma bráctea. Em seguida foram inoculados, sem qualquer processo de desinfestação, em placas de Petri contendo 35 mL de meios de cultura descritos na Quadro 2. Para todos os meios de cultura testados a concentração de sacarose utilizada foi de 150 g/L e o pH foi ajustado para 7,0.

Com auxílio de um pincel, o pólen foi distribuído sobre o meio de cultura de modo a promover uma distribuição homogênea. Utilizou-se, para cada placa, uma amostra composta de grãos de pólen oriundos de três flores de cada genótipo. Após a inoculação, as placas foram mantidas em condições controladas de temperatura ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$), no escuro, antes de se realizar a contagem dos grãos de pólen germinados e a medição do comprimento do tubo polínico, respectivamente, 24 e 48 horas após a inoculação em meio de cultura mediante observação em um estereomicroscópio binocular com objetiva 10x.

Quadro 1 - Híbridos diploides melhorados utilizados neste estudo e seus respectivos parentais.

Híbrido diploide melhorado	Parental feminino	Parental masculino
013018-01	Malaccensis (S)	Sinwobogi (C)
042052-04	M 53 (H) [(Kedah x Samoa) x (Samoa x 'Paka')]	Kumburgh (C)
089087-01	Malaccensis (S) x Sinwobogi (C)	Calcutta 4 (S) x Heva (C)

S = Selvagem; C = Cultivar; H = Híbrido.

Quadro 2 - Descrição dos meios utilizados no estudo de germinação de polén de bananeira in vitro.

M eio	Descrição
M 1	$\frac{1}{2}$ MS
M 2	$\frac{1}{2}$ MS + 2,0 g/L carvão ativado
M 3	$\frac{1}{2}$ MS + 100 mg/L ácido ascórbico
M 4	$\frac{1}{2}$ MS + 2,0 g/L carvão ativado + 100 mg/L ácido ascórbico

M	Soares et al 2008
5	M Soares et al 2008 +2,0 g/L carvão ativado
6	M Soares et al 2008 + 100 mg/L ácido ascórbico
7	M Soares et al 2008 + 2,0 g/L carvão ativado + 100 mg/L ácido ascórbico
8	

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 8 (genótipos x meio de cultura) com oito repetições, sendo cada repetição representada por uma placa de Petri.

Para a percentagem de germinação foram contabilizados todos os grãos da placa, enquanto para o comprimento do tubo polínico foram mensurados aleatoriamente 5 tubos em cada placa de Petri, totalizando 40 tubos polínicos de cada genótipo estudado. O comprimento foi medido em micrômetro, utilizando-se estereomicroscópio e lâmina micrométrica e os dados foram transformados em milímetros. Foram considerados germinados os grãos de pólen que possuíam tubo polínico com tamanho igual ou superior ao diâmetro do próprio pólen. Os dados de percentagem foram transformados para $\text{arc sen}(\sqrt{x/100})$ antes da análise estatística, e as médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey e Scott-Knott a 5% de probabilidade. Utilizou-se o programa computacional SISVAR para análise dos dados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O percentual germinativo dos genótipos estudados é influenciado pelo meio de cultura (Tabela 1). As mais altas taxas de germinação do pólen foram obtidas para o genótipo 089087-01 com 92,2%, inoculado no meio M7 (com ácido ascórbico), embora não diferiu significativamente do meio M5 (sem antioxidantes), com 89,52%. Observou-se para todos os genótipos de bananeira que a adição de carvão ativado no meio de cultivo inibiu a germinação do pólen.

Considerando o efeito do meio de cultura na germinação do pólen de bananeira, os meios de cultura M5 e M7 apresentaram maior percentagem de grãos de pólen germinados. Já os menores valores para essa variável foram registrados nos meios M2 e M4. Os resultados indicam que o meio MS com concentração de sais reduzida à metade não é adequado ao cultivo de pólen in vitro. Isto pode estar relacionada à baixa concentração de ácido bórico no meio MS (6,2 mg/L) quando comparado com o meio Soares (100 mg/L). O ácido bórico tem sido descrito como um componente importante para a germinação de pólen in vitro de diferentes espécies (KAKANI et al, 2002; KUMARI et al., 2009; Vidal et al., 2011).

Tabela 1 - Porcentagem de germinação *in vitro* dos grãos de pólen de bananeiras diplóides (AA), cultivados em diferentes tipos de meio.

Meios de Cultura	Genótipos		
	089087-01	013018-01	042052-04
M1- ½ MS	38,10 cA	24,68 bC	30,86 dB
M2- ½ MS + CA	8,21 dA	0,14 cB	11,43 fA
M3 - ½ MS + AA	47,15 bA	36,05 aB	35,88 cB
M4- ½ MS + CA + AA	11,81 dA	0,17 cB	12,20 fA
M5 - Soares	89,52 aA	38,50 aC	72,58 aB
M6 - Soares + CA	41,30 cA	0,75 cC	17,67 eB
M7 - Soares + AA	92,21 aA	37,75 aC	67,07 bB
M8- Soares + CA + AA	39,76 cA	0,84 cC	17,90 eB
CV(%) = 9,96			

Médias seguidas por letras iguais minúsculas na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey e Scott-Knott a 5% de probabilidade. CA = carvão ativado; AA = ácido ascórbico.

Vale salientar que cada genótipo poder requer um meio de cultura específico para a obtenção elevada taxa de germinação de pólen. Alguns autores consideram que o meio de cultura deve incluir, além de carboidratos, elementos estimulantes como ácido bórico, nitrato de cálcio, nitrato de potássio e sulfato de magnésio (IMANI et al., 2011; KHAN; PERVEEN, 2006).

CONCLUSÕES

O uso de ácido ascórbico não interfere significativamente na percentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen, enquanto que o carvão ativado tem um efeito inibidor quando utilizado em combinação ou não com o ácido ascorbico.

REFERÊNCIAS

- GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. **Plant propagation by tissue culture, handbook and diretory of commercial laboratories**. Everley: Exegetics, 1984. 709p.
- IMANI, A.; KAZEM, B.; SAEED, P.; SEIYED, H.M.. Storage of apple pollen and *in vitro* germination. **African Journal of Agricultural Research** ,v.6, p.624-629, 2011.
- KAKANI, V. G.; PRASAD, P. V. V.; CRAUFURD, P. Q.; WHEELER, T. R. Response of *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes to temperature. **Plant, Cell and Environment**, v.25, p.1651–1661, 2002.
- KHAN, S. A.; PERVEEN, A. Germination capacity of stored pollen of *Abelmoschus esculentus* L. (Malvaceae) and their maintenance. **Pakistan Journal of Botany**, v. 38, p. 233-236, 2006.
- KUMARI, A; KOMAL, R.; RAJESH, R; PANDEY, A.K. *In Vitro* Pollen Germination, Pollen Tube Growth and Pollen Viability in *Trichosanthes dioica* Roxb. (Cucurbitaceae). **The International Journal of Plant Reproductive Biology**, v.1, p. 147-151, 2009.

MARCELLÁN, O. N.; CAMADRO, E. L. The viability of asparagus pollen after storage at low temperatures. **Scientia Horticulturae**, v. 67, p. 101-104, 1996.

SOARES, T. L.; SILVA, S. O.; COSTA, M. A. P. C.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, A. S.; LINO, L. S. M.; SOUZA, E. H.; JESUS, O. N. In vitro germination and viability of pollen grains of banana diploids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 8, p. 111-118, 2008.

SINIMBU NETO, F. A.; MARTINS, A. B. G; BARBOSA, J. C. Viabilidade *in vitro* de grãos de pólen de bacurizeiro - Clusiaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 593-600, 2011.

VIDAL, A. M.; SOARES, T. L.; OLIVEIRA, E. J.; JESUS, O. N.; SOUZA, F. V. D.; CERQUEIRA, T. T.; SANTOS-SEREJO, J. A. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 6, 2011, Buzios. Panorama Atual e Perspectivas do Melhoramento de Plantas no Brasil, 2011. CD-ROM.