

Efeito da glutamina na indução de embriogênese somática a partir de inflorescências masculinas em bananeiras triplóides (*Musa sp.*)

Morais Lino, Lucymeire Souza¹; Santos-Serejo, Janay Almeida dos²; Silveira, Daniela Garcia³; Silva, Sebastião de Oliveira e²; Santana, José Raniere Ferreira de⁴.

¹Doutoranda da Pós-Graduação em Biotecnologia (UEFS), 44031-460, Feira de Santana, BA, Fone (75) 3224-8132, e-mail: ismorais@yahoo.com.br; ²Pesquisadores da *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*, C.P. 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Fone (75) 3621-8031, e-mail: janay@cnpmf.embrapa.br, ssilva@cnpmf.embrapa.br; ³Doutoranda da Pós-Graduação em Botânica (UEFS), e-mail: danielags@ig.com.br; ⁴Professor da Pós-Graduação da UEFS, Unidade Experimental Horto Florestal - Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, e-mail: raniere@uefs.br.

INTRODUÇÃO

A bananeira (*Musa spp.*) é de grande importância econômica e social para o Brasil, sendo cultivada de norte a sul do país. A banana se destaca entre os principais produtos agrícolas, ocupando o segundo lugar, dentre as frutas, na preferência dos consumidores brasileiros. As cultivares de bananeira mais difundidas no Brasil são as triplóides: Nanica, Nanicão e Grande Naine, do grupo AAA, utilizadas principalmente na exportação, e Prata, Pacovan, Prata Anã, Maçã, Mysore, Terra e D'Angola, do grupo AAB (Silva et al., 1999).

O melhoramento tradicional dessa cultura se depara com muitos problemas, como a dificuldade na obtenção de sementes em frutos partenocárpicos e a esterilidade das bananeiras comerciais. No entanto, as técnicas de cultura de tecidos constituem uma alternativa promissora para a propagação dessa cultura, pois a principal meta é a produção massal de indivíduos geneticamente idênticos e fisiologicamente uniformes, com desenvolvimento normal e com plantas livres de doenças, pragas e vírus (Kozai et al., 1997).

Dentre as técnicas de propagação *in vitro*, a embriogênese somática destaca-se por apresentar vantagens como a alta taxa de multiplicação comparada a qualquer outro processo de propagação, o escalonamento da produção pela manutenção da cultura em meio líquido, o plantio direto da muda obtida via embriogênese somática com menor custo de produção, além de a planta ser geneticamente igual à planta mãe (Zimmerman, 1993). A fase de indução de embriogênese é considerada de grande importância por obter embriões somáticos bem formados, contribuindo com as fases subsequentes de desenvolvimento, isto é, a maturação e a conversão em plantas (Fillipi et al., 2001b). Entre os explantes que tem sido utilizado, as flores masculinas imaturas são as que têm apresentado melhores respostas a culturas embriogênicas em bananeira (Becker et al., 2000; Jalil et al., 2003; Strosse et al., 2003). Além disso, o uso da glutamina também tem favorecido a maior produção de embriões somáticos de qualidade em bananeira (Khalil et al., 2002; Strosse et al., 2003). Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a indução de embriogênese somática a partir de inflorescências masculinas de três variedades de bananeira triplóide em diferentes concentrações de glutamina.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se inflorescências masculinas de bananeiras das variedades 'Grande Naine', 'Maçã' e 'Terra Maranhão' que foram coletadas no Banco Ativo de Germoplasma de Bananeira da *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*, em Cruz das Almas (BA) e levadas para o Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais dessa instituição. Inicialmente, reduziu-se essas inflorescências para um tamanho de 10 cm de comprimento, as quais foram, posteriormente, lavadas em solução de água e detergente.

Em câmara de fluxo laminar estéril, sob condições de assepsia, este material foi borrifado com álcool 70% e flambado duas vezes. Após esse processo de desinfestação, iniciou-se a retirada dos dicásios (flores imaturas) das inflorescências masculinas com auxílio de um microscópio estereoscópio, cortados com ajuda de um bisturi e colocados em placas de Petri contendo meio de cultura de Strosse et al. (2003). O meio de cultura foi

constituído de sais e vitaminas do MS (Murashige & Skoog, 1962) com 3% de sacarose, solidificado com 0,7% de agar e suplementado com 1 mg L⁻¹ de AIA, 4 mg L⁻¹ de 2,4-D, 1 mg L⁻¹ de ANA, variando-se as concentrações de glutamina (0, 50, 100, 150 e 200 mg L⁻¹), com pH ajustado para 5,8 e autoclavados durante 20 minutos a 121°C. As placas foram mantidas em sala escura, com temperatura de 27 ± 1°C, até a formação de calos embriogênicos e/ou embriões somáticos.

O delineamento foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 (variedades de bananeira) x 5 (concentrações de glutamina), com 12 repetições por tratamento, sendo que cada repetição continha 6 explantes. O material foi observado semanalmente até 120 dias, avaliando-se a frequência de embriões somáticos e/ou calos embriogênicos (%) e a frequência de calos não embriogênicos.

Os embriões somáticos formados foram transferidos para meio de cultura líquido para estabelecimento de células em suspensão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos 90 dias de cultivo *in vitro* das flores imaturas das cultivares Grande Naine, Maçã e Terra Maranhão observou-se somente a formação de calos de coloração amarelada, independente da concentração de glutamina. Já após quatro meses de cultivo, observaram-se diferentes respostas entre as cultivares de bananeiras utilizadas e as concentrações de glutamina (Tabela 1).

Na cultivar Grande Naine só ocorreu formação de embriões somáticos (50%) nos meios de cultura desprovido de glutamina (Figura 1A) e com a concentração de 200 mg L⁻¹. Nas outras doses ocorreu a formação de calos não embriogênicos, exceto no meio de cultura com a concentração de 100 mg L⁻¹ de glutamina, onde as flores imaturas mostraram-se oxidadas, não apresentando nenhum tipo de crescimento ou embriões somáticos.

Em relação a bananeira 'Maçã' houve formação de embriões somáticos de coloração esbranquiçada (Figura 1B) nas concentrações de 50, 100 e 150 mg L⁻¹ de glutamina com frequências de 60%, 50% e 40%, respectivamente (Tabela 1), sendo que as flores imaturas que não formaram embriões oxidaram (Figura 1D). Também, observou-se nesta cultivar a não formação de calos embriogênicos em nenhuma das concentrações utilizadas de glutamina e, sim, verificou-se a presença de calos esbranquiçados e com aparência esponjosa (não embriogênicos).

Na bananeira 'Terra Maranhão' registrou-se a presença de embriões somáticos nas concentrações de 50, 100 e 200 mg L⁻¹ de glutamina (Figura 1C), já nas demais doses houve formação de calos não embriogênicos com aparência descrita anteriormente.

Apesar da baixa frequência de embriões somáticos induzidos nas cultivares de bananeiras estudadas, os embriões formados em cada variedade foram isolados e inoculados em meio de cultura para estabelecimento de suspensão celular.

Esses resultados mostram que cada variedade responde diferentemente a determinada concentração de glutamina adicionada ao meio de cultura para indução de embriogênese somática.

Tabela 1. Frequência (%) de embriões somáticos (ES) e calos não embriogênicos (CNE), obtidos do cultivo de inflorescências masculinas das cultivares de bananeiras Grande Naine, Maçã e Terra Maranhão em meio de cultura para indução de embriogênese somática utilizando cinco concentrações de glutamina.

Cultivares	Concentração de glutamina (mg L ⁻¹)									
	0		50		100		150		200	
	ES	CNE	ES	CNE	ES	CNE	ES	CNE	ES	CNE
Grande Naine	50	50	0	100	0	0	0	100	50	50
Maçã	0	0	60	40	50	50	40	60	0	50
Terra Maranhão	0	50	30	70	20	0	0	40	40	60

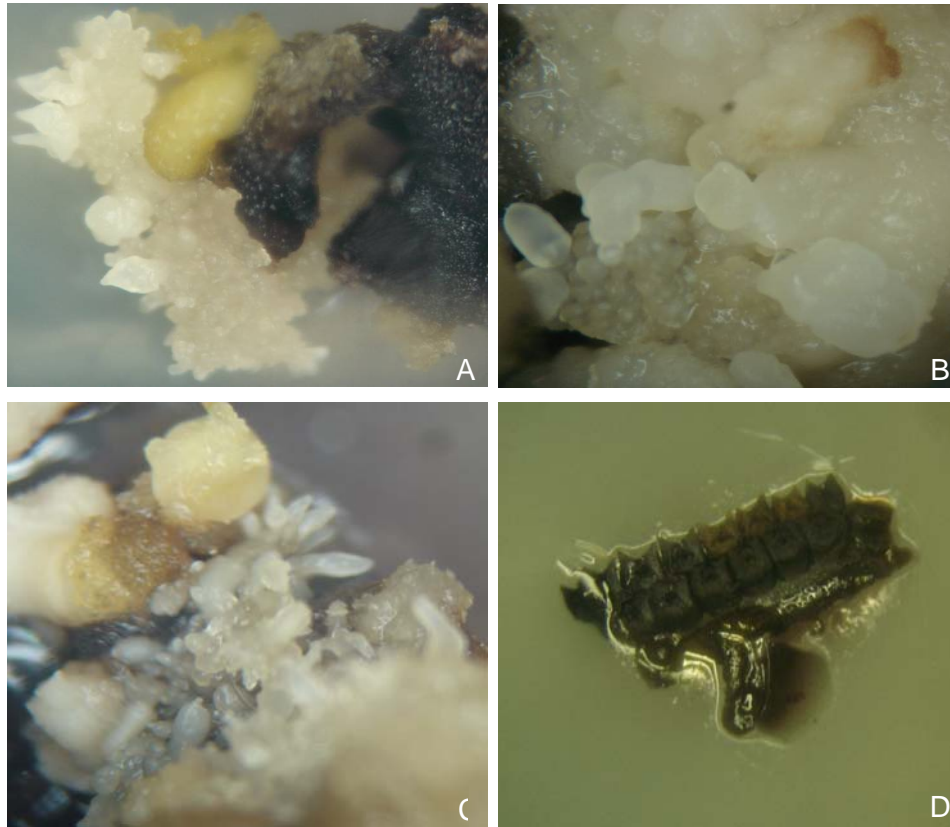


Figura 1. Diferentes respostas da glutamina na indução de embriogênese somática em inflorescência masculina de bananeira: A: Grande Naine em meio de cultura sem glutamina, B: Maçã em 50 mg L⁻¹ de glutamina, C: 'Terra' em 200 mg L⁻¹ de glutamina; D: Inflorescência masculina com oxidação.

CONCLUSÕES

Com os resultados desse trabalho, verificar-se que cada variedade responde diferentemente a determinada concentração de glutamina adicionada ao meio de cultura. Ficando claro, a dependência genotípica para se obter sucesso com a embriogênese somática em bananeira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Becker, D.K. ; Dugdale, B.; Smith M.K.; Harding, R.M.; Dale, J.L. Genetic transformation of Cavendish banana (*Musa* spp. AAA group) cv 'Grand Nain' via microprojectile bombardment. **Plant Cell Reports**. V. 19, p.229–234, 2000.

FILIPPI, S. B.; Appezzato-da-Gloria, B.; Rodriguez, A. P. M. Variações morfológicas de embriões somáticos obtidos a partir de inflorescências de bananeira. **Scientia Agricola**, v.58, n.4, p.711-716, 2001.

JALIL, M.; KHALID, N.; OTHMAN, R. Y. Plant regeneration from embryogenic suspension cultures of *Musa acuminata* cv. Mas (AA). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. 75: 209–214, 2003.

KOZAI, T; KUBOTA, C.; BYOUNG, R.J. Enviromental control for the large-scale production of plants through *in vitro* techniques. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 51, p.49-56, 1997.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.

SILVA, S. O.; ALVES, E. J.; SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L. 1999. Cultivares. In: ALVES, E. J. (Org.). A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais. 2. ed. rev. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPMF, p. 85-105.

STROSSE, H.; DOMERGUE, R.; PANIS, B.; ESCALANT, J.; CÔTE, F. Banana and plantain embryogenic cell suspensions. 2003. In: VEZINA & PICQ (Eds.). INIBAP Tec. Guidelines 8. INIBAP, Montpellier, France. 31p.

ZIMMERMANN, J. L. Somatic Embryogenes: a model for early development in higher plantas. *Plant Cell*, v.5, p.1411-1423, 1993.

PALAVRAS-CHAVES

Musa sp, cultura de tecidos, embriões somáticos.