

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO**

**ESTRATÉGIAS VISANDO MAXIMIZAR A EFICIÊNCIA NA
PRODUÇÃO DE SEMENTES DE BANANA, EM SUPORTE
AO MELHORAMENTO GENÉTICO**

MANASSÉS DOS SANTOS SILVA

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
2017**

**ESTRATÉGIAS VISANDO MAXIMIZAR A EFICIÊNCIA NA
PRODUÇÃO DE SEMENTES DE BANANA, EM SUPORTE AO
MELHORAMENTO GENÉTICO**

MANASSÉS DOS SANTOS SILVA

Biotecnologista

Universidade Federal da Bahia, 2015

Dissertação submetida ao Colegiado do Curso do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e da Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Dr. Edson Perito Amorim

Co-orientadora: Dra. Janay Almeida Dos Santos-Serejo

Co-orientadora: MSc. Fabiana Ferraz Aud

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
2017**

FICHA CATALOGRÁFICA

Silva, Manassés dos Santos.

Estratégias visando maximizar a eficiência a produção de sementes de banana, em suporte ao melhoramento genético/ Manassés dos Santos Silva . – Cruz das Almas, BA, 2017.
103 f. il.; 30 cm.

Orientador: Edson Perito Amorim.
Coorientador: Dra. Janay Almeida dos Santos-Serejo.
Coorientador: MSc. Fabiana Ferraz Aud.

Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais)-
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2017.

1. Banana. 2. Cultivo in vitro. 3. Musa spp. I. Amorim Edson Perito. II. Santos-Serejo, Janay Almeida dos. III. Aud, Fabiana Ferraz. IV. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia V. Título.

CDD: 634.772

Ficha catalográfica elaborada por Lucidalva R. G. Pinheiro- Bibliotecária CRB51161 –
Embrapa Mandioca e Fruticultura

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO**

**ESTRATÉGIAS VISANDO MAXIMIZAR A EFICIÊNCIA NA
PRODUÇÃO DE SEMENTES DE BANANA, EM SUPORTE AO
MELHORAMENTO GENÉTICO**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação
Manassés dos Santos Silva

Aprovado em 06 de março de 2017

Dr. Edson Perito Amorim
Embrapa Mandioca e Fruticultura – CNPMF
(Orientador)

Dr. Abelmon da Silva Gesteria
Embrapa Mandioca e Fruticultura – CNPMF
(Examinador Externo)

Dra. Simone Alves Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB
(Examinador Interno)

DEDICATÓRIA

Á **Deus**, por ser meu Guia e Protetor em todos os momentos da minha vida.

Aos meus pais, **Sônia Maria e Mariano José**, que com amor e carinho, se dedicaram à minha formação.

A **Todos** que acreditaram em mim.

Essa conquista é nossa!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelos caminhos percorridos até aqui, pela proteção e sabedoria nas escolhas difíceis e turbulentas da minha vida; aos bons momentos que tive em toda minha existência e por ter me proporcionado paz e coragem para superar todos os desafios.

À minha família: meus pais Sônia Maria e Mariano José, pelo companheirismo, amor incentivo e esforços que tiveram para que eu pudesse chegar onde estou; ao meu irmão Vinícius que é minha paixão de vida e que como qualquer irmão brigamos e nos amamos eternamente; aos meus avós maternos, Maura e José (*in memoriam*) que sempre apoiavam meus estudos e eram curiosos com o mundo da pesquisa, amo vocês para sempre.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, pela realização do meu curso de mestrado em Recursos Genéticos Vegetais.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo financiamento da bolsa de estudo da pesquisa.

À Embrapa Mandioca e Fruticultura, pela oportunidade de realização e suporte das atividades experimentais.

Ao meu orientador Dr. Edson Perito, pela orientação, paciência, ensinamento e por acreditar em mim para a realização de mais uma vitória em minha vida, que será o ponto de partida para muitas outras. Muito obrigado pela oportunidade.

Às minhas co-orientadoras, MSc. Fabiana Aud e Dra. Janay Santos-Serejo por toda atenção, amizade, apoio, incentivo, ensinamentos e contribuições na minha vida profissional e pessoal.

Aos meus amigos que me apoiaram e torceram para que conseguisse essa vitória (Danila, Rômulo, Carine, Joice, Fernanda, Patrícia Cruz, Eliane, Jéssica, Carlos e Amanda).

A Patrícia Guerra, que com seu carinho, atenção e amizade, enfrentou comigo diversos obstáculos, tanto na graduação como no mestrado (que só nós sabemos), mas sempre juntos e com muito amor. Nossa amizade será para sempre, obrigado por tudo.

A Paulo Henrique, pela amizade, companheirismo, atenção e carinho, obrigado por tudo!

A Taíse Rodrigues, pela ajuda e companheirismo nas minhas atividades do mestrado e principalmente pela amizade construída para toda a vida.

Aos amigos que fiz em Cruz das Almas (Cláudia, Dalma, Cátia, Andresa, Layanna, Jean, Joaquim, Edivania, Hilçana, Juliana, Letícia, Izabel, Luana, Mara e Thaís).

A todos com quem convivi do Laboratório de Cultura de Tecidos, onde trabalhei e realizei todos os experimentos (Josélia, Taíse Paixão, Adinael, Pedro, Bruna, Tânia, Helder, Wagner, Carla, Juliane, Kelle, Manuele, Rafaelle, Nane, Joaquim, Hilo, Cinara e Ronilze); e à equipe do Laboratório de Práticas Culturais (Sinésio, Rafael, Magalhães e Bizunga).

ESTRATÉGIAS VISANDO MAXIMIZAR A EFICIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE SEMENTES DE BANANA, EM SUPORTE AO MELHORAMENTO GENÉTICO

RESUMO: O desenvolvimento de cultivares de bananas resistentes a pragas e doenças e com características agronômicas alinhadas às demandas de mercado é considerado a alternativa mais sustentável para o agronegócio da fruta no Brasil. A Embrapa Mandioca e Fruticultura possui o único programa de melhoramento genético de bananas e plátanos do Brasil (PMGBP) que tem como objetivos desenvolver novas cultivares a partir da hibridização entre cultivares comerciais tri- e tetraploides e diploides melhorados ou selvagens, tendo como resultado a produção de sementes destinadas à germinação *in vitro*, a partir do resgate dos embriões. A dificuldade de obtenção de sementes via cruzamentos em bananeira vem aumentando o interesse em pesquisas sobre a germinação *in vitro* de embriões. Em função do exposto, esse trabalho teve por objetivos realizar um levantamento histórico sobre a produção de sementes do PMGBP entre os anos de 1996 e 2016, assim como estabelecer estratégias para a técnica de resgate e cultivo *in vitro* de embriões, por meio de um guia ilustrado para a classificação das sementes e embriões e da aplicação de ácido giberélico (GA_3) visando reduzir o tempo de germinação. O levantamento histórico e as informações referentes à produção de sementes utilizados nesse estudo foram originados de documentos e arquivos eletrônicos pertencentes ao PMGBP da Embrapa Mandioca e Fruticultura. A elaboração do guia ilustrado, que detalha todas as etapas do resgate e cultivo *in vitro* de embriões zigóticos de banana, assim como a proposta de uma escala ilustrada de atualização para a classificação de sementes e embriões de banana foi desenvolvida visando auxiliar os programas de melhoramento genético de *Musa* spp.. Sementes de cinco cruzamentos entre diploides foram embebidas em solução contendo água e ácido giberélico (GA_3) nas seguintes concentrações: 5, 10, 15 e 20 ppm por 24 horas, sendo excisadas por meio de um corte longitudinal para a retirada do embrião e cultivo do mesmo em meio MS. As variáveis analisadas foram: número de dias para início da germinação (NIG); porcentagem de germinação dos embriões (%); tempo médio de germinação (TMG); índice de velocidade de germinação (IVG); altura da planta (ALP, mm); número de folhas (NFL); diâmetro do pseudocaule (DPC, mm); comprimento da raiz (CRA, mm); teor de massa fresca (TMF, g); e teor de massa seca (TMS, g). Durante o período de janeiro de 1996 a março de 2016 houve uma produção de 189.865 sementes oriundas de cruzamentos envolvendo genótipos di-, tri- e tetraploides desenvolvidos pelo PMGB da Embrapa. No que diz respeito a influência do ambiente na produção de sementes sugere-se concentrar o número de cruzamentos nos meses de março a junho de cada ano, devido à maior probabilidade de se obter sementes, e evitar os meses de outubro a dezembro devido à baixa produção de sementes. Foi proposto um guia ilustrado para classificar os tipos mais comuns de anomalias observadas no endosperma e no embrião a partir de duas escalas, sendo a primeira associada com a presença e ausência de embrião e endosperma e a segunda associada com a normalidade dos embriões. A embebição de sementes de bananeira por 24 horas em GA_3 na concentração de 15 ppm promoveu 20% de aumento nas taxas de germinação dos embriões zigóticos de bananeira quando em comparação com o controle sem o regulador de crescimento vegetal.

Palavras-chave: Cultivo *in vitro*; Embriões; *Musa* spp.

STRATEGIES FOR MAXIMIZING EFFICIENCY IN PRODUCTION OF BANANA SEEDS IN SUPPORT OF GENETIC IMPROVEMENT

ABSTRACT: The development of banana cultivars resistant to pests and diseases and with agronomic characteristics in line with market demands is considered the most sustainable alternative for the Brazilian banana agribusiness. Embrapa Mandioca e Fruticultura has the only program of genetic improvement of bananas and plantains of Brazil (PMGBP) that aims to develop new cultivars from the hybridization between tri- and tetraploid commercial cultivars and improved or wild diploids, resulting in the production of seeds intended for *in vitro* germination, from the rescue of the embryos. This process results in the production of seeds destined for *in vitro* germination from embryo rescue techniques. The difficulty of obtaining seeds via banana crosses has increased the interest in research on the *in vitro* germination of embryos. The objective of this work is to carry out a historical survey on PMGBP seed production between 1996 and 2016, as well as to establish strategies for the *in vitro* embryos rescue, by means of a guide Illustrated for the classification of seeds and embryos and the application of gibberellic acid (GA₃) in order to reduce germination time. The historical survey and the information regarding the seed production used in this study originated from documents and electronic files belonging to the PMGBP of Embrapa Cassava and Fruits. An illustrated guide detailing all the stages of the *in vitro* rescue and cultivation of zygotic banana embryos, as well as the proposal of an illustrated update scale for the classification of banana seeds and embryos was developed in order to support the genetic improvement programs of *Musa* spp.. Seeds of five crosses between diploids were embedded in a solution containing water and gibberellic acid (GA₃) in the following concentrations: 5, 10, 15 and 20 ppm for 24 hours, being excised by means of a longitudinal section for the removal of the embryo and culture of the embryo in MS medium. The variables analyzed were: number of days to start germination (NG); percentage of embryos germination (%); mean germination time (TMG); germination speed index (IVG); plant height (ALP, mm); number of sheets (NFL); diameter of the pseudostem (DPC, mm); root length (CRA, mm); fresh mass (TMF, g); and dry mass content (TMS, g). During the period from January 1996 to March 2016 there was a production of 189 865 seeds from crosses involving di-, tri- and tetraploid genotypes developed by PMGB at Embrapa. Concerning the influence of the environment on the production of seeds, it is suggested to concentrate the number of crosses in the months of March to June of each year, due to the greater probability of obtaining seeds, and to avoid the months of October to December. An illustrated guide has been proposed to classify the most common types of anomalies observed in the endosperm and the embryo from two scales. Soaking banana seeds for 24 hours in GA₃ at 15-ppm concentration promoted a 20% increase in the germination rates of the zygotic banana embryos when compared to the control without the plant growth regulator.

Key-words: *In vitro* culture; Embryos; *Musa* spp.

SUMÁRIO

	Página
INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO I LEVANTAMENTO HISTÓRICO SOBRE A PRODUÇÃO DE SEMENTES DE BANANA NA EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA ENTRE OS ANOS DE 1996 A 2016.....	25
CAPÍTULO II RESGATE E CULTIVO <i>IN VITRO</i> DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS DE BANANA: GUIA ILUSTRADO	55
CAPÍTULO III CULTIVO <i>IN VITRO</i> DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS DE <i>Musa</i> spp. SUBMETIDOS À AÇÃO DO ÁCIDO GIBERÉLICO.....	71
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	94

INTRODUÇÃO

Características botânicas e origem

A bananeira pertence à classe Magnoliopsida, ordem Zingiberales, família Musaceae, subfamília Musoideae, gênero *Musa*, seção *Musa*, representada por 33 espécies (HAKKINEN, 2013). São plantas herbáceas e perenes que apresentam caule subterrâneo denominado de rizoma que em conjunto com as bainhas sobrepostas das folhas formam o pseudocaule, tornando-se assim, uma planta desprovida de caule vegetativo aéreo (SIMMONDS e SHEPHERD, 1955; SIMMONDS, 1962).

O gênero *Musa* spp. é constituído por plantas monocotiledôneas que apresentam sistema radicular fasciculado podendo atingir horizontalmente até cinco metros e com folhas largas, compridas, eretas ou curvadas, possuindo nervura central desenvolvida (DANTAS et al., 1997; 2016). As flores estão dispostas em uma inflorescência que emerge do centro da copa, apresentando brácteas ovaladas, com coloração geralmente roxo-avermelhada. Os órgãos reprodutivos femininos e masculinos são separados em diferentes estruturas na mesma inflorescência (FORTESCUE e TURNER, 2011). A cada conjunto de flores se originam as pencas, que podem oscilar de 7 a 15, e são compostas por um número variável de frutos, normalmente de 40 a 220, a depender da cultivar (SHEPHERD, 1984; DANTAS et al., 1997; 2016).

O centro de origem do germoplasma de *Musa* spp. encontram-se no Sul e Sudeste da Ásia e no Oeste do Pacífico; além de centros secundários de origem na África Oriental, Ilhas do Pacífico e África Ocidental (SIMMONDS, 1962; CHAMPION, 1967; VALMAYOR et al., 2001; BOONRUANGROD et al., 2009; DE LANGHE; 2009a; DE LANGHE et al., 2009b; MATHEW e NEGI, 2017).

A evolução das cultivares de banana ocorreu com base em cruzamentos naturais envolvendo espécies diploides de *Musa acuminata* (genoma A) e *Musa balbisiana* (genoma B) (SIMMONDS, 1995; DANTAS et al., 1997; 2016). Essas cultivares apresentam diferentes níveis cromossômicos: diploides com 22 cromossomos (2x), triploides com 33 cromossomos (3x) e tetraploides com 44 cromossomos (4x), todos múltiplos do número básico de cromossomos ($n=11$) (SHEPHERD et al., 1984).

A domesticação da bananeira foi determinada por alterações que ocorreram em decorrência do processo de partenocarpia, fenômeno pelo qual ocorre a formação de frutos sem a necessidade da fecundação do óvulo, resultando na ausência de sementes (SIMMONDS e SHEPHERD, 1955; CARREEL et al., 1994; DAYARANI et al., 2011). A partir desses processos, foram desenvolvidas as cultivares que são bastante apreciadas pelo consumidor (CARDENOSA-BARRIGA, 1953).

Importância da bananicultura

A banana está entre as mais valiosas commodities agrícolas, devido sua importância social, econômica e nutricional, além do seu elevado valor energético e conteúdo de vitaminas e sais minerais, sendo considerada a base alimentar de milhões de pessoas, em especial nas regiões tropicais e subtropicais (WONG et al., 2002; AHMED et al., 2006; TENKOUANO et al., 2011; CASTAÑEDA et al., 2017).

A produção mundial de banana em 2014 foi de aproximadamente 114 milhões de toneladas, cultivadas em 5,4 milhões de hectares (FAOSTAT, 2017). Em 2015 o Brasil produziu 7 milhões de toneladas da fruta, cultivada em aproximadamente 478 mil hectares, ocupando a quinta posição no cenário mundial. Essa produção gerou um valor bruto de produção ao país de aproximadamente 9,5 bilhões de reais (FGV, 2017).

De acordo com Ploetz e Evans (2015) a banana está entre os oito mais importantes alimentos do mundo e ocupa a quarta posição considerando apenas países em desenvolvimento, em especial no continente africano. Além disso, a indústria de exportação das bananas é um fator relevante para as economias de muitos países da América Latina, Ásia e África, a exemplo da Costa Rica, Equador, Filipinas e Uganda (AHMED et al., 2006).

Melhoramento genético da bananeira

O melhoramento genético vegetal tem como princípio a seleção de genótipos superiores dentro do germoplasma disponível de cada espécie e posterior uso em cruzamentos visando o desenvolvimento de novas cultivares com características agronômicas alinhadas com o mercado produtor e consumidor, tais como: vigor,

precocidade, produtividade e tolerância a estresses bióticos e abióticos (AMORIM et al., 2016).

De acordo com Silva et al. (2013) o melhoramento genético convencional da bananeira tem sido dificultado pela reduzida produção de sementes em cultivares comerciais quando em cruzamentos com diploides.

Na natureza as bananas selvagens são diploides e produzem sementes com baixa viabilidade, variando de acordo com fatores físicos, fisiológicos e genéticos (CHIN, 1996; SILVA et al.; 1999; AHMED et al., 2006). Por outro lado, as bananas triploides produzem frutos por partenocarpia, o que as tornam parcialmente estéreis, todavia, há uma fertilidade residual onde é possível obter sementes em cruzamentos com diploides, permitindo o desenvolvimento de novas cultivares via cruzamentos (PUTEH et al., 2011). Isso ocorre devido ao fato de que os alelos da planta mãe podem não segregar e as características maternas são mantidas, resultando em tetraploides (AMORIM et al., 2016).

Para o desenvolvimento de triploides são utilizadas duas estratégias de hibridização: a primeira diz respeito à produção de triploides AAA e AAB a partir de diploides AA e AB ($2x/2x$), respectivamente; a segunda trata-se da hibridização entre tetraploides e diploides ($4x/2x$) (AMORIM et al., 2016). A obtenção de triploides a partir da estratégia $2x/2x$ é um evento raro e que existem poucos diploides capazes de produzir embriões triploides (DANTAS et al., 1997). Dessa forma a produção de triploides AAB a partir de cruzamentos com diploides AB vem do princípio de que cultivares AAB/ABB podem ter evoluído a partir da fertilização de óvulos de híbridos diploides AB por pólen A ou B (SILVA et al, 2013).

Diploides e triploides obtidos por meio dessa estratégia mostraram-se altamente estéreis e com anormalidades em razão das falhas no pareamento cromossômico durante a meiose (DODDS, 1945; DODDS; PITTENDRIGH, 1946; DODDS; SIMMONDS, 1946). No gênero *Musa* spp. pode ocorrer a perda ou acréscimo de um ou mais cromossomos no complemento cromossômico e irregularidades meióticas influenciam a fertilidade de pólen, mediante formação de gametas desbalanceados (AMORIM, et al., 2016).

Em cruzamentos envolvendo diploides AA, observa-se uma ampla variação na fertilidade do parental masculino e feminino obtendo-se um elevado volume de sementes por cacho (AMORIM et al., 2016). A fertilidade masculina em diploides

permite observar a possível genealogia de triploides a partir do cruzamento entre $2x$ e x (gametas reduzidos) (ORTIZ, 1995).

O interesse pelo melhoramento genético de banana no Brasil remonta aos anos 1970; entretanto o estabelecimento da primeira coleção de germoplasma de *Musa* spp. foi iniciado em 1982, a partir da importação de acessos hoje mantidos pela Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas (BA). Essa mesma data marca a primeira expedição de coleta de germoplasma pela Embrapa que foi realizada na Índia, Filipinas, Papua Nova Guiné e Havaí, e que foram seguidas por outras duas nos anos de 1983 e 1985 (SHEPHERD et al., 1994); assim como o início do único programa de melhoramento de bananas e plátanos do Brasil (AMORIM et al., 2016).

Este programa desenvolveu as seguintes cultivares por meio de hibridização: BRS Caprichosa, BRS Garantida, BRS Japira, BRS Pacovan Ken, BRS Preciosa, BRS Princesa, BRS Tropical, BRS Vitória, BRS Pacoua, BRS Pioneira e BRS Platina. As cultivares mais utilizadas pelos agricultores brasileiros e que ocupam aproximadamente 80% da área cultivada, Prata-Anã e Pacovan, também foram selecionadas pela Embrapa, devido à maior aceitação pelos consumidores em função de características de sabor e aroma (ALVES et al., 1985).

A Embrapa faz uso das seguintes estratégias para o desenvolvimento de cultivares de bananas e plátanos: hibridização entre tri- e tetraploides comerciais e diploides melhorados e selvagens; duplicação de cromossomos de diploides superiores e indução de mutação (AMORIM et al., 2016).

A estratégia envolvendo o cruzamento entre tetra- e diploides parece ser a mais viável para a obtenção de cultivares triploides e vem sendo explorada pela Embrapa Mandioca e Fruticultura. O princípio está no fato de se utilizar cultivares tetraploides com boas características agrônômicas e boa qualidade de fruto como parental masculino e diploides, tanto melhorados quanto selvagens, como parentais masculinos (AMORIM et al., 2016). De acordo com trabalhos de Oselebe et al. (2006), a probabilidade de se obter genótipos triploides utilizando o esquema $4x/2x$ e de aproximadamente 94%, implicando em uma maior eficiência na hibridação.

O resultado desses cruzamentos é a produção de sementes destinadas à germinação *in vitro*, a partir do resgate dos embriões (AMORIM et al., 2016). Compreender a biologia reprodutiva de *Musa* spp., no que diz respeito ao desenvolvimento floral, produção de pólen e sementes é fundamental para o

sucesso de qualquer programa de melhoramento de banana baseado em cruzamentos e obtenção de progênies para a caracterização agrônômica e seleção de genótipos superiores (SANTOS-SEREJO et al., 2016).

Produção de sementes

As sementes de banana apresentam características que variam muito a depender da espécie e da cultivar; atingem entre três a seis mm de diâmetro, possuem formas irregulares, geralmente achatadas, com coloração variável, apresentando uma membrana escariosa que recobre a casca, que é excessivamente dura, permanecendo fixa nos cotilédones, o que lhe proporciona rigidez (Mc GAHAN, 1961a; 1961b; SIMMONDS, 1962; HUMPHREY, 1986; GRAVEN et al., 1996; CHIN, 1996). A semente da bananeira é constituída de embrião de tamanho variável, mas normalmente pequeno e com endosperma cercado por dois tegumentos, um externo com multicamadas e um interno e fino proporcionando a semente proteção durante a maturação, dispersão e dormência (GRAVEN et al., 1996). No entanto, isso dificulta a germinação, porque o embrião precisa de forças para romper o revestimento da semente (GRAVEN et al., 1996).

De acordo com as condições fisiológicas e grau de tolerância à desidratação, as sementes em geral são classificadas como tolerantes a dessecação ou ortodoxas, não tolerantes à dessecação ou recalcitrantes e intermediárias, cujo comportamento durante a secagem apresenta ora características semelhantes às ortodoxas ora às recalcitrantes (ROBERTS, 1973; ELLIS et al., 1990). As sementes de banana são classificadas como intermediárias permitindo a sua dessecação até um teor de umidade inferior a 12% (STOZKY e COX, 1962).

As sementes são constituídas por um endosperma envolto por um tegumento externo com multicamadas e um embrião de tamanho pequeno, com menos de um cm de diâmetro (GRAVEN et al., 1996). O número reduzido ou a ausência de sementes em algumas espécies de *Musa* spp. ocorre devido a barreiras físicas, bioquímicas e pré ou pós-zigóticas, que interferem no processo de fecundação sob condições naturais (SHEPHERD et al., 1986). De acordo com Fortescue e Turner (2011), falhas que levam a não formação de sementes em *Musa* spp. podem ocorrer nas fases gametofítica, esporofítica ou até mesmo durante a interação entre os gametas masculino e feminino.

Na bananeira a ploidia pode afetar o sistema reprodutivo, resultando em baixa fertilidade, em função de falhas no pareamento dos cromossomos na Metáfase I (FORTESCUE e TURNER, 2011). Com isso, mesma que a obtenção de sementes de bananeira oriundas de cruzamentos seja possível, a maior produção ocorre entre diploides (AMORIM et al., 2016).

No entanto, poliploides, especialmente triploides, são muito vigorosos e produzem poucas sementes possuindo uma expectativa de apenas 0,05% de fertilidade. Já os tetraploides são moderadamente férteis e fazem com que os pais sejam eficazes. No sistema de criação de tetraploides, os parentais femininos devem ser estéreis para minimizar o risco de conter sementes no fruto para o consumo (FORTESCUE e TURNER, 2011).

A polinização da bananeira é do tipo cruzada e ocorre geralmente por dispersores, tais como insetos, pássaros, morcegos, formigas, abelhas e borboletas, sendo que a maturação dos órgãos masculinos e femininos ocorre em épocas diferentes (CHIN, 1996; FORTESCUE E TURNER, 2011). A polinização controlada só é realizada para fins de melhoramento genético, uma vez que o fruto comestível é originado pelo processo de partenocarpia (SILVA et al., 1998).

As características da *Musa* spp. que favorecem a polinização são: flores femininas que têm um tempo de florescimento mais longo do que flores masculinas; produção anual de flores; e quantidades maiores de flores masculinas do que flores femininas, aumentando a possibilidade de fecundação (FORTESCUE E TURNER, 2011).

As sementes de banana são ricas em umidade, e podem apresentar algum sinal de dormência após processos naturais ou induzidos de secagem (CHIN, 1996). A dormência é uma característica adaptativa que permite com que as sementes de muitas espécies vegetais evitem a germinação até que as condições do meio ambiente se tornem favoráveis à germinação (COX, 1960).

A dormência em sementes de banana pode ser superada por meio da extração direta da semente do fruto; enquanto que a dormência física pode ser quebrada por meio da utilização de métodos de estratificação e escarificação, tais como a imersão em água e o tratamento com ácidos (STOTZKY e COX, 1962; WATTANACHAIYINGCHAROEN, 1990; UMA et al., 2011).

Dependendo da cultivar, as sementes de banana quando presentes no solo podem permanecer por longos períodos dormentes, cujo mecanismo ainda é pouco

estudado em *Musa* spp. (DE LANGHE, 2009b). As mesmas mostram germinação irregular e permanecem viáveis por um período muito curto, variando de dias a semanas (DAYARANI et al., 2011). Segundo Simmonds (1959), a maioria das sementes de bananeira perdem sua capacidade germinativa após 12 meses.

De acordo com Nwauzoma e Moses (2013), são necessárias pelo menos de três a seis semanas, sob condições ambientais favoráveis, para iniciar a germinação de sementes de banana. Essa variação na germinação deve-se a diversos fatores, tais como: diferenças na velocidade de germinação entre genótipos; diferenças na maturidade das sementes no momento da colheita; aspectos associados com o manejo dos frutos na colheita; idade fisiológica e condições de armazenamento; deformação no embrião; ausência de endosperma; ausência de revestimento da semente ou mesmo a ausência do embrião mesmo que o endosperma seja plenamente desenvolvido; e a dureza da testa que impede ou limita a germinação, uma vez que o embrião necessita da aplicação de força para romper o revestimento da semente (VUYLSTEKE et al., 1990; GRAVEN et al., 1996; UMA et al., 2011).

Baruddin e Kayat (2015) avaliaram a germinação *in vitro* de embriões de sementes de *Musa gracilis* e *Musa acuminata* ssp. *malaccensis* submetidas a diferentes estádios de amadurecimento quando armazenadas à temperatura ambiente, 30-35°C, após a colheita. Os autores verificaram que houve 100% de germinação dos embriões de sementes de *M. gracilis* armazenadas por oito dias e 96% para *M. acuminata* ssp. *malaccensis* armazenadas por nove dias.

Em um estudo realizado por Chin (1996), sementes de *Musa violascens* foram semeadas após a colheita e observou-se uma taxa de germinação próxima a 96%. Em outro estudo, Stotzky e Cox (1962) semearam sementes de *Musa balbisiana* em casa de vegetação e obtiveram 90% de germinação nos meses de verão e 0% no inverno. No entanto, outros estudos não obtiveram resultados satisfatórios no que diz respeito à germinação devido a fatores fisiológicos, morfológicos e físicos presentes nas sementes (VUYLSTEKE et al., 1990; BASKIN e BASKIN, 2004; SSEBULIBA et al., 2006a).

Quando cultivada em ambiente com baixas temperaturas, a bananeira pode apresentar redução da fertilidade e ausência de sementes. A ausência de polinizadores nesses ambientes pode também influenciar no sucesso da polinização (FORTESCUE e TURNER, 2011). Informações sobre os fatores ambientais que afetam a produção de sementes de *Musa* spp. foram apresentados por Fortescue e

Turner (2011), a saber: tamanho do cacho; posição das mãos dentro do cacho; tamanho do fruto; posição dentro do fruto; comprimento do estilo; receptividade do estilo; local da polinização; hora de polinização; altitude; fertilidade do solo; entre outros.

Swennen et al. (1991) avaliaram a fertilidade da cultivar de plátanos Bobby Tannap quando polinizada com o diploide Calcutta 4 em diferentes épocas do ano. De acordo com os autores, o volume de sementes foi variável, a depender da época de polinização. O mês de fevereiro foi o mais indicado à polinização (70 sementes por cacho), enquanto que os meses de março a junho foram os menos efetivos, com 10 sementes produzidas por cacho, em média. Esses resultados indicam que o ambiente exerce influência significativa no sucesso das polinizações, muito em função da temperatura, da umidade e do volume de chuvas.

As bananeiras selvagens apresentam, em média, de 80 a 100 sementes férteis por fruto, sendo que em cultivares triploides, esse número geralmente é reduzido ou ausente (SILVA et al., 1998; DE LANGHE, 2009b). Em um estudo realizado por Ssebuliba et al. (2006a) com 20 cultivares triploides cruzados com um diploide selvagem Calcutta 4 como parental masculino, foi observado que o número de sementes por cacho variou de 3 a 26, com uma média de nove sementes por cacho, sendo que apenas 42% apresentavam embriões, dos quais 9% germinaram após a extração e germinação *in vitro*.

Shepherd et al. (1954), ao realizarem cruzamentos entre a cultivar triploide Gros Michel e o diploide selvagem Lidi na Jamaica e observaram uma produção de sementes por cacho, desde uma única até 60 sementes.

A viabilidade das sementes de bananeira pode ser estimada a partir da sua aparência, dureza e conteúdo de endosperma (FORTESCUE e TURNER, 2011). Outra forma de se estimar a porcentagem de germinação passa pelo teste de tetrazólio (WATTANACHAIYINGCHAROEN, 1990).

A alta variação na germinação, o baixo número obtido ou mesmo a ausência de sementes obtidas nos cruzamentos para produção de híbridos constituem-se nas maiores limitações enfrentadas pelos programas de melhoramento genético de bananeira (SILVA et al., 1998; AHMED et al., 2006).

De acordo com Swennen et al. (1991) o sucesso na produção de sementes de banana depende da fertilidade natural dos parentais. Os autores analisaram a fertilidade de 16 plátanos em cruzamento com o diploide selvagem Calcutta 4,

observando uma variação na produção de sementes de 0,3 a 21,7 sementes por cacho, evidenciando a variabilidade no que diz respeito a fertilidade entre os genótipos analisados.

Cultivo de embriões zigóticos

O cultivo *in vitro* de embriões zigóticos é uma prática cada vez mais utilizada para germinação de sementes. Essa técnica consiste em uma ferramenta da cultura de tecidos vegetais que tem por objetivos resgatar os embriões e promover a superação da dormência de sementes e regeneração de plântulas (CARVALHO e ARAÚJO, 2007; UMA et al., 2011).

O resgate de embriões promove a redução do tempo de germinação, podendo ser observado o desenvolvimento do embrião em um curto prazo de tempo após a introdução em meio de cultura (BAKRY, 2008). Essa técnica representa uma ferramenta relevante para o melhoramento genético da bananeira (AHMED et al., 2006).

O cultivo de embrião é influenciado principalmente pela sua maturidade e pela composição do meio de cultura (AFELE e DE LANGHE, 1991). Dessa forma, o conhecimento sobre a anatomia da semente, as suas várias estruturas e a sua função no desenvolvimento embrionário têm um papel importante no desenvolvimento de protocolos de cultura de embriões eficientes, obtidos a partir da alteração nas condições de crescimento; assim como do meio de cultura utilizado (UMA et al., 2011).

A dificuldade de obtenção de sementes via cruzamentos vem aumentando o interesse em pesquisas sobre a germinação *in vitro* de embriões zigóticos, uma vez que a maioria das sementes obtidas por meio dos cruzamentos entre diploides e triploides ou tetraploides apresentam alguma anomalia, seja pela ausência ou mesmo a deformação do embrião e/ou do endosperma (SILVA et al., 2013).

Neves et al. (2001) avaliaram a técnica de resgate de embriões de sementes de bananeira em genótipos selvagens e híbridos diploides e a influência de anomalias do embrião e do endosperma na germinação *in vitro* em meio de cultura MS sem a adição de reguladores de crescimento. Os autores observaram que as sementes apresentaram 61,38% de embriões normais, 9,63% de embriões pequenos e 29% com alguma anomalia e que na maioria das sementes o

endosperma não apresentava anormalidade; as porcentagens médias de germinação foram 51,73% (embriões normais), 51,79% (embriões pequenos) e 56,90% (algum tipo de anomalia) quando cultivados por 45 dias.

De acordo com Burgos-Hernández et al. (2014), a remoção do tegumento por excisão do embrião permite a absorção de água e as trocas gasosas com mais facilidade, o que promove maior eficiência na germinação. Alguns fatores podem inibir a taxa e a quantidade de absorção de água, incluindo a composição da semente, a permeabilidade do revestimento e a disponibilidade de água na fase líquida ou gasosa (ARUN et al., 2013). Outros estudos relatam que a germinação é reforçada quando se faz uma imersão das sementes em água (AFELE e DE LANGHE, 1991).

Quando se trata da semente de banana, o resgate de embriões tem possibilitado à obtenção de porcentagens de germinação superiores a 50%, enquanto que, em casa de vegetação, tem sido observado apenas 1% (COX, 1960; VUYLSTEKE et al., 1990; VUYLSTEKE e SWENNEN, 1991; ORTIZ e VUYLSTEKE, 1995). Devido à mortalidade das sementes causada por alguma falha no endosperma, antes mesmo de germinarem em cultivo *in vivo*, a cultura de embriões torna-se uma estratégia que possibilita resgatar o embrião antes da sua morte (ASIF et al., 2001). No entanto, há ainda a necessidade de refinamento dessas metodologias, uma vez que se observam limitações em sua eficiência para algumas combinações parentais e espécies de *Musa* spp..

Ácido giberélico no cultivo de embriões zigóticos

A aplicação de reguladores de crescimento vegetal no cultivo *in vitro* de embriões desempenham diversas funções, dentre elas destaca-se o controle do metabolismo e das respostas fisiológicas e bioquímicas das sementes ao ambiente (CARVALHO et al., 1998).

Em híbridos de *Musa* spp. foi observado que os embriões apresentam melhor germinação quando introduzidos em meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) em comparação com meio suplementado com reguladores de crescimento vegetal (JOHRI e RAO, 1984; UMA et al., 2011).

Dentre os reguladores vegetais mais utilizados no cultivo de embriões destaca-se o ácido giberélico (GA₃), que presente na planta atua como hormônio de

crescimento. O GA₃ é encontrado em regiões de crescimento da planta, sementes em desenvolvimento, caules e folhas e está associado ao crescimento e estímulo da iniciação ou desenvolvimento do cultivo de embriões *in vitro* (KOCHBA et al., 1974).

O GA₃ tem desempenhado papel importante na superação de dormência e da taxa de germinação de embriões em diversas culturas (KOCHBA et al., 1974).

Ahmed et al. (2006), analisaram a germinação de sementes de bananeira diploide (BB), a partir da comparação da germinação em condições *in vivo* e *in vitro*, onde foram testados diferentes reguladores de crescimento em meio de cultura MS, a saber: benziladenina purina (BAP) 2,2 µM, ácido diclorofenoxiacético (2,4-D) 9 µM, ácido giberélico (GA₃) 3 e 6 µM e picloram 7,4 µM. Duas temperaturas e diferentes ciclos de fotoperíodo também foram analisados: 26°C e 29°C; continua luminosidade, ausência de luminosidade, e 16/8 horas luz/escuro. De acordo com os resultados, a melhor combinação que permitiu aproximadamente 70% de germinação foi a combinação de BAP (2,2 µM) e 26°C na ausência de luminosidade.

Em um estudo realizado por Pancholi et al. (1995) foi observado que 0,1 µM de GA₃ aplicado ao meio de cultura MS promoveu uma taxa de germinação de embriões de *Musa velutina* com aproximadamente 82,0% no período de 14 dias de cultivo. Diro e Van Staden (2004) informaram que embriões de banana cultivados em meio de cultura MS suplementado com BAP (2,2 µM) e AIA (ácido indolacético) (1,14 µM) alcançaram 63% de germinação. Arun et al. (2013) observaram que sementes obtidas do cruzamento entre Pisang Jajee e *Musa acuminata* ssp. *burmannicoides*, quando submetidas a uma embebição em água com GA₃ (10 ppm) por três dias, aumentaram seu percentual de germinação *in vitro* em meio de cultura MS em 82,40%. Uma et al. (2012) observaram que a concentração de 1,4 µM de GA₃ promoveu 90% de germinação de sementes de *Musa acuminata* ssp. *burmannica*. Em um estudo realizado por Dayarani et al. (2011) foi avaliada germinação *in vitro* de sementes e embriões de Jungli Kela e Calcutta 4 submetidas a diferentes tratamentos com meio de cultura MS modificado: MS1: MS modificado + 10 ppm de GA₃ + 0,5 mg L⁻¹ de BAP e 1,0 mg L⁻¹ de AIA); MS2: MS modificado + 10 ppm de GA₃ e 1,0 mg L⁻¹ de AIA); MS3: MS modificado + 10 ppm de GA₃ e 0,5 mg L⁻¹ de BAP); e MS4: MS modificado + 10 ppm de GA₃). Os autores observaram que houve 9,87% de germinação das sementes em todos os tratamentos, enquanto que na cultura de embriões foram observadas quatro vezes superior, com 58% de

regeneração de plantas em todos os tratamentos, aumentando a regeneração de 17,7% para 31,2% em todos os explantes.

Carvalho et al. (2005) estudaram diferentes concentrações de GA₃ no desenvolvimento de plantas das cultivares de Prata Gigante e Prata-Anã oriundas de cultivo *in vitro*. Os autores verificaram que as concentrações de 0, 3, 14 e 29 µmol L⁻¹ de GA₃, promoveram crescimento em altura na cultivar Prata Gigante, enquanto que na cultivar Prata-Anã, a indução do crescimento ocorreu em concentrações mais altas (59 e 145 µmol L⁻¹). Os autores observaram também que a cultivar Prata Gigante apresentou maiores teores de massa fresca e seca da parte aérea e da raiz em todas as concentrações GA₃, quando comparado com a cultivar Prata-Anã.

Segundo Sandoval-Fernandez et al. (1999), a aplicação de GA₃ para a altura de plantas de bananeira pode promover o crescimento acelerado e um decréscimo na produção foliar e da raiz.

Com base nos poucos estudos realizados com sementes de banana, observa-se que existem barreiras que dificultam a germinação e que novas pesquisas precisam ser realizadas para romper essas limitações e aumentar a taxa de germinação.

Em função do exposto, esse trabalho tem por objetivos realizar um levantamento histórico sobre a produção de sementes de banana do programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa entre os anos de 1996 e 2016, assim como propor um guia ilustrado para a classificação de sementes e embriões de banana e estabelecer estratégias do uso do GA₃ visando reduzir o tempo de germinação no cultivo *in vitro* de embriões.

REFERÊNCIAS

AFELE, J. C.; DE LANGHE, E. Increasing *in vitro* germination of *Musa balbisiana* seed. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 27, p.33-36, 1991.

AHMED, K. Z.; REMI, S.; SÁGI, L.; SWENNEN, R. Germination of *Musa balbisiana* seeds and embryos. In: International Meeting ACORBAT. **Annals**, Joinville (SC), v. 17, 2006.

ALVES, E. J.; SHEPHERD, K.; FERREIRA, F. R. **Cultivares de banana caracterizadas e avaliadas no Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura**, Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMP, (Comunicado técnico, 5), p. 1-8, 1985.

AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, V. B. O.; SILVA, S. O. Melhoramento genético. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. (1ª Ed.). **O agronegócio da banana**, Brasília, DF: Embrapa, p. 171-200, 2016.

ARUN, K.; UMA, S.; SARASWATHI, M. S.; BACKIYARANI, S.; DURAI, P. Effects of whole seed priming on the *in vitro* germination of hybrid banana embryos (*Musa* spp.). **Seed Science & Technology**, v. 41, p. 439-451, 2013.

ASIF, M. J.; MAK, C.; OTHMAN, R. Y. *In vitro* zygotic embryo culture of wild *Musa acuminata* spp. *malaccensis* and factors affecting germination and seedling growth. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 67, p. 267-170, 2001.

BAKRY, F. Zygotic embryo rescue in bananas. **Fruits**, v. 63, p. 111-115, 2008.

BARUDDIN, N. H.; KAYAT, F. Development of Malaysian wild bananas seed progenies, *Musa acuminata* ssp., *malaccensis* and *Musa gracilis*. **Journal of Tropical Resources and Sustainable Science**, v. 3, n. 1, p. 247-251, 2015.

BASKIN, J. M.; BASKIN, C. C. A classification system for seed dormancy. **Seed Science Research**, v. 14, p. 1-16, 2004.

BOONRUANGROD, R.; FLUCH, S.; BURG, K. Elucidation of origin of the present day hybrid banana cultivars using the 5'ETS rDNA sequence information. **Molecular Breeding**, v. 24, p.77-91, 2009.

BURGOS-HERNÁNDEZ, M.; CASTILLO-CAMPOS, G.; MATA-ROSAS, M.; GONZÁLEZ, D.; VOVIDES, A. P.; MURGUÍA-GONZÁLEZ, J. Seed germination of the wild banana *Musa ornata* (Musaceae). **Seed Science and Technology**, v. 42, p. 16-27, 2014.

CADERNOSA-BARRIGA, R. El gênero *Musa* em Colômbia; plátano, bananas y afines. **Notas agronômicas**, v.6, p.1-373, 1953.

CARREEL, F.; FAURE, S.; GONZALEZ DE LEON, D.; LAGODA, P. J. L.; PERRIER, X.; BAKRY, F.; TEZENAS DU MONTCEL, H.; LANAUD, C.; HORRY, J. P. Evaluation de la diversité génétique chez les bananiers diploides (*Musa* spp.). **Genetics Selection Evolution**, v. 26, n. 1, p. 125-136, 1994.

CARVALHO, G. R.; PASQUAL, M.; GUIMARÃES, R. J.; MENDES, A. N. G.; ANTUNES, L. E. C.; SILVA, A. T. Efeito do ácido giberélico e benzilaminopurina no crescimento *in vitro* de embriões do cafeeiro cv. Acaia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, p. 847-851, 1998.

CARVALHO, J. A. B. S.; PEIXOTO, C. P.; SILVA, S. O.; LEDO, C. A. S.; PEIXOTO, M. F. S. P.; ALVES, J. S. Uso da giberelina GA₃, na seleção do porte de bananeira das cultivares Prata e Prata-anã. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v. 27, n. 3, p. 449-453, 2005.

CARVALHO, J. M. F. C.; ARAUJO, S. S. **Aplicação do cultivo de embrião zigótico ou imaturo no melhoramento vegetal**. Campina Grande: Embrapa Algodão (Documento, 170), 1ª Ed., 2007. 35 p.

CASTAÑEDA, N. E. N.; ALVES, G. S. C.; ALMEIDA, R. M.; AMORIM, E. P.; FERREIRA, C. F.; TOGAWA, R. C.; COSTA, M. M. C.; GRYNBERG, P.; SANTOS, J. R. P.; CARES, J. E.; MILLER, R. N. G. Gene expression analysis in *Musa acuminata* during compatible interactions with *Meloidogyne incognita*. **Annals of Botany**, Jan 27, 2017.

CHAMPION, J. Les bananiers et leur culture; Tome I: **Botanique et genetique**, Paris: IFAC, 1967. 214 p.

CHIN, H. F. Germination and storage of banana seeds. In: NEW FRONTIERS IN RESISTANCE BREEDING FOR NEMATODE, FUSARIUM AND SIGATOKA WORKSHOP, 1995. Kuala Lumpur. **Proceedings**, Montpellier: International Network for the Improvement of Banana and Plantain, p.218-227, 1996.

COX, E. A. *In vitro* culture of *Musa balbisiana* Colla embryos. **Nature**, v.185, p. 403–404, 1960.

DANTAS, A. C. V. L.; DANTAS, J. L. L.; ALVES, E. J. Estrutura da Planta, In: ALVES, E. J. (Org.). **A cultura da banana, aspectos técnicos socioeconômicos e agroindustriais**. Brasília: Embrapa-SPI; EMBRAPA-CNPMPF, p. 47-59, 1997.

DANTAS, J. L. L.; SILVA, S. O.; SOARES FILHO, W. S.; CARVALHO, P. C. L. Filogenia, história, evolução, distribuição geográfica e habitat. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. de O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. (1ª Ed.). **O agronegócio da banana**, Brasília, DF: Embrapa, p.15-28, 2016.

DAYARANI, M.; DHANARAJAN, M. S; UMA, S.; GOMATHI, M. **Conservation of wild bananas (*Musa* spp.) through seeds and improved regeneration through seed treatments**. International Conference on Green Technology and Environmental Conservation (GTEC, 2011), p. 188-190. Disponível em < <http://ieeexplore.ieee.org/document/6167668/> > Acesso em: 14 de janeiro de 2017.

DE LANGHE, E. Relevance of banana seeds in archaeology. **Ethnobotany Research and Applications**, v. 7, 271-281, 2009b.

DE LANGHE, E., VRYDAGHS, L., MARET, P., PERRIER, X. DENHAM, T. Why Bananas Matter: An introduction to the history of banana domestication. **Ethnobotany Research and Applications**, v. 7, p.165-177, 2009a.

DIRO, M.; VAN STADEN, J. Germination of zygotic embryos and *in vitro* growth of seedlings of wild types of *Ensete ventricosum*. **South African Journal of Botany**, v. 70, p. 635-639, 2004.

DODDS, K. S. Genetical and cytological studies of *Musa*. VI. The development of female cells of certain edible diploids. **Journal of Genetics**, v. 46, n. 2/3, p. 161-179, 1945.

DODDS, K. S.; PITTENDRIGH, C. S. Genetical and cytological studies of *Musa*. VII. Certain aspects of polyploidy. **Journal of Genetics**, v. 47, n. 2, p. 162-177, 1946.

DODDS, K. S.; SIMMONDS, N. W. Genetical and cytological studies of *Musa*. VIII. The formation of polyploid spores. **Journal of Genetics**, v. 47, n. 3, p. 223-241, 1946.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 41, n. 230, p. 1167-1174, 1990.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: < <http://www.fao.org/faostat/en/> >. Acesso em: 13 de janeiro de 2017.

FGV. **Fundação Getúlio Vargas**. FGV/Dados. Preços recebidos pelos produtores: média anual para os anos fechados e para 2015, preços médios de janeiro a julho. Disponível em < http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/acs/Valor-Bruto-Producao.xlsx >. Acesso em 31 de janeiro de 2017.

FORTESCUE, J. A.; TURNER, D. W. Reproductive Biology. In: PILLAY, M.; TENKOUANO, A. (Org.). **Banana Breeding: Progress and Challenges**. New York: CRC Press, p. 145-179, 2011.

GRAVEN, P.; DE KOSTER, C. G.; BOON, J. J.; BOUMAN, F. Structure and macromolecular composition of the seed coat of the Musaceae. **Annals of Botany**, p. 105-122, 1996.

HAKKINEN, M. Reappraisal of sectional taxonomy in *Musa* (Musaceae). **Taxon**, v. 62, n. 4, p. 809-813, 2013

HUMPHREY, J. E. The development of the seed in Scitamineae. **Annals of Botany**, p. 1-40, 1986.

JOHRI, B. M.; RAO, P. S. Embryology of angiosperms. **Experimental Embryology**, (ed. B.M. Johri), Springer, Berlin, p. 744–802, 1984.

KOCHBA, J.; BUTTON, J.; SPIEGEL-ROY, P.; BORNMAN, C. H.; KOCHABA, M. Stimulation of rooting of citrus embryoids by gibberellic acid and adenine sulphate. **Annals of Botany**, New York, v.38, p.795-802, 1974.

MATHEW, N. S.; NEGI, P. S. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of wild banana (*Musa acuminata* Colla): A review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 196 p. 124–140, 2017.

Mc GAHAN, M. W. Studies on the seed of banana. I. Anatomy of the seed and embryo of *Musa balbisiana*. **American Journal of Botany**, St. Louis. v. 48, n. 3, p. 230-238, 1961a.

Mc GAHAN, M. W. Studies on the seed of banana. II. Anatomy and morphology of the seedling of *Musa balbisiana*. **American Journal of Botany**, St. Louis. v. 48, n. 7, p. 630-637, 1961b.

MURASHIGE, T; SKOOG, F. A. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 5, p. 473-497, 1962.

NEVES, T. S.; SILVA, S. O.; OLIVEIRA, R. P. Resgate *in vitro* de embriões em genótipos diploides de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 285-290, 2001.

NWAUZOMA, A. B.; MOSES, K. Factors Affecting Seedling Emergence and Dry Matter Characteristics in *Musa balbisiana* Colla. **SRN Botany**, v. 2013, 2013.

ORTIZ, R.; VUYLSTEKE, D. Factors influencing seed set in triploid *Musa* spp. L. and production of euploid hybrids. **Annals of Botany**, v. 75, p. 151-155, 1995.

OSELEBE, H. O.; TENKOUANO, A.; PILLAY, M. Ploidy variation of *Musa* hybrids from crosses. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 11, p. 1048-1053, 2006.

PANCHOLI, N.; WETTEN, A.; CALIGARI, P. D. S. Germination of *Musa velutina* seeds: comparison of *in vivo* and *in vitro* systems. **In Vitro Cellular e Developmental Biology – Plant**, v.31, p.127-130, 1995.

PLOETZ, R. C.; EVANS, E. A. The Future of Global Banana Production. **Horticultural Reviews**, v. 43, p. 311-343, 2015.

PUTEH, A. B.; ARIS, E. M.; SINNIHAH, U. R.; RAHMAN, Md. M.; MOHAMAD, R. B.; ABDULLAH, N. A. P. Seed anatomy, moisture content and scarification influence on imbibitions in wild banana (*Musa acuminata* Colla) ecotypes. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, p.14373-14379, 2011.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 12, p. 499-514, 1973.

SANDOVAL-FERNÁNDEZ, J. A.; COTE, F.; DOUMAS, P. *In vitro* recognition of high stacture somaclonal variants in banana (cv. Grand Naine, *Musa* AAA) response to a GA₃ treatment. **Guapilles**, Costa Rica, v.24, p.11-19, 1999.

SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, E. P.; JESUS, O. N.; SILVA, S. O. Germoplasma de *Musa*: Conservação, caracterização e uso. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. (1ª Ed.). **O agronegócio da banana**, Brasília, DF: Embrapa, p. 111-136, 2016.

SHEPHERD, K. Seed fertility of the Gros Michel banana in Jamaica. **Journal of Horticultural Science**, v. 29, p.1-11, 1954.

SHEPHERD, K. **A bananeira taxonomia e morfologia**. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE BANANICULTURA, 1, 1984, Jaboticabal, SP, Anais. Jaboticabal, SP: FCAVJ/UNESP, p. 50-74, 1984.

SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L.; ALVES, E. J. Melhoramento genético da bananeira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.12, p.11-19, 1986.

SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L.; SILVA, S. O. Breeding of Prata and Maçã cultivars for Brazil. In: INTERNATIONAL NETWORK FOR THE IMPROVEMENT OF BANANA AND PLANTAIN (Montpellier, França). **The improvement and testing of *Musa*: a global partnership**. Montpellier, p. 157-168, 1994.

SILVA, S. O.; MATOS, A. P.; ALVES, E. J. Melhoramento genético da bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n.5, p.693-703, 1998.

SILVA, S. O.; SILVA, K. M.; BORGES, M. F.; OLIVEIRA, R. P. Pollination and culture of banana embryos. **Infomusa**, v.8, p. 24-26, 1999.

SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A.; FERREIRA, C. F.; ROGRIGUEZ, M. A. D. Melhoramento genético da bananeira: estratégias e tecnologias disponíveis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, p.919-931, 2013.

SIMMONDS, N. W.; SHEPHERD, K. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. **The journal of the Linnean Society of London**, London, v. 55, p. 302-12, 1955.

SIMMONDS, N. W. Experiments on the germination of banana seeds. **Tropical Agriculture**, Trinidad, v. 36(4): 259-273, 1959.

SIMMONDS, N. W. **The Evolution of the Bananas**. London: Longmans, 170 p., 1962.

SIMMONDS, N. W. Bananas. In: **Evolution of Crop Plants**, SMART, J.; SIMMONDS, N. W. John Wiley e Sons, New York, NY, USA, Eds., pp. 370–374, 1995.

SSEBULIBA, R.; MAGAMBO, M.; TALENGERA, D.; MAKUMBI, D.; TENKOUANO, A.; RUBAIHAYO, P.; PILLAY, M. Biological factors affecting seed production in east African highland bananas. **Journal of Crop Improvement**, v. 16, p. 31-32, 2006a.

SSEBULIBA, R.; TALENGERA, D.; MAKUMBI, D.; NAMANYA, P.; TENKOUANA, A.; TUSHEMEREIRWE, W.; PILLAY, M. Reproductive efficiency and breeding potential of East African highland (*Musa* AAA-EA) bananas. **Field Crops Research**, v. 95 (2-3), p. 250-255, 2006b.

STOTZKY, G.; COX, E. A. Seed germination in *Musa* II. Alternating temperature requirement for the germination of *Musa balbisiana*. **American Journal of Botany**, v. 49, p. 763-770, 1962.

SWENNEN, R.; VUYLSTEKE D.; DE SMET, K. Season dependent seed set in plantain. **Banana Newsletter**, v. 14, p. 35-36, 1991.

TENKOUANO, A.; PILLAY, M.; ORTIZ, R. Breeding Techniques. In *Banana Breeding Progress and Challenges*, (eds. M. Pillay and A. Tenkouano), **CRC Press**, London, p. 181–202, 2011.

UMA, S.; LAKSHMI, S.; SARASWATHI, M. S.; AKBAR, A.; MUSTAFFA, M. M. Embryo rescue and plant regeneration in banana (*Musa* spp. L.). **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 105, p. 105-111, 2011.

VALMAYOR, R. V. Classification and characterization of *Musa exotica*, *M. alinsanaya* and *M. acuminata* spp. Errans. **Infomusa**, v.10, p.35-39, 2001.

VUYLSTEKE, D.; SWENNEN, R.; DE LANGE, E. Tissue culture technology for the improvement of African plantains. In: FULLERTON, R. A.; STOVER, R. H. (Ed.). **Sigatoka leaf spot diseases of bananas**: proceedings of International Workshop, San José, Costa Rica, March 28- April 1, 1989. Montpellier: Inibap, p. 316-337, 1990.

VUYLSTEKE, D.; SWENNEN, R. Genetic improvement of plantains: the potential of conventional approaches and the interface with *in vitro* culture and biotechnology. In: **Biotechnology Applications for Banana and Plantain Improvement**, (ed. INIBAP), Proceedings of a Workshop, San Jose. International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France, p. 169-176, 1991.

WATTANACHAIYINGCHAROEN, D. Viability, Germination and dormancy of banana seed (*Musa acuminata*). **Master's thesis**, The University of Western Australia, 1990.

WONG, C.; KIEW, R.; ARGENT, G.; SET, O.; LEE, S. K.; GAN, Y. Y. Assessment of the validity of the sections in *Musa* (Musaceae) using AFLP. **Annals of Botany**, v. 90, n. 2, p. 231-238, 2002.

CAPÍTULO I

**LEVANTAMENTO HISTÓRICO SOBRE A PRODUÇÃO DE SEMENTES DE
BANANA NA EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA ENTRE OS ANOS DE
1996 E 2016**

LEVANTAMENTO HISTÓRICO SOBRE A PRODUÇÃO DE SEMENTES DE BANANA NA EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA ENTRE OS ANOS DE 1996 E 2016

RESUMO: A busca por cultivares resistentes, além de boas características agronômicas, é considerada o meio mais eficiente de controle dessas enfermidades. No Brasil, o programa de melhoramento genético de bananas e plátanos (PMGBP) desenvolvido pela Embrapa Mandioca e Fruticultura foi iniciado em 1982 e desenvolve cultivares a partir da produção de sementes via hibridação entre genótipos di-, tri- e tetraploides. O objetivo desse trabalho foi realizar um levantamento histórico da produção de sementes de banana produzidas pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa Mandioca e Fruticultura entre o período de 1996 a 2016 para fins de maximizar a eficiência do programa. O levantamento histórico e as informações referentes à produção de sementes utilizados nesse estudo foram originados de documentos e arquivos eletrônicos pertencentes ao PMGBP da Embrapa Mandioca e Fruticultura. As seguintes variáveis foram analisadas: volume de sementes produzidas por mês e por ano; número de cruzamentos realizados (cachos cruzados); número de parentais utilizados, considerando a ploidia (di-, tri- e tetraploide) e o tipo (melhorado ou selvagem); assim como dados meteorológicos locais coletados em estação climatológica automática. Durante o período de janeiro de 1996 a março de 2016 houve uma produção de 189.865 sementes oriundas de cruzamentos envolvendo genótipos di-, tri- e tetraploides. Nesse período os cruzamentos realizados apresentaram a seguinte distribuição: 35,50% envolvendo apenas diploides; 27,97% entre diploides e triploides e 36,53% entre diploides e tetraploides. Ao longo do período de 1996 a 2016, dez parentais femininos em combinação com diferentes diploides foram responsáveis por aproximadamente 60% do volume total de sementes produzidas, sendo um diploide selvagem (Calcutta 4), sete diploides melhorados, uma cultivar tetraploide (BRS Princesa) e híbridos da série YB (cruzamentos envolvendo a cultivar triploide Yangambi nº2 e o diploide melhorado M53). No caso específico do uso da cultivar Pacovan como parental feminino foi utilizados ao todo 22 diploides melhorados em 118 cruzamentos, gerando 718 sementes e uma relação S/C média de 6,08. Os cruzamentos envolvendo a cultivar Prata-Anã e 26 diploides melhorados produziram 578 sementes, a partir de 147 cruzamentos realizados, com relação S/C com média de 3,93. Os parentais masculinos utilizados nos cruzamentos entre os anos de 1996 a 2016 somam 68 tipos diferentes, todos diploides, sendo 43 melhorados, 23 selvagens, um da subespécie Zebrina e um híbrido AB. Observou-se uma tendência no que diz respeito ao aumento no volume de sementes produzidas associada com a época de realização dos cruzamentos e que aqueles cruzamentos realizados no período onde as temperaturas tendem a ser mais baixas, a produção de sementes é aumentada.

Palavras-chave: Hibridização; *Musa* spp.; Ploidia

HISTORICAL SURVEY ON THE PRODUCTION OF BANANA SEEDS AT EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULURA BETWEEN THE YEARS OF 1982 TO 2016

ABSTRACT: The development of resistant cultivars, besides good agronomic characteristics, from breeding programs, is considered the most efficient means of controlling these diseases. In Brazil, the genetic improvement program for bananas and plantains (PMGBP) developed by Embrapa Mandioca e Fruticultura was initiated in 1996 and develops cultivars from seed production through hybridization between di-, tri- and tetraploid genotypes. The objective of this work was to carry out a historical survey of the production of banana seeds produced by the PMGBP at Embrapa from 1996 to 2016 in order to maximize the efficiency of the program. The historical survey and the information regarding the seed production used in this study originated from documents and electronic files belonging to the PMGBP. The following variables were analyzed: seed volume produced per month and per year; number of crosses (crossed curls); number of parents used, considering ploidy (di-, tri- and tetraploid) and type (improved or wild); as well as local meteorological data collected in an automatic weather station. During the period from January 1996 to March 2016 there was a production of 189 865 seeds from crosses involving di-, tri- and tetraploid genotypes. In this period the crosses made presented the following distribution: 35.50% involving only diploids; 27.97% between diploids and triploids and 36.53% between diploids and tetraploids. Over the period 1996 to 2016, ten female parental ten female parents in combination with different diploids were responsible for approximately 60% of the total volume of seeds produced, one wild diploid (Calcutta 4), seven improved diploids, one tetraploid cultivar BRS Princesa) and YB series hybrids (crosses involving the Yangambi nº 2 triploid cultivar and the improved diploid M53). In the specific case of the use of the Pacovan cultivar as female parental, 22 improved diploids were used in 118 crosses, generating 718 seeds and an average S/ C ratio of 6,08. Crosses involving the cultivar Prata-Anã and 26 improved diploids produced 578 seeds, from 147 crosses, with an average S/C ratio of 3,93. The male parents used at the crosses between 1996 and 2016 have 68 different types, all of them diploid, 43 being improved, 23 wild, one from the Zebrina subspecies and one AB hybrid. A trend has been observed with respect to the increase in the volume of seeds produced associated with the time of the crosses and that those crossings carried out in the period where the temperatures tend to be lower, the seed production is increased.

Key-words: Hybridization; *Musa* spp.; Ploidy

INTRODUÇÃO

A banana está entre os oito alimentos mais importantes do mundo devido ao seu valor nutritivo, baixo custo e sabor agradável, ocupando a quarta posição quando se considera apenas países em desenvolvimento, em especial no continente africano (WONG et al., 2002; PLOETZ e EVANS, 2015).

Em 2014 a produção mundial foi de aproximadamente 114,1 milhões de toneladas em 5,4 milhões de hectares plantados. Em 2015, o Brasil foi considerado o quinto produtor da fruta no cenário mundial, com aproximadamente 7,0 milhões de toneladas produzidas em 478 mil hectares (FAOSTAT, 2017).

A banana apresenta aproximadamente 50 subgrupos, sendo que o subgrupo Cavendish responde por 40% da produção global, seguido pelo subgrupo dos plátanos (banana da terra no Brasil) com 21% (PLOETZ e EVANS, 2015). No Brasil, o subgrupo Cavendish é representado pelas cultivares Grande Naine, Nanica e Nanicão com maior produção nas regiões do Sudeste e Sul do país. As cultivares de banana que são mais utilizadas pelos agricultores brasileiros são do subgrupo Prata, em especial a Prata-Anã e a Pacovan, ocupando aproximadamente 80% da área cultivada, devido à maior aceitação pelos consumidores em função de características de sabor e aroma (ALVES et al., 1985).

Os principais fatores limitantes à expansão da bananicultura brasileira dizem respeito a doenças e pragas, em especial os fungos agentes causais da Sigatoka-amarela (*Mycosphaerella musicola*, Leach), Sigatoka-negra (*Mycosphaerella fijiensis*, Morelet) e murcha de *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*); além do ataque por nematoides, como o *Radopholus similis* e por insetos como a broca-do-rizoma (*Cosmopolites sordidus*) (SILVA et al., 2016a). A busca por cultivares de bananas e plátanos resistentes a pragas e doenças, além de boas características agronômicas, a partir de programas de melhoramento, é considerada o meio mais eficiente de controle dessas enfermidades (AMORIM et al., 2013).

Nesse contexto, o objetivo do melhoramento genético vegetal visa a seleção de genótipos superiores e posterior obtenção de novos híbridos com características que sejam agronomicamente alinhadas com as demandas de mercado, tais como vigor, precocidade, qualidade de produção, tolerância a estresses abióticos; além de resistência a pragas e doenças (AMORIM et al., 2016).

Várias iniciativas de melhoramento de bananas e plátanos encontram-se em andamento desde 1920 em centros de pesquisa distribuídos pelo mundo: *Fundación Hondureña de Investigación Agrícola* (Fhia), em Honduras; *National Research Centre for Banana* (NRCB) e *Tamil Nadu Agricultural University* (TNAU), ambos na Índia; *Centre Africain de Recherches sur Bananiers et Plantains* (Carbap), nos Camarões; *International Institute of Tropical Agriculture* (IITA), na Nigéria; e *Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement* (Cirad), na França (AMORIM et al., 2016).

No Brasil, o programa de melhoramento genético de bananas e plátanos (PMGBP) desenvolvido pela Embrapa Mandioca e Fruticultura foi iniciado em 1982, a partir da criação da sua coleção de germoplasma a partir de coletas nacionais e internacionais. Esse programa desenvolveu 11 cultivares por meio de hibridização entre cultivares comerciais tri- e tetraploides e diploides selvagens ou melhorados: BRS Caprichosa, BRS Garantida, BRS Japira, BRS Pacovan Ken, BRS Preciosa, BRS Princesa, BRS Tropical, BRS Vitória, BRS Pioneira, BRS Platina e BRS Pacoua.

O uso de informações a partir de um levantamento histórico baseado em cruzamentos e de produção de sementes de banana possui grande importância para que seja possível o planejamento de novas combinações parentais, a redução do uso de diploides com baixo potencial de produção de sementes em quantidade e qualidade e o conhecimento sobre a influência do ambiente.

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi realizar um levantamento histórico da produção de sementes de banana produzidas pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa Mandioca e Fruticultura entre o período de janeiro de 1996 a março de 2016 para fins de maximizar a eficiência do programa.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo teve caráter exploratório e descritivo, e foi realizado no município de Cruz das Almas, localizado no Recôncavo da Bahia, Brasil, (12° 48' 38" de latitude sul e 39° 06' 26" de longitude oeste de Greenwich) (SILVA et al., 2016b) a partir dos registros do número de sementes produzido pelo programa de melhoramento

genético de bananas e plátanos (PMGBP) da Embrapa Mandioca e Fruticultura no período de janeiro de 1996 a março de 2016.

O levantamento histórico e as informações referentes à produção de sementes utilizados nesse estudo foram originados de documentos e arquivos eletrônicos pertencentes ao PMGBP da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Todos os registros realizados durante o processo de certificação foram armazenados de modo a possibilitar a rastreabilidade e o controle do processo de produção de sementes de banana pela Embrapa.

Para a coleta de dados sobre a produção de sementes foram consideradas todas as sementes viáveis provenientes de cruzamentos que foram identificadas após colheita dos frutos no Laboratório de Práticas Culturais de Bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

As variáveis analisadas nesse estudo foram: volume de sementes produzidas por mês e por ano; número de cruzamentos realizados (cachos cruzados); número de parentais utilizados, considerando a ploidia (di-, tri- e tetraploide) e o tipo (melhorado ou selvagem); assim como dados meteorológicos locais coletados em estação climatológica automática instalada na Embrapa Mandioca e Fruticultura, em especial a temperatura (°C) ocorrida no período compreendido entre janeiro 1996 a março de 2016 (SILVA et al., 2016b). Foi realizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilks, a análise de correlação de Pearson e a regressão linear para as variáveis analisadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de janeiro de 1996 a março de 2016 foram realizados 3.206 cruzamentos envolvendo genótipos di-, tri- e tetraploides, gerando um volume total de 189.865 sementes (Tabela 3). O maior número de sementes foi obtido em 2002, seguido pelos anos de 2001, 2004 e 2007. A relação entre o número de sementes produzidas e o número de cruzamentos realizados (S/C) variou de 1,38 a 141,56, com destaque de maiores relações para os anos de 2001, 2002, 2004 e 2009 no qual os cruzamentos realizados pelo PMGBP durante esses anos concentraram-se apenas entre diploides.

De maneira geral, observa-se que o volume de sementes produzidas anualmente é diretamente proporcional ao número de cruzamentos realizados, uma

vez que a correlação observada entre esses dois parâmetros foi de 0,53 ($p < 0,05$, segundo o teste de Shapiro-Wilks). Esse fato é esperado uma vez que os diploides são férteis e naturalmente produzem sementes quando cruzados entre si; já os tetraploides e, especialmente, os triploides tem baixa fertilidade residual (AMORIM et al., 2016).

Informações sobre o volume de sementes e os parentais de banana utilizados pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos (PMGBP) da Embrapa Mandioca e Fruticultura entre os anos de 1982 e 1992 foram apresentados por Shepherd et al. (1994). Naquele período, de acordo com autores, e considerando o início do programa de melhoramento, o germoplasma disponível estava restrito a oito diploides importados da Jamaica, a saber: Calcutta 4, Buitenzorg, Madang e Pahang (considerados tipos selvagens); Lidi, Madu e S/N^o2 (diploides cultivados); e M53 (diploide melhorado partenocárpico). Estes diploides foram cruzados com Pacovan e Prata-Anã essencialmente, gerando um volume de sementes de 8.080 e 291, respectivamente (Tabela 1). Destaque para M53 e Calcutta 4, seguidos por Lidi, que permitiram a maior produção de sementes em combinação com Pacovan e Prata-Anã. Esse fato justifica a genealogia dos híbridos tetraploides lançados pela Embrapa até 2016, todos os produtos do cruzamento utilizando o diploide M53 como parental masculino, exceção à BRS Pacoua (Calcutta 4 como parental masculino) e a BRS Pioneira (Lidi como parental masculino) (SILVA et al., 2016a).

Silva et al. (1999) apresentaram os dados relativos ao intervalo entre 1993 e 1995. Basicamente os cruzamentos foram concentrados entre diploides e esses com cultivares triploides do tipo Prata e Maçã (Prata: Prata Comum, Prata Ponta Aparada, Pacovan, Prata Santa Maria; e Maçã: Yangambi n^o2) (Tabela 2). Pelos dados é possível observar grande diferença no que diz respeito a relação Sementes por 100 Frutos (S/100F) quando se compara os cruzamentos envolvendo apenas diploides (11,39 S/100F cruzados) e diploides cruzados com triploides comerciais (1,5 S/100F cruzados).

Os triploides são muito vigorosos e produzem poucas sementes possuindo uma expectativa de apenas 0,05% de fertilidade. Já os tetraploides são moderadamente férteis e fazem com que os pais sejam eficazes. No sistema de criação de tetraploides, os parentais femininos devem ser estéreis para minimizar o risco de conter sementes no fruto para o consumo (FORTESCUE e TURNER, 2011).

Com isso, mesma que a obtenção de sementes de bananeira oriundas de cruzamentos seja possível, a maior produção ocorre entre diploides, seguido respectivamente de tetraploides e triploides (AMORIM et al., 2016).

Entre os anos de janeiro de 1996 a março de 2016 os cruzamentos realizados pelo PMGBP apresentaram aproximadamente a seguinte distribuição: 35,50% envolvendo apenas diploides; 27,97% entre triploides e diploides e 36,53% entre tetraploides e diploides (Tabela 3). É possível observar uma redução na relação S/C a partir de 2011, ano em que o programa de melhoramento genético de banana da Embrapa passou a dispensar maior esforço nos cruzamentos envolvendo diploides melhorados e cultivares tetraploides comerciais, combinação parental com menor probabilidade de gerar sementes quando em comparação com cruzamentos entre diploides. Em contraponto, houve aumento significativo na quantidade de cruzamentos realizados a partir de 2011, 1.074 no total, correspondendo a 33,50% do volume total registrado na série histórica.

A maioria dos tetraploides comerciais utilizados em cruzamentos são cultivares desenvolvidas pela própria Embrapa e que são utilizadas em diferentes regiões brasileiras, a exemplo da BRS Platina, BRS Princesa, BRS Tropical, entre outras (AMORIM et al., 2016). Essas cultivares tem quase todas as características agrônomicas e sensoriais alinhadas com as principais demandas dos produtores e consumidores e o seu uso em cruzamentos com diploides tem por objetivos corrigir pequenos defeitos, tais como a suscetibilidade a pragas e doenças ou mesmo problemas de pós-colheita (AMORIM et al., 2016).

Ao longo dos 20 anos (1996-2016), dez parentais femininos em combinação com diferentes diploides foram responsáveis por aproximadamente 60% do volume total de sementes produzidas, sendo um diploide selvagem (Calcutta 4), sete diploides melhorados, uma cultivar tetraploide (BRS Princesa) e híbridos da série YB (cruzamentos envolvendo a cultivar triploide Yangambi nº2 e o diploide melhorado M53); todos desenvolvidos pela Embrapa, exceção à Calcutta 4 (Tabela 4). Cabe destacar que a cultivar BRS Princesa quando utilizada em cruzamentos produziu 12.844 sementes, embora necessitando de 293 cruzamentos, fato que levou a uma baixa relação S/C. O mesmo raciocínio vale para os híbridos da série YB, reforçando mais uma vez que cruzamentos envolvendo diploides e cultivares tri- e tetraploides tem menor potencial para produzir sementes.

A cultivar BRS Princesa (AAAB) é um tetraploide resultante do cruzamento entre a cultivar triploide Yangambi nº 2 (AAB) e o diploide melhorado M53 (AA) resistente às Sigatocas-amarela e negra e a murcha de *Fusarium*, além de possuir características tanto de desenvolvimento quanto de produtividade semelhantes ao da cultivar Maçã (SILVA et al., 2016a). Nesse caso específico, o objetivo do programa de melhoramento da Embrapa é converter a BRS Princesa em um triploide secundário, melhorando aspectos tais como a uniformidade na emissão do cacho e reduzindo o porte da planta.

A obtenção de triploides secundários ocorre a partir de cruzamentos envolvendo tetraploides e diploides (4x/2x) (AMORIM et al., 2016). Essa estratégia bastante promissora passa pela indução da duplicação de cromossomos de diploides por meio de agentes mutagênicos, tais como a colchicina ou a orizalina (COSTA et al., 2011). Dessa forma, a duplicação de cromossomos permite a criação de triploides secundários AAA/AAB por meio da duplicação in vitro de diploides AA/BB e posterior cruzamento com diploides melhorados (Figura 2) (BAKRY et al., 2007).

Todos os parentais masculinos que em combinação com diferentes cultivares tri- e tetraploides produziram maiores volumes de sementes são diploides melhorados desenvolvidos pela Embrapa, com destaque para o diploide F2P2 que produziu 18.522 sementes quando em cruzamento (Tabela 4).

Na Tabela 5 estão apresentadas as principais combinações parentais responsáveis por 22,3% do volume total de sementes produzidas entre janeiro de 1996 e março de 2016 (42.427 sementes). Com exceção do cruzamento entre a cultivar BRS Princesa e o diploide melhorado 091079, todas as combinações parentais envolveram apenas diploides, tanto melhorados quanto selvagens.

Percebe-se que 11 diploides selvagens fazem parte da genealogia dos híbridos, com destaque para Calcutta 4, que está presente em sete dos 10 diploides melhorados utilizados em cruzamentos. Esse genótipo é rotineiramente utilizado pelos principais programas de melhoramento de banana por apresentar resistência às Sigatocas-amarela e negra, a murcha de *Fusarium* e tolerância a nematoides e a broca do rizoma; além de alta fertilidade masculina (viabilidade polínica) e feminina (formação de sementes) (TENKOUANO et al., 2011). Considerando os cruzamentos realizados, chama atenção também a elevada relação S/C, que chegou a alcançar

aproximadamente 917 sementes produzidas em uma única combinação parental (091079 x 042079) (Tabela 5).

Considerando que aproximadamente 85% das sementes produzidas entre os anos de janeiro de 1996 a março de 2016 foram obtidas a partir do cruzamento entre diploides, fez-se um detalhamento desses cruzamentos por ano (Tabela 6). Verificase que a combinação entre diploides melhorados desenvolvidos pela Embrapa foi responsável por aproximadamente 70% das sementes produzidas.

O PMGBP da Embrapa utiliza 39 diploides melhorados (DM) como parentais masculinos visando ao desenvolvimento de híbridos triploides e tetraploides. Nessa coleção, existem diploides de primeira geração (hibridização entre dois diploides selvagens) e de segunda geração (hibridização entre diploides melhorados). Esses DM são resistentes à Sigatoka-amarela e a murcha de *Fusarium*. Em relação à Sigatoka-negra muitos são resistentes, assim como para nematoides (AMORIM et al., 2016). Outros programas de melhoramento têm gerado diploides melhorados com elevado número de frutos, porte baixo, resistentes às Sigatokas-amarela e negra, murcha de *Fusarium* e nematoides (SHEPHERD, 1974; HORRY et al., 1993; ROWE e ROSALES, 1996; VUYLSTEKE et al., 1993; TOMEKPE et al., 1996).

Considerando que a produção brasileira de banana está centrada nas cultivares Prata-Anã e Pacovan, ambas do subgrupo Prata, fez-se um detalhamento dos cruzamentos entre essas cultivares e os diploides melhorados desenvolvidos pela Embrapa (Tabelas 7 e 8).

No caso específico do uso da cultivar Pacovan como parental feminino foram utilizados ao todo 22 diploides melhorados em 118 cruzamentos, gerando 718 sementes e uma relação S/C média de 6,08 (Tabela 7). As combinações que mais geraram sementes envolveram o uso dos diploides 013018, 042052, 086079, e 089087. Esses cruzamentos podem ser privilegiados no futuro devido ao potencial de produzir sementes, ressaltando que uma análise mais detalhada das progênes obtidas deve ser realizada, visando verificar se essas sementes deram origem a plantas com potencial de seleção visando futuro lançamento.

Os cruzamentos envolvendo a cultivar Prata-Anã e 26 diploides melhorados estão apresentados na Tabela 8. Percebe-se que foram obtidas 578 sementes, a partir de 147 cruzamentos realizados, com relação S/C média de 3,93. Os cruzamentos com maior produção de sementes envolveram os diploides melhorados

003043, 106117 e 117100, coincidentemente que todos esses genótipos tiveram o diploide Calcutta 4 como um dos seus ancestrais.

Comparando as cultivares Pacovan e Prata-Anã, no que diz respeito ao seu potencial como parental feminino, percebe-se que a primeira apresentou uma maior produção de sementes e relação S/C, permitindo-se inferir que a mesma possui maior fertilidade e/ou capacidade geral de combinação com os diploides utilizados. Resultados semelhantes foram observados por Shepherd et al. (1994).

Perrier et al. (2011) identificaram potenciais ancestrais de diferentes subgrupos de bananas comerciais, incluindo Prata, a partir de estudos filogenéticos envolvendo o uso de marcadores de DNA e sequenciamento genético. Esses ancestrais são diploides selvagens e que em combinação deram origem às cultivares comestíveis. No caso do subgrupo Prata, infere-se que tenha sido originado do cruzamento natural entre diploides do subgrupo *Mlali* e *Musa balbisiana*. Dessa forma, os diploides pertencentes a esse subgrupo têm potencial de uso em cruzamentos visando desenvolver novas cultivares do subgrupo Prata.

A Embrapa Mandioca e Fruticultura possui uma coleção de germoplasma com aproximadamente 370 acessos, muitos dos quais são diploides selvagens coletados nos centros de origem de *Musa* spp. no qual o subgrupo *Mlali* também se encontra representado, nesse caso pelos diploides Akondro Mainty e Tuu Gia. Esse último, coincidentemente, é um dos parentais do diploide melhorado 086079, que apresentou alta relação S/C em cruzamento com a cultivar Pacovan (Tabela 7). Da mesma forma, o diploide 117100, com *background* genético de Tuu Gia, em cruzamento com a cultivar Prata-Anã, também apresentou alta relação S/C (Tabela 8); portanto, devem-se aumentar os cruzamentos envolvendo esses diploides melhorados com as cultivares comerciais Pacovan e Prata-Anã para permitir a identificação de genótipos superiores nas progênies.

Na Tabela 9 estão apresentados, de forma detalhada, os parentais femininos utilizados pelo PMGBP da Embrapa Mandioca e Fruticultura, dando ênfase ao grupo genômico e ao tipo/subgrupo. Pelos dados é possível confirmar que os diploides melhorados foram os parentais femininos mais frequentes e que também produziram o maior número de sementes (36 genótipos diferentes), seguidos pelos diploides selvagens (15 mães diferentes) e híbridos tetraploides do tipo Prata e Pacovan (15 híbridos diferentes), sendo esses últimos em sua grande maioria desenvolvidos pela Embrapa, a exemplo das cultivares BRS Platina, BRS Pacovan Ken, BRS Preciosa,

BRS Japira, entre outras. As duas mães do subgrupo Cavendish indicadas dizem respeito às cultivares FHIA 3 e FHIA 17; às três Gross Michel são os híbridos Bucaneiro, Calypso e Ambrósia; às Maças são os híbridos da série YB e as cultivares BRS Princesa e BRS Tropical. Cultivares comerciais triploides, a exemplo de Maça, Plátanos (Banana da Terra) e Prata-Anã também são utilizados, porém em menor número, a saber: Prata-Anã, Pacovan, Prata Ponta Aparada, Prata São Domingos, Prata São Tomé, e Prata Santa Maria.

Os dez principais parentais femininos utilizados entre o período de 1996 e 2010 e entre 2011 e 2016 estão apresentados na Tabela 10. Esta distinção justifica-se em função do novo direcionamento adotado pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa a partir de 2011, onde os cruzamentos passaram a ser priorizados envolvendo mães tetraploides, visando desenvolver triploides secundários. A partir dessa decisão, os diploides melhorados que representavam 100% das mães até 2010 foram reduzidos para 40% a partir de 2011 (Tabela 11). Nesse segundo período, observou-se maior produção de sementes quando se fez uso das cultivares do tipo Maça como mães (BRS Princesa e híbridos da série YB). Outros híbridos utilizados foram do tipo Pacovan e Gross Michel. Os parentais masculinos utilizados nos cruzamentos entre os anos de 1996 a 2016 somam 68 tipos diferentes, todos diploides, sendo 43 melhorados, 23 selvagens, um da subespécie Zebrina e um híbrido AB (Tabela 11). Os dez principais parentais masculinos utilizados entre o período de 1996 a 2010 e entre 2011 a 2016 estão apresentados na Tabela 12. Percebe-se claramente que o diploide Calcutta 4 e os híbridos com seu *background* genético foram os que mais produziram sementes, independente do período analisado, reforçando o potencial desse diploide em cruzamentos.

Considerando a existência de uma série histórica sobre a produção de sementes de banana pelo programa de melhoramento da Embrapa (20 anos) e informações meteorológicas coletadas *in loco*, buscou-se identificar alguma possível associação entre a produção de sementes e a temperatura observada no município de Cruz das Almas entre os anos de janeiro de 1996 a março de 2016.

Por meio da Figura 1 é possível observar uma tendência no que diz respeito ao aumento no volume de sementes produzidas associada com a época de realização dos cruzamentos. Considerando que entre a polinização e a colheita/identificação das sementes, em média, são necessários 90 dias, com base

nas informações obtidas a partir dos registros eletrônicos da série histórica entre janeiro de 1996 e março de 2016 (dados não apresentados), pode-se inferir que aqueles cruzamentos realizados no período onde as temperaturas tendem a ser mais baixas, a produção de sementes é aumentada. Esse fato é reforçado pela regressão apresentada na Figura 2, onde aproximadamente 57% da variação observada na produção de sementes é explicada pela redução na temperatura mínima observada. Com base nessas informações sugere-se concentrar e aumentar o número de cruzamentos nos meses de março a junho de cada ano e evitar os meses de outubro a dezembro.

CONCLUSÕES

- Durante o período de janeiro de 1996 a março de 2016 houve uma produção de 189.865 sementes oriundas de cruzamentos envolvendo genótipos di-, tri- e tetraploides desenvolvidos pelo programa de melhoramento genético de banana e plátanos da Embrapa Mandioca e Fruticultura.
- Os cruzamentos realizados durante o levantamento histórico a série histórica (1996-2016) apresentam distribuição de 35,50% envolvendo apenas diploides; 27,97% entre triploides e diploides; e 36,53% entre tetraploides e diploides.
- A cultivar Calcutta 4 está presente no *background* genético da maioria dos diploides melhorados que produzem maior volume de sementes em cruzamentos com cultivares comerciais.
- Sugere-se concentrar o número de cruzamentos nos meses de março a junho de cada ano e evitar os meses de outubro a dezembro, devido à maior probabilidade de se obter sementes.

REFERÊNCIAS

ALVES, E. J.; SHEPHERD, K.; FERREIRA, F. R. **Cultivares de banana caracterizadas e avaliadas no Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura**. Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMPF. 8 p. (EMBRAPA-CNPMPF. Comunicado técnico, 5), 1985.

AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, V. B. O.; FERREIRA, C. F.; SILVA, S. O. Banana Breeding at Embrapa Cassava and Fruits. **Acta Horticulturae**, v. 986, p.171-176, 2013.

AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, V. B. O.; SILVA, S. O. Melhoramento genético. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. (1ª Ed.). **O agronegócio da banana**, Brasília, DF: Embrapa, p. 171-200, 2016.

BAKRY, F.; REBERDIERE, N. P.; PICHOT, S.; JENNY, C. In liquid medium colchicine treatment induces non chimerical doubled-diploids in a wide range of mono- and interspecific diploid banana clones. **Fruits**, v. 62, p. 3-12, 2007.

COSTA, F. H. S.; PASQUAL, M.; SILVA, S. O. ; SILVA NETO, H. P.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. Poliploidização em ápices caulinares de bananeira e seus efeitos morfofisiológicos *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 8, p. 805-813, 2011.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: < <http://www.fao.org/faostat/en/>>. Acesso em: 13 de janeiro, 2017.

FORTESCUE, J. A.; TURNER, D. W. Reproductive Biology. In: PILLAY, M.; TENKOUANO, A. (Org.). **Banana Breeding: Progress and Challenges**. New York: CRC Press, p. 145-179, 2011.

HORRY, J. P.; BAKRY, F.; GANRY, J. Creation of varieties through hybridization of diploids. In: GANRY, J. (Ed.). **Breeding banana and plantain for resistance to**

diseases and pests: proceedings of the International Symposium on Genetic Improvement of Bananas for resistance to Disease and Pests. Montpellier: Cirad, p. 293-299, 1993.

PERRIER, X.; DE LANGUE, E.; DONOHUE, M.; LENTFER, C.; VRYDAGHS, L.; BAKRY, F.; CARREEL, F.; HIPPOLYTE, I.; HORRY, J. P.; JENNY, C.; LEBOT, V.; RISTERUCCI, A. M.; TOMEKPE, K.; DOUTRELEPONT, H.; BALL, T.; MANWARING, J.; DE MARET, P.; DENHAM, T. Multidisciplinary perspectives on banana (*Musa* spp.) domestication. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 28, p. 11311-11318, 2011.

PLOETZ, R. C.; EVANS, E. A. The Future of Global Banana Production. **Horticultural Reviews**, v. 43, p. 311-343, 2015.

ROWE, P.; ROSALES, F. E. Current approaches and future opportunities for improving Gros Michel (AAA Desert) Bananas. In: FRISON, E. A.; HORRY, J. P.; WAELE, D. de (Ed.). **New frontiers in resistance breeding for nematode, Fusarium and sigatoka:** proceedings of a workshop, 2-5 October, Kuala Lumpur, Malaysia. Montpellier: Inibap, p. 119-122, 1996.

SHEPHERD, K. Banana research at ICTA. **Tropical Agriculture**, v. 51, n. 4, p. 485-489, 1974.

SHEPHERD, K.; DANTAS, J. L. L.; SILVA, S. O. Breeding of Prata and Maçã cultivars for Brazil. In: INTERNATIONAL NETWORK FOR THE IMPROVEMENT OF BANANA AND PLANTAIN (Montpellier, França). **The improvement and testing of *Musa*:** a global partnership. Montpellier, p. 157-168, 1994.

SILVA, S. O.; MATOS, A. P.; ALVES, E. J. Melhoramento genético da bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n.5, p.693-703. 1998.

SILVA, S. O.; K. M. SILVA.; BORGES, M. F.; OLIVEIRA, R. P. Pollination and culture of banana embryos. **Infomusa**, Montpellier, v 8, n. 1, p 24-26, 1999.

SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A.; BORGES, A. L. Cultivares. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. (1ª Ed.). **O agronegócio da banana**, Brasília, DF: Embrapa, p. 111-136, 2016a.

SILVA, T. S. M.; COELHO FILHO, M. A.; COELHO, E. F. **Boletim meteorológico da estação convencional de Cruz das Almas, BA: variabilidade e tendências climáticas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, (Documento 216), 79 p., 2016b.

TOMEKPE, K.; ROWE, P.; DU MONTCEL, H.T.; VUYLSTEKE, D. Plantain and popoulou/maia maoli breeding: current approaches and future opportunities. In: FRISON, E. A.; HORRY, J. P.; WAELE, D. de. (Ed.). **New frontiers in resistance breeding for nematode, Fusarium and sigatoka**: proceedings of a workshop, 2-5 October 1995, Kuala Lumpur, Malaysia. Montpellier: Inibap, p. 164-172, 1996.

TENKOUANO, A.; PILLAY, M.; ORTIZ, R. Breeding Techniques. In: Michael Pillay; Abdou Tenkouano. (Org.). **Banana Breeding: Progress and Challenges**. New York: **CRC Press**, p. 181-202, 2011.

VUYLSTEKE, D.; ORTIZ, R.; SWENNEN, R. Genetic Improvement of Plantains at the International Institute of Tropical Agriculture (IITA). In: GANRY, J. (Ed.). **Breeding banana and plantain for resistance to diseases and pests**: proceedings of the Internacional Symposium on Genetic Improvement of Bananas for resistance to Disease and Pests. Montpellier: Cirad, p. 267-282, 1993.

WONG, C.; KIEW, R.; ARGENT, G.; SET, O.; LEE, S. K.; GAN, Y. Y. Assessment of the validity of the sections in *Musa* (Musaceae) using AFLP. **Annals of Botany**, v. 90, n. 2, p. 231-238, 2002.

Tabela 1: Parentais masculinos utilizados em cruzamentos de banana pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa Mandioca e Fruticultura com as cultivares Pacovan e Prata-Anã entre os anos de 1982 e 1992. Cruz das Almas, 2017.

Parentais ♂\♀	Frutos cruzados (F)	Sementes (S)	S/100F
Pacovan			
Tipo selvagem			
Calcutta 4	29.942	3.348	11,18
Buitenzorg	6.946	259	3,73
Madang	5.544	380	6,85
Pahang	762	204	26,77
Cultivar			
Lidi	30.419	772	2,54
Madu	7.723	68	0,88
S/Nº2	2.284	5	0,22
Híbrido			
003004	22.591	1.170	5,18
M53	97.812	1.874	1,92
Total	204.023	8.080	$\bar{x} = 3,96$
Prata-Anã			
Tipo selvagem			
Calcutta 4	7.314	68	0,93
Buitenzorg	2.524	13	0,52
Madang	3.818	12	0,31
Pahang	-	-	-
Cultivar			
Lidi	17.851	37	0,21
Madu	2.934	0	-
S/Nº2	-	-	-
Híbrido			
003004	14.003	23	0,16
M53	136.666	138	0,10
Total	185.110	291	$\bar{x} = 0,93$

Tabela adaptada de Shepherd et al. (1994). S/100F: Sementes por 100 frutos.

Tabela 2: Cruzamentos entre diploides e entre diploides e triploides do tipo Prata* e Maçã** realizados pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa Mandioca e Fruticultura entre os anos 1993 e 1995. Cruz das Almas, 2017.

Ano	Frutos cruzados (F)	Sementes (S)	S/100F
Diploides			
1993	741	2.914	25,43
1994	4.785	17.929	26,69
1995	6.549	85.154	7,69
Total	12.075	105.997	$\bar{x} = 11,39$
Prata/Maçã			
1993	5.184	51	0,98
1994	8.145	175	2,15
1995	19.382	268	1,38
Total	32.711	494	$\bar{x} = 1,50$

* Prata Comum, Prata Ponta Aparada, Pacovan e Prata Santa Maria; ** Yangambi n^o2. Tabela adaptada de Silva et al. (1999). S/100F: Sementes por 100 frutos.

Tabela 3: Número de cruzamentos, número de sementes, relação número de sementes por número de cruzamentos, número e porcentagem dos cruzamentos realizados com di-, tri- e tetraploides pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa Mandioca e Fruticultura no período de janeiro de 1996 a março de 2016. Cruz das Almas, 2017.

Ano	Número de Cruzamentos (C)	Número de Sementes (S)	S/C	di- x di-	tri- x di-	tetra- x di-
				Número de Cruzamentos (%)		
1996	298	5.209	17,48	51 (17,11)	247 (82,89)	-
1997	293	903	3,08	98 (33,44)	195 (66,56)	-
1998	202	280	1,38	25 (12,37)	177 (87,63)	-
1999	6	689	114,83	4 (66,67)	2 (33,33)	0 (0,00)
2000	82	6.756	82,39	62 (75,61)	1 (1,22)	19 (23,17)
2001	205	28.845	140,71	130 (63,41)	20 (9,76)	55 (26,83)
2002	231	32.021	138,62	181 (78,35)	34 (14,72)	16 (6,93)
2003	125	13.340	106,72	88 (70,40)	12 (9,60)	25 (20,00)
2004	168	23.782	141,56	107 (63,69)	7 (4,17)	54 (32,14)
2005	96	10.362	107,94	47 (48,96)	41 (42,71)	8 (8,33)
2006	156	11.490	73,65	107 (68,59)	31 (19,87)	18 (11,54)
2007	163	20.009	122,75	85 (52,15)	44 (26,99)	34 (20,86)
2008	39	1.127	28,90	19 (48,72)	0 (0,00)	20 (51,28)
2009	32	4.427	138,34	20 (62,50)	1 (3,13)	11 (34,38)
2010	36	3.230	89,72	21 (58,33)	1 (2,78)	14 (38,89)
2011	115	3.385	29,43	9 (7,83)	17 (14,78)	89 (77,39)
2012	80	1.360	17,00	14 (17,50)	3 (3,75)	63 (78,75)
2013	244	6.541	26,81	19 (7,79)	19 (7,79)	206 (84,43)
2014	372	11.082	29,79	27 (7,26)	24 (6,45)	321 (86,29)
2015	228	4.729	20,74	23 (10,09)	19 (8,33)	186 (81,58)
2016	35	298	8,51	1 (2,86)	2 (5,71)	32 (91,43)
Total	3.206	189.865	$\bar{x} = 59,22$	1.138 (35,50)	897 (27,97)	1.171 (36,53)

di-: diploide; tri-: triploide; tetra-: tetraploide.

Tabela 4: Principais parentais femininos e masculinos utilizados pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa Mandioca e Fruticultura quanto ao tipo, grupo genômico, número de sementes, número de cruzamentos e relação número de sementes por número de cruzamentos no período de janeiro de 1996 a março de 2016. Cruz das Almas, 2017.

	Parental	Tipo	Grupo Genômico	Número de Sementes (S)	Número de Cruzamentos (C)	S/C
Feminino	091079 [(Borneo x Guyod) x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	Diploide Melhorado	AA	14.005	42	333,50
	003043 (Calcutta 4 x Niyarma Yik)	Diploide Melhorado	AA	13.264	32	414,50
	BRS Princesa	Híbrido tetraploide	AAAB	12.844	293	43,84
	013018 (Malaccensis x Sinwobogi)	Diploide Melhorado	AA	12.799	49	261,20
	Calcutta 4	Selvagem	AA	12.381	48	257,90
	073041 [Khai x (Calcutta 4 x Madang)]	Diploide Melhorado	AA	12.189	50	243,80
	003115 (Calcutta 4 x Berlin)	Diploide Melhorado	AA	9.594	62	154,70
	017041 [Jari Buaya x (Calcutta 4 x Madang)]	Diploide Melhorado	AA	8.690	94	92,45
	013004 (Malaccensis x Madang)	Diploide Melhorado	AA	8.086	24	336,90
	Híbrido da série YB	Híbridos tetraploides	AAAB	7.575	231	32,79
Masculino	F2P2	Diploide Melhorado	AA	18.522	113	163,90
	013019 (Malaccensis x Tjau Lagada)	Diploide Melhorado	AA	12.292	143	90,35
	042015 (M53 x Madu)	Diploide Melhorado	AA	12.799	135	94,81
	043041 [(Niyarma Yik x (Calcutta 4 x Madang)]	Diploide Melhorado	AA	12.155	91	133,60
	042079 [M53 x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	Diploide Melhorado	AA	8.441	130	64,93
	086079 [(Calcutta 4 x Galeo) x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	Diploide Melhorado	AA	8.234	163	50,52
	013004 (Malaccensis x Madang)	Diploide Melhorado	AA	7.826	79	99,06
	073041 [(Khai x (Calcutta 4 x Madang)]	Diploide Melhorado	AA	7.319	135	54,21
	091081 [(Borneo x Guyod) x (M53 x S/Nº2)	Diploide Melhorado	AA	5.822	96	60,65
	013018 (Malaccensis x Sinwobogi)	Diploide Melhorado	AA	5.784	81	71,41

Tabela 5: Principais cruzamentos utilizados pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa Mandioca e Fruticultura, número de sementes, relação número de sementes por número de cruzamentos no período de janeiro de 1996 a março de 2016. Cruz das Almas, 2017.

Parentais		Número de Sementes (S)	Número de Cruzamentos (C)	S/C
Feminino	Masculino			
003043 (Calcutta 4 x Niyarma Yik)	Calcutta 4	8.615	13	662,69
003115 (Calcutta 4 x Berlin)	Calcutta 4	7.093	28	253,32
091079 [(Borneo x Guyod) x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	042079 [(M53 x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	6.418	7	916,86
003043 (Calcutta 4 x Niyarma Yik)	003043 (Calcutta 4 x Niyarma Yik)	4.259	14	304,21
013018 (Malaccensis x Sinwobogi)	013019 (Malaccensis x Tjau Lagada)	3.665	7	523,57
Calcutta 4	Tjau Lagada	3.113	9	345,89
013018 (Malaccensis x Sinwobogi)	013004 (Malaccensis x Madang)	2.627	9	291,89
003115 (Calcutta 4 x Berlin)	003115 (Calcutta 4 x Berlin)	2.314	27	85,70
073041 [Khai x (Calcutta 4 x Madang)]	013019 (Malaccensis x Tjau Lagada)	2.180	5	436,00
BRS Princesa	091079 [(Borneo x Guyod) x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	2.143	23	93,17
Total		42.427	133	$\bar{x} = 319,00$

Tabela 6: Número de cruzamentos, produção de sementes, relação número de sementes por número de cruzamentos, número e porcentagem dos cruzamentos realizados entre diploides melhorados e selvagens pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa Mandioca e Fruticultura de janeiro de 1996 a março de 2016. Cruz das Almas, 2017.

Ano	C	S	S/C	SE x M		M x M		M x SE		SE x SE	
				C (%)	S	C (%)	S	C (%)	S	C (%)	S
1996	51	4.322	84,74	38 (74,50)	-	13 (25,50)	-	-	-	-	-
1997	98	765	7,08	75 (76,53)	-	23 (23,47)	-	-	-	-	-
1998	25	186	7,44	18 (72,00)	-	7 (28,00)	-	-	-	-	-
1999	4	454	113,5	3 (75,00)	354	0 (0,00)	0	0 (0,00)	0	1 (25,00)	100
2000	62	6.701	108,1	0 (0,00)	0	61 (98,39)	6.101	0 (0,00)	0	1 (1,61)	600
2001	130	28.535	219,5	2 (1,54)	1	126 (96,92)	27.665	2 (1,54)	869	0 (0,00)	0
2002	181	31.711	175,2	12 (6,62)	1.594	132 (72,93)	19.397	15 (8,29)	2.707	22 (12,15)	8.013
2003	88	13.234	150,38	9 (10,23)	2631	68 (77,27)	9.641	2 (2,27)	142	9 (10,23)	820
2004	107	22.178	207,27	14 (13,08)	2.937	85 (79,44)	17.685	3 (2,80)	761	5 (4,67)	795
2005	47	9.808	208,68	5 (10,64)	1.553	38 (80,85)	7.989	0 (0,00)	0	4 (8,51)	266
2006	107	11.252	105,15	3 (2,80)	1.535	98 (91,59)	9.574	4 (3,74)	42	2 (1,87)	101
2007	85	19.663	231,32	1 (1,18)	8	43 (50,59)	3.099	39 (45,88)	15.663	3 (3,53)	893
2008	19	1.083	57,00	0 (0,00)	0	18 (94,74)	1.065	1 (5,26)	18	0 (0,00)	0
2009	20	4.296	214,8	0 (0,00)	0	20 (100,00)	4.296	0 (0,00)	0	0 (0,00)	0
2010	21	3.063	145,85	0 (0,00)	0	21 (100,00)	3.063	0 (0,00)	0	0 (0,00)	0
2011	9	519	57,67	5 (55,56)	303	4 (44,44)	216	0 (0,00)	0	0 (0,00)	0
2012	14	229	16,35	13 (92,86)	226	0 (0,00)	0	1 (7,14)	3	0 (0,00)	0
2013	19	1.448	76,21	0 (0,00)	0	19 (100,00)	1.448	0 (0,00)	0	0 (0,00)	0
2014	27	1.257	46,55	8 (29,63)	125	19 (70,37)	1.132	0 (0,00)	0	0 (0,00)	0
2015	23	290	12,60	19 (82,61)	204	2 (8,70)	52	2 (8,70)	34	0 (0,00)	0
2016	1	4	4	1 (100,00)	4	0 (0,00)	0	0 (0,00)	0	0 (0,00)	0
Total	1.138	160.998	141,47	226 (19,85)	11.475	796 (69,94)	112.423	69 (6,06)	20.239	47 (4,13)	11.588

C: número total de cruzamentos; S: número total de sementes; SE: diploide selvagem; M: diploide melhorado;

Tabela 7: Produção anual de sementes, quantidade de cruzamentos e relação número de sementes por número de cruzamentos entre a cultivar Pacovan e diferentes diploides melhorados desenvolvidos pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa Mandioca e Fruticultura de janeiro de 1996 a março de 2016. Cruz das Almas, 2017.

Parental masculino	S	C	S/C
003004 (Calcutta 4 x Madang)	22	3	7,33
005012 (Pahang x Lidi)	12	9	1,33
013004 (Malaccensis x Madang)	4	1	4,00
013018 (Malaccensis x Sinwobogi)	88	4	22,00
013019 (Malaccensis x Tjau Lagada)	2	1	2,00
028003 (Tuu Gia x Calcutta 4)	11	6	1,83
041054 [(Calcutta 4 x Madang) x (Borneo x Madang)]	3	7	0,43
042015 (M53 x Madu)	12	7	1,71
042049 (M53 x M48)	13	5	2,60
042052 (M53 x Kumburgh)	148	18	8,22
042079 [(M53 x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	6	4	1,50
058054 [(Calcutta 4 x Pahang) x (Borneo x Madang)]	8	4	2,00
073041 [(Khai x (Calcutta 4 x Madang)]	59	13	4,54
086079 [(Calcutta 4 x Galeo) x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	209	14	14,93
087079 [(Calcutta 4 x Heva) x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	3	3	1,00
089087 [(Malaccensis x Sinwobogi) x (Calcutta 4 x Heva)]	67	6	11,17
091079 [(Borneo x Guyod) x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	10	4	2,50
091087 [(Borneo x Guyod) x (Calcutta 4 x Heva)]	3	2	1,50
091094 [(Borneo x Guyod) x SH 3263]	13	1	13,00
F2P2	13	4	3,25
SH 3363	6	1	6,00
TH 0301	6	1	6,00
Total	718	118	$\bar{x} = 6,08$

C: número total de cruzamentos; S: número total de sementes;

Tabela 8: Produção anual de sementes, quantidade de cruzamentos e relação número de sementes por número de cruzamentos entre a cultivar Prata-Anã e diferentes diploides melhorados desenvolvidos pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa Mandioca e Fruticultura de janeiro de 1996 a março de 2016. Cruz das Almas, 2017.

Parental masculino	Nº de Cruzamentos (C)	Nº de sementes (S)	S/C
001016 (Borneo x Guyod)	3	2	1,50
003004 (Calcutta 4 x Madang)	1	1	1,00
003037 (Calcutta 4 x Galeo)	3	1	3,00
003043 (Calcutta 4 x Niyarma Yik)	86	1	86,00
005012 (Pahang x Lidi)	5	4	1,25
013004 (Malaccensis x Madang)	7	6	1,17
013018 (Malaccensis x Sinwobogi)	2	2	1,00
013019 (Malaccensis x Tjau Lagada)	4	2	2,00
017041 [Jari Buaya x (Calcutta 4 x Madang)]	6	5	1,20
028003 (Tuu Gia x Calcutta 4)	5	4	1,25
041054 [(Calcutta 4 x Madang) x (Borneo x Madang)]	10	10	1,00
042015 (M53 x Madu)	8	10	0,80
042049 (M53 x M48)	6	4	1,50
042052 (M53 x Kumburgh)	44	12	3,67
042079 [(M53 x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	12	7	1,71
058054 [(Calcutta 4 x Pahang) x (Borneo x Madang)]	11	10	1,10
073041 [(Khai x [Calcutta 4 x Madang)]	50	15	3,33
087079 [(Calcutta 4 x Heva) x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	36	9	4,00
089087 [(Malaccensis x Sinwobogi) x (Calcutta 4 x Heva)]	16	4	4,00
091079 [(Borneo x Guyod) x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	79	14	5,64
091087 [(Borneo x Guyod) x (Calcutta 4 x Heva)]	5	4	1,25
106117 [(Khai x (Calcutta 4 x Madang)) x [(Borneo x Guyod) x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	50	1	50,00
117100 [(Borneo x Guyod) x (Tuu Gia x Calcutta 4)] x [(Khai x (Calcutta 4 x Madang)]	100	1	100,00
F2P2	12	9	1,33
SH 3363	15	7	2,14
TH 0301	2	2	1,00
Total	578	147	$\bar{x} = 3,93$

C: número total de cruzamentos; S: número total de sementes;

Tabela 9: Grupo genômico, tipo/subgrupo, número de parentais femininos, número de sementes, número de cruzamentos e relação entre número de sementes por número de cruzamentos obtidos pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa Mandioca e Fruticultura no período de janeiro de 1996 a março de 2016. Cruz das Almas, 2016.

Grupo Genômico	Tipo/Subgrupo	Parentais	S	C	S/C
AA	Diploide melhorado	36	132.562	823	161,07
	Ornata	1	100	1	100,00
	Ouro	1	43	12	3,58
	Selvagem	15	22.567	124	181,99
	Zebrina	1	147	2	73,50
AAA	Ibota	1	187	21	8,90
	Selvagem	1	135	1	135,00
AAAA	Cavendish	2	204	52	3,92
	Gros Michel	3	992	72	13,78
AAAB	Gros Michel	1	273	27	10,11
	Maçã	3	20.918	571	36,63
	Pacovan/Prata	15	2.774	449	6,18
AAB	Maçã	2	365	47	7,77
	Mysore	1	172	14	12,29
	Plátano	2	4	2	2,00
	Prata	6	1.824	193	9,45
BB	Selvagem	2	206	2	103,00
Total		93	183.473	2.413	$\bar{x} = 76,04$

C: número total de cruzamentos; S: número total de sementes;

Tabela 10: Principais parentais femininos utilizados pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa Mandioca e Fruticultura, tipo, grupo genômico, número de sementes, número de cruzamentos e relação entre o número de sementes por número de cruzamentos no período de janeiro de 1996 a março de 2016. Cruz das Almas, 2017.

Período	Parentais	Tipo	Grupo Genômico	S	C	S/C
1996-2010	003115 (Calcutta 4 x Pahang)	Diploide melhorado	AA	14.295	61	234,34
	017041 [(Jari Buaya x (Calcutta 4 x Madang)]	Diploide melhorado	AA	12.326	94	131,13
	073041 [(Khai x (Calcutta 4 x Madang)]	Selvagem	AA	9.298	49	189,76
	013018 (Malaccensis x Sinwobogi)	Diploide melhorado	AA	8.288	40	207,20
	003004 (Calcutta 4 x Madang)	Diploide melhorado	AA	2.991	22	135,95
	001016 (Borneo x Guyod)	Diploide melhorado	AA	2.828	12	202,00
	041054 [(Calcutta 4 x Madang) x (Borneo x Madang)]	Diploide melhorado	AA	2.636	29	90,90
	091079 [(Borneo x Guyod) x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	Diploide melhorado	AA	2.535	42	60,36
	003037 (Calcutta 4 x Galeo)	Diploide melhorado	AA	2.518	29	86,83
	003043 (Calcutta 4 x Niyarma Yik)	Diploide melhorado	AA	1.682	32	52,56
2011-2016	BRS Princesa	Maçã	AAAB	12.792	293	43,65
	Híbrido da série YB	Maçã	AAAB	5.905	165	35,79
	Híbrido de Pacovan	Pacovan	AAAB	898	32	28,06
	013018 (Malaccensis x Madang)	Diploide melhorado	AA	807	9	89,67
	Ambrósia	Gross Michel	AAAA	529	27	19,60
	091094 [(Borneo x Guyod) x SH 3263]	Diploide melhorado	AA	422	4	105,5
	Tropical	Maçã	AAAB	494	46	10,74
	Tong Dok Mak	Diploide selvagem	AA	443	13	34,08
	086094 [(Calcutta 4 x Galeo) x SH 3263]	Diploide melhorado	AA	412	7	89,67
	Bucaneiro	Gross Michel	AAAA	325	27	12,04

C: número total de cruzamentos; S: número total de sementes;

Tabela 11: Grupo genômico, tipo/subgrupo, número de parentais masculinos diferentes, número de sementes, número de cruzamentos e relação entre número de sementes por número de cruzamentos realizados pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa Mandioca e Fruticultura no período de janeiro de 1996 a março de 2016. Cruz das Almas, 2017.

Grupo genômico	Tipo	Parentais	S	C	S/C
AA	Diploide melhorado	43	143.873	2.005	71,76
	Selvagem	23	38.592	398	96,96
AB	Zebrina	1	750	2	375,00
	Híbrido	1	258	8	32,25
Total		68	183.473	2.413	$\bar{x} = 76,04$

C: número total de cruzamentos; S: número total de sementes;

Tabela 12: Principais parentais masculinos utilizados pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa Mandioca e Fruticultura, tipo, grupo genômico, número de sementes, número de cruzamentos e relação entre o número de sementes por número de cruzamentos no período de janeiro de 1996 a março de 2016. Cruz das Almas, 2017.

Período	Parentais	Tipo	Grupo Genômico	S	C	S/C
1996-2010	Calcutta 4	Selvagem	AA	17.142	55	311,67
	042015 (M53 x Madu)	Diploide Melhorado	AA	12.539	124	101,12
	013019 (Malaccensis x Tjau Lagada)	Diploide Melhorado	AA	11.873	62	191,50
	042079 [M53 x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	Diploide Melhorado	AA	11.807	60	196,78
	042052 (M53 x Kumburgh)	Diploide Melhorado	AA	8.222	118	69,68
	013004 (Malaccensis x Calcutta 4)	Diploide Melhorado	AA	7.502	56	133,96
	073041 [(Khai x (Calcutta 4 x Madang))]	Diploide Melhorado	AA	6.064	68	89,18
	017041 [Jari Buaya x (Calcutta 4 x Madang)]	Diploide Melhorado	AA	5.059	49	103,24
	058054 [(Calcutta 4 x Pahang) x (Borneo x Madang)]	Diploide Melhorado	AA	4.980	56	88,93
	SH 3363	Diploide Melhorado	AA	4.857	33	147,18
2011-2016	Lidi	Selvagem	AA	3.107	101	30,76
	086094 [(Calcutta 4 x Galeo) x SH 3263]	Diploide Melhorado	AA	2.545	96	26,51
	058054 [(Calcutta 4 x Pahang) x (Borneo x Madang)]	Diploide Melhorado	AA	2.395	79	30,32
	091079 [(Borneo x Guyod) x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	Diploide Melhorado	AA	2.360	40	59,00
	013018 (Malaccensis x Sinwobogi)	Diploide Melhorado	AA	1.689	54	31,28
	073041 [(Khai x (Calcutta 4 x Madang))]	Diploide melhorado	AA	1.619	95	17,04
	Calcutta 4	Selvagem	AA	1.380	58	23,79
	028003 (Tuu Gia x Calcutta 4)	Diploide Melhorado	AA	1.309	85	15,40
	086079 [(Calcutta 4 x Galeo) x (Tuu Gia x Calcutta 4)]	Diploide Melhorado	AA	1.212	38	31,89
	Pisang Jaran	Selvagem	AA	1.169	38	30,76

C: número total de cruzamentos; S: número total de sementes;

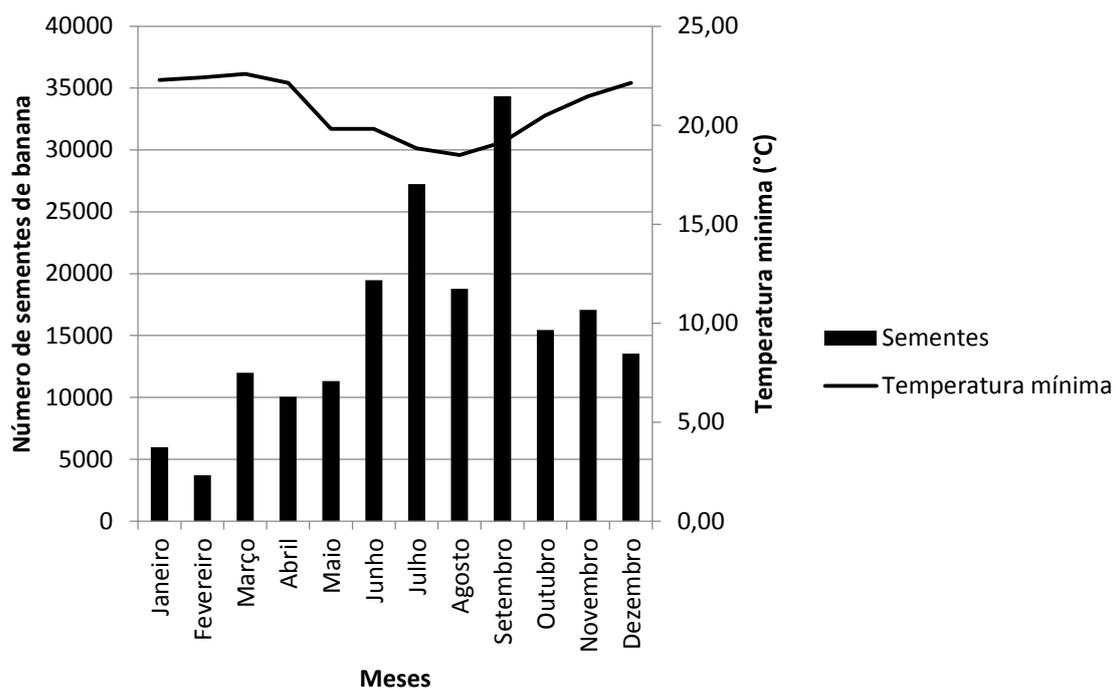


Figura 1: Volume mensal de sementes de banana produzidas pelo PMGBP com relação à temperatura mínima entre janeiro de 1996 e março de 2016. Cruz das Almas, 2017.

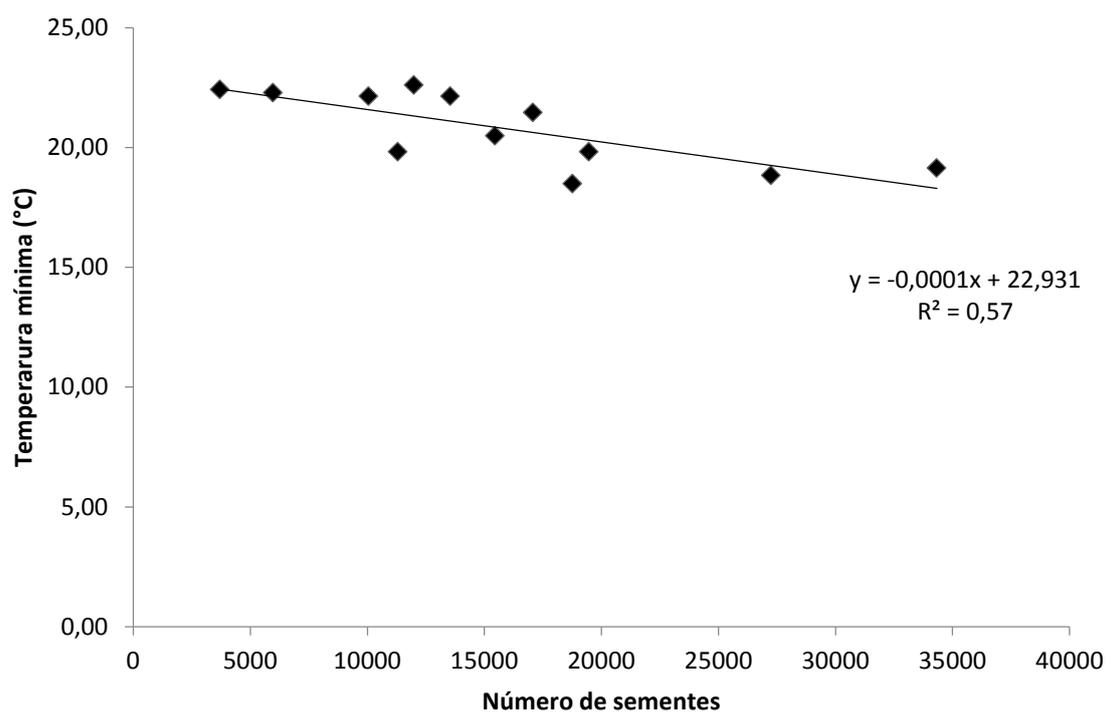


Figura 2: Regressão linear da produção mensal de sementes de banana pelo PMGBP com relação à média da temperatura mínima entre janeiro de 1996 e março de 2016. Cruz das Almas, 2017.

CAPÍTULO II

RESGATE E CULTIVO *IN VITRO* DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS DE BANANA: GUIA ILUSTRADO

RESGATE E CULTIVO *IN VITRO* DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS DE BANANA: GUIA ILUSTRADO

RESUMO: O cultivo *in vitro* de embriões zigóticos é uma prática cada vez mais utilizada em diversas culturas por reduzir o tempo de germinação das sementes, a partir da superação da dormência e regeneração de plântulas. No gênero *Musa* spp. a germinação de sementes é variável, devido as barreiras físicas, fisiológicas e genéticas. A dificuldade de obtenção de sementes via cruzamentos entre di-, tri e tetraploides de bananeira vêm aumentando o interesse em pesquisas sobre a germinação *in vitro* de embriões zigóticos, uma vez que a maioria das sementes de *Musa* spp. apresentam alguma anomalia, seja pela ausência ou deformação do embrião e/ou do endosperma. Devido à mortalidade das sementes causada por essas anomalias, antes mesmo da germinação *in vivo*, a cultura de embriões torna-se uma estratégia que possibilita resgatar o embrião antes de sua morte. O cultivo de embriões representa uma ferramenta relevante para o melhoramento genético de *Musa* spp. por promover a germinação de embriões em um curto prazo de tempo e obtenção de novas cultivares. No entanto, há ainda a necessidade de refinamento nessa metodologia para a cultura da bananeira, uma vez que se observam limitações em sua eficiência para algumas combinações parentais. Diante disso, este estudo objetivou elaborar um guia ilustrado, que detalha todas as etapas do resgate e cultivo *in vitro* de embriões zigóticos de banana, assim como propor uma escala ilustrada para a classificação de sementes e embriões dessa fruteira visando auxiliar os programas de melhoramento genético de *Musa* spp.. Quatro classes para a classificação das sementes foram propostas: embrião e endosperma presentes (PP); embrião e endosperma ausentes (AA); embrião presente e endosperma ausente (PA) e embrião ausente e endosperma presente (AP). Somente são selecionadas para o resgate de embriões as sementes da classe PP e PA. No que diz respeito a classificação dos embriões, oito classes foram estabelecidas: 1. Embrião normal; 2. Embrião com base deformada; 3. Embrião base ausente; 4. Embrião com o ápice deformado; 5. Embrião com ápice ausente; 6. Embrião com base e ápice deformados; 7. Embrião oxidado; e 8. Embrião normal de tamanho reduzido.

Palavras-chave: Germinação; *Musa acuminata*; *Musa balbisiana*

RESCUE AND CULTURE *IN VITRO* OF ZYGOTIC EMBRYOS OF BANANA: ILLUSTRATED GUIDE

ABSTRACT: The *in vitro* culture of zygotic embryos is an increasingly used practice in several crops because it reduces the time of germination of the seeds, from the dormancy overcoming and seedling regeneration. The genus *Musa* spp. the variable seed germination due to physical, physiological and genetic barriers. The difficulty of obtaining seeds via crosses between di-, tri-, and tetraploids of banana plants has increased the interest in research on the *in vitro* germination of zygotic embryos, since most of the seeds present some anomaly, either due to absence or deformation of the embryo and/or the endosperm. Due to the seed mortality caused by these anomalies, even before *in vivo* twinning, embryo culture becomes a strategy that enables the embryo to be rescued before its death. The cultivation of embryos represents a relevant tool for the genetic improvement of the banana by promoting the germination of embryos in a short period of time and obtaining new cultivars. However, there is still a need for refinement in this methodology for banana crop, since limitations in its efficiency are observed for some parental combinations. The objective of this study was to elaborate an illustrated guide, which details all stages of the *in vitro* rescue and cultivation of zygotic banana embryos, as well as to propose an illustrated scale for the classification of seeds and embryos of this fruit, in order to help the breeding programs. Four classes for seed classification were proposed: embryo and endosperm presents (PP); embryo and endosperm absents (AA); embryo present and endosperm absent (PA) and embryo absent and endosperm present (AP). Only the seeds of the PP and PN class are selected for embryo rescue. Regarding the classification of the embryos, eight classes were established: 1. Normal embryo; 2. Embryo with deformed base; 3. Embryo with missing base; 4. Embryo with deformed apex; 5. Embryo with absent apex; 6. Embryo with deformed base and apex; 7. Oxidized embryo; and 8. Normal embryo of reduced size.

Key-words: Germination; *Musa acuminata*; *Musa balbisiana*

INTRODUÇÃO

O cultivo *in vitro* de embriões zigóticos tem se tornado uma prática cada vez mais utilizada em diversas culturas por reduzir o tempo de germinação das sementes (CARVALHO e ARAÚJO, 2007; BAKRY, 2008). A técnica de resgate de embriões consiste na superação da dormência de sementes e regeneração de plântulas (CARVALHO e ARAÚJO, 2007; UMA et al., 2011).

O gênero *Musa* spp. apresenta germinação de sementes variável e limitada, devido as barreiras físicas, fisiológicas e genéticas (CHIN, 1996; SILVA et al.; 1999; AHMED et al., 2006). Segundo Chin (1996), as sementes de banana podem variar quanto ao tamanho, a forma e a cor, dependendo da espécie e cultivar, apresentando forma irregular, geralmente achatada, coloração de acinzentada até amarronzada, e casca envolvida por uma membrana escariosa que proporciona rigidez.

A dificuldade de obtenção de sementes viáveis via cruzamentos entre di-, tri e tetraploides de bananeira vêm aumentando o interesse em pesquisas sobre a germinação *in vitro* de embriões zigóticos, uma vez que a maioria das sementes apresentam alguma anomalia, seja pela ausência ou deformação do embrião e/ou do endosperma (SILVA et al., 2013). Devido à mortalidade das sementes causada por essas anomalias, antes mesmo da geminação *in vivo*, a cultura de embriões torna-se uma estratégia que possibilita resgatar o embrião antes de sua morte (ASIF et al., 2001). O cultivo *in vitro* de embriões de banana depende também do estágio de maturação do embrião e do meio de cultura utilizado (UMA et al., 2011).

O cultivo de embriões representa uma ferramenta relevante para o melhoramento genético da bananeira por promover a germinação de embriões em um curto prazo de tempo e obtenção de novas cultivares (AHMED et al. 2006).

No entanto, há ainda a necessidade de otimização desta metodologia para a cultura da bananeira, uma vez que se observam limitações em sua eficiência para algumas combinações parentais. Diante disso, este estudo objetivou elaborar um guia ilustrado, que detalha todas as etapas do resgate e cultivo *in vitro* de embriões zigóticos de banana, assim como propor uma escala para a classificação de sementes e embriões dessa fruteira visando auxiliar o programa de melhoramento genético de *Musa* spp..

Etapa 1: Beneficiamento das sementes

As sementes de banana devem ser retiradas dos frutos maduros amarelos (Figura 1) com o auxílio de uma faca e lavadas em água para a retirada de restos de polpa aderidos à superfície das sementes (Figura 2a e 2b).

Etapa 2: Desinfestação das sementes

Após o beneficiamento, as sementes de banana devem ser submetidas a uma lavagem em água corrente e transferidas para um ambiente asséptico, utilizando para isso uma câmara de fluxo laminar, onde as mesmas serão desinfestadas com álcool 70% durante cinco minutos, seguido de imersão em hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo) por mais 30 minutos, finalizando o processo a partir de uma tríplice lavagem com água destilada estéril (Figura 2c e 2d).

Etapa 3: Resgate dos embriões

Após a desinfestação das sementes, realiza-se o resgate de embriões para classificar as sementes e os embriões de banana. Os embriões são excisados das sementes e classificados com o auxílio de um estereoscópio (Figura 2e) sobre um papel estéril, utilizando pinça e bisturi (Figura 2f), sempre em câmara de fluxo laminar para evitar qualquer contaminação.

Etapa 4: Classificação das sementes

Considerando a inexistência de uma escala ilustrada sobre as principais anomalias observadas nas sementes de banana esse trabalho se propõe a estabelecer, pela primeira vez, categorias para classificar os tipos mais comuns de anomalias observadas no embrião, considerando a experiência adquirida no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Mandioca e Fruticultura nos últimos 30 anos.

Na Figura 3 estão apresentados os tipos mais frequentes de sementes observadas após corte longitudinal. Quatro classes são propostas: A) PP: Embrião e

endosperma presentes; B) PA: Embrião presente e endosperma ausente; C) AP: Embrião ausente e endosperma presente; D) AA: Embrião e endosperma ausentes. Somente são selecionadas para o resgate de embriões as sementes da classe PP e PA.

Após a extração dos embriões os mesmos são classificados de acordo com a escala proposta: 1. Embrião normal; 2. Embrião com a base deformada; 3. Embrião com a base ausente; 4. Embrião com o ápice deformado; 5. Embrião com ápice ausente; 6. Embrião com base e ápice deformados; 7. Embrião oxidado; e 8. Embrião normal de tamanho reduzido (Figura 4).

Essa escala é uma proposta de atualização de classificação para o embrião e o endosperma de sementes de *Musa* spp., uma vez que há poucos relatos na literatura sobre o tema.

Etapa 5: Cultivo *in vitro* dos embriões

Os embriões são introduzidos em placas de Petri (25 x 100 mm) (Figura 5a) contendo 10 ml de meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) modificado com reguladores de crescimento vegetal proposto pela Embrapa Mandioca e Fruticultura (Tabelas 1 e 2).

As placas devem ser inicialmente incubadas em câmara de crescimento em condições de escuro e a temperatura de $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (NEVES et al, 2001). A avaliação deve ser realizada diariamente durante 30 a 60 dias após a introdução, visando determinar a qualidade dos embriões no que diz respeito à taxa de germinação. Embriões normalmente iniciam a germinação no escuro a partir do décimo quinto dia após a introdução (BAKRY, 2008) (Figura 5b).

Etapa 6: Crescimento de plântulas *in vitro*

Após a germinação dos embriões, os mesmos são transferidos para tubos de ensaios (25 x 150 mm) contendo 15 ml de meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) modificado sem reguladores vegetal e proposto pela Embrapa Mandioca e Fruticultura para que possam completar o desenvolvimento *in vitro* nas condições de temperatura de $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas e intensidade de luz luminosa de 1.600 lux (NEVES et al. 2002) (Figura 5c). Essa etapa tem duração

aproximada de 60 dias, momento em que as plantas já apresentam sistema radicular desenvolvido (Figura 5d).

Etapa 7: Aclimatização das plântulas

Após o enraizamento *in vitro* (Figura 5e), as plântulas são transferidas para copos plásticos de 200 cm³, contendo substrato esterilizado a base de vermiculita, areia e matéria orgânica (1:1:1), onde permanecem em casa de vegetação até atingirem o tamanho adequado (cerca de 25 a 30 cm de altura e 5 a 6 folhas) (ALVES et al., 2004) (Figura 5f). Após esse período é realizado o transplante para sacos plásticos de 2 litros com o mesmo substrato, onde as plantas são aclimatadas por 30-45 dias e na sequência levadas ao campo para as avaliações agrônômicas (Figura 5g) (ALVES et al., 2004).

REFERÊNCIAS

AHMED, K. Z.; REMI, S.; SÁGI, L.; SWENNEN, R. Germination of *Musa balbisiana* seeds and embryos. In: International Meeting ACORBAT, 17, Joinville, SC. **Anais**. Joinville: ACORBAT, 2006.

ALVES, E. J.; BEZERRA, M. L.; SANTOS-SEREJO, J. A.; TRINDADE, A. V. Propagação. In: BORGES, A. L.; SOUZA, L. da S. (Org.). **A cultura da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p. 59-86, 2004.

AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, V. B. O.; SILVA, S. O. Melhoramento genético. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. (1ª Ed.). **O agronegócio da banana**, Brasília, DF: Embrapa, p. 171-200, 2016.

ASIF, M. J.; MAK, C.; OTHMAN, R. Y. *In vitro* zygotic embryo culture of wild *Musa acuminata* spp. *malaccensis* and factors affecting germination and seedling growth. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 67, p. 267-170, 2001.

BAKRY, F. Banana protocol: Zygotic embryo rescue in bananas. **Fruits, France** vol. 63, p. 111–115. 2008.

CARVALHO, J. M. F. C.; ARAUJO, S. de S. Aplicação do cultivo de embrião zigótico ou imaturo no melhoramento vegetal. Campina Grande: **Embrapa-CNPA**, (Documentos, 170), 2007.

CHIN, H. F. Germination and storage of banana seeds. In: NEW FRONTIERS IN RESISTANCE BREEDING FOR NEMATODE, FUSARIUM AND SIGATOKA WORKSHOP, 1995. Kuala Lumpur. **Proceedings**. Montpellier: International Network for the Improvement of Banana and Plantain, p.218-227, 1996.

MURASHIGE, T; SKOOG, F. A. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 5, p. 473-497, 1962.

NEVES, T. S.; SILVA, S. O.; OLIVEIRA, R. P. Resgate *in vitro* de embriões em genótipos diploides de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 285-290, 2001.

NEVES, T. S.; SILVA, S. O.; OLIVEIRA, R. P. Desenvolvimento *in vitro* de plântulas de diploides de bananeira obtidas a partir de cultura de embriões. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n.1, p. 06-09, 2002.

SILVA, S. O.; SILVA, K. M.; BORGES, M. F.; OLIVEIRA, R. P. Pollination and culture of banana embryos. **Infomusa**, v.8, p. 24-26, 1999.

SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A.; FERREIRA, C. F.; ROGRIGUEZ, M. A. D. Melhoramento genético da bananeira: estratégias e tecnologias disponíveis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, p.919-931, 2013.

UMA, S.; LAKSHMI, S.; SARASWATHI, M. S.; AKBAR, A.; MUSTAFFA, M. M. Embryo rescue and plant regeneration in banana (*Musa* spp. L.). **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 105, p. 105-111, 2011.

Tabela 1: Relação e concentração das soluções-estoque do meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG. 1962) modificado e determinado pela Embrapa Mandioca para cultivo *in vitro* de embriões de banana. Cruz das Almas, 2017.

Componentes	Elementos	Quantidade
Solução-estoque 1: Macronutrientes	Nitrato de Amônia (NH_4NO_3)	82.5 g
	Nitrato de Potássio (KNO_3)	95.0 g
	Sulfato de Magnésio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	18.5 g
	Fosfato de Potássio Monobásico (KH_2PO_4)	8.5 g
Solução-estoque 2: Micronutrientes	Iodeto de Potássio (KI)	41.5 mg
	Ácido Bórico (H_3BO_3)	310.0 mg
	Sulfato de Manganês ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	840.0 mg
	Sulfato de Zinco ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	430.0 mg
	Molibdato de Sódio ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	12.5 mg
	Sulfato de Cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}^*$)	0.5 mL
	Cloreto de Cobalto ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}^*$)	0.5 mL
Solução-estoque 3: Cálcio	Cloreto de Cálcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	22.0 g
Solução-estoque 4: Ferro**	Sulfato de Ferro ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	1.865 g
	$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.390 g
Solução-estoque 5: Vitamina + Hexitol (1000mL)	Tiamina-HCl	5.0 mg
	Piridoxina-HCl	25.0 mg
	Ácido nicotínico	25.0 mg
	Glicina	100.0 mg
	Inositol	5.0 mg
Carboidratos	Sacarose	30 g/L
pH ajustado	-	5.7-5.8
Autoclavagem do meio de cultura	-	20 min. à 120°C

*Para o Sulfato de Cobre e o Cloreto de Cobalto deve-se fazer um sub-estoque, pesando 250.0 mg de cada elemento e dissolver em 100.0 mL de água deionizada. **Para o preparo da solução-estoque 4, o Sulfato de Ferro deve ser aquecido e em seguida deve-se adicionar o $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Para o preparo de 1000 mL de meio de cultura, pesa-se 20 mL de cada estoque.

Tabela 2: Relação e concentração dos reguladores vegetais e agente gelificante utilizados no meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG. 1962) estabelecido pela Embrapa Mandioca e Fruticultura para o cultivo *in vitro* de embriões de banana. Cruz das Almas, 2017.

Tipo de meio	Reguladores de crescimento vegetais		Agente de gelificação
	6-benzilaminopurina-BAP (C ₁₂ H ₁₁ N ₅)	Ácido Giberélico-GA ₃ (C ₁₉ H ₂₂ O ₆)	Phytigel
Meio de germinação	2,0 mg L ⁻¹	0,035 mg L ⁻¹	2,6 g/L
Meio de crescimento	-	-	2,6 g/L

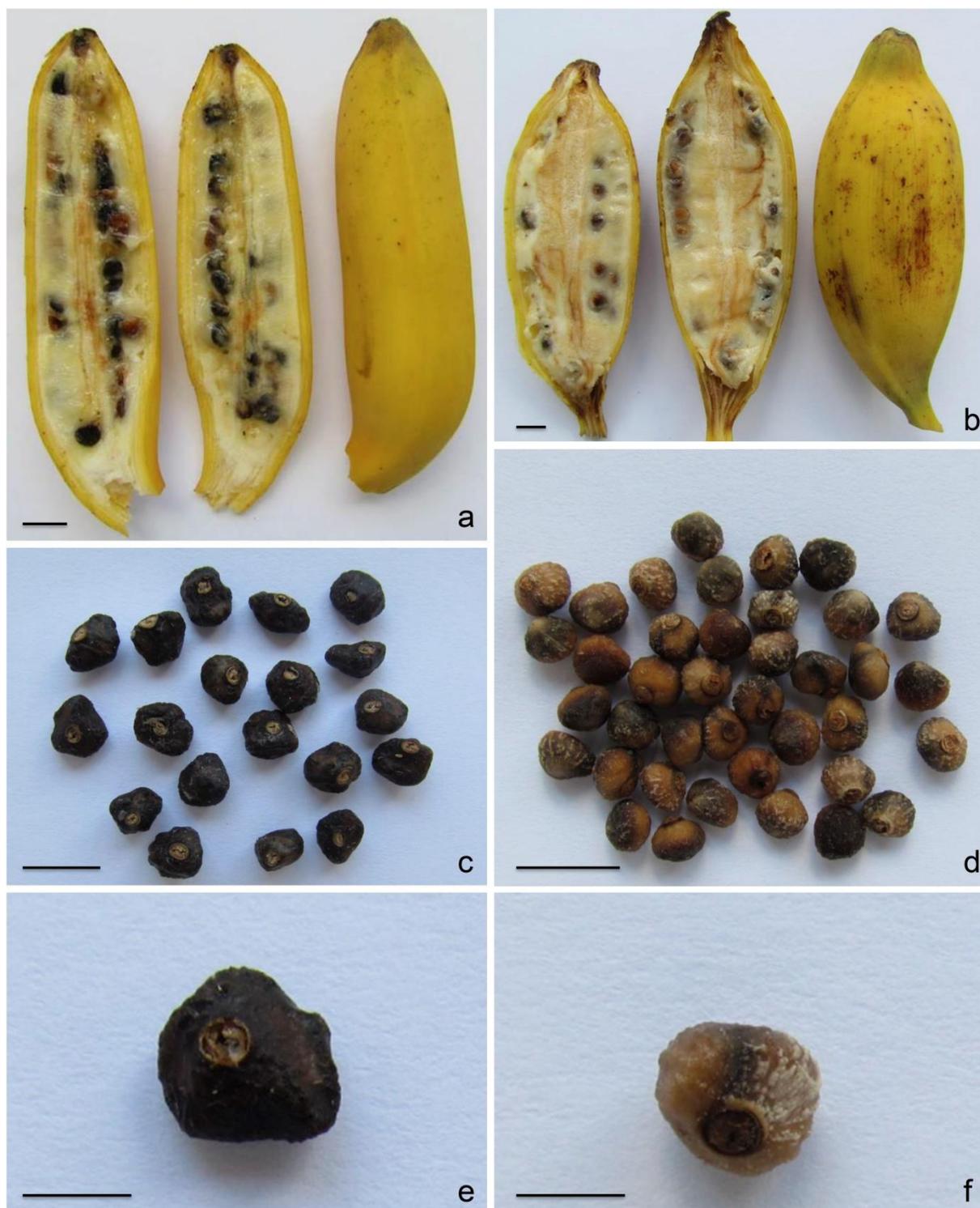


Figura 1: Fruto (a) e sementes (c-e) de *Musa acuminata* e fruto (b) e sementes (d-f) de *Musa balbisiana*. Barra: 1 cm (a-d) e 5 mm (e-f). Cruz das Almas, 2017.



Figura 2: Extração da semente (a), retirada da polpa (b), processo de assepsia em câmara de fluxo laminar (c), sementes prontas para o resgate de embriões (d), semente de banana (*Musa acuminata*) sob um estereoscópio (e) e extração do embrião da semente em câmara de fluxo laminar (f). Cruz das Almas, 2017.

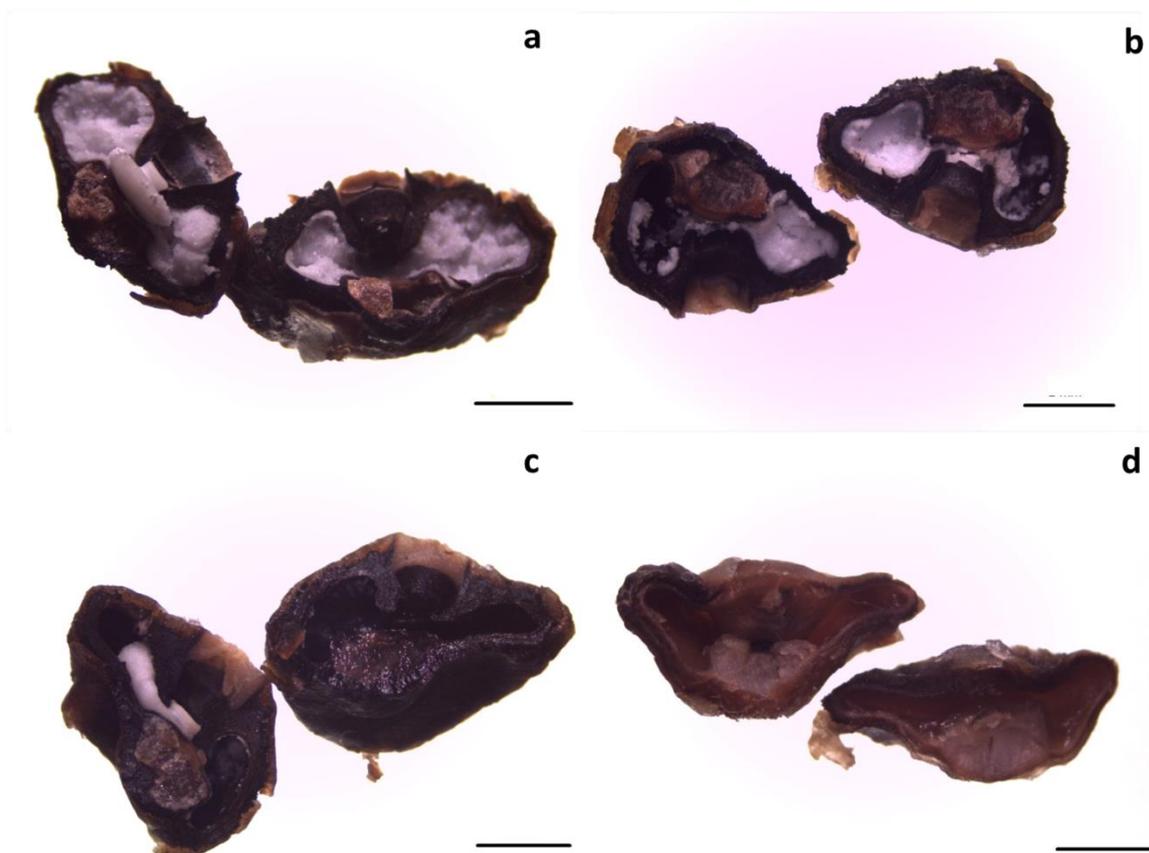


Figura 3: Classificação padronizada do endosperma e do embrião em sementes de *Musa* spp.: a) PP: Embrião e endosperma presentes; b) AP: Embrião ausente e endosperma presente; c) PA: Embrião presente e endosperma ausente; d) AA: Embrião e endosperma ausentes. Barra: 2 mm. Cruz das Almas, 2017.



Figura 4: Classificação padronizada de embriões de *Musa* spp.: a) 1. Embrião normal; b) 2. Embrião com a base deformada; c) 3. Embrião com a base ausente; d) 4. Embrião com o ápice deformado; e) 5. Embrião com ápice ausente; f) 6. Embrião com base e ápice deformados; g) 7. Embrião oxidado; e h) 8. Embrião normal de tamanho reduzido. Barra: 0,5 mm. Cruz das Almas, 2017.

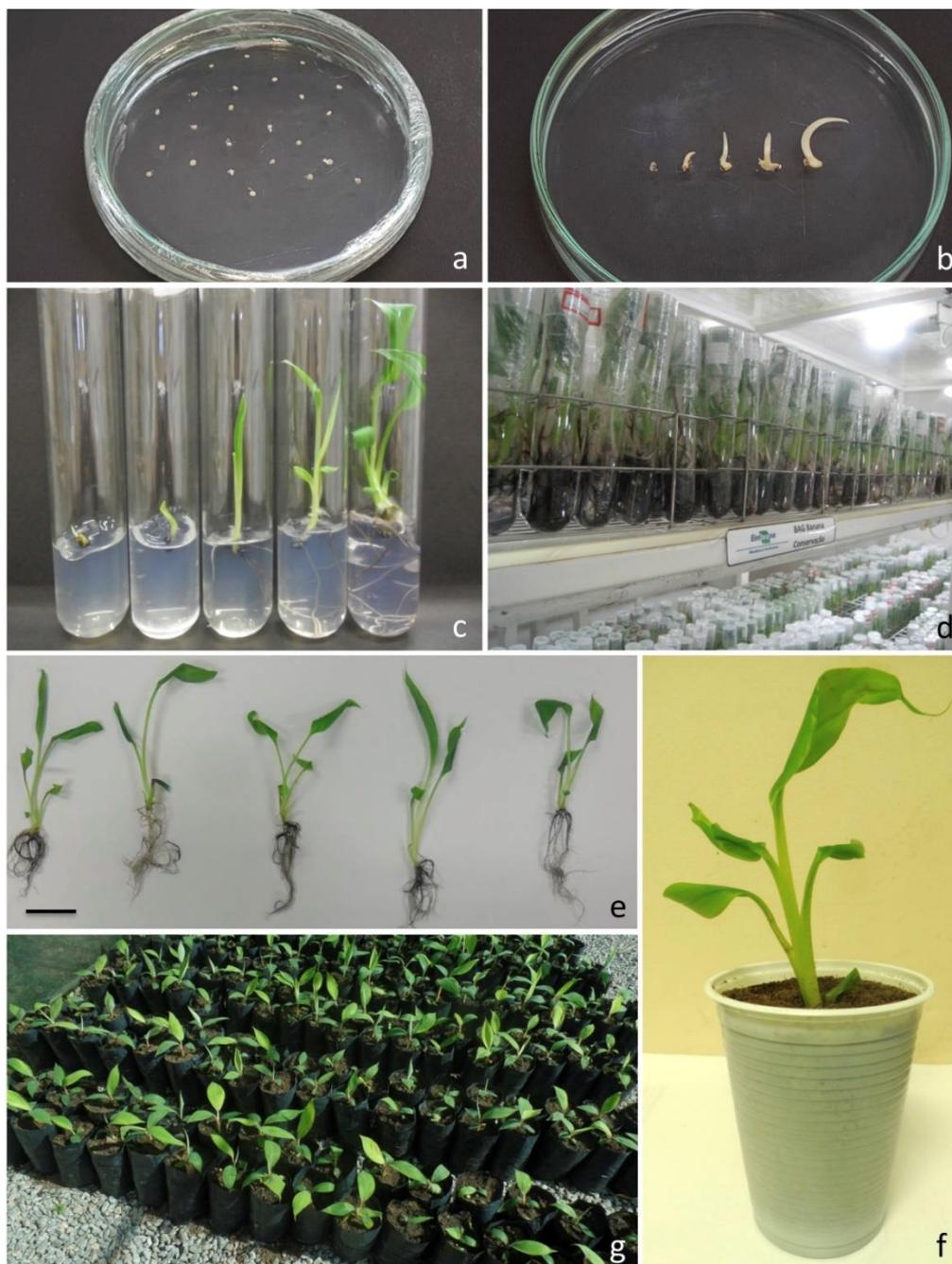


Figura 5: Embriões introduzidos em meio de cultura MS (a), estádios de desenvolvimento *in vitro* de embriões (b) e de plântulas (c), cultivo *in vitro* de plântulas em sala de crescimento em condições de temperatura de $27 \pm 2^\circ \text{C}$, fotoperíodo de 16 horas e intensidade de luz luminosa de 1.600 lux (d), plântulas aptas para aclimação (e), plântulas transferidas para copos plásticos de 200 cm³ (f) e aclimação de plantas de *Musa* spp. em sacos de 2 litros em casa de vegetação (g). Barra: 5 cm. Cruz das Almas, 2017.

CAPÍTULO III

CULTIVO *IN VITRO* DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS DE BANANEIRA SUBMETIDOS À AÇÃO DO ÁCIDO GIBERÉLICO

CULTIVO *IN VITRO* DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS DE *Musa spp.* SUBMETIDOS À AÇÃO DO ÁCIDO GIBERÉLICO

RESUMO: A busca por cultivares resistentes é considerada o meio mais eficiente para o controle de doenças e pragas. Na bananicultura, esses programas desenvolvem novos genótipos a partir da hibridação entre cultivares comerciais tri- e tetraploides e diploides, tendo como resultado desse trabalho a produção de sementes, que são submetidas ao cultivo de embriões para o reestabelecimento de uma nova planta, uma vez que a germinação das sementes de banana em condições naturais é muito limitada. Aliado ao cultivo de embriões, os reguladores de crescimento, entre os quais o ácido giberélico (GA_3), no cultivo *in vitro* desempenham papel fundamental, com destaque para o controle do metabolismo e das respostas das sementes ao meio ambiente, mediando os acontecimentos fisiológicos da germinação e transformando sinais ambientais específicos em respostas bioquímicas. O objetivo desse trabalho foi otimizar o protocolo de cultivo de embriões utilizado pela Embrapa Mandioca e Fruticultura a partir do uso do ácido giberélico (GA_3) como regulador de crescimento vegetal e ajustes no meio de cultura. Foi utilizado um lote constituído de sementes obtidas de frutos amadurecidos naturalmente de cachos de cinco genótipos diploides de bananeira oriundas de quatro polinizações abertas e uma controlada, realizadas pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa. As sementes foram embebidas em solução contendo água e GA_3 , previamente esterilizado com filtro Milipore (0,22 μm), nas seguintes concentrações: 5, 10, 15 e 20 ppm por 24 horas e na sequência foram excisadas por meio de um corte longitudinal para a retirada do embrião. Para o cultivo dos embriões, foi utilizado o meio de cultura MS com modificações. Após a germinação dos embriões, foi realizada a transferência dos mesmos para tubos de ensaios contendo 15 mL do mesmo meio de cultura MS sem reguladores de crescimento. As variáveis analisadas foram: número de dias para início da germinação (NIG); porcentagem de germinação dos embriões (%); tempo médio de germinação (TMG); índice de velocidade de germinação (IVG); altura da planta (ALP, mm); número de folhas (NFL); diâmetro do pseudocaule (DPC, mm); comprimento da raiz (CRA, mm); teor de massa fresca (TMF, g); e teor de massa seca (TMS, g). Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos (concentrações de GA_3) com cinco repetições: cada repetição foi composta por seis parcelas contendo 10 embriões cada, totalizando 300 embriões cultivados *in vitro*. Foi observado um percentual de 44,3% de germinação dos embriões cultivados *in vitro* quando submetidos ao tratamento com 15 ppm de GA_3 , enquanto para o tratamento sem o hormônio foi de 37%, representando um incremento de aproximadamente 20% na germinação das sementes analisadas. O TMG foi reduzido em 13% em comparação com o controle a partir do uso de 5 e 15 ppm (GA_3). Para o IVG, maiores valores foram obtidos para a concentração de 15 ppm de GA_3 indicando efeito positivo e significativo no desempenho da velocidade da germinação dos embriões de banana, superando o tratamento controle em aproximadamente 20%. Para o vigor das plântulas a concentração de 5 ppm de GA_3 promoveu maior eficiência na ALP, DPC e TMF quando comparado com o controle; 15 ppm GA_3 promoveu maior redução no CRA; e para o TMS, a concentração de 20 ppm obteve maior efeito no crescimento das plântulas. As concentrações de GA_3 aplicadas não exercem influência sobre o NFL.

Palavras-chave: GA_3 ; Meio de cultura; Resgate

IN VITRO ZIGOTIC CULTURE OF *Musa* spp. SUBMITTED TO THE ACTION OF GIBBERELIC ACID

ABSTRACT: The search for resistant cultivars, from breeding programs, is considered the most efficient way to control diseases and pests. In banana farming, these programs develop new genotypes from the hybridization between tri- and tetraploid commercial cultivars and diploids, resulting in the production of seeds, which are submitted to the culture of embryos for the reestablishment of a new plant, since the germination of the banana seeds under natural conditions is very limited. In addition to embryo culture, growth regulators, such as gibberellic acid (GA_3), play an important role in *in vitro* cultivation, especially the control of metabolism and seed responses to the environment, mediating the physiological germination and transforming specific environmental signals into biochemical responses. The objective of this work was to optimize the embryo culture protocol used by Embrapa Mandioca and Fruticultura from the use of gibberellic acid (GA_3) as a regulator of plant growth and adjustments in the culture medium. A batch of seeds obtained from naturally matured fruits of five banana diploid genotypes from four open and one controlled pollinations, using the Embrapa banana and plantain genetic improvement program. The seeds were soaked in a solution containing water and gibberellic acid (GA_3), previously sterilized with Milipore filter (0,22 μm), at the following concentrations: 5, 10, 15 and 20 ppm for 24 hours and in the sequence were excised by means of a longitudinal cut for the removal of the embryo. For culture of the embryos, the MS culture medium was used with modifications. After the germination of the embryos, they were transferred to test tubes containing 15 mL of the same MS culture medium without growth regulators. The variables analyzed were: number of days to start germination (NG); percentage of germination of embryos (%); mean germination time (TMG); germination speed index (IVG); plant height (ALP, mm); number of sheets (NFL); diameter of the pseudostem (DPC, mm); root length (CRA, mm); fresh mass (TMF, g); and dry mass content (TMS, g). A completely randomized design with five treatments (concentrations of GA_3) and five replicates was used: each replicate was composed of six plots containing 10 embryos each, totaling 300 embryos cultured *in vitro*. A germination percentage of 44.3% of embryos cultured *in vitro* when submitted to the treatment with 15 ppm of GA_3 was observed, whereas for the treatment without the hormone it was 37%, representing an increase of approximately 20% in the germination of the analyzed seeds. TMG was reduced by 13% compared to the control from the use of 5 and 15 ppm (GA_3). For the IVG, higher values were obtained for the concentration of 15 ppm of GA_3 indicating a positive and significant effect on the germination speed of the banana embryos, exceeding the control treatment by approximately 20%. For seedling vigor the concentration of 5 ppm of GA_3 promoted greater efficiency in ALP, DPC and TMF when compared to control; 15 ppm GA_3 promoted greater non-CRA reduction; And for the TMS, a concentration of 20 ppm obtained greater effect in the growth of the seedlings. As concentrations of GA_3 applied have no influence on the NFL.

Key-words: GA_3 ; Culture medium; Rescue.

INTRODUÇÃO

A bananicultura é atividade agrícola de grande relevância econômica e social, sendo cultivada em regiões tropicais em todo mundo, geralmente por pequenos agricultores. Com uma produção anual de cerca de 114 milhões de toneladas, a banana ocupa a segunda posição na produção mundial de fruteiras, sendo que os frutos não são usados somente *in natura*, mas também são processados de diversas maneiras (e.g. banana passa, doce de banana, banana *chips* e polpa de banana) (BORGES et al., 2014; FAOSTAT, 2017).

Assim como outras culturas, a bananicultura também apresenta limitações à produção devido a diferentes fatores abióticos e bióticos, esses últimos associados, em especial, as doenças e pragas, tais como a Sigatoka-amarela (*Mycosphaerella musicola*, Leach), a Sigatoka-negra (*Mycosphaerella fijiensis*, Morelet) e a murcha de *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*); além do ataque por nematoides e pela broca-do-rizoma (*Cosmopolites sordidus*) (SILVA et al., 2016).

As cultivares de bananeira mais usadas no Brasil (Prata, Pacovan, Maçã, Grande Naine e Terra Maranhão) são muito suscetíveis à Sigatoka-negra, à exceção da Terra Maranhão, Maçã e Grande Naine são também, suscetíveis à Sigatoka-amarela. Com relação a murcha de *Fusarium*, as cultivares Grande Naine e Terra Maranhão, são resistentes, a Maçã é altamente suscetível e as demais cultivares são medianamente suscetíveis (CORDEIRO et al., 2016).

A busca por cultivares resistentes é considerada o meio mais eficiente para o controle dessas enfermidades. Vale ressaltar que uma cultivar resistente pode induzir a um aumento de produtividade e um menor custo de produção em função do baixo emprego de defensivos agrícolas, assim como pela redução de gastos com o manejo da cultura; além de proporcionar melhoria na qualidade dos frutos, aumentando, consequentemente, a renda líquida do produtor e preservando a saúde dos consumidores e reduzindo os impactos negativos ao ambiente (AMORIM et al., 2016).

Várias iniciativas de melhoramento encontram-se em andamento desde 1920 em sete centros de pesquisa distribuídos pelo mundo: *Fundación Hondureña de Investigación Agrícola* (FHIA), em Honduras; *National Research Centre for Banana* (NRCB) e *Tamil Nadu Agricultural University* (TNAU), ambos na Índia; *Centre Africain de Recherches sur Bananiers et Plantains* (CARBAP), nos Camarões;

International Institute of Tropical Agriculture (IITA), na Nigéria; *Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement* (CIRAD), na França e Embrapa Mandioca e Fruticultura, no Brasil (AMORIM et al., 2016). Esses programas desenvolvem novos genótipos a partir da hibridização entre cultivares comerciais tri- e tetraploides e diploides selvagens ou melhorados, tendo como resultado desse trabalho a produção de sementes, que são submetidas ao cultivo de embriões para o reestabelecimento de uma nova planta, uma vez que a germinação das sementes de banana em condições naturais é muito limitada, sem considerar também que a quantidade produzida é muito pequena, com exceção de cruzamentos envolvendo apenas diploides (SSEBULIBA et al., 2006; AMORIM et al., 2016; SANTOS-SEREJO et al., 2016).

O cultivo de embriões consiste em uma técnica de cultura de tecidos que promove a superação da dormência de sementes e regeneração de plântulas a partir da excisão do embrião (CARVALHO e ARAÚJO, 2007; UMA et al., 2011). Segundo Bakry (2008) essa técnica promove a redução do tempo de germinação, podendo alcançar um desenvolvimento do embrião em até 15 dias após a introdução em meio de cultura.

Aliado ao cultivo de embriões, os reguladores de crescimento no cultivo *in vitro* desempenham papel fundamental, com destaque para o controle do metabolismo e das respostas das sementes ao meio ambiente, mediando os acontecimentos fisiológicos da germinação e transformando sinais ambientais específicos em respostas bioquímicas (CARVALHO et al., 1998).

Dentre os reguladores utilizados no cultivo de embriões destaca-se o ácido giberélico (GA₃). Esse hormônio, quando produzido pela própria planta atua como hormônio de crescimento, sendo encontradas em regiões de crescimento da planta, sementes em desenvolvimento, caules e folhas. Aplicações exógenas do GA₃ no cultivo *in vitro* de embriões estão associadas ao crescimento e estímulos de iniciação ou desenvolvimento do embrião, permitindo a superação da dormência e o aumento na taxa de germinação em diversas culturas (KOCHBA et al., 1974).

Pesquisas com bananeira tem mostrado que é possível obter taxas de germinação de embriões cultivados *in vitro* de até 30%, muito acima do que se observa em condições de semeadura direta em viveiro, algo em torno de 1% (COX, 1960; VUYLSTEKE et al., 1990; VUYLSTEKE e SWENNEN, 1991; ORTIZ e VUYLSTEKE, 1995). No entanto, a técnica de cultivo de embriões de banana ainda

requer pesquisas, em especial no sentido de aumentar as taxas de sucesso no resgate de novas plantas, a partir de ajustes nos meios de cultura utilizados e no uso de reguladores de crescimento vegetal.

Partindo desse pressuposto, o objetivo desse trabalho foi otimizar o protocolo de cultivo de embriões utilizado pela Embrapa Mandioca e Fruticultura a partir do uso de reguladores de crescimento e ajustes no meio de cultura.

MATERIAL E MÉTODOS

Material genético vegetal

O estudo foi conduzido na Embrapa Mandioca e Fruticultura no município de Cruz das Almas, localizado no Recôncavo da Bahia, Brasil (12° 48' 38" de latitude sul e 39° 06' 26" de longitude oeste de Greenwich) (SILVA et al., 2016), no período de agosto de 2015 a agosto de 2016. Foi utilizado um lote de sementes composto por frutos amadurecidos naturalmente de cachos de cinco genótipos diploides de bananeira (Tabela 1) oriundas de quatro polinizações abertas e uma controlada, realizadas pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos (PMGBP) da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Os genótipos foram selecionados aleatoriamente, considerando a necessidade de um volume mínimo de 500 sementes por cruzamento para a realização de todas as análises. Cada genótipo foi considerado uma repetição.

As sementes foram lavadas em água corrente para a retirada de toda a mucilagem de sua superfície por aproximadamente 20 minutos para evitar a contaminação dos embriões e pesadas individualmente para verificar o valor médio do peso.

Teor de umidade, viabilidade e absorção de água

Para determinar a qualidade das sementes foi utilizado o método de flutuação em água (BRASIL, 2009). As sementes que flutuaram foram descartadas devido a provável ausência de endosperma e/ou embrião e as que afundaram foram submetidas à secagem. O teor de umidade foi determinado pelo método de estufa a 105°C ± 3°C por 24 horas (BRASIL, 2009).

O tempo de absorção de água pelas sementes foi obtido por meio de frascos com tampa roscada (30 x 100 mm) contendo 10 mL de água destilada em temperatura ambiente durante 24, 48, 72 e 96 horas (BRASIL, 2009).

Embebição de sementes com Ácido giberélico

Para realizar a desinfestação das sementes foi realizada uma lavagem em água corrente seguida por uma desinfestação em imersão em álcool 70% (v/v) por 5 minutos, seguido pela imersão em solução de hipoclorito de sódio e Tween 20 (2,5% de cloro ativo (v/v) e 0,1% de Tween 20) por 30 minutos e por último, foi realizada uma tríplice lavagem com água destilada estéril (BRASIL, 2009; MATA-ROSAS et al., 2011).

Após a desinfestação, as sementes foram embebidas em solução contendo água e ácido giberélico (GA₃), previamente esterilizado com filtro Milipore (0,22 µm), nas seguintes concentrações: 5, 10, 15 e 20 ppm e mantidas em temperatura ambiente. A partir da determinação do melhor tempo de absorção de água obtido pelo teste de embebição foi definido o melhor tempo como padrão para a embebição das sementes em GA₃. Como controle foi utilizado apenas água esterilizada.

Resgate de embriões zigóticos

As sementes tratadas com GA₃ foram excisadas por meio de um corte longitudinal para a retirada do embrião. O processo de resgate foi realizado com o auxílio de um microscópio estereoscópio sobre um papel filtro estéril, utilizando pinça e bisturi em câmara de fluxo laminar horizontal. Os embriões foram classificados de acordo com a escala de classificação quanto à normalidade/anormalidade, de acordo com a metodologia descrita no capítulo II e os endospermas e os revestimentos das sementes foram descartados.

Cultivo *in vitro* de embriões zigóticos

Para o cultivo *in vitro* dos embriões, o meio de cultura utilizado foi o MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) com modificações. O meio de cultura MS foi suplementado de acordo com o protocolo determinado pela Embrapa Mandioca e

Fruticultura com 30 g L⁻¹ de sacarose (p/v) e solidificado com 2,6 g L⁻¹ de Phytigel[®] (p/v) com pH ajustado para 5,8 com 0,1 M HCl e 0,1 M NaOH e autoclavado durante 20 minutos a 121°C.

Os embriões considerados normais, de acordo com a metodologia descrita no capítulo II, foram introduzidos em placas de Petri (20 x 100 mm) contendo 10 mL de meio de cultura MS e vedadas com filme plástico de PVC. Em seguida as placas foram inicialmente incubadas em câmara de crescimento sob condições de escuro e a temperatura de 26 ± 2°C (NEVES et al., 2001) e a avaliação foi realizada diariamente durante 31 dias após a introdução (DAI) para determinar a qualidades dos embriões quanto à taxa de desenvolvimento em cada tratamento.

Desenvolvimento de plântulas cultivadas *in vitro*

Após a germinação dos embriões, foi realizada a transferência dos mesmos para tubos de ensaios (25 x 150 mm) contendo 15 mL do mesmo meio de cultura utilizado na fase anterior sem reguladores de crescimento vegetal e vedados com filme plástico de PVC. As plântulas foram subcultivadas para completarem o seu desenvolvimento *in vitro* nas condições de temperatura de 26 ± 2° C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade de luz luminosa de 1.600 lux durante 60 dias (NEVES et al., 2002). Após esse período as plântulas foram retiradas dos tubos de ensaio para avaliação.

As variáveis analisadas foram: número de dias para início da germinação (NIG, dias); porcentagem de germinação dos embriões (%); tempo médio de germinação (TMG, dias) (LABOURIAU e VALADARES, 1976); índice de velocidade de germinação (IVG, dias) (MAGUIRE, 1962); altura da planta (ALP, mm); número de folhas (NFL); diâmetro do pseudocaule (DPC, mm); comprimento da raiz (CRA, mm); teor de massa fresca (TMF, g); e teor de massa seca (TMS, g).

Análises estatísticas

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos (concentrações de GA₃) com cinco repetições cada, composta por seis parcelas contendo 10 embriões cada, totalizando 300 embriões cultivados *in vitro*.

Para determinar o teor de umidade e o teste de absorção de água foram utilizadas cinco repetições por amostra contendo 10 sementes cada.

Os dados médios foram submetidos ao teste F da ANAVA a 5% de significância e para as concentrações de GA₃ foram ajustados modelos de regressão polinomial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Umidade e absorção de água pelas sementes de bananeira

O valor médio do teor de umidade das sementes de bananeira obtido nesse trabalho foi de 13,38% (Tabela 2). A determinação do teor de água em sementes é de fundamental importância para a avaliação de sua qualidade fisiológica e obtenção de plântulas normais (AOSA, 1983; BEWLEY e BLACK, 1994). O teor de umidade em sementes frescas de bananeira pode variar de 30 e 45%, reduzindo para abaixo de 10% quando secadas a 20°C, isso a depender da espécie ou da cultivar, uma vez que, quanto maior o teor de umidade mais facilmente será a germinação (CHIN, 1995).

O aumento do teor de umidade em sementes maduras de banana ocorre devido à absorção de água através do hilo, cicatriz formada a partir do funículo que funciona como um canal de água que conecta a semente à placenta (PUTEH et al., 2011). Em sementes com baixo teor de umidade, há um aumento da absorção de água quando comparado às sementes frescas com alto teor de umidade, devido a diferenças na largura do canal de água. A regulação da absorção de água é fator fundamental para a germinação, pois em excesso pode tornar a semente inviável. Em sementes de banana quanto menor for esse canal, menor será a quantidade de água que entra na semente para hidratar o embrião (PUTEH et al., 2011).

Nas sementes de banana analisadas nesse trabalho, observou-se que houve uma alta taxa de absorção de água durante as primeiras 24 horas de embebição e que após esse período a taxa tende a estabilização (Figura 1a). A partir desses resultados, estabeleceu-se o tempo de 24 horas como padrão para a embebição das sementes em ácido giberélico (GA₃).

Sementes de banana embebidas em água antes da excisão e cultivo do embrião zigótico podem ter suas taxas de germinação aumentadas (AFELE e DE

LANGHE, 1991). De acordo com Marcos Filho (2005) a absorção de água pelas sementes é fundamental na retomada do metabolismo durante o processo de germinação.

Em um estudo realizado por Arun et al. (2013) os autores observaram uma vigorosa absorção de água em sementes de um híbrido diploide de bananeira durante o primeiro dia de embebição, seguida por posterior absorção até o terceiro dia, mantendo-se estável e diminuindo gradualmente após o quarto dia. Afele e De Lange (1991) obtiveram 94% de germinação *in vitro* de embriões de *Musa balbisiana* cultivados em meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) oriundos de sementes submetidas à embebição em água por cinco dias.

Resgate de embriões zigóticos de bananeira

Com base na proposta de classificação das sementes apresentada no capítulo II, observou-se que haviam sementes com embriões ausentes ou anormais, os quais foram descartados. Essa análise está apresentada na Tabela 3, onde é possível observar que das 1.833 sementes analisadas, 1.500 embriões foram classificados como normais, 156 como anormais e 177 ausentes. Ampliando essa análise, constatou-se que do total de embriões anormais observados em cada repetição, 69 apresentaram base ausente, 37 com a base e o ápice deformados e 27 estavam oxidados (Tabela 4).

A bananeira apresenta características que variam a depender da espécie e da cultivar e a germinação de suas sementes pode ser dificultada pela má formação e/ou ausência do embrião, assim como pela ausência e/ou baixa quantidade de endosperma (SIMMONDS, 1962; UMA et al., 2011). Contudo, aplicações de reguladores de crescimento vegetal podem atuar no controle do metabolismo e das respostas fisiológicas e bioquímicas das sementes, proporcionando aumentos significativos nas taxas de germinação (CARVALHO et al., 1998).

Em um estudo realizado por Neves et al. (2001) foram avaliados a influência de anomalias do embrião e do endosperma na germinação *in vitro* de sementes de bananeira em genótipos selvagens e híbridos diploides em meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) sem a adição de reguladores de crescimento. Os autores observaram que as sementes apresentaram 61,38% de embriões normais, 9,63% de embriões pequenos e 29% com alguma anomalia e que na maioria das

sementes o endosperma não apresentava anormalidade; as porcentagens médias de germinação foram 51,73% (embriões normais), 51,79% (embriões pequenos) e 56,90% (alguma tipo de anomalia) quando cultivados por 45 dias.

Efeito do Ácido giberélico na germinação *in vitro* de embriões zigóticos de bananeira

O primeiro sinal de desenvolvimento do embrião foi a mudança na coloração, variando de branco para amarelo, seguido pelo seu aumento de tamanho devido a absorção de água. Observou-se a presença de embriões intumescidos aos 9,2 dias após a introdução (DAI) para a concentração de GA₃ de 10 ppm, indicando o início da germinação (Figura 1b). Para as demais concentrações, a germinação iniciou aos 9,6 DAI para 15 ppm; 10,2 DAI para 5 ppm e 20 ppm; e 11,2 DAI para o controle (sem a presença de GA₃).

Foi observado um percentual de 44,3% de germinação dos embriões cultivados *in vitro* por 31 DAI quando submetidos ao tratamento com 15 ppm GA₃, enquanto que para o tratamento sem o regulador vegetal foi de 37%, representando um incremento de aproximadamente 20% na germinação das sementes analisadas (Figuras 1c e 2).

Neves et al. (2001) avaliaram a germinação *in vitro* utilizando a técnica de resgate de embriões de sementes de bananeira em genótipos selvagens e híbridos diploides na germinação *in vitro* em meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) e sem a adição de reguladores de crescimento vegetal. Os autores observaram uma taxa de germinação *in vitro* 53,25% aos 45 DAI e que as espécies selvagens apresentaram porcentagem média de germinação maior do que a dos híbridos; foram observados que os embriões que não germinaram apresentaram comportamentos variados a saber: 3% contaminados, 3,13% necrosados, 11,13% intumescidos e 29,50% sem desenvolvimento.

De acordo com Arun et al. (2013), a aplicação exógena de GA₃ pode aumentar a disponibilidade de GA₃ endógeno, influenciando na germinação *in vitro* dos embriões cultivados em meio de cultura MS. Foi observado que a germinação iniciou aos 3 DAI quando aplicado a concentração de 10 ppm de GA₃ e aos 4 DAI para as concentrações de 5 ppm de 6-benzilaminopurina (BAP) e 10 ppm de ácido

indolacético (AIA) com taxas de germinação de 82,4%, 72,6% e 63,2% respectivamente.

De forma semelhante, Pancholi et al. (1995) verificaram que a germinação *in vitro* de embriões de *Musa velutina* foi mais eficiente quando adicionados 0,1 μM de GA_3 ao meio de cultura MS, promovendo uma taxa de germinação de aproximadamente 82,0% aos 14 DAI. Uma et al. (2012) observaram que o GA_3 na concentração de 1,4 μM permitiu aproximadamente 90% de germinação dos embriões de sementes de *Musa acuminata* spp. *burmannica* quando cultivados *in vitro* em meio de cultura MS entre 10 e 15 DAI.

Dayarani et al. (2011) avaliaram a germinação *in vitro* de sementes e embriões de Jungli Kela e Calcutta 4 submetidas a diferentes tratamentos com meio de cultura MS modificado durante 15 DAI, a saber: MS1: MS modificado + 10 ppm de GA_3 + 0,5 mg L^{-1} de BAP e 1,0 mg L^{-1} de AIA); MS2: MS modificado + 10 ppm de GA_3 e 1,0 mg L^{-1} de AIA); MS3: MS modificado + 10 ppm de GA_3 e 0,5 mg L^{-1} de BAP); e MS4: MS modificado + 10 ppm de GA_3). Os autores observaram que houve uma porcentagem de germinação de sementes de 9,87% em todos os tratamentos, enquanto que na cultura de embriões foi quatro vezes superior, com 58% de regeneração de plantas em todos os tratamentos, aumentando a regeneração de 17,7% para 31,2% em todos os explantes, sugerindo que o GA_3 , independente dos explantes e do meio de cultura, pode agir sobre a germinação e regeneração da planta.

O tempo médio de germinação (TMG) e o índice de velocidade de germinação (IVG) dos embriões em respostas aos tratamentos com diferentes concentrações de GA_3 foram estimados pela análise de regressão polinomial. O TMG foi reduzido em 13% em comparação com o controle a partir do uso de 5 e 15 ppm de GA_3 (Figura 1d). Para o IVG, maiores valores foram obtidos para a concentração de 15 ppm de GA_3 indicando efeito positivo e significativo no desempenho da velocidade da germinação dos embriões de banana, superando o tratamento controle em aproximadamente 20% (Figura 1e).

Durante o cultivo *in vitro* a taxa de contaminação foi inferior a 10%, assim como não foi observada a formação de calos nos embriões quando submetidos aos tratamentos com GA_3 e o controle.

Efeito do Ácido giberélico no vigor de plântulas de bananeira cultivadas *in vitro*

Não houve efeito das concentrações de GA₃ sobre o número de folhas das plântulas em comparação com o meio de cultura sem a aplicação do regulador vegetal (dados não apresentados).

Para às variáveis altura (ALP) e diâmetro do pseudocaulo (DPC) das plântulas de bananeira, os resultados mostraram que o tratamento com 5 ppm de GA₃ promoveu incremento nesses dois parâmetros (Figura 3a e 3b). De forma inversa, a concentração de 15 ppm GA₃ provocou maior redução no comprimento das raízes quando em comparação com o tratamento controle (Figura 3c).

Carvalho et al. (2005) estudaram diferentes concentrações de GA₃ no desenvolvimento de plantas das cultivares de Prata Gigante e Prata-Anã oriundas de cultivo *in vitro*. Os autores verificaram que as concentrações de 0, 3, 14 e 29 µmol L⁻¹ de GA₃, promoveram crescimento em altura na cultivar Prata Gigante, enquanto que na cultivar Prata-Anã, a indução do crescimento ocorreu em concentrações mais altas (59 e 145 µmol L⁻¹).

De acordo Silva et al. (1999) não se observa um excessivo desenvolvimento de raízes em plântulas de bananeira micropropagadas em meio de cultura MS sem reguladores de crescimento. Afele e De Lange (1991) estudaram o desenvolvimento de plântulas de *Musa balbisiana* oriundas de sementes embebidas apenas em água por períodos de 0 a 9 dias e embriões cultivados em meio de cultura semisólido Knudson (KNUDSON, 1922) sem a adição de reguladores de crescimento. Os resultados obtidos mostraram que houve um aumento na taxa de germinação dos embriões em 94% quando embebidos em água por cinco dias.

Neves et al. (2002) avaliaram o desenvolvimento de plântulas de bananeira de diploides selvagens (Butuhan, França, Calcutta 4 e Malaccensis) e melhorados (003004, 042052, 013004 e 093079), provenientes de cultura de embriões sem reguladores de crescimento vegetal. Os autores observaram que existe um efeito do genótipo no desenvolvimento *in vitro* do embrião.

O teor de massa fresca (TMF) não apresentou tendência de aumento a partir das concentrações de GA₃ utilizados (Figura 3d). Isso pode ter ocorrido devido a ALP e o DPC apresentarem maiores condições de desenvolvimento, como a presença de água. Por outro lado, o teor de massa seca (TMS), no tratamento com

20 ppm de GA₃, proporcionou maiores valores quando comparado com o controle (Figura 3e).

A aplicação de GA₃ para a altura de plantas de bananeira pode promover o crescimento acelerado e um decréscimo na produção foliar e da raiz (SANDOVAL-FERNANDEZ et al., 1999). Carvalho et al. (2005), ao analisarem a ação de diferentes concentrações de GA₃ (0, 3, 14, 29, 59 e 145 µmol L⁻¹) em duas cultivares de bananeira, Prata Gigante e Prata-Anã, oriundas de cultivo *in vitro*, observaram que a cultivar Prata Gigante apresentou maiores teores de massa fresca e seca da parte aérea e da raiz em todas as concentrações GA₃, quando comparado com a cultivar Prata-Anã.

CONCLUSÕES

- A embebição de sementes de bananeira por 24 horas em ácido giberélico (GA₃) na concentração de 15 ppm promove 20% de aumento nas taxas de germinação dos embriões zigóticos de bananeira quando em comparação com o controle sem o regulador de crescimento vegetal.
- Para o vigor das plântulas oriundas de embriões cultivados *in vitro* a concentração de 5 ppm de GA₃ promove maior eficiência na altura da planta, diâmetro do pseudocaule e teor de massa fresca quando comparado com o controle.
- A concentração de 15 ppm GA₃ promoveu maior redução no comprimento das raízes das plântulas.
- Para o teor de massa seca, a concentração de 20 ppm obteve maior efeito no crescimento das plântulas.
- As concentrações de GA₃ aplicadas não exercem influência sobre o número de folhas de plântulas oriundas do cultivo de embriões.
- O ajuste no protocolo de cultivo *in vitro* de embriões de banana, mediante embebição das sementes em solução com 15 ppm de GA₃ permite a melhoria nas taxas de germinação de sementes de bananeira.

REFERÊNCIAS

AFELE, J. C.; DE LANGHE, E. Increasing *in vitro* germination of *Musa balbisiana* seed. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 27, p.33-36, 1991.

AHMED, K. Z.; REMI, S.; SÁGI, R.; SWENNEN. Germination of *Musa balbisiana* seeds and embryos. In: International Meeting ACORBAT, 17, Joinville, SC. **Annals**, Joinville: ACORBAT, 2006.

AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, V. B. de O.; SILVA, S. de O. Melhoramento genético. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. de O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. (1ª Ed.). **O agronegócio da banana**, Brasília, DF: Embrapa, p. 171-200, 2016.

ARUN, K.; UMA, S.; SARASWATHI, M.S.; BACKIYARANI, S.; DURAI, P. Effects of whole seed priming on the *in vitro* germination of hybrid banana embryos (*Musa* spp.). **Seed Science & Technology**, v. 41, p. 439-451, 2013

AOSA, Association of Official Seed Analysts. **Seed vigour testing handbook**, East Lansing. (Contribution, 32), p. 88, 1983.

BAKRY, F. Zygotic embryo rescue in bananas. **Fruits**, v. 63, p. 111-115, 2008.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum, 445p, 1994.

BORGES, C. V.; AMORIM, V. B. O; RAMLOV, F.; LEDO, C. A.; SILVA; D. M.; MARASCHIN, M.; AMORIM, E. P. Characterisation of metabolic profile of banana genotypes, aiming at biofortified *Musa* spp. cultivars. **Food Chemistry**, v. 145, p. 496-504, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**, Brasília: MAPA/ACS, 399 p., 2009.

CARVALHO, G. R.; PASQUAL, M.; GUIMARÃES, R. J.; MENDES, A. N. G.; ANTUNES, L. E. C.; SILVA, A. T. Efeito do ácido giberélico e benzilaminopurina no crescimento *in vitro* de embriões do cafeeiro cv Acaiá. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, p. 847-851, 1998.

CARVALHO, J. M. F. C.; ARAUJO, S. de S. **Aplicação do cultivo de embrião zigótico ou imaturo no melhoramento vegetal**. Campina Grande: Embrapa Algodão (Documento, 170), 1ª Ed., 35 p., 2007.

CARVALHO, J. A. B. S.; PEIXOTO, C. P.; SILVA, S. O.; LEDO, C. A. S.; PEIXOTO, M. F. S. P.; ALVES, J. S. Uso da giberelina GA₃, na seleção do porte de bananeira das cultivares Prata e Prata-anã. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v. 27, n. 3, p. 449-453, 2005.

CHIN, H. F. Germination and storage of banana seeds. In: NEW FRONTIERS IN RESISTANCE BREEDING FOR NEMATODE, FUSARIUM AND SIGATOKA WORKSHOP, 1995. Kuala Lumpur. **Proceedings**, Montpellier: International Network for the Improvement of Banana and Plantain, p.218-227, 1996.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; HADDAD, F. Doenças fúngicas e bacterianas. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. (Ed.). **O agronegócio da banana**, Brasília, DF: Embrapa, p. 545-576, 2016.

COX, E. A. *In vitro* culture of *Musa balbisiana* Colla embryos. **Nature**, v.185, p. 403–404, 1960.

DAYARANI M.; DHANARAJAN, M.S; UMA, S.; GOMATHI, M. **Conservation of wild bananas (*Musa* spp.) through seeds and improved regeneration through seed treatments**. International Conference on Green Technology and Environmental Conservation (GTEC, 2011), p. 188-190. Disponível em <<http://ieeexplore.ieee.org/document/6167668/>> Acesso em: 14 de janeiro, 2017.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/>>. Acesso em: 13 de janeiro, 2017.

KNUDSON, L. Nonsymbiotic germination of orchid seeds. **Botanical Gazette**, v. 73, p.1-25,1922.

KOCHBA, J.; BUTTON, J.; SPIEGEL-ROY, P.; BORNMAN, C.H.; KOCHABA, M. Stimulation of rooting of citrus embryoids by gibberellic acid and adenine sulphate. **Annals of Botany**, New York, v.38, p.795-802, 1974.

LABOURIAU, L. G; VALADARES, M. E. B. On the germination of seeds *Calotropis procera* (Ait.) Ait.f. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro. v.48, n.2, p.263-284, 1976.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 495p., 2005.

MATA-ROSAS, M.; BALTAZAR-GARCÍA, R. J.; CHÁVEZ-AVILA, V. *In vitro* regeneration through direct organogenesis from protocorms of *Oncidium trigrinum* Llave and Lex, (Orchidaceae), and endemic and threatened Mexican species. **Hort Science**, p. 1132-1135, 2011.

MURASHIGE, T; SKOOG, F. A. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 5, p. 473-497, 1962.

NEVES, T. S.; SILVA, S. O.; OLIVEIRA, R. P. Resgate *in vitro* de embriões em genótipos diploides de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 285-290, 2001.

NEVES, T. S.; SILVA, S. O.; OLIVEIRA, R. P. Desenvolvimento *in vitro* de plântulas de diploides de bananeira obtidas a partir de cultura de embriões. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n.1, p. 06-09, 2002.

ORTIZ, R.; VUYLSTEKE, D. Factors influencing seed set in triploid *Musa* spp. L. and production of euploid hybrids. **Annals of Botany**, v. 75, p. 151-155, 1995.

PANCHOLI, N.; WETTEN, A.; CALIGARI, P. D. S. Germination of *Musa velutina* seeds: comparison of in vivo and *in vitro* systems. **In Vitro Cellular e Developmental Biology – Plant**, v.31, p.127-130, 1995.

PUTEH, A. B.; ARIS, E. M.; SINNIH, U. R.; RAHMAN, Md. M.; MOHAMAD, R. B.; ABDULLAH, N. A. P. Seed anatomy, moisture content and scarification influence on imbibitions in wild banana (*Musa acuminata* Colla) ecotypes. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, p.14373-14379, 2011.

SANDOVAL-FERNÁNDEZ, J. A.; COTE, F.; DOUMAS, P. *In vitro* recognition of high stature somaclonal variants in banana (cv. Grand Naine, *Musa* AAA) response to a GA₃ treatment. **Guapilles**, Costa Rica, v.24, p.11-19, 1999.

SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, E. P.; JESUS, O. N.; SILVA, S. O. Germoplasma de *Musa*: Conservação, caracterização e uso. In: FERREIRA, C. F.; SILVA, S. O.; AMORIM, E. P.; SANTOS-SEREJO, J. A. (1ª Ed.). **O agronegócio da banana**, Brasília, DF: Embrapa, p. 111-136, 2016.

SSEBULIBA, R.; MAGAMBO, M.; TALENGERA, D.; MAKUMBI, D.; TENKOUANO, A.; RUBAIHAYO, P; PILLAY. M. Biological factors affecting seed production in east African highland bananas. **Journal of Crop Improvement**, v. 16, p. 31-32, 2006.

SILVA, S. O.; SILVA, K. M.; BORGES, M. F.; OLIVEIRA, R. P. Pollination and culture of banana embryos. **Infomusa**, v.8, p. 24-26, 1999.

SILVA, T. S. M.; COELHO FILHO, M. A.; COELHO, E. F. **Boletim meteorológico da estação convencional de Cruz das Almas, BA: variabilidade e tendências climáticas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, (Documento 216), 79 p., 2016.

SIMMONDS, N. W. **The Evolution of the Bananas**. London: Longmans, 170 p., 1962.

UMA, S.; LAKSHMI, S.; SARASWATHI, M. S.; AKBAR, A.; MUSTAFFA, M. M. Embryo rescue and plant regeneration in banana (*Musa* spp. L.). **In Vitro Cell Plant Tissue and Organ Culture**, 105, p. 105-111, 2011.

UMA, S.; LAKSHMI, S.; SARASWATHI, M. S.; AKBAR, A.; MUSTAFFA, M. M. Plant regeneration through somatic embryogenesis from immature and mature zygotic embryos of *Musa acuminata* spp. *burmannica*. **In Vitro Cellular e Developmental Biology – Plant**, v. 48, p. 539-545, 2012.

VUYLSTEKE, D.; SWENNEN, R.; DE LANGE, E. Tissue culture technology for the improvement of African plantains. In: FULLERTON, R.A.; STOVER, R.H. (Ed.). **Sigatoka leaf spot diseases of bananas**: proceedings of International Workshop, San José, Costa Rica, March 28- April 1, 1989. Montpellier: Inibap, p. 316-337, 1990.

VUYLSTEKE, D; SWENNEN, R. Genetic improvement of plantains: the potential of conventional approaches and the interface with *in vitro* culture and biotechnology. In: **Biotechnology Applications for Banana and Plantain Improvement**, (ed. INIBAP), Proceedings of a Workshop, San Jose. International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France, p. 169-176, 1991.

Tabela 1. Cruzamentos de bananas produzidas pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Cruz das Almas, 2017.

Repetição	Tipo de polinização	Parental feminino	Parental masculino
I	Aberta	041040 (diploide melhorado)	Desconhecido
II	Controlada	TDM2 (diploide selvagem)	013004 (diploide melhorado)
III	Aberta	124093 (diploide melhorado)	Desconhecido
IV	Aberta	Calcutta 4 (diploide selvagem)	Desconhecido
V	Aberta	NBA-14 (diploide selvagem)	Desconhecido

Tabela 2. Valores médios de percentagem do teor de umidade em sementes de bananeira. Cruz das Almas, 2017.

Repetição	Teor de umidade (%)
I	15,68 a
II	11,93 d
III	12,74 c
IV	13,62 b
V	12,94 c
Média geral	13,38
CV (%)	1,59

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

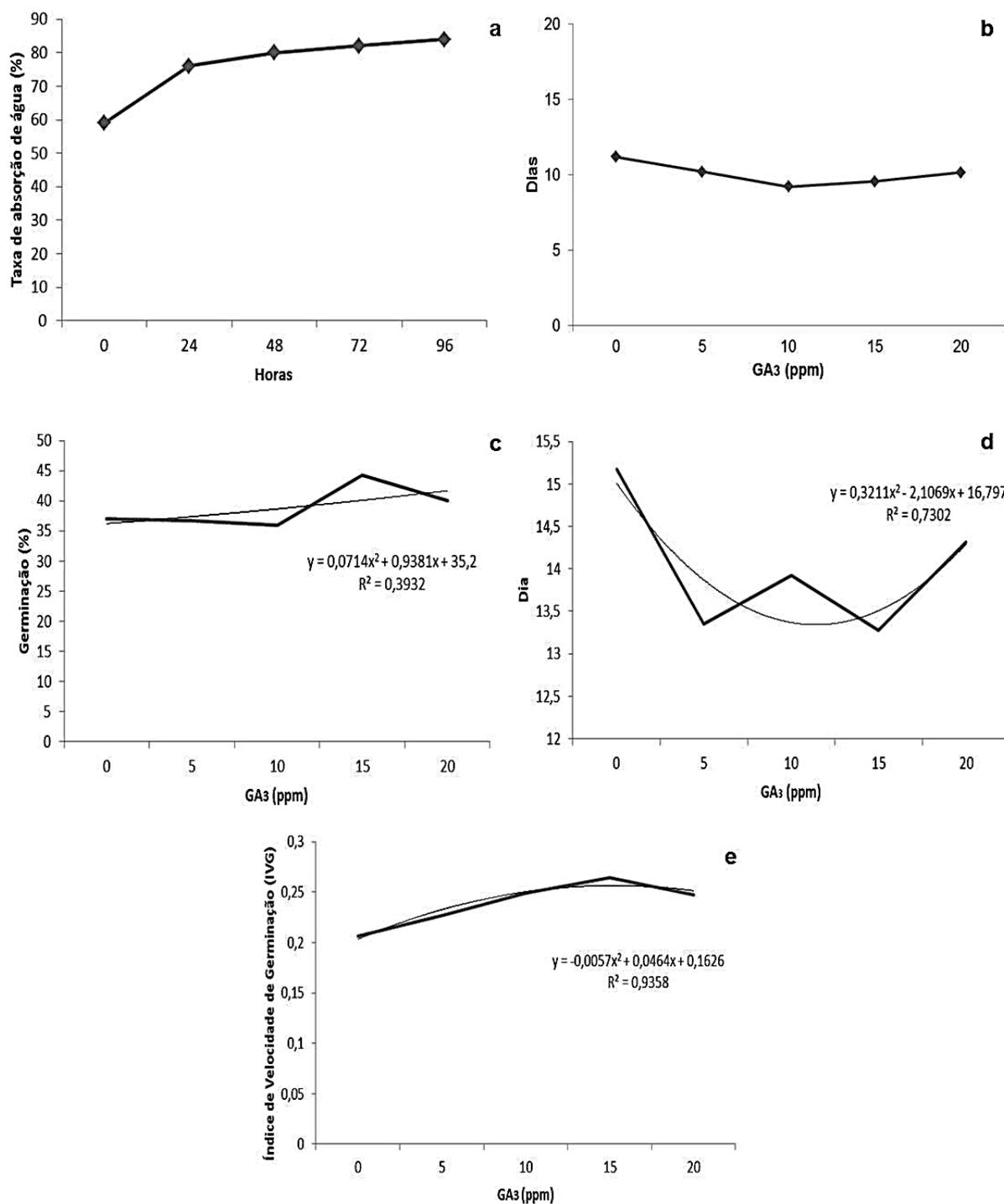


Figura 1: Curva de embebição em água de sementes de banana (a), dias para início da germinação *in vitro* (b), porcentagem de germinação *in vitro* (c), tempo médio de germinação (d) e índice de velocidade de germinação (IVG) (e) de embriões banana submetidos a diferentes concentrações de ácido giberélico (GA₃) após 31 dias de cultivo *in vitro*. Cruz das Almas, 2017.

Tabela 3: Classificação das sementes de bananeira quanto à presença e normalidade dos embriões oriundos de cruzamentos realizados pelo PMGBP. Cruz das Almas, 2017.

Repetição	Número de sementes	Embrião normal	Embrião anormal	Embrião ausente
I	469	300	94	75
II	366	300	27	39
III	336	300	8	28
IV	338	300	14	24
V	324	300	13	11
Total	1.833	1.500	156	177

Tabela 4: Escala de anormalidades em embriões de sementes de bananeira oriundas de cruzamentos realizados pelo PMGBP (Descrita no Capítulo II). Cruz das Almas, 2017.

Repetição	Embrião anormal	Escala de anormalidade						
		(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
I	94	3	45	1	1	25	19	0
II	27	0	11	5	3	5	3	0
III	8	0	0	4	0	3	0	1
IV	14	0	8	1	0	1	2	2
V	13	0	5	1	0	3	3	1
Total	156	3	69	12	4	37	27	4

2. Embrião com a base deformada; 3. Embrião com a base ausente; 4. Embrião com o ápice deformado; 5. Embrião com ápice ausente; 6. Embrião com base e ápice deformados; 7. Embrião oxidado; e 8. Embrião normal de tamanho reduzido. Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2016.

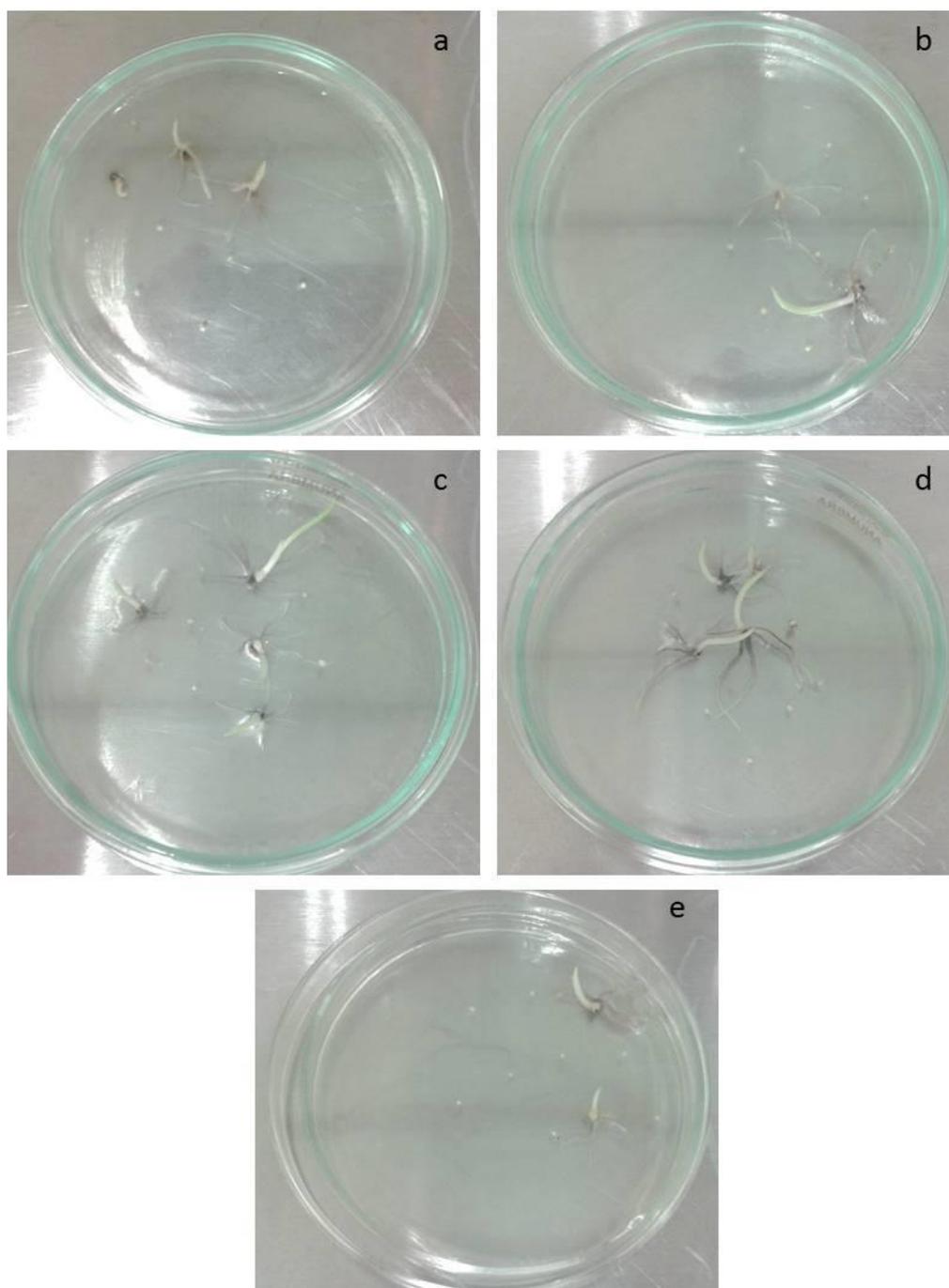


Figura 2: Germinação *in vitro* de embriões zigóticos de bananeira submetidos a diferentes concentrações de ácido giberélico (GA_3): Controle (a); 5 ppm (b); 10 ppm (c); 15 ppm (d) e 20 ppm (e). Cruz das Almas, 2017.

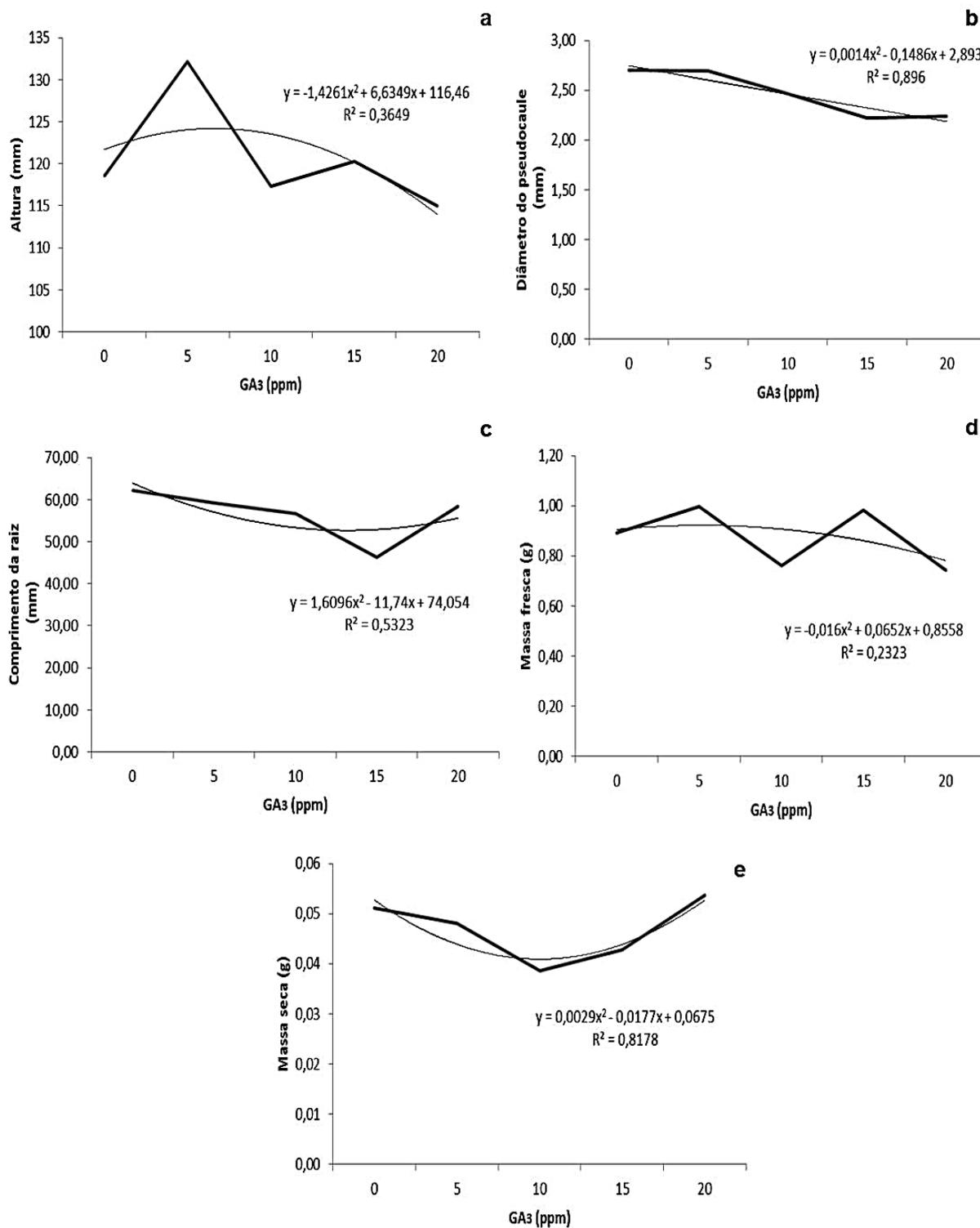


Figura 3: Altura da planta (a), diâmetro do pseudocaule (b), comprimento da raiz (c), teor de massa fresca (TMF) (d) e teor de massa seca (TMS) (e) de plântulas de bananeira proveniente de cultura de embriões em resposta a diferentes tratamentos com ácido giberélico (GA₃). Cruz das Almas, 2017.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise da série histórica sobre a produção de sementes de banana pelo programa de melhoramento genético de bananas e plátanos da Embrapa (PMGBP), entre os anos de janeiro de 1982 e março de 2016, poderá permitir melhorias nas rotinas de cruzamentos, a partir do conhecimento das melhores combinações parentais e da influência do clima local sobre o volume de sementes produzido.

A elaboração de um guia ilustrado sobre as principais anomalias observadas nas sementes e embriões de banana permite a seleção de embriões de qualidade que irão proporcionar maior eficiência no que diz respeito a produção de novos híbridos de bananas e plátanos.

A adição de 15 ppm ácido giberélico (GA_3) no protocolo de germinação de sementes de bananeira, promoveu um aumento significativo no tempo médio de germinação e no índice de velocidade de germinação, proporcionando ganhos futuros significativos nos trabalhos de cultivo de embriões de bananeira da Embrapa.