

101

Circular  
TécnicaPorto Velho, RO  
Setembro, 2008

## Autores

**Maurício Reginaldo Alves dos Santos**  
Eng. Agrôn. D.Sc. em Biologia celular –  
Cultura de tecidos vegetais, pesquisador  
da Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO,  
mauricio@cpafro.embrapa.br

**Maria das Graças Rodrigues Ferreira**  
Eng. Agrôn., D.Sc. em Produção  
vegetal, pesquisadora da Embrapa  
Rondônia, Porto Velho, RO,  
mgraca@cpafro.embrapa.br

**Cléberson de Freitas Fernandes**  
Farmacêutico, D.Sc. em Bioquímica,  
pesquisador da Embrapa Rondônia,  
Porto Velho, RO,  
cleberson@cpafro.embrapa.br

**José Roberto Vieira Júnior**  
Eng. Agrôn., D.Sc. em Fitopatologia,  
pesquisador da Embrapa Rondônia,  
Porto Velho, RO,  
vieirajr@cpafro.embrapa.br

**José Nilton Medeiros Costa**  
Eng. Agrôn., M.Sc. em Fitotecnia,  
pesquisador da Embrapa Rondônia,  
Porto Velho, RO,  
jnilton@cpafro.embrapa.br



# Utilização de tecnologia alternativa para coleta de material meristemático de bananeira para estabelecimento *in vitro*

## Introdução

A banana é a fruta mais consumida no Brasil e no mundo. No Brasil, a bananicultura gera mais de 500.000 empregos diretos. Segundo dados do IBGE, no ano de 2007, a cultura apresentou uma área que soma mais de 500.000 ha, com um rendimento médio nacional de 14 t/ha/ano.

Em Rondônia, a banana é a fruta de maior importância econômica e a mais produzida no Estado. Em 2006, em uma área de 5.401 ha, foram produzidas 46.117 toneladas. Os principais municípios produtores são Buritis, Cacoal e Porto Velho, respectivamente. A maioria dos bananicultores são pequenos produtores, sendo que a importância desta atividade se estende à fixação do homem no campo, por se tratar de fonte contínua de alimento e renda.

Os principais gargalos da bananicultura no Estado são: alta incidência de pragas e doenças (moleque, nematóides, mal-do-panamá, sigatoka negra e amarela, com maior destaque para a sigatoka-negra), baixo nível de tecnologia utilizado na produção e na pós-colheita e falta de capacitação dos agentes da cadeia produtiva.

Essas limitações fizeram com que, a partir de 1998, houvesse um declínio drástico em relação à área plantada. A ocorrência de doenças foi o fator que mais contribuiu para esta redução, devido à susceptibilidade das cultivares plantadas. Até 2001, houve uma redução de 62 % na área plantada. Além disso, a produtividade da bananeira em Rondônia é uma das mais baixas do Brasil, 8,5 t/ha/ano (a média nacional é de 14 t/ha/ano), principalmente devido por causa da falta de cultivares melhoradas.

Uma das estratégias para a solução dos problemas mencionados é a propagação de novas variedades resistentes a doenças, nematóides e pragas. Plantas destas novas variedades foram selecionadas em programas de melhoramento genético de variedades resistentes a doenças, que estão sendo avaliados em diversas regiões do Estado.

A micropropagação é uma das melhores alternativas para a rápida obtenção, em larga escala, de mudas para o estabelecimento de novos plantios. Dentre as vantagens apresentadas por esta técnica, pode-se mencionar a qualidade fitossanitária das mudas, uniformidade, produção contínua e alta produtividade e precocidade das plantas no campo. É devido a estes fatores que os produtores de banana, no Brasil e no mundo têm, gradativamente, adotado a micropropagação como alternativa à produção convencional, a partir de propágulos naturais de bananeira.

Um dos aspectos relevantes da micropropagação é o estabelecimento de material vegetal em condições *in vitro*. Tradicionalmente, coleta-se rizomas inteiros de bananeiras, com aproximadamente 35 cm de diâmetro, dos quais extrai-se a região meristemática central, após a retirada de várias camadas de tecidos do rizoma e desinfecção da porção mais interna restante.

A extração de um rizoma inteiro do solo é um processo trabalhoso, pois para isso o solo deve ser escavado em torno da planta a uma profundidade de aproximadamente 40 cm. É frequente o rizoma rachar durante a extração, tornando-se inviável para a retirada de tecido meristemático. Além destes inconvenientes, a manipulação de

material vegetal relativamente grande em laboratório de cultura de tecidos vegetais e a grande incidência de microrganismos contaminantes presentes nos rizomas torna esta técnica de extração pouco eficiente. Outro problema ocasionado pela retirada do rizoma inteiro é o eventual tombamento das plantas vizinhas.

Neste trabalho, avaliou-se uma nova metodologia de extração de tecidos meristemáticos de bananeira, utilizando a ferramenta denominada “lurdinha”. O objetivo foi testar uma tecnologia alternativa para tornar mais simples e eficiente o processo de coleta e estabelecimento de explantes de bananeiras, contribuindo com a produção de mudas em sistemas de produção via cultura de tecidos vegetais.

## Metodologia

Foram selecionadas matrizes de bananeira das variedades FHIA 01, FHIA 18 e Maçã no campo experimental da Embrapa Rondônia, em Porto Velho, RO.

A coleta do material vegetal foi realizada em agosto de 2007, utilizando-se dois procedimentos: o tradicional, com a escavação de covas de aproximadamente 40 cm x 40 cm x 40 cm e retirada de rizomas inteiros, e o método alternativo proposto neste trabalho, com a utilização da “lurdinha” (Fig. 1), coletando-se apenas a porção meristemática dos rizomas. Esta ferramenta é utilizada no desbaste de bananaís, que consiste na eliminação de brotações existentes em excesso nos cultivos, retirando-se do rizoma apenas a gema, que contém tecido meristemático e tecidos fibrosos do rizoma, em uma estrutura cilíndrica de aproximadamente 3,0 cm de diâmetro por 7,0 cm de comprimento. Para isto, coloca-se a ponta da “lurdinha” sobre uma brotação, fazendo-se em seguida pressão para baixo até sentir que a rigidez do rizoma dificulte a penetração da ferramenta (Fig. 2). Gira-se a ferramenta para individualizar a porção meristemática. Retira-se a lurdinha do interior do rebento, junto sai a gema de crescimento, que seria responsável pelo desenvolvimento do filhote (Fig. 3).

Dos rizomas inteiros foram retiradas as bainhas externas e os rizomas reduzidos a estruturas de aproximadamente 1,0 dm<sup>3</sup> (10 cm x 10 cm x 10 cm), que foram submetidas a desinfestação por imersão em hipoclorito de sódio a 50 %, durante 30 minutos. Estas estruturas foram reduzidas a estruturas de 0,5 dm<sup>3</sup>, que foram desinfestadas por imersão em hipoclorito de sódio a 50 %, por 30 minutos. Este material vegetal foi conduzido ao

Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Rondônia, onde foi reduzido a estruturas de 0,15 dm<sup>3</sup>, contendo o ápice caulinar, sendo imersas em hipoclorito de sódio a 50 %, por 15 minutos, em câmara de fluxo laminar, seguindo-se três imersões em água destilada por dois minutos cada. Em seguida, foram extraídos ápices caulinares com aproximadamente 0,33 cm<sup>3</sup> (0,6 cm de diâmetro x 1,7 cm de comprimento), os quais foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10,0 mL de meio de cultura MS (Murashige & Skoog), acrescido de benzilaminopurina (4,4 µM), carvão ativado (250 mg/L), sacarose (30 g/L) e agar (8,0 mg/L) e mantidos por 30 dias em câmara de crescimento a 24 ± 1 °C, em fotoperíodo de 16 horas.

As porções retiradas com a “lurdinha” mediam, aproximadamente, 33,55 cm<sup>3</sup> (3,0 cm de diâmetro x 7,0 cm de comprimento). Estas foram imersas em hipoclorito de sódio a 20 %, por 30 minutos. Em seguida, foram extraídos ápices caulinares com aproximadamente 0,33 cm<sup>3</sup>, os quais foram inoculados em tubos de ensaio, nas mesmas condições mencionadas para o material retirado de rizomas inteiros.

Foram retirados 20 explantes de cada variedade, sendo excisados dez segundo a metodologia tradicional e dez excisados por meio da metodologia proposta, com a utilização da “lurdinha”.

Durante os 30 dias subseqüentes, foram avaliadas a contaminação e a oxidação dos explantes, inferindo-se sobre a viabilidade de cada método, em relação ao aproveitamento dos explantes. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade.



Foto: Maurício Reginaldo A. dos Santos, Embrapa Rondônia.

Fig 1. Aspecto geral da ferramenta “lurdinha”. Porto Velho, Embrapa Rondônia, 2008.



Fig. 2. Retirada da porção meristemática de bananeira com a ferramenta "lurdinha". Porto Velho, Embrapa Rondônia.



Fig. 3. Porção meristemática de bananeira retirada com a ferramenta "lurdinha". Porto Velho, Embrapa Rondônia.

## Resultados e discussão

A contaminação é um dos principais fatores limitantes para o estabelecimento das culturas *in vitro*. Este aspecto é particularmente relevante quando se trata de órgãos ou tecidos que estão diretamente em contato com o solo, como é o caso dos rizomas. Na Fig. 4 pode-se observar a porcentagem de explantes que não foram contaminados, obtidos pela extração do rizoma inteiro e por meio da retirada com a "lurdinha".

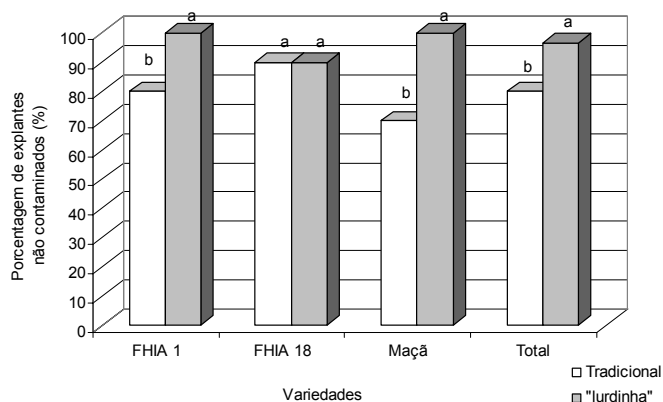


Fig. 4. Porcentagem de explantes não contaminados, em relação aos métodos de extração das porções meristemáticas. Letras diferentes indicam significância, dentro de cada variedade ou do total das variedades, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Porto Velho, Embrapa Rondônia, 2008.

Fonte: Dados da pesquisa,

Observa-se que a metodologia na qual se utilizou a "lurdinha" para extrair a porção meristemática resultou em menor contaminação dos explantes, provavelmente devido ao menor tempo de manipulação dos mesmos em relação à metodologia tradicional. Além disso, quando a porção meristemática é extraída pelo método da "lurdinha", menor quantidade de material vegetal e de resíduos de campo (terra, folhagens, insetos e ácaros) é

levada para o laboratório, o que facilita a limpeza e a desinfestação do mesmo. Os microrganismos contaminantes também podem penetrar nos tecidos, carregados pelas sucessivas lavagens e desinfestações.

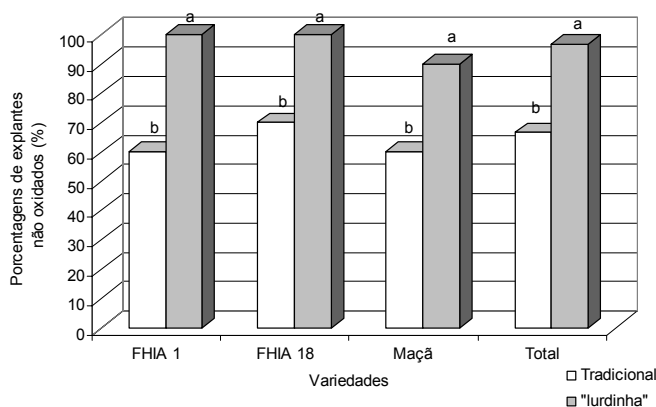


Fig. 5. Porcentagem de explantes não oxidados, em relação aos métodos de extração das porções meristemáticas. Letras diferentes indicam significância, dentro de cada variedade ou do total das variedades, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Porto Velho, Embrapa Rondônia, 2008.

Fonte: Dados da pesquisa,

Pode-se observar que a oxidação dos explantes foi menor com a utilização da "lurdinha", em relação ao método tradicional de extração de rizomas inteiros. A oxidação dos tecidos é maior quando o material vegetal fica mais tempo exposto, em contato com o ar atmosférico, o que ocorre no método tradicional.

## Conclusão

Recomenda-se a utilização da "lurdinha" na extração da porção meristemática dos rizomas de bananeira para o estabelecimento de cultivos *in vitro*, como alternativa à retirada do rizoma inteiro, como é realizado tradicionalmente.

## Referências

ALLOUFA, M. A. I.; MACÊDO, C. E. C.; BARROSO, P. A. V.; BARBALHO, A. D.; OLIVEIRA, C. H.B. Avaliação de dois agentes antioxidantes no estabelecimento *in vitro* de inflorescências de bananeira (*Musa* spp). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 5, p. 1092-1096, 2002.

CARVALHO, A. C. P. P.; COSTA, A. M. G.; SANTOS, M. R. A. Efeito do tipo de incisão sobre a dominância apical em ápices caulinares em duas cultivares de bananeira (*Musa* sp.). **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v.2, n.1, p.48-52, 2006.

COSTA, J. N. M. Banana. In: HOLANDA FILHO, Z. F. (Org.) **Recomendações técnicas para a agropecuária de Rondônia**: manual do produtor. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2003. 75 p. (Embrapa Rondônia. Documentos, 73).

COSTA, J. N. M. (Ed.). **Sistema de produção para a cultura da banana no Estado de Rondônia**. Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia: Emater-RO, 2007. 41 p. (Embrapa Rondônia. Sistemas de Produção, 29).

GRATTAPLAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI : Embrapa-CNPq, 1998. v.1, p.183-260.

IBGE. **Banco de dados agregados**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 28 Maio 2007.

LEVANTAMENTO SISTEMÁTICO DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA - LSPA. Porto Velho: IBGE: Emater-RO Rondônia, 2006. Mensal.

### Circular Técnica, 101

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,  
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
Embrapa Rondônia  
BR 364 km 5,5, Caixa Postal 406,  
CEP 78900-970, Porto Velho, RO.  
Fone: (69)3901-2510, 3225-9384/9387  
Telefax: (69)3222-0409  
[www.cpafrro.embrapa.br](http://www.cpafrro.embrapa.br)

1ª edição

1ª impressão (2008): 100 exemplares

**Comitê de Publicações** Presidente: *Cléber de Freitas Fernandes*  
Secretária: *Marly de Souza Medeiros*  
Membros: *Abadio Hermes Vieira*  
*André Rostand Ramalho*  
*Luciana Gatto Brito*  
*Michelliny de Matos Bentes-Gama*  
*Vânia Beatriz Vasconcelos de Oliveira*

**Expediente** Normalização: *Daniela Maciel*  
Revisão de texto: *Wilma Inês de França Araújo*  
Editoração eletrônica: *Marly de Souza Medeiros*