



Enviado
Ident
10671
FOU
13137

BIOTECNOLOGIA **EM FOCO**

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical
Ministério da Agricultura e do Abastecimento
Rua Embrapa s/n - CP. 007 - Cruz das Almas, BA
PABX (075) 721-2120 - FAX: (075) 721-1118

Número 11 Novembro/1998

PRODUÇÃO COMERCIAL DE MUDAS DE BANANEIRA EM LABORATÓRIOS DE CULTURA DE TECIDOS

Roberto Pedroso de Oliveira¹
Natoniel Franklin de Melo²

As mudas micropagadas de bananeira apresentam as vantagens de serem produzidas em qualquer época do ano, em pequeno espaço físico, serem uniformes e praticamente isentas de patógenos. A produção estimada desse tipo de muda no país é de quatro milhões por ano, sendo insuficiente para atender a demanda, principalmente devido à crescente instalação de projetos de bananicultura irrigada.

Na *Embrapa Mandioca e Fruticultura* e na *Embrapa Semi-Árido* existem dois grandes laboratórios voltados a produção massal de mudas *in vitro* de fruteiras onde é estudado o aprimoramento dessa metodologia.

Assim, objetiva-se relatar de forma simplificada um protocolo viável para a produção comercial de mudas de bananeira, aplicável a cultivares/híbridos diplóides, triplóides e tetraplóides em laboratórios de cultura de tecidos.

As matrizes utilizadas para a micropropagação devem ser sadias (obrigatoriamente indexadas para o vírus do mosaico do pepino), do tipo chifrinho ou chifre, representativas do cultivar/híbrido, coletadas em viveiros bem drenados e com controle fitossanitário e tratos culturais adequados. Ainda no viveiro, as matrizes devem ser reduzidas até o tamanho aproximado de 15 cm de altura por 7 cm de diâmetro. Devem ser lavadas em solução a base de cloro (0,1%) e levadas para o laboratório, onde é realizada nova redução dos explantes até o tamanho de 5 cm de altura por 1,5 cm de diâmetro. A desinfestação deve ser feita no interior de uma câmara de fluxo laminar, imergindo grupos de cinco explantes em solução de álcool comercial a 70% por dois minutos e, em seguida, em solução 1% de cloro ativo com três gotas de 'Tween 20' por 15 minutos. Posteriormente, devem ser efetuadas três lavagens em água destilada e autoclavada, e reduzidos os explantes, com auxílio de pinça e bisturi, até o tamanho final de 0,6 cm de altura por 0,4 cm de diâmetro.

O laboratório deve ser mantido o mais asséptico possível, sendo realizada a queima de formol (0,6 ml.m⁻³) quinzenalmente.

A introdução *in vitro* dos ápices caulinares deve ser feita em meio nutritivo MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com 30 g.L⁻¹ de sacarose e 1,8 g.L⁻¹ de 'Phytigel'; na fase de multiplicação dos explantes usa-se o mesmo meio de cultura acrescido de 5 mg.L⁻¹ de BAP (benzilaminopurina); e no enraizamento deve-se usar o meio ½MS com 30 g.L⁻¹ de sacarose e 1,8 g.L⁻¹ de 'Phytigel'. Os meios de cultura empregados devem ser autoclavados à temperatura de 121°C e pressão de 1,05 kg.cm⁻² por 20 minutos, tendo sido o pH ajustado para 5,8 após a autoclavagem.

¹ Engº Agrº, M.Sc., pesquisador da *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Cx. Postal 007, CEP: 44380-000, Cruz das Almas -BA.

² Biólogo, M.Sc., pesquisador da *Embrapa Semi-Árido*, Cx. Postal 23, CEP: 56300-000, Petrolina, PE.



Na fase de introdução dos explantes deve-se utilizar frascos de 5 cm de diâmetro por 6 cm de altura contendo 20 mL de meio de cultura e para a multiplicação e enraizamento, frascos de 8,5 x 8,2 x 8,2 cm contendo 80 mL de meio. Na fase de introdução, deve-se estabelecer um ápice caulinar por frasco e na multiplicação e enraizamento seis explantes. Os frascos contaminados devem ser descartados imediatamente após a sua identificação.

O processo de multiplicação deve ser realizado mediante subcultivos das gemas laterais, sendo efetuada a subdivisão dos explantes até o tamanho mínimo de 0,5 cm. No meio de cultura de multiplicação podem ser realizadas até seis subculturas dos explantes provenientes de cada ápice caulinar.

A cultura dos explantes deve ser realizada sob condições de temperatura de 26 \pm 2°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 2000 lux, sendo os subcultivos realizados, em média, a cada 30 dias.

As plântulas devem ser levadas à aclimatação quando atingirem um tamanho superior a 3 cm, apresentarem cartucho definido e após iniciarem a formação de raízes. Antes do transplante, deve-se proceder a lavagem das plântulas em água corrente, removendo-se os resíduos de meio de cultura e cortando-se as raízes longas, deixando-as com um tamanho máximo de 3 cm.

A aclimatação deve ser realizada em três etapas: berçário, telado e ambiente natural. Berçário: após o transplante das plântulas para bandejas contendo substrato estéril a base de vermiculita levá-las para o berçario por 20 dias, sob condições de umidade relativa superior a 80%, temperatura de 24°C a 30°C e sombreamento de 60%. Irrigar por nebulização quando necessário. Telado: as plântulas vigorosas devem ser transplantadas individualmente para sacos plásticos de polietileno com capacidade de 300 cm³, contendo substrato estéril a base de perlita, vermiculita e/ou matéria-orgânica curtida, sob luminosidade de 50% por 60 dias, sendo irrigadas por aspersão. Ambiente natural: finalizar a aclimatação mantendo-se as mudas em ambiente natural por 10 dias, sob condições de irrigação por aspersão.

Durante as três etapas da aclimatação, as mudas devem ser irrigadas, a cada sete dias, com solução nutritiva composta por nitrogênio, fósforo e potássio (fórmula 10-10-10).

Quando as mudas estiverem com 15 a 25 cm de altura, adequadamente rustificadas, estão aptas para o plantio em campo.

Dependendo da eficiência com que o sistema seja conduzido, pode-se obter um rendimento de 300 a 600 mudas por matriz, utilizando-se a metodologia descrita. Variações do protocolo proposto podem ser realizadas em função das condições específicas de cada laboratório.

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