

**DOCUMENTOS  
CNPMPF Nº 82**

**ISSN 0101-7411  
SETEMBRO/1998**

**MICROPROPAGAÇÃO  
DE FRUTEIRAS**

***Embrapa***

**DOCUMENTOS  
CNPMPF N° 82**

**ISSN 0101-7411  
Setembro, 1998**

# **MICROPROPAGAÇÃO DE FRUTEIRAS**

*Roberto Pedroso de Oliveira*

Cruz das Almas - Bahia

**EMBRAPA, 1998**

***Embrapa Mandioca e Fruticultura***. Documentos, 82

Exemplares desta publicação podem ser solicitados a:

***Embrapa Mandioca e Fruticultura***

Rua Embrapa, s/nº - Caixa Postal 007

Telefone: (075) 721-2120 - Telex: (75) 2074

Fax: (075) 721-1118

CEP: 44.380-000 - CRUZ DAS ALMAS - BAHIA - BRASIL.

Tiragem: 500 exemplares

**Comitê de Publicações:**

Marcio Carvalho Marques Porto - *Presidente*

Ivani Costa Barbosa - *Secretária*

Ana Lúcia Borges

Antonio Alberto Rocha Oliveira

Romulo da Silva Carvalho

Aristoteles Pires de Matos

Domingo Haroldo R.C. Reinhardt

Joselito da Silva Motta

Mario Augusto Pinto da Cunha

OLIVEIRA, R.P.de. **Micropropagação de fruteiras Cruz das Almas,**  
BA: EMBRAPA-CNPMF, 1998. 33p. (EMBRAPA-CNPMF.  
Documentos, 82).

## APRESENTAÇÃO

A micropropagação de plantas é hoje uma realidade na maioria dos países desenvolvidos e em alguns países em desenvolvimento, com amplas áreas cultivadas com culturas de elevado valor comercial, como é o caso do setor frutícola do Brasil. Os benefícios da micropropagação utilizando cultivo *in vitro* de tecidos são inúmeros e já conhecidos e valorizados por aqueles que lidam com as ciências agrícolas e/ou que buscam produzir mais e melhor.

Com o objetivo de colocar, na mesma mesa, cientistas pertencentes a instituições de pesquisa brasileiras e da Hungria, universidades e laboratórios comerciais especializados em produção de mudas micropropagadas, a ***Embrapa Mandioca e Fruticultura*** apoiou a realização desta reunião em Cruz das Almas. A reunião coincidiu com a inauguração da Biofábrica do Centro, construída com o apoio da Secretaria de Agricultura do Estado da Bahia e da Embrapa e que deverá ser explorada por empresa privada com reconhecida experiência na produção de mudas *in vitro*.

Os resultados da Reunião sobre Micropropagação de Fruteiras e as recomendações feitas para a produção de mudas de bananeira via cultura de tecidos, com ênfase no controle de qualidade e métodos de produção, podem ser considerados como de grande importância para aqueles que produzem ou pretendem produzir mudas de alta qualidade genética e fitossanitária.

A ***Embrapa Mandioca e Fruticultura*** reconhece a excelente organização e coordenação dos trabalhos feitos pelo seu pesquisador Roberto Pedroso de Oliveira e espera que as informações contidas neste Documento contribuam para elevar a qualidade dos nossos pomares frutícolas.

Márcio Carvalho Marques Porto  
Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento  
***Embrapa Mandioca e Fruticultura***

## MICROPROPAGAÇÃO DE FRUTEIRAS

### PRODUÇÃO DE MUDAS DE BANANEIRA VIA CULTURA DE TECIDOS; RECOMENDAÇÕES E CONTROLE

#### Coordenador:

Roberto Pedroso de Oliveira

*(Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas-BA)*

#### Participantes das apresentações e/ou discussões:

Alberto Duarte Vilarinhos

*(Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas-BA)*

Geni Carmen Zanol

*(Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas-BA)*

João Pereira *(Embrapa Sementes Básicas, Brasília-DF)*

José Rodrigues Filho (EBDA, Rio Seco-BA)

José Vieira Uzêda Luna (EBDA, Conceição do Almeida-BA)

Laureen M.H. Kido (IPA, Recife-PE)

Marcus Venicius Pires *(In vitro* Biotecnologia, Brasília, DF)

Maria Pinheiro F. Corrêa *(Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE)*

Miklos Fari (AGROINVEST/CODEVASF/EMBRAPA, Petrolina-PE)

Natoniel Franklin de Melo. *(Embrapa Semi-Árido, Petrolina-PE)*

Neri Samuel Dalinogare (EPAGRI - Itajaí, SC)

Paulo Ernesto Meissner Filho

*(Embrapa Agroindústria Tropical, Cruz das Almas-BA)*

Roberto Pedroso de Oliveira

*(Embrapa Agroindústria Tropical, Cruz das Almas-BA)*

**PROGRAMA DA REUNIÃO  
SOBRE MICROPROPAGAÇÃO DE FRUTEIRAS**

<b>ATIVIDADE</b>	<b>Palestrante</b>	<b>HORÁRIO</b>
<b><u>Dia 28 de abril de 1997</u></b>		
Abertura		
A micropropagação na EMBRAPA-CNPMF	Roberto Pedroso de Oliveira*	8:00 às 8:30
Experiência da EPAGRI em micropropagação	Neri Samuel Dalinogare	8:30 às 9:30
Intervalo		9:30 às 10:15
A micropropagação na EMBRAPA-CPATSA	Natoniel Franklin de Melo	10:30 às 11:15
Discussão geral		11:15 às 12:00
Almoço		12:00 às 14:00
Programa de produção de mudas na EMBRAPA-SPSB	João Pereira	14:00 às 14:45
Micropropagação na <i>In Vitro</i> Biotecnologia	Marcus Vinicius Pires	14:45 às 15:00
A micropropagação na EMBRAPA-CNPAT	Maria Pinheiro F. Corrêa	15:00 às 15:15
Intervalo		15:15 às 15:30
A micropropagação no IPA	Laureen M.H. Kido	15:30 às 15:45
Micropropagação industrial na Hungria	Miklos Fari	15:45 às 16:30
Discussão geral		16:30 às 17:00
<b><u>Dia 29 de abril de 1997</u></b>		
Visita à Biofábrica da EMBRAPA-CNPMF		8:00 às 9:30
Reunião sobre metodologia de produção de mudas micropropagadas		9:30 às 12:00
Almoço		12:00 às 14:00
Continuação da reunião		14:00 às 17:00

\* Nesta palestra foram incluídas duas apresentações:

- “Aplicabilidade de marcadores moleculares (RAPD) para o monitoramento da variação somaclonal em bananeira” pelo Dr. Alberto Duarte Vilarinhos.
- “Programa de indexação para mudas micropropagadas” pelo Dr. Paulo Ernesto Meissner Filho.

# MICROPROPAGAÇÃO DE FRUTEIRAS

*Roberto Pedroso de Oliveira<sup>1</sup>*

## RESUMO

Neste documento são relatados os principais resultados da Reunião sobre Micropropagação de Fruteiras, realizada no Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical (*Embrapa Mandioca e Fruticultura*), no período de 28 a 29 de abril de 1997, que reuniu pesquisadores e produtores de mudas. Foram discutidos aspectos relacionados a critérios para instalação, condução e coleta de explantes em bancos de matrizes, multiplicação *in vitro* de plântulas, aclimatação de mudas, controle de qualidade genética, fitossanitária e fitotécnica das mudas, certificado de qualidade das mudas, fiscalização da produção, custo de produção, mercado, vantagens e desvantagens das mudas micropropagadas e as ações em pesquisa prioritárias em cultura *in vitro* de tecidos de bananeira. As discussões concentraram-se em relação à produção de mudas de bananeira, no entanto, de uma forma geral, os conceitos podem ser estendidos para outras fruteiras. Os resultados do evento demonstraram que a troca de informações e experiências, tanto em aspectos da produção como da comercialização das mudas entre os segmentos do sistema produtivo é essencial para a sobrevivência das empresas e para o desenvolvimento desta atividade agrícola.

## INTRODUÇÃO

As técnicas de cultura *in vitro* de tecidos têm sido utilizadas para a multiplicação de plantas em diversos países. No Brasil, existe mais de uma dezena de empresas trabalhando com a cultura da bananeira, produzindo aproximadamente 4 milhões de mudas por ano, o que é insuficiente para atender a demanda, principalmente devido a implantação de grande projetos de agricultura irrigada no Nordeste Brasileiro. Estes laboratórios estão

---

<sup>1</sup> Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup>, MSc., Pesquisador da *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, CP.007, CEP 44380-000 Cruz das Almas - BA.

localizados em empresas públicas e privadas nos Estados de Santa Catarina, São Paulo, Minas Gerais, Bahia, Pernambuco e no Distrito Federal. Os principais problemas das empresas de micropropagação consistem na dificuldade de se produzir as mudas com o mesmo padrão de qualidade genética e fitossanitária, controlando as variações somaclonais e a proliferação de viroses; o elevado custo de produção; e a dificuldade na comercialização das mudas devido a falta de um planejamento pelos agricultores.

No período de 28 a 29 de abril de 1997 foi realizada no Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical (*Embrapa Mandioca e Fruticultura*) uma Reunião sobre Micropropagação de Fruteiras, cujo principal objetivo foi promover a troca de experiências entre profissionais do setor público e privado sobre propagação *in vitro* de plantas. A discussão abordou critérios para a instalação, condução e coleta de explantes em bancos de matrizes, multiplicação de plântulas *in vitro*, aclimatação de mudas, controle de qualidade genética, fitossanitária e fitotécnica das mudas, certificado de qualidade das mudas, fiscalização da produção, custo de produção, mercado, vantagens e desvantagens das mudas micropropagadas e as ações de pesquisa prioritárias em cultura de tecidos. Embora os temas abordados sejam aplicáveis a quase todas as culturas multiplicadas *in vitro*, foi dada ênfase à cultura da bananeira, em virtude de ser uma das fruteiras mais micropropagadas no país.

Durante a reunião foram apresentados os resultados dos trabalhos de pesquisa e de produção de mudas micropropagadas por cada instituição, seguido de discussões pontuais sobre os temas abordados e, no final, foram estabelecidos critérios mínimos para a micropropagação da bananeira.

Os critérios estabelecidos para a cultura da bananeira servem de modelo também para outras culturas.

## RESUMO DAS PALESTRAS

### A MICROPROPAGAÇÃO NA EMBRAPA-CNPMF

Roberto Pedrosa de Oliveira<sup>1</sup>; Geni Carmen Zanol<sup>2</sup>; Alberto Duarte Vilarinhos<sup>1</sup>

O Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical (CNPMF-EMBRAPA) possui um Laboratório de Biotecnologia - Cultura de Tecidos de aproximadamente 270 m<sup>2</sup>, adequadamente equipado, onde são executados trabalhos de pesquisa nas áreas de micropropagação, embriogênese somática, resgate de embriões e conservação *in vitro* de germoplasma. Em micropropagação, são estudados protocolos visando maximizar a taxa de multiplicação das plântulas, diminuir as taxas de contaminação e oxidação durante a introdução *in vitro* e as subculturas, maximizar a aclimação e estabelecer sistemas para indexação dos principais patógenos e para monitorar os níveis de variação somaclonal. Nesta área, tem-se trabalhado com vários cultivares diplóides, triplóides e tetraplóides de bananeira, como a Lidi, Grande Naine, Nanicão, Pioneira, Thap maeo, Caipira, Mysore, Prata anã, FHIA-01 e FHIA-18; cultivares de mamoeiro como o Improved Sunrise Solo, Sunrise Solo e Tainung nº1; cultivares/híbridos de abacaxizeiro, destacando-se quatro novos híbridos de abacaxizeiro obtidos pelo Centro tolerantes à fusariose e que se encontram em fase de lançamento; e dezenas de variedades de mandioca. A embriogênese somática em bananeira e citros está sendo estudada visando trabalhos de hibridação somática, transformação e multiplicação acelerada. O resgate de embriões vem sendo conduzido praticamente como uma atividade de rotina em bananeira e citros, visando garantir o desenvolvimento de novos híbridos provenientes de cruzamentos controlados em campo. Atualmente, são conservados *in vitro*, utilizando-se temperaturas reduzidas para diminuir a taxa de crescimento das plantas, 1000 acessos de mandioca e 40 de bananeira, pretendendo-se aumentar os de mandioca para 1640, os de bananeira para 100 e criar um banco *in vitro* de germoplasma de abacaxi com 100 acessos. Em maio de 1997 foi inaugurada na EMBRAPA-CNPMF a Unidade Comercial de Produção de Mudas - Biofábrica, composta por uma Laboratório de Micropropagação de 260 m<sup>2</sup>, Laboratório de Aclimação de 168 m<sup>2</sup> e casas-de-vegetação, apresentando uma capacidade

---

<sup>1</sup>Pesquisador Biotecnologia EMBRAPA-CNPMF, C.P.007, 44380-000, Cruz das Almas-BA

<sup>2</sup>Bolsista Desenvolvimento Científico Regional do CNPq

de produção de um milhão de mudas por ano. Os principais objetivos da Biofábrica consistem em: produzir, rapidamente, quantidade suficiente de mudas das novas cultivares/híbridos produzidos no CNPMF para a realização de ensaios regionais de desempenho agrônomico; produzir massalmente mudas das cultivares/híbridos lançados/recomendados pelo CNPMF, permitindo o acesso dos agricultores a materiais geneticamente melhorados; promover a limpeza de patógenos em materiais de propagação vegetativa infectados; aprimorar os protocolos comerciais de micropropagação; treinar e estimular empresários a investir no setor de produção de mudas de alta qualidade genética e fitossanitária; estimular a troca de informações técnicas e metodológicas entre empresas que trabalham com micropropagação e entidades de pesquisa; conscientizar os agricultores a utilizar mudas de alta qualidade; e contribuir para o aumento da produtividade e da qualidade dos produtos agrícolas produzidos no país, por meio da instalação/renovação das plantações com materiais geneticamente superiores.

## **APLICABILIDADE DE MARCADORES MOLECULARES (RAPD) PARA O MONITORAMENTO DA VARIAÇÃO SOMACLONAL EM BANANEIRA**

**Alberto Duarte Vilarinhos<sup>1</sup>; Monalisa Sampaio Carneiro<sup>2</sup>; Roberto Pedroso de Oliveira<sup>1</sup>; Sebastião de Oliveira e Silva<sup>1</sup>**

A utilização de técnicas de micropropagação na multiplicação de bananeira tem sido um dos principais fatores de expansão da cultura. Isso ocorre devido ao fato dessa metodologia possibilitar a produção, em larga escala, de mudas de alta qualidade fitossanitária. A grande limitação da técnica é a ocorrência de variantes somaclonais, mutantes de origem desconhecida, que em alguns casos, podem representar até 25% dos indivíduos de um lote de plantas oriundas de cultura de tecidos. Alguns efeitos dessas mutações, como o nanismo, são típicos e ocorrem com alta frequência em bananeira. Como na maioria dos casos, os variantes somente são identificados em estádios avançados de crescimento, os danos à produção são elevados. Uma das maneiras de se identificar de forma mais rápida esses indivíduos indesejáveis consiste na utilização de marcadores moleculares, uma vez que estas ferramentas possibilitam análises de plantas em estágio precoce (*in vitro*). Desta forma, está sendo conduzido na EMBRAPA-CNPMF um trabalho com o objetivo de adequar a metodologia de análise de marcadores RAPD em banana, estudar a diversidade genética e verificar a sua aplicabilidade para detecção de nanismo em clones de cultivares do subgrupo Cavendish. A adequação da metodologia consistiu em modificações nas concentrações de CTAB e b-mercaptional e com a adição de PVP em protocolo já existente na literatura. Na análise da diversidade genética foram usados, até o momento, um total de 26 "primers", produzindo 124 bandas. Foram observadas diferenças entre clones oriundos de propagação convencional de uma mesma cultivar. Confirmou-se a similaridade genética das cultivares do subgrupo Cavendish (98,6%). Nos estudos para detecção do nanismo, foram avaliados indivíduos micropropagados normais e mutantes para o caráter anão. Quatrocentos iniciadores de reação foram utilizados, gerando um total de 2.296 bandas. Somente o iniciador OPH 08 apresentou um produto de amplificação polimórfico, presente no grupo de indivíduos normais e ausente no grupo de mutantes. Porém, ao se analisar separadamente os componentes do

---

<sup>1</sup>Pesquisador EMBRAPA-CNPMF, C.P. 007, 44380-000, Cruz das Almas-BA.

<sup>2</sup>Estudante Doutorado ESALQ-USP, C.P. 83, 13400-970, Piracicaba-SP.

grupo normal, a banda polimórfica somente estava presente em três dos dez indivíduos, não havendo assim adequada co-segregação desse marcador com o caráter avaliado. Atualmente, os trabalhos direcionam-se no sentido de identificar marcadores ligados ao nanismo, analisando-se progênies oriundas de cruzamentos entre plantas diplóides normais e anãs. Paralelamente, procura-se comparar padrões moleculares de plantas micropropagadas, desde a matriz até o sexto subcultivo. A expectativa atual consiste em encontrar marcadores moleculares associados ao nanismo em bananeiras do subgrupo Cavendish, como ocorreu na Universidade de Queensland (Austrália).

## PROGRAMA DE INDEXAÇÃO PARA MUDAS MICROPROPAGADAS

Paulo Ernesto Meissner Filho<sup>1</sup>

O programa de indexação proposto para fruteiras tropicais micropropagadas é similar ao utilizado com sucesso na cultura da batata-mente. A estratégia básica é intensificar os testes de indexação na planta matriz e nas primeiras plântulas produzidas *in vitro*, desta forma o processo torna-se mais econômico e menos trabalhoso. As matrizes e plantas micropropagadas devem ser testadas para as principais viroses existentes no Brasil na culturas em produção, utilizando-se os métodos disponíveis (plantas indicadoras, testes sorológicos, PCR, etc). A chave do sucesso do programa consiste em ter um controle rigoroso da origem de cada planta que foi micropropagada. Então, cada meristema introduzido recebe um número, que possibilite levantar todos os testes que foram efetuados com a planta matriz da qual ele foi retirado. Toda a descendência daquele meristema é numerada permitindo localizar todas as plantas "filhas" daquele meristema. Assim, quando um teste de indexação detecta alguma virose em qualquer meristema, é possível eliminar com segurança todo o material contaminado. As mudas produzidas devem ser mantidas em casa-de-vegetação ou telado a prova de insetos para evitar a re-infestação por viroses. Na EMBRAPA-CNPMF foi iniciado em 1997 um programa, visando indexar os acessos do Banco ativo de germoplasma de banana para o vírus do mosaico do pepino (CMV). O BAG de mandioca está sendo testado, desde 1996, para o vírus do mosaico comum da mandioca (CsCMV), vírus do mosaico das nervuras (CVMV) e vírus do couro de sapo (CFSD). No futuro, espera-se estender este programa de indexação para outras fruteiras tropicais.

## EXPERIÊNCIA DA EPAGRI EM MICROPROPAGAÇÃO

Neri Samuel Dalenogare<sup>1</sup>

As pesquisas desenvolvidas pela Estação Experimental de Itajaí (EEI-EPAGRI) em micropropagação vegetativa, na área de fruticultura tropical, são realizadas através de três projetos: aclimação *ex vitro* de mudas de bananeira produzidas por cultura de tecidos, manejo *in vitro* de mudas de bananeira produzidas por cultura de tecidos, e estabelecimento de protocolos para multiplicação de cultivares de bananeira. Os objetivos gerais são reduzir o tempo e a mão-de-obra necessários para a produção de mudas e também estabelecer protocolos que resultem na redução destes dois itens e dos materiais e reagentes utilizados. Os resultados obtidos até o momento são preliminares, mas permitem inferir que as plântulas de bananeira de tamanho grande (6-7 cm) e médio (4-6 cm) são mais tolerantes ao estresse *ex vitro* do que as pequenas (< 4 cm). Verificou-se, também, que é possível sobrepor os vidros na sala de crescimento sem nenhum prejuízo ao número e tamanho das brotações. Em outro trabalho, está sendo avaliada a possibilidade de substituição do ágar por algodão, como suporte para as mudas *in vitro*. Até o momento, os resultados são animadores, faltando, no entanto, determinar a melhor proporção algodão/solução nutritiva. Como resultado importante de pesquisa concluída em micropropagação de bananeira, obtido na Estação Experimental de Itajaí (EEI), é necessário citar o seguinte trabalho "Efeito do tamanho do explante e da quebra de dominância apical sobre a brotação de gemas laterais na produção de mudas de bananeira *in vitro*" dos autores Zaffari, G.R., Soliman Filho, L.F. e Stuker, H, publicado na Revista Brasileira de Fruticultura, v.17, n.1, p.37-42, 1995. A EPAGRI, graças a um convênio com a empresa Duas Rodas Industrial Ltda., Jaraguá do Sul-SC, viabilizou a construção e funcionamento do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (L.C.T.V.). A partir de 1994, iniciou-se a produção comercial de mudas de bananeira das cultivares Grande Naine, Nanicão, Williams Híbrida e Enxerto (Prata Anã), sendo que até março de 1997 foram produzidas 552.225 mudas. O L.C.T.V. atende a demanda de produtores de diversos estados brasileiros. Visando manter a alta fidelidade genética das mudas produzidas, o L.C.T.V. mantém dentro da EEI um banco de germoplasma para suprir as necessidades de produção. Este banco foi implantado com material já existente na Estação, que é submetido a vistorias criteriosas por especialistas nas mais diversas áreas. O L.C.T.V. está sendo reformado, ampliado e equipado, bem como o setor de aclimação, para possibilitar a produção de um milhão ou mais de mudas por ano.

---

<sup>1</sup> Laboratório de Cultura de Tecidos - EPAGRI - Estação Exp. de Itajaí, C.P. 277, Itajaí, SC.

## A MICROPROPAGAÇÃO NA EMBRAPA-CPATSA

Natoniel Franklin de Melo<sup>1</sup>

O Laboratório de Biotecnologia da *Embrapa Semi-Árido* ou Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi-Árido - CPATSA, vem desenvolvendo trabalhos na área de micropropagação vegetal, visando a pesquisa, desenvolvimento e produção de mudas de espécies vegetais de interesse agrícola para a região Nordeste. Sua concepção é resultado de um trabalho de parceria entre *Embrapa Semi-Árido*, *Embrapa Sementes Básicas*, localizadas em Petrolina-PE, e a Companhia de Desenvolvimento do Vale do São Francisco (CODEVASF), objetivando a utilização de tecnologias mais eficientes e seguras, do ponto de vista fitossanitário, na produção de material para instalação e renovação de áreas de plantio. Atualmente, vêm sendo multiplicadas, através do cultivo *in vitro*, espécies como a uva (*Vitis vinifera*), banana (*Musa* spp.), abacaxi (*Ananas comosus*), batata (*Solanum tuberosum*) e morango (*Fragaria* spp.). Nos últimos 12 meses, foram produzidas cerca de 360.000 mudas destas espécies, representando 30% da capacidade de produção anual. Neste caso, a maior parte do material produzido e comercializado foi de videira, principalmente dos porta-enxertos IAC-572 e IAC-766 (Tabela 1). Estas variedades foram cultivadas, inicialmente, através de meristemas, indexadas visando assegurar a ausência das principais viroses, multiplicadas *in vitro* por micro-estaquia, e levadas a campo para constituição dos matrizeiros. Em relação ao desenvolvimento de novos protocolos, estão sendo feitas pesquisas com culturas como o umbuzeiro (*Spondias tuberosa*), tamareira (*Phoenix dactylifera*) e algaroba (*Prosopis juliflora*), além de algumas espécies de pteridófitas, ornamentais e de interesse agrônomo para a região do Vale do São Francisco. Na cultura da bananeira, trabalhos visando a tolerância ao estresse salino também vêm sendo desenvolvidos, através da utilização de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), buscando sua utilização no substrato utilizado na fase de aclimação das plantas. Entre os FMAs testados, os gêneros *Glomus* e *Acaulospora* foram os mais promissores. Finalmente, devido aos grandes prejuízos causados por pragas na cultura do tomate (*Lycopersicon esculentum*), alguns métodos de regeneração em

---

<sup>1</sup> Laboratório de Biotecnologia-*Embrapa Semi-Árido*, C.P. 23, 56300-000, Petrolina-PE.

variedades industriais brasileiras vêm sendo testados, buscando a utilização de *Agrobacterium* como vetor na transformação genética desta espécie. Neste caso, serão empregadas algumas construções gênicas visando resistência a insetos, principalmente à traça do tomateiro (*Tuta absoluta*) e à mosca-branca (*Bemisia argentifolii* e *Bemisia tabaci*).

Tabela 1 - Quantidade de material vegetativo produzido e/ou comercializado pela **Embrapa Semi-Árido** e SPSB/Gerência Petrolina-PE, entre junho de 1996 e maio de 1997.

Cultura (variedade)	Gemmas		Mudas enraizadas		Total
	Produtores	Viveiristas	Produtores	Viveiristas	
Videira (IAC-572)	110.758	124.488	2.590	250	238.086
Videira (IAC-766)	37.800	.....	.....	.....	37.800
Banana (Pacovan)	.....	.....	23.000	.....	23.000
Banana (Nanicão)	.....	.....	10.000	.....	10.000
Abacaxi (Smooth cayenne)	.....	.....	40.000	.....	40.000
Batata (Monalisa)	.....	.....	10.000	.....	10.000
Morango (Chandler)	.....	.....	4.000	.....	4.000
<b>TOTAL</b>	<b>148.558</b>	<b>124.488</b>	<b>89.590</b>	<b>250</b>	<b>362.886</b>

## **PROGRAMA DE PRODUÇÃO DE MUDAS DE FRUTEIRAS NA EMBRAPA-SPSB**

João Pereira<sup>1</sup>; Paulo César Nogueira<sup>1</sup>; José Márcio de Moura Silva<sup>2</sup>; Mário Soter França Dantas<sup>1</sup>

A produção de mudas na EMBRAPA-SPSB trata-se de uma atividade recente. Surgiu em virtude da crescente demanda por mudas de fruteiras de qualidade. Assim, está sendo desenvolvido um programa de produção de mudas em parceria com o CNPMF financiado pelo CNPq através do BIOEX, envolvendo oito Gerências Locais do SPSB, com os seguintes produtos: banana (cultivares Caipira, Pioneira, FHIA-01 e FHIA-18); coco (Anão Verde); manga (Haden, Kent, Palmer, Tommy Atkins, Van Dyke e Zill); uva (IAC 572, IAC 766, Itália e Piratininga e esquema de monitoramento de vírus); abacaxi (teste pré-lançamento de híbridos); maçã (porta-enxertos: M-7 e M-8, enxerto: Gala, Royal Gala e Delicuios). Com o Instituto Agrônômico (IAC), também pelo BIOEX, o SPSB está iniciando desenvolvimento de mudas de citros provenientes de cavalos produzidos sob condições controladas e de borbulhas provenientes de mudas micropropagadas no IAC. A produção de mudas micropropagadas programada para este ano é de 100.000 de banana e 90.000 de abacaxi. A demanda deverá determinar o grau de crescimento da produção de mudas micropropagadas.

---

<sup>1</sup>Pesquisador da EMBRAPA-SPSB.

<sup>2</sup>Bolsista do CNPq.

## MICROPROPAGAÇÃO NA *IN VITRO* BIOTECNOLOGIA

Marcus Venicius Pires<sup>1</sup>; Cleison Mêdas Duval<sup>1</sup>

A *IN VITRO* Biotecnologia de Plantas iniciou suas atividades dentro do programa de incubadora de empresas do Centro de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico da Universidade de Brasília (UnB). É uma opção para o produtor rural que sabe que o plantio de mudas sadias e selecionadas resulta em aumento da qualidade e da produtividade da cultura. A empresa tem um controle rígido de qualidade que começa na escolha de matrizes. As mudas são entregues aos produtores todas em tamanho uniforme e ideal para o plantio irrigado; o desempenho das mudas no campo é excelente, apresentando produção elevada, precocidade e mantendo as características das matrizes. No entanto, para que o produtor obtenha o máximo das vantagens das mudas micropropagadas é necessário que a irrigação, o preparo do solo e a adubação sejam feitos de forma correta. Para manter um elevado padrão tecnológico, a *IN VITRO* mantém intercâmbio e tem parceria com várias instituições, como a EMBRAPA, FINEP, CNPq-MCT, Empresas Estaduais de Pesquisa, Universidades e EMATER. Desde o início, as principais atividades em pesquisa da *IN VITRO* se voltaram para obtenção de protocolos de micropropagação e de metodologias de trabalho adequados para a produção de mudas em larga escala. Outras pesquisas vêm sendo desenvolvidas juntamente com os departamentos de Fitopatologia e Fisiologia Vegetal da Universidade de Brasília, estando relacionados com identificação e eliminação de bactérias que surgem ao longo do processo de multiplicação e ao desenvolvimento de protocolos para produção de mudas de novas espécies. A *IN VITRO* já produziu aproximadamente 700.000 mudas até agora. A previsão é de entregar 600.000 em 1997 e 1.000.000 em 1998. Os principais produtos são banana (cultivares Prata-anã e Maçã em plena produção / Grande Naine, Mysore e Pacovan sob encomenda), morango (Dover, Campinas e Osso Grande em plena produção) e abacaxi (todas as cultivares sob encomenda). As mudas de bananeira comercializadas medem acima de 25 cm, sendo aclimatadas com 2 meses de idade. O transporte fica por conta do cliente.

---

<sup>1</sup> *IN VITRO* Biotecnologia de Plantas Ltda., QSC 05, lote 03, 72016-050, Taguatinga-DF.

## A MICROPROPAGAÇÃO NA EMBRAPA-CNPAT

Diva Correia<sup>1</sup>; Maria Pinheiro F. Corrêa<sup>1</sup>

A EMBRAPA-CNPAT - Centro Nacional de Pesquisa de Agroindústria Tropical, localizado em Fortaleza-CE, iniciou, em 1987, atividades na área de cultura de tecidos de plantas. Neste período foi instalado na Estação Experimental de Pacajus (CE), com apoio do Banco do Nordeste, o Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da EMBRAPA-CNPCa (Centro Nacional de Pesquisa de Caju), atual CNPAT. No momento, um laboratório com infra-estrutura mais adequada às expectativas de trabalho encontra-se em fase de conclusão nas instalações do CNPAT. A área de Cultura de Tecidos de Plantas do CNPAT tem como objetivo desenvolver metodologias e/ou aplicar metodologias já existentes para regeneração *in vitro* de plantas de interesse da agroindústria tropical, visando dar apoio aos programas de melhoramento genético e de produção comercial de mudas. Atualmente, o CNPAT está desenvolvendo estudos de propagação *in vitro* de fruteiras perenes (cajueiro, cajazeira e sapatizeiro) e de ornamentais (helicôneas e bromélias). Entre os estudos, a pesquisa de propagação *in vitro* do cajueiro encontra-se mais avançada nas definições dos protocolos e para outras espécies estão em fases iniciais. Os primeiros estudos sobre regeneração *in vitro* do cajueiro foram realizados em parcerias, durante o período de 1989-1992, com o Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, o Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA-USP) e o Departamento de Ciências Florestais da ESALQ-USP. Com a elaboração, em 1994, do projeto "Micropropagação do cajueiro", os estudos continuaram sob coordenação e execução do CNPAT. Entre os resultados mais expressivos destes estudos destacam-se: controle sobre a contaminação, oxidação e indução de gemas tanto para fonte de material propagado por sementes quanto adulto; indicação da melhor fonte de explante a partir de material adulto; obtenção de plantas micropropagadas a partir de material propagado por sementes (25 árvores de cajueiro anão precoce encontram-se em campo desde 1991 apresentando crescimento normal e com produção desde 1993); definição de meio nutritivo específico para regeneração *in vitro* do cajueiro;

---

<sup>1</sup> Laboratório de Biotecnologia-*Embrapa Agroindústria Tropical*, 60060-510, Fortaleza-CE

e definição de tecidos ovulares que apresentam maior potencial para os estudos de embriogênese somática do cajueiro. Atualmente, a equipe técnica do laboratório é formada por um pesquisador, um assistente de pesquisa, um auxiliar de serviços e dois estudantes de graduação do Curso de Biologia (UFC). Adicionalmente, estão sendo desenvolvidas duas dissertações de mestrado com estudantes do Curso Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará (UFC), relacionadas com a Micropropagação da Cajazeira e com a Embriogênese Somática do Cajueiro.

## A MICROPROPAGAÇÃO NO IPA

Laureen Michelle Houllou Kido<sup>1</sup>

O IPA possui dois laboratórios de cultura de tecidos. O laboratório que se encontra na sede da Empresa, em Recife, foi o primeiro a ser instalado. As principais atividades deste laboratório estão correlacionadas com trabalhos de pesquisa em diversas culturas, como banana (indução de mutação e seleção de mutantes de banana maçã tolerantes ao *Fusarium oxysporium* f.sp. *cubense*, resistência a salinidade em banana cv. Nanicão e estabelecimento de uma coleção das principais cultivares de banana para atender a demanda de mudas de qualidade pelos agricultores da região), cana-de-açúcar (isolamento de meristemas e regeneração *in vitro* de plantas limpas de cana das cultivares RB 732577, CB 45-3, SP 775181, CO 997, SP 716949, SP 701143 e SP 734764, indução e seleção *in vitro* de mutantes de cana resistentes a herbicida), batata inglesa (regeneração e multiplicação *in vitro* da variedade Baraka para a produção de plantas limpas, sendo que destas, 7000 plantas estão, atualmente, na Estação Experimental de Arco Verde produzindo sementes pré-básicas), mandioca (regeneração e multiplicação *in vitro* das variedades Isabel de Souza e Trouxinha para fornecer mudas limpas para o programa de melhoramento de mandioca da Empresa e caracterização isoenzimática do banco de germoplasma de mandioca), entre outras. O segundo laboratório (biofábrica) se encontra instalado na Estação Experimental de Itapirema, localizada no município de Goiânia-PE. A biofábrica tem por objetivo fornecer aos agricultores do Estado de Pernambuco mudas limpas de cana-de-açúcar, tendo uma produção estimada de 2 milhões de mudas/ano.

---

<sup>1</sup> IPA - Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, 50761-000, Recife, PE.

## MICROPROPAGAÇÃO INDUSTRIAL NA HUNGRIA

Miklós Fári<sup>1</sup>

A maioria dos especialistas em biotecnologia vegetal não conhecem que Gottlieb Haberlandt, grande mestre e gênio formulador da teoria da cultura de tecidos vegetais, nasceu na Hungria, em Mosonmagyaróvár, numa pequena cidade do oeste do país. A partir dos experimentos realizados por Haberlandt, em 1902, a Hungria teve um papel pioneiro no desenvolvimento das bases biológicas e técnicas de micropropagação, desde o primeiro sistema semi-automático de micropropagação PROPAMATIC, desenvolvido em 1977, até o sistema CLONER, desenvolvido recentemente no Laboratório de Cultura de Tecidos do Centro de Biotecnologia Agrícola (ABC, G"d"II", Hungria). Desta forma, o ABC desenvolveu a bancada de micropropagação CLONER, um simples e econômico tipo de câmara de fluxo laminar, constituído de um dispositivo de inoculação estéril (DIE) e um dispositivo de abertura e fechamento (DAF), funcionando com caixas plásticas pré-esterilizadas (Veg-Box). Este modelo aumentou a velocidade de repicagem, em *Gerbera*, de três para sete a oito explantes por minuto. Vale salientar que a maioria destes sistemas encontra-se instalada no Laboratório de Biotecnologia da **Embrapa Semi-Árido**, localizado em Petrolina-PE, através de parceria com a Companhia de Desenvolvimento do Vale do São Francisco (CODEVASF) e AGROINVEST. A Hungria é considerada um dos maiores produtores de mudas por meio de micropropagação industrial no Leste europeu. As principais espécies produzidas entre 1985 e 1997 foram batata-inglesa, *Gerbera*, plantas frutíferas temperadas, plantas decorativas para vaso, orquídeas, aspargo, morango e *Rubus*. A Tabela 1 resume as principais características desta atividade.

Tabela 1 – Principais características da micropropagação industrial na Hungria

Capacidade e produção	1985	1995	1998*
Capacidade total de produção <sup>1</sup>	20	4	7
Número de laboratórios:			
- capacidade acima de 2 milhões mudas/ano	5	1	2
- 1-2 milhões mudas/ano	2	2	2
- 0,5-1 milhão mudas/ano	3	3	3
- 0,1-0,5 milhão mudas/ano	4	4	5
- abaixo de 0,1 milhão mudas/ano	10	10	12
Produção total <sup>2</sup>	3	2	4
Valor total (em 1000 US\$)	350-400	400-500	800-900
Número de pessoas envolvidas <sup>3</sup>	150	90	120
Produtividade <sup>4</sup>	15-25	25-30	30-40

\* Dados estimados. <sup>1</sup> Milhões de mudas por ano. <sup>2</sup> Milhões de mudas aclimatadas/ano, sendo de 25-30% para o mercado internacional. <sup>3</sup> Operários e técnicos, 8 horas/dia. <sup>4</sup> Em 1000 plantas/ano/pessoa.

<sup>1</sup> Pesquisador visitante: Convênio **Embrapa Semi-Árido**/CODEVASF/AGROINVEST/ ABC, BR 428, Km 152, Zona Rural, C.P. 23, 56300-000, Petrolina-PE.

## RESULTADOS DAS DISCUSSÕES SOBRE MICROPROPAGAÇÃO DE BANANEIRA

### Empresa de micropropagação

As empresas de micropropagação devem ser registradas no Ministério da Agricultura e no órgão estadual competente, apresentando um projeto técnico para produção das mudas. Cada empresa deve possuir um responsável técnico com nível superior, devidamente capacitado em tecnologia de produção de mudas. O atestado de garantia de qualidade genética, fitossanitária e fitotécnica das mudas deve ser emitido pela empresa com a assinatura do responsável técnico.

### Banco de matrizes

Os explantes iniciais para a multiplicação *in vitro* de mudas de bananeira devem ser coletados preferencialmente em bancos de matrizes, estabelecidos pelas próprias empresas de micropropagação, por instituições de pesquisa ou terceiros.

Os bancos de matrizes devem ser adequadamente estabelecidos e conduzidos de acordo com as recomendações de pesquisa para cada cultivar, quanto ao espaçamento, adubação, irrigação, drenagem, controle de plantas daninhas, pragas, doenças e nematóides.

No caso de impossibilidade de coleta de explantes em bancos de matrizes, esses somente deverão ser adquiridos em plantios comerciais contendo plantas vigorosas e livres de pragas e doenças.

A drenagem nos bancos de matrizes é um dos aspectos fundamentais, na medida em que diminui a proliferação de bactérias endógenas freqüentes em cultura de tecidos de bananeira. Como os microrganismos de natureza endógena não são expostos aos agentes desinfestantes, estes devem ser controlados na planta matriz.

As plantas matrizes devem ser sadias, de alto potencial produtivo, possuindo as características fenotípicas da cultivar desejada.

As mudas do tipo chifre, chifrinho ou chifrão devem ser utilizadas como matrizes para extração dos meristemas ou ápices caulinares.

As mudas do tipo guarda-chuva e plantas adultas devem ser evitadas. As primeiras por serem menos vigorosas e apresentarem menor potencial para a multiplicação das plântulas e as segundas pelo maior custo durante o processo de coleta, transporte e extração dos meristemas ou ápices caulinares.

O coração raramente é utilizado para a extração do explante inicial pelas empresas de micropropagação, devido à dificuldade em se conseguir grande quantidade desse tipo de explante durante todo o ano, embora apresente altas taxas de multiplicação (2 a 6) e permita uma avaliação mais precisa do potencial da cultivar, uma vez que se pode avaliar o cacho produzido pela matriz.

Plantas micropropagadas não devem ser utilizadas como matrizes, devido ao maior risco de ocorrência de variações somaclonais.

As plantas matrizes devem ser indexadas, principalmente em relação a viroses.

Na coleta de matrizes deve-se manter o maior nível possível de assepsia, utilizando-se instrumentos e ferramentas limpos.

Após a coleta, as matrizes devem ser armazenadas, pelo menor período possível, sob condições que mantenham a integridade do material e que propiciem baixos níveis de contaminação na cultura *in vitro*.

Toda matriz deve ser adequadamente identificada, sendo importante o seu acompanhamento individual quanto às taxas de contaminação e multiplicação, desde a coleta até a aclimatação, uma vez que é significativo o efeito do clone no desempenho das plântulas durante a micropropagação.

### Processo laboratorial

Os explantes de bananeira devem ser desinfestados, utilizando-se álcool, hipoclorito de cálcio, hipoclorito de sódio, peróxido de hidrogênio, nitrato de prata ou outras substâncias, em concentrações e tempo de exposição adequados, visando a eliminação de fungos e bactérias e de forma a não comprometer a taxa de multiplicação e a qualidade final das mudas.

Após o tratamento de desinfestação, os explantes devem ser lavados em câmara de fluxo laminar com água destilada e esterilizada em abundância para a completa remoção de resíduos das substâncias desinfestantes.

A extração dos meristemas ou ápices caulinares e as repicagens dos explantes devem ser realizadas em câmaras assépticas utilizando-se instrumentos estéreis. Os explantes devem ser reduzidos a pelo menos 6 mm altura por 5 mm diâmetro, até adquirirem a forma e o tamanho adequados para a multiplicação.

A aplicação de formol e o emprego de outras práticas de assepsia, tais como limpeza com álcool 70% ou substâncias bactericidas, uso de máscaras e guarda-pó, limpeza dos sapatos, controle no número de visitas ao laboratório, rápido descarte dos frascos contaminados, etc, devem ser

utilizados para evitar o desenvolvimento de microrganismos adaptados às condições da cultura *in vitro*,

Os meios de cultura para as fases de estabelecimento, multiplicação e enraizamento devem possuir quantidades balanceadas de sais minerais, vitaminas, açúcar, meso-inositol e reguladores de crescimento para multiplicação de plântulas vigorosas, com baixos níveis de oxidação e de variação somaclonal. O meio de cultura MS suplementado com diferentes concentrações de benzilaminopurina tem sido o mais comumente empregado na micropropagação de bananeira.

O emprego de agargel ou Phytigel, ao invés do agar, tem sido eficiente no controle da contaminação, na medida em que possibilita a rápida identificação de plântulas contaminadas e a sua conseqüente eliminação.

Em geral, substâncias de ação fungicida e/ou antibióticos não são empregados no meio de cultura para a micropropagação de bananeira.

As condições mais utilizadas para a cultura *in vitro* de tecidos de bananeira são temperaturas entre 22 e 30°C, intensidade luminosa superior a 1200 lux e fotoperíodo de pelo menos 12 horas.

Durante as repicagens, os subcultivos devem ser realizados com freqüência máxima de 30 dias, de forma a evitar o esgotamento dos nutrientes do meio de cultura, a excessiva formação de raízes e um nível elevado de oxidação das plântulas.

O número final de mudas produzidas por explante inicial ou o número máximo de subcultivos deve ser ajustado em função da cultivar/espécie e da metodologia de micropropagação, de forma que as mudas não apresentem níveis de variantes somaclonais superiores a 5%.

### Processo de aclimação\*

O enraizamento da bananeira pode ser *ex vitro* ou *in vitro*, devendo ser adotadas as práticas adequadas para cada sistema de aclimação.

A aclimação normalmente é feita em duas etapas: inicialmente num berçário, que consiste numa casa-de-vegetação com condições controladas de luminosidade, umidade e temperatura, e a fase de crescimento sob condições de telado.

O piso do berçário e dos telados deve ser de cimento ou brita, evitando o contato das mudas com o solo e a provável contaminação por patógenos e plantas daninhas. As casas-de-vegetação e os telados devem ser construídos de forma a evitar o contato das mudas com insetos transmissores de viroses.

A composição do substrato, o seu tratamento e o recipiente em que é distribuído é variável em função do sistema de produção. Vermiculita, perlita, areia, turfa, casca de *Pinus*, de eucalipto, de arroz curtida ou carbonizada, dentre outros produtos podem ser utilizados para compor o substrato, que deve apresentar boa capacidade de retenção de umidade e não se compactar excessivamente, de forma a não comprometer a drenagem e a aeração do sistema radicular. O substrato deve ser autoclavado, fumigado ou pasteurizado e os instrumentos de trabalho lavados com solução de hipoclorito de sódio, de forma a evitar a presença de microrganismos patogênicos como *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, *Pseudomonas solanacearum*, nematóides e sementes ou propágulos de plantas daninhas. O substrato pode ser disposto em bandejas, tubetes ou sacos de polietileno de diferentes tamanhos.

Devido a alta umidade relativa do ar nas casas-de-vegetação e telados deve-se ter atenção com relação ao desenvolvimento de fungos. Geralmente, não são aplicadas substâncias fungicidas.

Durante o crescimento das mudas, a adubação das plantas pode ser fornecida via foliar, a cada 7 dias, com solução NPK.

As mudas podem ser vendidas com uma altura de 15 a 25 cm, completamente rustificadas, ou no estágio pré-aclimatado com uma altura de 4 a 8 cm. Neste último caso, a fase final de aclimação deve ser realizada pelo próprio agricultor, sendo uma alternativa importante nos casos em que o transporte seja realizado a grandes distâncias. A idade e a altura máximas das mudas variam em função do tamanho do recipiente em que sejam produzidas.

O tipo de transporte deve ser escolhido em função da distância e do tipo de muda. O transporte das mudas deve ser feito em caminhões fechados e refrigerados, de forma a proteger as mudas da ação do sol, ventos e de lama, garantindo que as mesmas cheguem aos agricultores em condições de plantio.

Durante o período de aclimação, as mudas devem ser observadas quanto à presença de plantas fora do padrão, as quais devem ser eliminadas.

Cada lote de mudas deverá ser identificado com uma etiqueta, contendo no mínimo o nome, endereço e número de registro do laboratório produtor, número do lote, espécie e cultivar, evitando-se mistura de cultivares.

### Controle de qualidade

A indexação das matrizes de bananeira deve ser realizada,

principalmente em se tratando do vírus do mosaico do pepino. As empresas de micropropagação que não possuem condições de realizar análises para indexação das matrizes podem realizá-las em instituições de pesquisa que detêm esta tecnologia.

Deve-se proceder a análise do substrato com relação à presença de nematóides, fungos e bactérias.

As empresas de micropropagação devem ter um conhecimento estimado sobre a porcentagem de variantes somaclonais das mudas que estão sendo produzidas, cuja taxa não deve ser superior a 5%.

Os agricultores devem ser orientados com relação à identificação de plantas fora do padrão, para que promovam a sua eliminação no viveiro ou no campo.

As mudas devem ser uniformes, vigorosas, isentas de sintomas de ataque de pragas, doenças ou de deficiências nutricionais, adequadamente aclimatadas e com um tamanho mínimo que proporcione elevada porcentagem de pegamento.

### Custo de produção

Toda empresa deve possuir uma planilha completa dos custos de produção das mudas, incluindo gastos com materiais de consumo, reagentes, vidraria, água, energia elétrica, telefone, mão-de-obra, serviços de terceiros pessoa física e jurídica, depreciação de equipamentos e da estrutura física, marketing, etc.

As empresas que produzem mudas por meio de cultura de tecidos, os empresários que desejem investir no setor e os agricultores devem ser orientados com relação ao real custo de produção das mudas, evitando especulação do preço por qualquer uma das partes.

### Certificado de qualidade

As empresas devem emitir um certificado de qualidade, visando a proteção dos agricultores e a manutenção do mercado de mudas micropropagadas no país.

No certificado devem ser discriminadas as características inerentes à variedade, metodologias de plantio e condução da cultura e relação das viroses para as quais as mudas foram indexadas.

É aconselhável que as empresas possuam um serviço de pós-venda, acompanhando o desenvolvimento das mudas em campo até a produção

dos frutos. Isto é muito importante para as empresas monitorarem o desenvolvimento de suas mudas, principalmente com relação ao vigor, produtividade e porcentagem de variantes somaclonais.

### Fiscalização da qualidade das mudas

Deverá haver uma fiscalização mais efetiva dos órgãos competentes (Ministério da Agricultura e Secretarias da Agricultura) com relação à produção e comercialização de mudas micropropagadas, sendo que as empresas que não produzirem mudas, segundo os padrões mínimos de qualidade, devem ser penalizadas e os agricultores que tiverem prejuízos em decorrência das mudas devem ser indenizados.

### Mercado

As empresas de micropropagação e as instituições de pesquisa devem esclarecer os produtores sobre as vantagens e desvantagens de se utilizar mudas provenientes de cultura *in vitro* de tecidos, por meio de palestras, artigos de divulgação, vídeos e outras formas.

Com a finalidade de manter o mercado, as mudas que apresentarem características de variantes somaclonais devem ser repostas aos produtores.

Os agentes de financiamento agrícola e os agricultores devem ser orientados para planejarem antecipadamente a implantação da cultura, uma vez que, normalmente, as mudas micropropagadas são compradas por encomenda vários meses antes do plantio.

### Características das mudas micropropagadas

As principais vantagens referem-se à ausência de pragas e doenças, como o mal do Panamá (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*), moko (*Pseudomonas solanacearum*), nematóides como o *Radopholus similis*, dentre outros, uniformidade das mudas facilitando os tratos culturais e a colheita nos primeiros ciclos da cultura, multiplicação acelerada de novas cultivares, disponibilidade de mudas durante todo o ano, maior vigor, precocidade na produção e maior produtividade.

As desvantagens desse tipo de muda se relacionam ao maior custo de produção, necessidade de infra-estrutura de laboratório e aclimatação, mão-de-obra qualificada e maiores cuidados no transporte e plantio em campo.

### Linhas de pesquisa

As principais linhas de pesquisa que necessitam ser priorizadas para maximizar as técnicas de micropropagação são:

- Produção de antisoros e estabelecimento de técnicas moleculares para indexação de viroses.
- Estabelecimento de tecnologias para maximizar o processo de micropropagação, reduzindo os custos de produção das mudas.
- Estudos empregando sistema de imersão temporal e/ou embriogênese somática para maximizar o número de plântulas obtidas por explante e minimizar o custo de produção das mudas.
- Desenvolvimento de técnicas moleculares tipo RAPD para o monitoramento da porcentagem de variantes somaclonais, relacionados à produtividade e à qualidade dos frutos.
- Definição de padrões para caracterização morfológica de plantas normais e variantes somaclonais em campo.

### **LITERATURA RECOMENDADA**

- ANGARITA, A.; PEREA, M. Micropropagación de plátanos y bananos. In: ROCA, W. M.; MROGINSKI, L.A. (ed.) **Cultivo de tejidos en la agriculture**; juntamentos y aplicaciones. Cali, Colômbia: CIAT, 1991, p.495-512.
- ARIAS, O. Commercial micropropagation of banana. In: INIBAP, **Biotechnology Application for Banana and Plantain Improvement**. Montpellier, p.139-142, 1993.
- ARIAS, D.; VALVERDE, M. Performance and somaclonal variation of *in vitro* propagated banana plants. In: JARAMILLO, R.; RESTREPO, A.; BAYONA, R. (ed.) REUNIÓN DE LA ACORBAT. Medellin, Colômbia, 1988, p.75-76.
- ARIAS, O.; VALVERDE, M. Producción y variación somaclonal de plantas de banano variedad Grand Naine producidos por cultivo de tejidos. **ASBANA**, v.28, p.6-11, 1987.
- BANERJEE, N.; DE LANGHE, E. A tissue culture technique for rapid clonal propagation and storage under minimal growth conditions of *Musa*. **Plant Cell Reports**, Berlin, v.4, n.6, p.351-354, 1985.

- CRONAUER, S.S.; KRIKORIAN, A.D. Aseptic multiplication of banana from excised floral apices. **HortScience**, Alexandria, v.20, p.770-771, 1985.
- CRONAUER, S.S.; KRIKORIAN, A.D. Multiplication of *Musa* from excised stem tips. **Annals of Botany**, London, v.53, p.321-328, 1984a.
- CRONAUER, S.S.; KRIKORIAN, A. D. Rapid multiplication of bananas and plantains by *in vitro* shoot tip culture. **HortScience**, Alexandria, v.19, n.2, p.234-235, 1984b.
- DORE SWAMY, R.; SAHIJRAM, L. Micropropagation of banana from male floral apices cultured *in vitro*. **Scientia Horticulture**, Alexandria, v.40, n.3, p.181-184, 1989.
- EVANS, D.A.; SHARP, W.R. Somaclonal variation in plantains (*Musa* spp., AAB group) derived from shoot-tip culture. **Fruits**, Paris, v.46, n.4, p.429-439, 1991.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (ed.) **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: EMBRAPA-CNPQ, 1990. p.99-169.
- HWANG, S.C.; CHEN, C.L.; LIN, J.C.; LIN, H.L. Cultivation of banana using plantlets from meristem culture. **HortScience**, Alexandria, v.19, n.2, p.231-233, 1984.
- ISRAELI, Y.; REUVENI, O.; LAHAV, E. Qualitative aspects of somaclonal variations in banana propagated by *in vitro* techniques. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.48, p.71-77, 1991.
- JARRET, R.L. *In vitro* propagation and genetic conservation of bananas and plantains. In: IBPGR. **IBPGR advisory committee on *in vitro* storage; report of the third meeting**. Roma, Itália, 1986. p.15-33.
- KRIKORIAN, A.D.; IRIZARRY, H.; CRONAUER-MITRA, S.S.; RIVERA, E. Clonal fidelity and variation in Plantain (*Musa* AAB) regenerated from vegetative stem and floral axis tips *in vitro*. **Annals of Botany**, London, v.71, p.519-535, 1993.
- 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.

- OLIVEIRA, R.P.; SILVA, S.O. Avaliação da micropropagação comercial em bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.4, p.415-420, 1997.
- OLIVEIRA, R.P.; SILVEIRA, D.G.; NICKEL, O.; VILARINHOS, A.D.; SILVA, S.O. Micropropagation of tetraploid banana cv. FHIA-01. **Tropical Agriculture**, Trinidad. (No prelo).
- PONCE, J.N.P. Propagación masiva en biofábrica. In: Segundo Encuentro Latioamericano de Biotecnología Vegetal. Puerto Iguazu, Argentina. **Anais...** Puerto Iguazu, Argentina, 1995. p. RT-V.
- SANADA, M. Micropropagation of semitropical crops and its application to cultivation in Okinawa. In: THIQUYNH, N.; UYEN, N.V. (ed.) **Adapted propagation techniques for commercial crops of the tropics**. Stockholm, p.101-105, 1993.
- SANDOVAL, J.A.F.; BRENES, G.G.; SANCHEZ, L.P. Micropropagación de platano y banano (*Musa* AAB, AAA) en el Catie. **Turrialba**, Costa Rica: CATIE, 1991. 29 p. (Serie técnica. Informe técnico/CATIE, 186).
- STOVER, R.H. Somaclonal variation in Grand Naine and Saba bananas in the nursery and field. In: PERSLEY, G.J.; DE LANGHE, E.A. **Banana and plantain breeding strategies**. Canberra, Austrália, 1987. p.136-139.
- VUYLSTEKE, D.; DE LANGHE, E. Feasibility of *in vitro* propagation of bananas and plantains. **Tropical Agriculture**, Trinidad, v.62, n.4, p.323-328, 1985.
- VUYLSTEKE, D. Shoot-tip culture of the propagation, conservation and exchange of *Musa* germplasm. In: **IBPGR**; practical manual for handling crop germplasm *in vitro*. Roma, n.2, 1989. 56p.
- VUYLSTEKE, D.; SWENNEN, R.; WILSON, G.F.; DE LANGHE, E. Phenotypic variation among *in vitro* propagated plantain (*Musa* sp., cultivar AAB). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.36, p.79-84, 1988.
- WONG, W.C. *In vitro* propagation of banana (*Musa* spp.); initiation, proliferation and development of shoot-tip cultures on defined media. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.6, n.2, p.159-166, 1986.



---

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

**Ministério da  
Agricultura e do  
Abastecimento**