

Protocolo para a propagação *in vitro* de bananeira cultivar Prata Zulu

Regina Caetano Quisen¹
Adriana de Oliveira Mari²
Christiane de Oliveira Lopes²

A produção comercial de mudas de bananeira por meio de cultura *in vitro* de ápices caulinares tem sido empregada com sucesso em vários países, possibilitando a produção de mudas superiores e praticamente livres de doenças comuns às diversas cultivares de *Musa* spp (Mendes et al., 1996).

De acordo com Sanada (1993), mudas micropropagadas produzem 30% mais do que mudas obtidas convencionalmente, permitindo, além de uma colheita sincronizada, maior vigor das plantas, maior produção e menor variabilidade nos frutos.

Em virtude da demanda crescente por mudas de qualidade genética e livres de patógenos, a adequação de protocolos para a multiplicação *in vitro* de cultivares de bananeira de interesse comercial ou para o melhoramento genético, vem despertando o interesse de instituições de pesquisas e laboratórios comerciais, pois as taxas de proliferação obtidas não são uniformes entre as diferentes cultivares testadas, em razão de diferentes aspectos, como tipo e tamanho do explante; meio nutritivo; número de subcultivos e estado fisiológico do tecido.

Neste sentido, este trabalho tem por objetivo relatar, de forma simplificada, a partir de resultados de pesquisas realizadas no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, as melhores condições de produção *in vitro* de mudas da banana cv. Prata Zulu, cultivar que tem sobressaído às demais pela alta

resistência à sigatoka-negra e pelos bons resultados fitotécnicos apresentados.

A seguir, são descritos em detalhes os passos e recomendações para o desenvolvimento da técnica.

Estrutura necessária

Este trabalho deve ser realizado em condições assépticas de laboratório, no qual será desenvolvida desde a inoculação dos explantes até a pré-acclimatização das plântulas. Também é necessária a estrutura de casa de vegetação para a fase final de acclimatização das mudas produzidas.

Coleta de material vegetal

As plantas matrizes de Prata Zulu a serem utilizadas devem ser selecionadas considerando-se os seguintes aspectos:

- tipo chifrinho ou chifre;
- estarem acondicionadas em viveiro bem drenado e com controle fitossanitário adequado;
- apresentarem aspecto sadio, livres de pragas e doenças.

Após seleção e coleta, as matrizes devem ter o excesso de folhas e raízes retirado, sendo levadas em seguida para laboratório.

¹Eng.º Florestal., M.Sc., Rodovia AM-010, km 29, Estrada Manaus/Itacoatiara, Caixa Postal 319, 69011-970, Manaus-AM, fone (92) 621-0423, rquisen@cpaa.embrapa.br.

²Bolsistas Embrapa Amazônia Ocidental-PIBIC/CNPq

Limpeza e assepsia

Com auxílio de facas limpas, as matrizes devem ser reduzidas para dimensões aproximadas de 3-4 cm de pseudocaule e 3-4 cm de rizoma, e colocadas em recipiente com água e detergente comercial. A seguir, os explantes reduzidos devem ser lavados em água corrente por 5 minutos e levados em água estéril para a câmara de fluxo laminar.

A partir desse momento até a pré-acclimatização, todo o manuseio da cultura deve ser realizado em ambiente asséptico e com material (pinças, bisturis e vidrarias) e meios de cultura estéreis. Estes cuidados de limpeza e assepsia são essenciais para o sucesso do trabalho.

Em condições assépticas, os explantes devem ser colocados em álcool 70% + tween 20 por 2 minutos, seguido de tratamento com solução de hipoclorito de sódio comercial a 50% por 10 minutos e 5 lavagens em água destilada estéril por 5 minutos, visando à retirada dos resíduos dos produtos desinfetantes no material vegetal.

Estabelecimento da cultura in vitro

Com auxílio de pinças e bisturis esterilizados, retirar as bainhas das folhas e tecidos do rizoma até os explantes atingirem o máximo de 1 cm de rizoma e 1,5 cm de pseudocaule. Recomenda-se que, a cada retirada de bainha, seja realizada uma rápida flambagem do explante, com exceção da última redução, quando o material já atingiu dimensões menores e o meristema está mais exposto.

A seguir, os explantes devem ser inoculados individualmente em tubo de ensaio de 150 mm x 25 mm, contendo 10 mL de meio com sais básicos e vitaminas de MS (Murashige e Skoog, 1962), suplementado com 100 mg L⁻¹ de inositol, 2,0 mg L⁻¹ de glicina, 30 g L⁻¹ de sacarose, ágar a 6% (p/v) e o pH ajustado para 5,8 ± 0,1. Todos os meios de cultura devem ser previamente preparados e esterilizados em autoclave à temperatura de 121°C e pressão de 1,05 kg.cm⁻² por 20 minutos.

Após inoculação, os tubos devem ser mantidos em sala de crescimento ou em câmara B.O.D., inicialmente por 7 dias no escuro a uma temperatura de 26-27°C, e até completar 4 semanas de estabelecimento, a uma intensidade luminosa de 25 W.m⁻², fotoperíodo de 16 horas e mesma temperatura. Diariamente deve ser controlada a contaminação dos explantes por fungos e bactérias, devendo ser descartados imediatamente os tubos identificados com esse problema.

Fase de multiplicação

Após os 30 dias necessários para o isolamento da cultura, os explantes deverão ser transferidos para frascos maiores, contendo 30 mL de meio MS (Murashige e Skoog, 1962), suplementado com 5,0 mg L⁻¹ de BAP (benzilaminopurina), 100 mg L⁻¹ de inositol, 2,0 mg L⁻¹ de glicina, 30 g L⁻¹ de sacarose, ágar a 6% (p/v) e o pH

ajustado para 5,8 ± 0,1. No momento da transferência, os explantes devem ser segmentados em duas partes simétricas, sendo colocados no máximo seis explantes por frasco.

A cada subcultivo (20 a 30 dias), as gemas laterais formadas devem ser subdivididas e transferidas para novo meio de multiplicação com mesma composição até o máximo de 5 subcultivos.

Esta recomendação quanto ao número máximo de subcultivos para a banana baseia-se no fato de essa cultura ser suscetível à variação somaclonal, indesejável quando trata-se de micropropagação comercial.

Enraizamento in vitro e acclimatização

As plântulas formadas com 1,5-2,0 cm de altura em meio de proliferação devem ser subdivididas e transferidas individualmente para tubos de ensaio com 15 mL de meio de cultura contendo metade dos sais de MS (Murashige e Skoog, 1962), suplementado com 100 mg L⁻¹ de inositol, 2,0 mg L⁻¹ de glicina, 30 g L⁻¹ de sacarose, ágar a 6% (p/v) e o pH ajustado para 5,8 ± 0,1.

Após enraizamento in vitro, 3-4 semanas aproximadamente, os frascos de cultura devem ser destampados e mantidos na sala de crescimento por 12-15 h. Após esta pré-acclimatização, deve-se retirar cuidadosamente as plântulas dos frascos e lavá-las em água destilada.

Em seguida, as plântulas devem ser levadas para casa de vegetação com sombreamento de 70% e plantadas em copos de plástico com fundo perfurado, contendo substrato esterilizado composto de vermiculita e areia na proporção 2:1. Após o plantio e a irrigação, colocar copos de plástico transparentes perfurados na extremidade superior sobre cada planta por um período de cinco dias, visando manter a umidade inicial (Figura 1). A irrigação deve ser realizada diariamente e uma adubação foliar semanal com N 10% e micronutrientes.

Após 60 dias, finalizada a etapa de acclimatização, as plântulas podem ser transferidas para viveiro, até atingirem tamanho para plantio em campo.

Dependendo das condições de condução da cultura in vitro e ex vitro, utilizando este processo de produção de mudas de bananeira, pode-se obter uma taxa média de multiplicação de 21 plântulas/explante. Variações nesse rendimento podem ser obtidas em função das adaptações e condições específicas de cada laboratório.



Foto: Regina Quisen

Fig 1. Aclimatação em casa de vegetação.

Referências bibliográficas

Mendes, B.M., Mendes, F.J., Tulmann Neto, A., Demetrio, C.G.B., Puske, O.R., Efficacy of banana plantlet production by micropropagation. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.31, n.12, p.863-867, 1996.

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

Sanada, M. Micropropagation of semitropical crop and its application to cultivation in Okinawa. In: Thiquynh, N., Uyen, N.V. (Eds) **Adapted propagation technique for commercial crops of the tropics**. Stockholm, [s.n.], 1993. P.101-105.



Foto: Regina Quisen

Fig 2. Mudas aptas para transferência para viveiro.

**Comunicado
Técnico, 11**

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Amazônia Ocidental

Endereço: Rodovia AM 010, km 29, Estrada

Manaus/Itacoatiara

Fone: (92) 621-0300

Fax: (92) 621-0322 e 622-1100

E-mail: sac@cpaa.embrapa.br

**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**



1ª edição

1ª impressão (2001): 300 exemplares

**Comitê de
Publicações**

Presidente: Aparecida das Graças Claret de Souza

Secretária: Gleise Maria Teles de Oliveira

Membros: Gladys Ferreira de Sousa, Gleise Maria Teles de Oliveira, Maria Perpétua B. Pereira, Marinice Oliveira Cardoso, Mirza Carla Normando Pereira, Regina Caetano Quisen, Sebastião Eudes Lopes da Silva, Terezinha Batista Garcia, Vicente Haroldo de F. Moraes

Expediente

Revisão de texto: Maria Perpétua Beleza Pereira

Normalização bibliográfica: Maria de Fátima A. Costa

Editoração eletrônica: Gleise Maria Teles de Oliveira