

# PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DA BANANEIRA 'PRATA' ATRAVÉS DA CULTURA DE TECIDOS<sup>1</sup>

OSMAR ALVES LAMEIRA<sup>2</sup>, JOSÉ EDUARDO B.P. PINTO<sup>3</sup> e MOACIR PASQUAL<sup>4</sup>

**RESUMO** - Explantes com 5 mm<sup>3</sup>, provenientes de gemas laterais de bananeira 'Prata' (AAB), foram estabelecidos com 28 dias de incubação em meio modificado de Murashige & Skoog (MS) suplementado com 5 mg l<sup>-1</sup> de BAP. Posteriormente, em novo meio e em concentrações de 2,5; 5,0 e 7,5 mg l<sup>-1</sup> de BAP, foram multiplicados e obtidos de dois a quatro brotos por explante, com 2,5 mg l<sup>-1</sup> de BAP. Os brotos foram induzidos ao enraizamento com a metade das concentrações de sais minerais do meio "MS" complementado com 0,1; 1,0 e 5,0 mg l<sup>-1</sup> de IBA; 1 mg l<sup>-1</sup> de IBA + 0,4 mg l<sup>-1</sup> de BAP e 0,25% de carvão ativado. O enraizamento ocorreu sete dias depois em 5 mg l<sup>-1</sup> de IBA. Em seguida, as plântulas foram deixadas crescer em novo meio, na ausência de reguladores de crescimento, e transferidas para potes de plástico contendo composto orgânico, vermiculita e macro e micronutrientes.

Termos para indexação: explantes, gemas, incubação, enraizamento, reguladores de crescimento.

## *IN VITRO* PROPAGATION OF BANANA FROM TISSUE CULTURE

**ABSTRACT** - Explants of banana cultivar Prata (AAB), with 5 mm<sup>3</sup> isolated from lateral suckers were established with 28 days of incubation in a modified Murashige & Skoog (MS) medium, supplemented with 5 mg l<sup>-1</sup> of BAP. Posteriorly they were multiplied in a new medium and in 2,5; 5,0 and 7,5 mg l<sup>-1</sup> of BAP concentration and obtained two to four shoots per explant with 2,5 mg l<sup>-1</sup> of BAP. The shoots were induced for rooting the half of concentration mineral salt of "MS" medium, complemented with 0,1; 0,2; 1,0 and 5,0 mg l<sup>-1</sup> of IBA; 1 mg l<sup>-1</sup> of IBA + 0,4 mg l<sup>-1</sup> of BAP and 0,25% of activated charcoal. The rooting occurred seven days after, in 5 mg l<sup>-1</sup> of IBA. After that, on a new medium the plantlets were developed in absence of growth regulators and transferred to plastic pots containing organic compound, vermiculite and macro and micronutrients.

Index terms: suckers, incubation, explants, rooting, growth regulators.

## INTRODUÇÃO

A bananeira é propagada vegetativamente, e é baixa a taxa de multiplicação de um clone. Além disso, as mudas podem estar infestadas por importantes fungos patogênicos, como o que causa o mal-do-panamá (*Fusarium oxysporum cubense* (E.F. Smith) Snyd. & Hansen),

Wong (1986) e a sigatoka-negra (*Mycosphaerella fijensis* var. *difformis*), além do 'Moko' ou murcha-bacteriana-da-bananeira, causada pela bactéria *Pseudomonas solanacearum* Smith, raça 2, Cronauer & Krikorian (1986).

Atualmente, o cultivo *in vitro* de gemas apicais constitui uma metodologia de propagação assexual eficaz, que permite obter uma rápida multiplicação em grande escala, a partir de um explante. A propagação pode ser realizada durante todo o ano e ser programada para facilitar a disponibilidade de material para plantio de novas áreas e investigação.

A principal vantagem da técnica da propagação *in vitro* a partir de meristemas, para a multiplicação vegetativa da bananeira, é que ela resulta em material propagativo livre de en-

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 13 de junho de 1990.

Extraído da dissertação apresentada pelo primeiro autor para obtenção do grau de Mestre em Fitotecnia na ESAL.

<sup>2</sup> Eng. - Agr., M.Sc., EMBRAPA-UEPAE de Boa Vista, Caixa Postal 133, CEP 69300 Boa Vista, RR.

<sup>3</sup> Eng. - Agr., Ph.D., Dep. de Agric., Esc. Sup. de Agric. de Lavras (ESAL), Caixa Postal 37, CEP 37200 Lavras, MG.

<sup>4</sup> Eng. - Agr., Dr., Dep. de Agric., ESAL.

fermidades e com potencial para constituir uma fonte contínua de material juvenil. Isto é desejável para cultivares promissoras que se encontram atacadas por patógenos sistêmicos e quando se requer a produção de mudas certificadas. Também desempenha um papel importante no processo de transferência de geroplasma, haja visto facilitar o intercâmbio de plantas sadias de uma região para outra, através das instituições nacionais ou internacionais.

Embora vários trabalhos tenham sido relatados na propagação *in vitro* da bananeira (Cox et al. 1960, Ingram 1977, Cronauer & Krikorian 1984a, Sandoval 1985, Vuylsteke 1983), a aplicação desta técnica ainda encontra dificuldades, existindo um número reduzido de estudos a respeito; por outro lado, as informações geradas têm mostrado respostas diferentes para as cultivares estudadas, nas fases de estabelecimento, multiplicação e enraizamento dos explantes.

O objetivo deste trabalho foi de identificar meios de cultivo para multiplicação e enraizamento *in vitro* da bananeira 'Prata'.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos da Escola Superior de Agricultura de Lavras - ESAL, MG. Os explantes, com 2 cm<sup>3</sup>, provenientes de gemas laterais da cultivar Prata (AAB), obtidos no pomar da ESAL, foram lavados em água corrente por duas horas. Posteriormente, com 1 cm<sup>3</sup>, foram mergulhados em solução a 1% de metabissulfito de sódio, por 15 segundos, e a seguir, em 10% de solução comercial com aproximadamente 0,2% de hipoclorito de sódio, adicionada de duas gotas de tween 20, por cinco minutos.

Em câmara de fluxo laminar, os explantes foram lavados quatro vezes em água destilada autoclavada, e asépticamente cortados em tamanho de 3 a 5 mm de comprimento. Em seguida, foram mergulhados por cinco segundos em solução com 0,5 mg l<sup>-1</sup> de 6-benzilaminopurina (BAP) + 1 mg l<sup>-1</sup> de ácido indole-3-acético (IAA) e transferidos para o meio básico de cultura contendo sais minerais do meio "MS", Murashige & Skoog (1962).

O meio "MS" foi adicionado de 0,5 mg l<sup>-1</sup> de timina HCl, ácido nicotínico e piridoxina HCl, 100

mg l<sup>-1</sup> de mio-inositol, 2 mg l<sup>-1</sup> de glicina, 30 g l<sup>-1</sup> de sacarose e 5 mg l<sup>-1</sup> de BAP. O meio foi ajustado para pH 5,8 ± 1, solidificado com 0,7% de ágar e autoclavado por 15 minutos a 120°C. As culturas foram incubadas em tubos de ensaio (2,5 x 15 cm) por uma semana no escuro e posteriormente a 27 ± 1°C em 16 horas de fotoperíodo sob luz branca fria (3.000 lux).

Após o estabelecimento dos explantes, quando estes apresentavam coloração esverdeada, os brotos formados foram separados individualmente e transferidos para um novo meio, sob as mesmas condições e em concentrações de 2,5, 5,0 e 7,5 mg l<sup>-1</sup> de BAP. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado com dez repetições e dois tubos de ensaio (2,5 x 15 cm) por parcela.

Os brotos desenvolvidos foram transferidos individualmente para a indução de raízes no meio "MS" contendo a metade da concentração dos sais minerais, sob as mesmas condições e em concentrações de 0,1; 0,2; 1,0 e 5,0 mg l<sup>-1</sup> de ácido indole-3-butírico (IBA); 1 mg l<sup>-1</sup> de IBA + 0,4 mg l<sup>-1</sup> de BAP e 0,25% de carvão ativado. Após a indução de raízes, as plântulas foram cultivadas no meio básico "MS" na ausência de reguladores de crescimento.

O efeito dos tratamentos foi avaliado tomando-se o número e o comprimento de brotos por explante com seus respectivos intervalos até a segunda repicagem, a espaços de, aproximadamente, vinte dias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ápices caulinares foram estabelecidos com quatro semanas. No entanto, a formação de brotos com condições de serem repicados somente ocorreu com sete semanas de incubação. Utilizando meio de cultivo semelhante, Swamy et al. (1983) estabeleceram ápices caulinares da cultivar Robusta com três a quatro semanas de cultivo, e os explantes apresentaram brotos em condições de serem repicados com oito semanas de incubação.

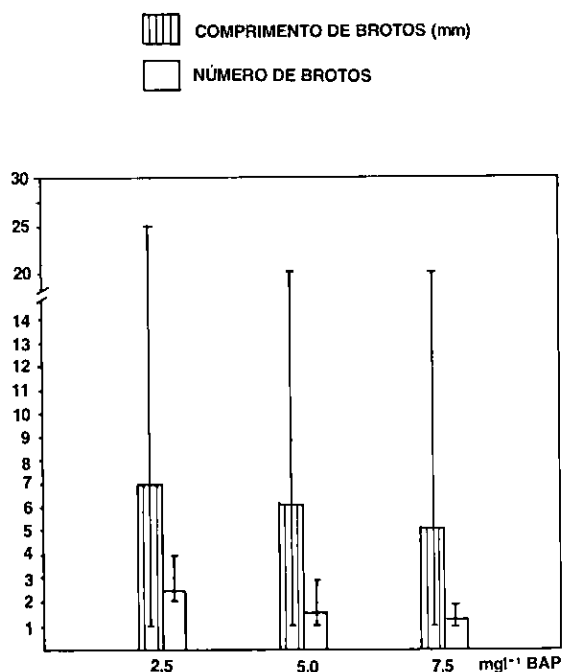
A ocorrência de oxidação fenólica foi prejudicial para o desenvolvimento inicial de brotos. Os resultados referentes a números e comprimento médio dos brotos com seus respectivos intervalos são apresentados na Tabela 1.

O tratamento contendo 2,5 mg l<sup>-1</sup> de BAP proporcionou o maior número e comprimento

**TABELA 1. Número e comprimento médio de brotos de bananeira com seus respectivos intervalos. ESAL 1987.**

| BAP mg <sup>-1</sup> | 1ª Repicagem |                  | 2ª Repicagem |                         |
|----------------------|--------------|------------------|--------------|-------------------------|
|                      | Broto        |                  | Broto        |                         |
|                      | Número       | Comprimento (mm) | Número       | Comprimento (mm)        |
| 2,5                  | 2,5 (2-4) a  | 6,0 (2-12) a     | 2,5 (2-3) a  | 8,1 (1-25) a            |
| 5,0                  | 1,9 (1-3) ab | 5,9 (3-10) ab    | 1,5 (1-2) b  | 6,4 (1-20) <sup>b</sup> |
| 7,5                  | 1,5 (1-2) b  | 3,7 (1-10) b     | 1,5 (1-2) b  | 6,4 (1-20) b            |

Médias seguidas da mesma letra são estatisticamente iguais a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.



**FIG. 1. Efeito do BAP sobre o número e comprimento médio, com os intervalos em brotos de bananeira cv. Prata.**

médio de brotos nas duas repicagens realizadas (Fig. 1). Resultados semelhantes quanto ao número médio de brotos, foram obtidos por Wong (1986) trabalhando em condições parecidas de meio de cultura, com as cultivares

Mysore & Lady Finger, ambas pertencentes ao mesmo grupo da cultivar Prata (AAB). Cronauer & Krikorian (1984b) obtiveram no clone Pelipita até 10 mm de comprimento do broto, utilizando o mesmo meio de cultura.

Utilizando explantes de cultivar Prata, Banerjee & De Langhe (1985) obtiveram, em média, 3,5 e 6,3 brotos, respectivamente, na primeira e segunda repicagem, porém fizeram uso do meio "MS" suplementado de 2,3 mg l<sup>-1</sup> de benziladenina (BA) e 0,18 mg l<sup>-1</sup> de IAA.

No tratamento com maior concentração de BAP (7,5 mg l<sup>-1</sup>) ocorreu o menor número e comprimento médio de brotos. Segundo Wong (1986), em algumas cultivares, concentrações mais elevadas de citocininas, tendem a inibir ou diminuir o número de brotações.

A indução de raízes ocorreu com uma, três e seis semanas após a incubação nos tratamentos, que continham, respectivamente, 5,0; 1,0 e 0,2 mg l<sup>-1</sup> de IBA (Fig. 2). Nos demais tratamentos não foi observada a formação de raízes, e o tratamento contendo 5 mg l<sup>-1</sup> de IBA proporcionou o maior número e desenvolvimento de raízes e a melhor formação da plântula (Fig. 2).

Após a indução de raízes, o crescimento somente foi acelerado quando as plântulas foram transferidas para um novo meio com a metade da concentração dos sais minerais na ausência de reguladores de crescimento e com o tubo de ensaio sendo envolvido por um pa-

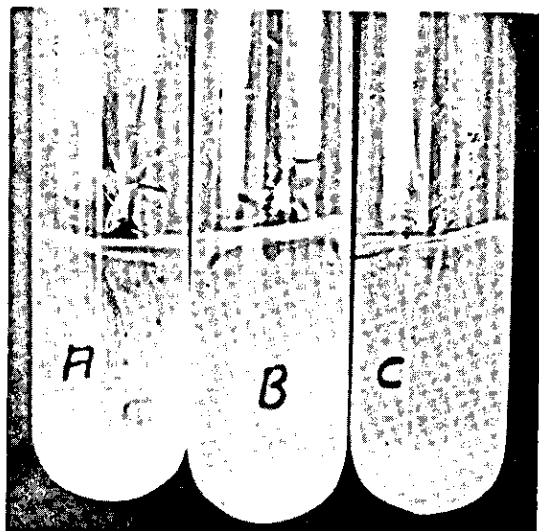


FIG. 2. Efeito do IBA ( $\text{mg l}^{-1}$ ) no enraizamento de plântulas de bananeira cv. Prata. a) 5; b) 1 e c) 0,2.

pel de alumínio na parte inferior, que continha o meio de cultivo.

Utilizando o meio "MS" suplementado com  $5 \text{ mg l}^{-1}$  de IBA, Swamy et al. (1983) obtiveram o enraizamento de plântulas em condições de serem transplantadas para o solo com seis semanas de incubação após a indução de raízes. Com um período de uma a três semanas, Vuysteke & De Langhe (1985) obtiveram a indução de raízes no meio "MS" complementado com  $0,2 \text{ mg l}^{-1}$  de IBA. Posteriormente, as raízes foram deixadas crescer até 10 cm de comprimento, quando utilizaram novo meio, com a metade da concentração dos sais minerais, na ausência de reguladores de crescimento.

As plântulas enraizadas foram transferidas para pequenos potes de plástico contendo composto orgânico, constituído de vermiculita expandida e material orgânico de origem vegetal, além de macro e micronutrientes.

### CONCLUSÕES

1. Uma cultura de ápices caulinares pode ser estabelecida com quatro semanas de incubação.

2. A oxidação fenólica prejudica o desenvolvimento inicial de brotos.

3. A adição de  $2,5 \text{ mg l}^{-1}$  de BAP no meio "MS" permite uma produção média de 2,5 brotos/explante, os quais podem ser repicados a intervalos de vinte dias.

4. Uma rápida indução de raízes é obtida em meio "MS" adicionado de  $5 \text{ mg l}^{-1}$  de IBA, e o crescimento posterior é acelerado com a transferência para novo meio contendo a metade da concentração dos sais minerais, na ausência de reguladores de crescimento.

### REFERÊNCIAS

- BANERJEE, N. & DE LANGHE, E.A. Tissue culture technique for rapid clonal propagation and storage under minimal growth conditions of *Musa* (banana and plantain). *Plant Cell Rep.*, New York, 4(6):351-4, 1985.
- COX, E.A.; STOTZKI, G.; GOOS, R.D. In vitro culture of *Musa balbisia* and Golla embryos. *Nature*, London, 185:403-4, 1960.
- CRONAUER, S.S. & KRİKORIAN, A.D. Banana (*Musa* spp.). In: BAJAJ, Y.P.S. *Biotechnology in agriculture and forestry*. Berlin, Springer-Verlag, 1986. v.1, cap. 9, p.233-52.
- CRONAUER, S.S. & KRİKORIAN, A.D. Multiplication of *Musa* from excised stem tips. *Ann. Bot.*, London, 53(3):321-8, 1984a.
- CRONAUER, S.S. & KRİKORIAN, A.D. Rapid multiplication of banana and plantains by in vitro shoot tip culture. *HortScience*, Alexandria, 19(2):234-5, Apr. 1984b.
- INGRAM, D.S. Production of pathogen-free plants. In: STREET, H.E. *Plant tissue and cell culture*. 2.ed. Berkeley, University of California, 1977. v.2, p.494-500.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, Copenhagen, 15:473-97, 1962.
- SANDOVAL, J. Micropropagación de musáceas. *ASBANA*, San José, 9(24):21-3, 1985.
- SWAMY, R.D.; RAO, N.K.S.; CHACKO, E.K. Tissue culture propagation of banana. *Sci. Hortic.*, Bangalore, 18(3):247-52, 1983.

- VUYLSTEKE, D. Propagation of bananas and plantains by shoot tip culture in vitro. **Banana Newsletter**, Australia, (6):8-10, 1983.
- VUYLSTEKE, D. & DE LANGHE, E. Feasibility of in vitro propagation of bananas and plantains. **Trop. Agric.**, Trinidad, **62**(4):323-8, Oct. 1985.
- WONG, W.C. In vitro propagation of banana (*Musa* spp): initiation, proliferation and development of shoot tip culture on defined media. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Netherlands, **6**(2):159-66, 1986.