

Micropropagação de mudas de bananeira em meio líquido

Renata Aparecida de Andrade^{1*}, Thaila Fujiwara Marques², Samir Paulo Jasper³,
Eral Raphael Damatto Junior⁴, Eduardo Jun Fuzitani⁴, Edson Shigueaki Nomura⁴

¹Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil

²Campus de Registro, Universidade Estadual Paulista, Registro, SP, Brasil

³Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil

⁴Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Paríquera-Açú, SP, Brasil

*Autor Correspondente, e-mail: reandrad@fcav.unesp.br

Resumo

A bananeira é uma espécie frutífera de grande importância econômica, principalmente para a região do Vale do Ribeira, maior produtora no Estado de São Paulo. A formação de mudas é uma das principais etapas a serem observadas e realizadas com o maior cuidado possível, evitando a contaminação de materiais e sua proliferação em condições de campo. Atualmente, a técnica de micropropagação tem sido utilizada na obtenção das mudas, resultando em materiais livres de patógenos, o que confere maior segurança ao produtor. O uso da micropropagação acarreta maior preço das mudas, o que é compensado pela qualidade. Uma das maneiras de se reduzir o custo dessa técnica é através da redução na quantidade de ágar presente no meio de cultura. Diante disso, objetivou-se, com este trabalho, avaliar a resposta da bananeira em diferentes concentrações de meio de cultura, bem como o desenvolvimento das mudas. Foram testadas as concentrações de ágar: 0,0 (testemunha); 1,2; 2,4; e 4,8 g.L⁻¹, misturadas em meio MS, constituindo um experimento em esquema fatorial 2 x 4 (cultivares x doses de ágar). Após 25 dias da repicagem, avaliou-se a altura média das plantas (cm), número e comprimento médio das raízes (cm), massa seca da parte aérea e das raízes (g). Diante dos resultados, foi possível concluir que não há necessidade de uso de ágar na composição do meio de cultura para a micropropagação das cultivares testadas.

Palavras-chave: *Musa* sp., enraizamento, cultura de tecidos.

Micropropagation of banana seedlings in liquid media

Abstract

The banana is a fruit with a great economic importance, especially for the region of the "Vale do Ribeira", the largest producer in the State of Sao Paulo, Brazil. Seedlings growth is one of the main steps to be observed and performed with the utmost care to avoid contamination of materials and their proliferation in field conditions. Currently, the micropropagation technique has been used to obtain the seedlings, resulting in material free of pathogens, which gives greater security to the producer. The use of micropropagation results in higher cost of seedlings, what is compensated by the quality. One way to reduce the cost of this technique is reducing the amount of agar present in the culture medium. The objective of this research was to evaluate the response of banana to different compositions of culture medium, and the development of the seedlings. We have tested concentrations of agar: 0.0 (control), 1.2, 2.4, and 4.8 g L⁻¹, mixed in MS medium, forming an experiment in 2 x 4 factorial scheme (cultivars x doses of agar). After 25 days of transplant, we estimated the average plant height (cm), number and average length of roots (cm), dry mass of shoots and roots (g). Considering the results, we concluded that there is no need to use agar in the composition of the medium culture medium as for micropropagation of cultivars.

Keywords: *Musa* sp., Rooting, tissue culture.

Introdução

O Estado de São Paulo participa com quase 12% da produção total de bananas do país, numa área de 43 mil hectares, com produtividade média de 22,5 t/ha, sendo que, historicamente, a tradicional região produtora do Litoral Paulista é responsável por aproximadamente 95% da produção do Estado. No entanto, tem-se observado o crescente interesse por esta cultura por produtores do Planalto Paulista, como forma de diversificação de atividades (Embrapa, 2007).

A bananeira, durante seu crescimento, tem um número variável de raízes, que está relacionado com o cultivar, potencial vegetativo da planta, volume do rizoma, tipo de muda, fatores ecológicos, principalmente clima, solo e também o estágio de crescimento da bananeira, estação do ano, estado fitossanitário e tratamentos culturais (Manica, 1998). Há dois cultivares que se destacam como promissoras por apresentar boas características de cultivo, sendo elas: Grande Naine e Prata-Anã (Moreira, 1987).

De acordo com Pereira & Fortes (2003), a técnica de cultivar tecidos de plantas *in vitro* vem sendo rotineiramente aplicada a inúmeras espécies vegetais, pela possibilidade de manutenção da identidade genética dos indivíduos e obtenção de grande número de plantas sadias e de alta qualidade em pequeno espaço físico e em curto tempo, independentemente da época do ano; porém, o uso comercial da cultura de tecidos é ainda limitado, principalmente pelo elevado custo dos reagentes e equipamentos utilizados e pela relativa baixa eficiência no desenvolvimento e multiplicação que algumas espécies apresentam sob condições *in vitro* (Kozay et al., 1997; Guerra et al., 1999).

Segundo Kozay et al. (1997), na etapa de multiplicação *in vitro*, a capacidade de os explantes sobreviverem, desenvolverem e se multiplicarem é consequência de vários fatores, dentre eles o genético, o estado fisiológico e as condições ambientais de cultivo. Além disso, o uso de um meio de cultura apropriado para cada fase do cultivo é condição básica, devendo estes meios proporcionarem os nutrientes necessários ao metabolismo das células vegetais em cultivo para o crescimento e diferenciação dos tecidos.

A consistência do meio de cultura também exerce efeito fundamental na morfogênese e no crescimento das brotações, podendo causar sérios transtornos no desenvolvimento esperado do explante se as suas exigências básicas não forem atendidas (Karasawa et al., 2002) e a utilização de meios de cultura líquidos tem proporcionado alta eficiência para diversas espécies vegetais, como o abacaxi (Escalona et al., 1999; Feuser et al., 2001) e a cana-de-açúcar (Lorenzo et al., 1998). A facilidade na preparação e manipulação dos meios e a possibilidade de utilizar uma menor quantidade de meio de cultura têm aumentado

o interesse dos pesquisadores em trabalhar com este sistema, recomendando-se minimizar ou otimizar o uso do ágar na composição do meio de cultura, por ser considerado o componente de maior custo (George, 1993; Peixoto & Pasqual, 1995).

Adequar técnicas de cultivo às novas necessidades, aumentar produtividade, diminuir perdas em todo o processo produtivo e de comercialização e, principalmente, melhorar a qualidade final do produto, com consequente estímulo ao consumo, são objetivos a serem conquistados pela bananicultura, pois, embora considerada como fruta de preferência popular e como a mais importante frutífera tropical, o consumo em algumas regiões é irrisório, apesar, inclusive, de seu alto valor nutritivo, como alimento energético e como fonte de vitaminas (A e C) e minerais (Fe e K) (Embrapa, 2007).

Apesar de ser mais caro produzir mudas micropropagadas, a relação custo/benefício é compensada no campo. Essa tecnologia aumenta e melhora a produção, gerando maior retorno financeiro para o produtor e alimentos mais saudáveis aos consumidores.

Diante do exposto, objetivou-se, com este trabalho, avaliar o desenvolvimento de cultivares de bananeira, micropropagadas em laboratório, em resposta a diferentes concentrações de meio de cultura.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em condições de laboratório, na APTA (Agência Paulista de Tecnologia da Agronegócios), no município de Pariquera-Açu/SP, utilizando materiais de bananeira dos cultivares Grande Naine e Prata-Anã.

Foram testadas as seguintes doses de ágar: 0,0 (meio líquido); 1,2; 2,4; e 4,8 g.L⁻¹, misturadas em meio de cultura com dose de 1/2MS, avaliando-se: altura média das plantas (cm); número e comprimento (cm) médio das raízes; peso médio da massa seca da parte aérea e da massa seca das raízes (g).

Explantos retirados de meristemas apicais de rebentos de bananeira, devidamente desinfetados, foram acondicionados para adaptação em meio nutritivo MS (Murashige & Skoog, 1962) enriquecido com benzilaminopurina (BAP) e ácido 2,4 diclorofenoacético (2,4D), previamente autoclavado. Após 20 dias no escuro e 20 dias sob iluminação artificial e temperatura controlada, os explantes foram transferidos para o meio nutritivo MS com BAP para a multiplicação ou indução de brotações laterais. A cada 30 dias, realizou-se repicagem ou individualização dessas brotações por no máximo cinco vezes. Na última repicagem, as plântulas foram acondicionadas nas diferentes doses de ágar durante 25 dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, esquema fatorial 2 x 4 (cultivares x doses de ágar), com quatro

repetições. Cada parcela experimental foi constituída por 3 frascos, contendo, em cada um, 8 mudas de bananeira.

Os dados foram submetidos à análise de variância, com aplicação do teste F e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo Teste "T" a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Pela Tabela 1, verifica-se que para os parâmetros relacionados à massa da parte aérea e raiz das cultivares estudadas, não houve diferença significativa, bem como em relação às doses de ágar testadas. A mesma resposta estatística apresentou o parâmetro que aferiu a parte aérea. Tanto o comprimento como o número de raízes apresentaram significância de 5% para duas cultivares estudadas, além de ser

possível constatar interação entre as cultivares de bananeira com as doses de ágar.

Os maiores comprimentos de raízes, para Grande Naine, foram observados no tratamento testemunha (sem ágar = meio líquido) e na menor dose empregada no teste. Já para Prata-Anã não houve diferença no comprimento das raízes em função da dose de ágar. As doses de 2,4 e 4,8 g.L⁻¹ levaram, para Grande Naine, a menores comprimentos das raízes (Tabela 2).

O número de raízes foi maior, em todas as doses de ágar testadas, para o cultivar Grande Naine, não havendo diferença significativa entre o número de raízes, para esta cultivar, em função da dose de ágar utilizada. Já para Prata-Anã, observa-se maior número de raízes no tratamento testemunha e também na menor dose empregada (Tabela 2).

Tabela 1. Síntese da análise de variância e do teste de médias para massa seca da parte área e raiz, comprimento da parte aérea e raiz, número de raízes.

Cultivares (V)	Massa (g)		Comprimento (cm)		Nº de raízes
	Parte aérea	Raiz	Parte aérea	Raiz	
Grande Naine	44,43	5,59	3,75	2,65 B	7,16 A
Prata-Anã	47,82	6,70	3,71	3,37 A	5,05 B
Doses de ágar (D)					
0,00	49,30	5,45	3,83	3,02	6,08
1,20	51,00	7,48	3,66	3,18	6,20
2,40	42,19	6,21	3,66	2,90	6,38
4,80	42,03	5,44	3,77	2,95	5,77
Teste F					
V	1,22 ns	2,82 ns	0,33 ns	24,83 **	81,74**
D	2,33 ns	2,11 ns	1,05 ns	0,74 ns	1,22 ns
V x D	0,16 ns	1,02 ns	2,26 ns	3,63 *	1,68 *
CV (%)	26,65	43,17	8,58	19,18	15,23

Em cada coluna, para cada fator, médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem, entre si, pelo "teste t", a 5% de probabilidade. NS: Não significativo (P < 0,05). *: Significativo (P < 0,05) e **: Significativo (P < 0,01). CV %: Coeficiente de variação.

Tabela 2. Parâmetros avaliados nas bananeiras das cultivares Grande Naine e Prata-Anã produzidas em diferentes doses de ágar.

Comprimento das raízes		
Doses de ágar (D)	Cultivares (V)	
	Grande Naine	Prata-Anã
0,0	2,92 Ab	3,12 Aa
1,2	3,03 Ab	3,33 Aa
2,4	2,32 Ba	3,47 Aa
4,8	2,33 Ba	3,58 Aa
Número de raízes		
Doses de ágar (D)	Cultivares (V)	
	Grande Naine	Prata-Anã
0,0	6,81 Aa	5,34 Ba
1,2	7,06 Aa	5,34 Ba
2,4	7,63 Aa	5,13 Bab
4,8	7,13 Aa	4,41 Bb

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas, diferem pelo "teste t" a 5% de probabilidade.

Resultados semelhantes, evidenciando melhor desenvolvimento em meio líquido (ausência de ágar), foram obtidos por Pereira & Fortes (2003) em pesquisa com a cultura da batata, bem como por Pasqual et al. (2002) em trabalho com o cultivo *in vitro* de embriões de tangerina 'Poncã', além do observado pelos autores Alvard et al. (1993) e Levin et al. (1997) também para a cultura da bananeira.

A obtenção de melhores resultados em

meio líquido pode ser explicada pelo fato de que altas concentrações de ágar, ou meios muito consistentes acabam limitando a difusão de nutrientes até o explante (Romberger & Tabor, 1971). Além disso, o meio de cultura sem adição de ágar possui consistência líquida ou um pouco mais consistente em baixas concentrações desse solidificante, permitindo maior absorção de água pelos tecidos dos explantes quando cultivados em meio mais aquoso (Willians & Leopold, 1989).

Os meios líquidos são mais homogêneos, uma vez que não se estabelece uma gradiente de nutrientes, que normalmente ocorre nos meios sólidos.

Conclusões

Pelos resultados obtidos, conclui-se que não há necessidade de uso de ágar na composição do meio de cultura para o enraizamento de mudas de bananeira das cultivares Grande Naine e de Prata-Anã, quando micropropagadas em laboratório.

Referências

Alvard, D., Cote, F., Teisson, C. 1993. Comparison of methods of liquid medium cultures for banana micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 32: 55-60.

Embrapa. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2007. <http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2007/junho/3a-semana/noticia.2007-06-18.7241989255/> <Acesso em 18 Jun. 2009>

Escalona, M., Lorenzo, J.C., González, B., Daquinta, M., González, J.L., Desjardins, Y., Borroto, C.G. 1999. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems. *Plant Cell Reports* 18: 743-748.

Feuser, S., Nodari, R.O., Guerra, M.P. 2001. Eficiência comparativa dos sistemas de cultura estacionária e imersão temporária para a micropropagação do abacaxi. *Revista Brasileira de Fruticultura* 23(1): 6-10.

George, F. 1993. *Plant propagation by tissue culture: the technology*. Exegetics, Londres, Inglaterra. 574 p.

Guerra, M.P., Dal Vesco, L.L., Pescador, R., Schueller, A.R., Nodari, R.O. 1999. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 34(9): 1557-1563.

Karasawa, M.M.G., Pinto, J.E.B.P., Pinto, J.C., Pereira, A.V. 2002. Proliferação de capim-elefante em diferentes concentrações de regulador de crescimento e consistências do meio de cultura. *Ciência e Agrotecnologia* 26(6): 1243-1251.

Kozay, T., Kubota, C., Jeong, B.R. 1997. Environmental control for the large-scale production of plants through *in vitro* techniques. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 51: 49-56.

Levin, R., Alper, Y., Stav, R., Watad, A. 1997. Methods and apparatus for liquid media and semi-automated micropropagation. *Acta Horticulturae* 447: 659-663.

Lorenzo, J.C., Gonzales, B., Escalona, M., Teisson, C., Espinosa, P., Borroto, C.G. 1998. Sugar cane

shoot formation in an improved temporary immersion system. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 54(3): 197-200.

Manica, I. 1998. *Bananas: do plantio ao amadurecimento*. Editora Cinco Continentes, Porto Alegre, Brasil. 99 p.

Moreira, R.S. 1987. *Banana: teoria e prática de cultivo*. Fundação Cargill, Campinas, Brasil. 335 p.

Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum* 5(3): 473-479.

Pasqual, M., Finotti, D.R., Dutra, L.F., Chagas, E.A., Ribeiro, L.O. 2002. Cultivo *in vitro* de embriões imaturos de tangerineira 'Poncã' em função do pH e da concentração de ágar. *Revista Brasileira de Agrociência* 8(3): 199-202.

Peixoto, P.H.P., Pasqual, M. 1995. Micropropagação da videira: efeitos do pH e do ágar. *Revista Ceres* 42: 432-443.

Pereira, J.E.S., Fortes, G.R.L. 2003. Protocolo para produção de material propagativo de batata em meio líquido. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 38(9): 1035-1043.

Romberger, J.A., Tabor, C.A. 1971. The *Picea abix* shoot apical meristem in culture. *American Journal of Botany* 58: 131-140.

Williams, R.J., Leopold, A.C. 1989. The glassy state in corn embryos. *Plant Physiology*, 89: 977-981.