

CRESCIMENTO DE EXPLANTES DE BANANEIRA, CV. PRATA ANÃ, *IN VITRO**

In vitro growth of Prata Anã' banana explants

JOSEFA DIVA NOGUEIRA DINIZ**

ANTONIO NATAL GONÇALVES***

KEIGO MINAMI****

RESUMO

Características do crescimento in vitro de explantes de bananeira Prata Anã' foram estudadas em experimento inteiramente casualizado com sete tratamentos e três repetições. Gemas apicais de plantas estabelecidas in vitro foram inoculadas em meio básico de MURASHIGE & SKOOG⁷ com 3,5 mg/l de 6-benzilaminopurina (BAP) e 30 g/l de sacarose. As observações foram realizadas a 0, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 dias após a inoculação (tratamentos). Matérias fresca e seca dos explantes inteiros e de suas diferentes partes aumentaram com o tempo de cultivo. Nos primeiros dez dias, os explantes tiveram um aumento de tamanho de aproximadamente quatro vezes. O máximo incremento relativo de matérias fresca e seca ocorreu no rizoma, nesse período, e no pseudocaulo, entre os 20 e 30 dias. A emissão de folhas por explante foi maior nos primeiros 30 dias, enquanto que a formação de gemas só foi observada a partir dos 20 dias, aumentando até os 30 dias. Até os 30 dias, menos de 10% dos explantes haviam emitido raízes, mas, aos 60 dias, esta proporção tornou-se superior a 60%.

PALAVRAS CHAVE: Explantes de banana, gema apical, crescimento de explantes, matéria seca.

SUMMARY

In vitro growth characteristics of Prata Anã' banana explants were evaluated in a completely randomized experiment with seven treatments and three replications. Apical bud from in vitro grown plants were inoculated in MURASHIGE & SKOOG⁷ medium supplemented with 3,5 mg/l of 6-benzylaminopurina (BAP) and 30 g/l of sacarose. The explants were observed at 0, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 days after inoculation (treatments). Fresh and dry weights had the highest relative increments for the rizome in the same period. For the pseudostem and leaves they were observed from 20 to 30 days and 30 to 40 days, respectively. Leaf initiation per explant was highest during the first 30 days. Bud development was only observed at the 20th days increasing us to th 30th day. The proportion of rooted explants had a marked increase, from less, than 10% to 60%, from the 30th to the 60th day.

KEY-WORDS: Banana explants, apical bud, explant growth, dry weight.

* Parte da tese apresentada pelo primeiro autor à Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor.

** Eng.Agr., M.Sc., Dep. de Fitotecnia, CCA/UFC, CP 12.168, CEP 60356-001. Fortaleza-CE

*** Eng Agr., Dr. Prof. Dep. de Ciências Florestais, ESALQ/USP, CP 9, CEP 13418-900. Piracicaba-SP.

**** Eng.Agr., Dr. Prof. Dep. de Horticultura, ESALQ/USP, CP 9, CEP 13418-900. Piracicaba-SP.

INTRODUÇÃO

A banana é um fruto tropical e subtropical de grande importância alimentícia, social e econômica. O Brasil é hoje o segundo maior produtor mundial com uma produção de 5.593.000t, equivalente a 11% da produção mundial, perdendo apenas para a Índia (FAO²). No entanto a produtividade da cultura no Brasil é baixa quando comparada com os países exportadores. Nos últimos anos tem-se verificado um aumento considerável na demanda de mudas de bananeira de alta qualidade visando à renovação de bananais de regiões tradicionalmente produtoras nos Estados de Santa Catarina, São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Norte (OLIVEIRA & SILVA⁸). Ante a necessidade de satisfazer a demanda e de incrementar a produtividade da cultura se faz necessário, além do emprego de práticas de manejo adequadas, o uso de cultivares melhoradas, bem como dispor de quantidades suficientes de material de propagação.

A utilização da técnica da micropropagação para espécies do gênero *Musa*, é relatada em trabalhos publicados no início da década de 60 por COX *et al.*¹ e MOHAN RAM & STEWARD⁶. Atualmente, o cultivo *in vitro* de gemas apicais de bananeira constitui uma metodologia de propagação assexuada eficaz, que permite uma rápida multiplicação em grande escala a partir de um explante. Esta metodologia alternativa pode ser realizada o ano todo e ser programada para facilitar a disponibilidade de material para plantio em novas áreas (LAMEIRA *et al.*⁴). Além disso, permite a produção e intercâmbio de material livre de determinados patógenos, manutenção da fidelidade de genótipos selecionados e facilita a transferência de germoplasma de uma região para outra.

Diversas formulações de meios básicos têm sido utilizadas nos trabalhos iniciais de micropropagação. Não há uma formulação padrão, mas o meio de MURASHIGE & SKOOG⁷ (MS), suas modificações e diluições têm apresentado resultado satisfatório para diversas espécies (GRATTAPAGLIA & MACHADO³).

O trabalho teve como objetivo estudar o crescimento de explantes de bananeira *in vitro*, utilizando um meio semi-sólido de MURASHIGE & SKOOG⁷, a fim de determinar o melhor período para a repicagem.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas gemas apicais de plantas de bananeira (*Musa sp.*) cultivar Prata Anã, estabelecidas *in vitro*, fornecidas pela empresa Campo-Companhia de Promoção Agrícola. O meio utilizado foi o MS básico, suplementado com 30g/l de sacarose e 3,5mg/l de 6-benzilaminopurina (BAP) com pH ajustado para 5.7. Foram inoculados quatro explantes por frasco contendo 50ml de meio de cultivo, mantidos em câmara de crescimento a uma temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16h e intensidade luminosa em torno de 2000lux.

Os tratamentos foram representados pelos períodos de: 0, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 dias de cultivo, com 3 repetições e uma média de 9 frascos por repetição. Para cada repetição foram inoculados 70 frascos (280 explantes) e de acordo com os tratamentos a cada 10 dias foram retirados ao acaso os frascos com propágulos para avaliação dos parâmetros: *a. altura das plantas*: foi medida da base inferior ao ápice da folha mais alta de cada propágulo e obtida a média para cada tratamento; *b. número de folhas*: foi determinado o número médio de folhas emitidas por propágulo; *c. número de gemas*: foram enumerados o número de propágulos que emitiram novas gemas e o número de gemas emitidas por propágulo; *d. número de raízes*: foram contados o número de propágulos que emitiram raízes e o número de raízes emitidas por propágulo; *e. matéria fresca*: em todos os tratamentos, imediatamente após a coleta do propágulo, foram separados o rizoma (incluindo raízes), pseudocaule e folhas, pesando-se cada um separadamente, com exceção do tratamento aos 10 dias de cultivo que foi separado em duas partes: rizoma e parte aérea, por ter pouca diferenciação de folhas; a matéria fresca total do propágulo foi obtida pela soma da matéria fresca das três partes das plantas; *f. matéria seca*: após a tomada da matéria fresca, o material foi colocado para secagem a 60°C até peso constante, ocasião em que foi anotada o peso matéria seca; *g. crescimento relativo*: foram calculados os incrementos de crescimento relativo para períodos de 10 dias, para a matéria fresca (Δmf) e para a matéria seca (Δms), através da fórmula: Δmf ou $\Delta ms = \frac{(Pt_2 - Pt_1)}{Pt_1} \times 100$, onde, Pt_i é a massa da matéria fresca ou seca produzida no tempo de cultivo t_i , sendo que $t_2 - t_1$ é igual a 10 dias;

Todos os parâmetros avaliados foram analisados segundo um delineamento inteiramente casualizado para sete tratamentos com três repetições e as médias comparadas pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme a Tabela 1, a matéria fresca e seca dos propágulos inteiros aumentou com o tempo de cultivo sendo que, em ambas, as médias apresentaram diferença estatística significativa até os 40 dias, a partir dos quais, embora continuassem aumentando, não foram observadas diferenças. Quando foram calculados os incrementos relativos de matéria fresca e seca dos propágulos inteiros em períodos de 10 dias, os maiores incrementos ocorreram nos primeiros 10 dias, os quais se reduziram em períodos subsequentes (Figuras 1 e 2).

A matéria fresca e seca das diferentes partes dos propágulos seguiu uma tendência de crescimento similar ao propágulo inteiro. No entanto, foram observadas diferenças nos períodos em que atingiram o máximo incremento relativo, a partir do qual houve uma redução na percentagem de peso acumulado em função do tempo. O rizoma apresentou o máximo incremento relativo nos primeiros 10 dias, o pseudocaule entre 20 e 30 dias e as folhas entre 30 e 40 dias (Figuras 1 e 2). O rizoma foi a parte do propágulo que apresentou maiores médias de matéria fresca e seca, que diferiram estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, das médias de matéria seca do pseudocaule e folhas que não diferiram entre si durante os 60 dias de cultivo.

A maior quantidade de matéria fresca e seca no pseudocaule verificada aos 10 dias em relação aos 20 dias, deve-se a que nesse período, as folhas e o pseudocaule, foram avaliados juntos devido ao pouco crescimento (Tabela 1). O maior crescimento do pseudocaule ocorreu até 30 dias havendo um menor aumento de matéria fresca e seca a partir dessa data, indicando uma redução na absorção causada provavelmente, por uma deficiência de água e nutrientes, no meio de cultura a partir dos 40 dias de cultivo (Figuras 1 e 2).

A relação matéria seca/matéria fresca (ms/mf), tanto do propágulo inteiro quanto das diferentes partes destes, continuou aumentando até os 60 dias (Tabela 1). No rizoma, a relação ms/mf teve aumentos significativos até os 30 dias, com menores aumentos

a partir daí, mostrando diferença das outras partes dos propágulos durante os 60 dias. No pseudocaule, a relação ms/mf teve aumentos mais ou menos constantes até os 40 dias e maiores a partir dessa data. Nas folhas, a relação foi maior a partir dos 50 dias, indicando um maior acúmulo de solutos provavelmente, pela maior área foliar nesse período. Esse aumento de matéria seca em relação ao de matéria fresca foi verificado também por MEZZETTI *et al.*⁵ em folhas de *Actinidia deliciosa*, dos 45 aos 60 dias.

As diferenças observadas nos períodos máximos de crescimento das diferentes partes dos propágulos, são devido a que o rizoma se encontra diretamente em contato com o meio de cultivo, rico em água e nutrientes, sendo o local que, inicialmente acumula consideráveis quantidades de nutrientes, para posterior transferência para o pseudocaule e deste para as folhas. O decréscimo de incremento relativo de matéria seca, do pseudocaule é explicado pela transferência de nutrientes para as folhas e por um declínio na absorção mineral total, pelo esgotamento do meio de cultura (Figura 2). Assim, apesar de ter menor mf que o pseudocaule durante todo o período de cultivo, as folhas apresentaram proporcionalmente maior aumento de ms em decorrência do acúmulo de solutos como consequência do aumento do tempo de cultivo e provavelmente do aumento da área foliar (Tabela 1). Resultados similares foram observados por WILLIAMS⁹, que encontrou uma redução no crescimento, em propágulos de *Ptilotus exaltatus*, após seis semanas de cultivo, atribuindo o fim da fase rápida de crescimento, à redução na absorção de fósforo indicando-o como um fator limitante do crescimento.

No crescimento da planta em altura, foram observadas duas fases representadas na figura 3, por duas linhas de diferentes declividades. A linha de maior declividade, representa a fase de crescimento rápido verificada nos primeiros 10 dias de cultivo, onde a altura foi aproximadamente quatro vezes a do tamanho inicial do propágulo (de 1,5 para 5,8cm). A linha de menor declividade, mostra a fase de crescimento lento observada após os primeiros 10 dias de cultivo, onde os aumentos médios em altura foram constantes e em torno de 0,3cm para cada período de 10 dias até os 60 dias de cultivo.

O número médio de folhas emitidas por propágulo, foi maior nos primeiros 30 dias, chegando a aproximadamente 4 folhas por propágulo, dimi-

nuindo sensivelmente entre 30 e 60 dias, período em que foi emitida em média uma folha/propágulo. Quando se relacionou o número de folhas com o tempo de cultivo, verificou-se que estes parâmetros apresentaram alta correlação

A emissão de gemas foi observada somente a partir dos 20 dias e seu número aumentou até os 30 dias, quando a percentagem de propágulos com gemas foi em torno de 17%, permanecendo constante até os 60 dias (Figura 4). O número de gemas emitidas pelos propágulos variou entre 1 e 4, e o número médio de gemas emitidas por propágulo foi de 1,33.

Quanto às raízes emitidas, verificou-se que nos primeiros 30 dias, menos de 10% dos propágulos emitiram raízes, enquanto que dos 30 aos 60 dias, essa porcentagem aumentou para mais de 60% (Figura 4). O número de raízes emitidas por propágulos variou entre 1 e 5 e o número médio foi de 1,46 por propágulo.

CONCLUSÕES

1. O maior acúmulo de matéria fresca e seca dos explantes inteiros ocorreu nos primeiros 10 dias de cultivo.

2. As diferentes partes dos propágulos se diferenciaram quanto ao acúmulo de matéria fresca e seca com o máximo incremento no rizoma nos primeiros 10 dias de cultivo, enquanto que no pseudocaulo ocorreu entre 20 e 30 dias e nas folhas entre 30 e 40 dias.

3. Aos 30 dias as plantas apresentaram um bom crescimento em altura, número de folhas e gemas (parâmetros importantes na multiplicação), e pequeno número de raízes, indicando ser em torno dessa data o melhor período para a repicagem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COX, E.A.; STOTZKY, G.; GOOS, R.D. In vitro culture of *Musa balbisiana* Colla embryos. *Nature*, v. 185, n. 4710, p. 403-404, 1960.
2. FAO. PRODUCTION YEARBOOK-1993, v.47, p.166-167, 1994.
3. GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. *Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas*. Brasília: ABCTP/EMBRAPA; CNPH, 1990. p. 99-169.
4. LAMEIRA, O.A.; PINTO, J.E.B.P.; PASQUAL, M. Propagação in vitro da bananeira 'Prata' através da cultura de tecidos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.25, n.11, p. 1613- 1617, 1990.
5. MEZZETTI, B.; ROSATI, P.; CASALICCHIO, G. *Actinidia deliciosa* C.F. Liang in vitro. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture*, v. 25, p. 91-98, 1991.
6. MOHAN RAM, H.Y.; STEWARD, F.C. The induction of growth in explanted tissue of the banana fruit. *Canadian Journal of Botany*, v. 42, p. 1559-1579, 1964.
7. MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, v. 15, p. 473-497, 1962.
8. OLIVEIRA, R.P.; SILVA, S. S. Avaliação da micropropagação comercial em bananeira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 32, n. 4, p. 415-420, 1997.
9. WILLIAMS, R.R. Mineral nutrition in vitro - a mechanistic approach. *Australian Journal of Botany*, v. 41, p. 237-251, 1993.

TABELA 1

Matéria fresca, matéria seca e relação da matéria seca/matéria fresca no rizoma, pseudocaule, folhas e nos propágulos inteiros de bananeira, cv. Prata Anã, durante o cultivo *in vitro* (média de 3 repetições)

	TEMPO (dias)						
	0	10	20	30	40	50	60
Matéria fresca (mg/propágulo)							
Propágulo inteiro	279,7d	816,4c	1.071,6b	1.193,5b	1.432,6a	1.530,5a	1.622,4a
rizoma	279,7d	361,7cdA	396,5cdA	418,7bcdAB	484,0bcAB	575,9abA	646,4aA
pseudocaule	0,0	454,7bA	386,7cA	461,5bA	542,2aA	537,2aAB	510,4aB
folhas	0,0	0,0	288,4cA	313,3bcB	406,4abB	417,4aB	465,6aB
Matéria seca (mg/propágulo)							
Propágulo inteiro	15,8e	44,1d	63,4c	79,9c	98,3b	119,6a	132,9a
rizoma	15,8e	26,1deA	30,9cdA	36,5cdA	43,6bcA	57,1abA	64,3aA
pseudocaule	0,0	18,0bcB	16,3cB	22,9bB	28,3aB	30,7aB	31,1aB
folhas	0,0	0,0	16,2dB	20,5cdB	26,4bcB	31,8abB	37,5aB
Matéria seca/ matéria fresca (x100)							
Propágulo inteiro	5,72e	5,93de	6,33cde	7,09bcd	7,23bc	8,23ab	8,53a
rizoma	5,72c	7,30bA	7,80bA	8,73abA	9,01abA	9,91aA	9,99aA
pseudocaule	0,0	3,96cB	4,21cB	4,97bcB	5,22bcB	5,72abB	6,10aB
folhas	0,0	0,0	5,61cB	6,53bB	6,52bB	7,62aB	8,03aB

* Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas e de mesma letra maiúscula nas colunas, não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

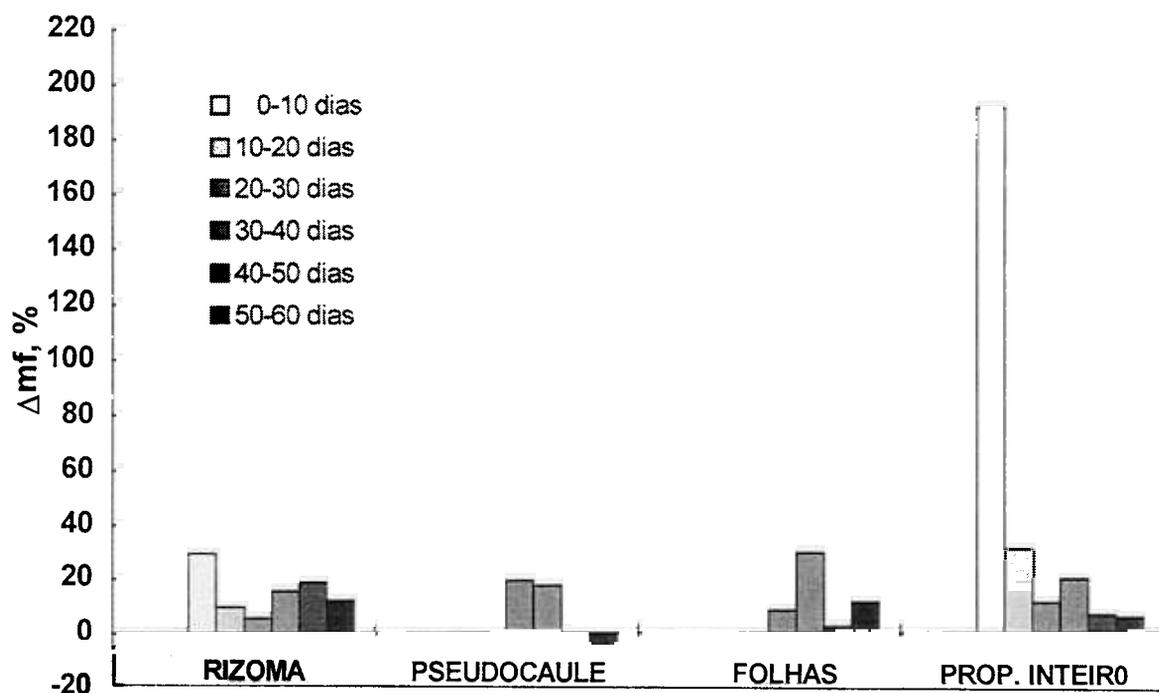


Figura 1. Incrementos relativos de matéria fresca (Δmf) no rizoma, pseudocaule, folhas e nos propágulos inteiros de bananeira, cv. Prata Anã, em períodos de 10 dias, durante 60 dias de cultivo *in vitro*.

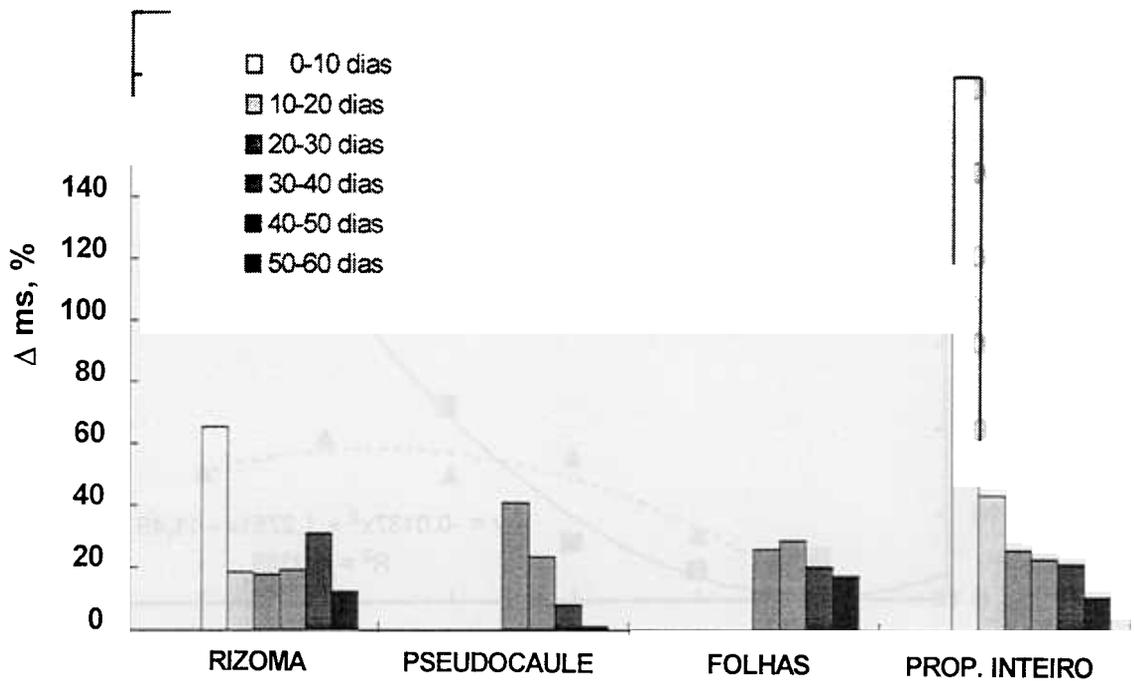


Figura 2. Incrementos relativos de matéria seca (Δms) no rizoma, pseudocaule, folhas e nos propágulos inteiros de bananeira, cv. Prata Anã, em períodos de 10 dias, durante 60 dias de cultivo *in vitro*.

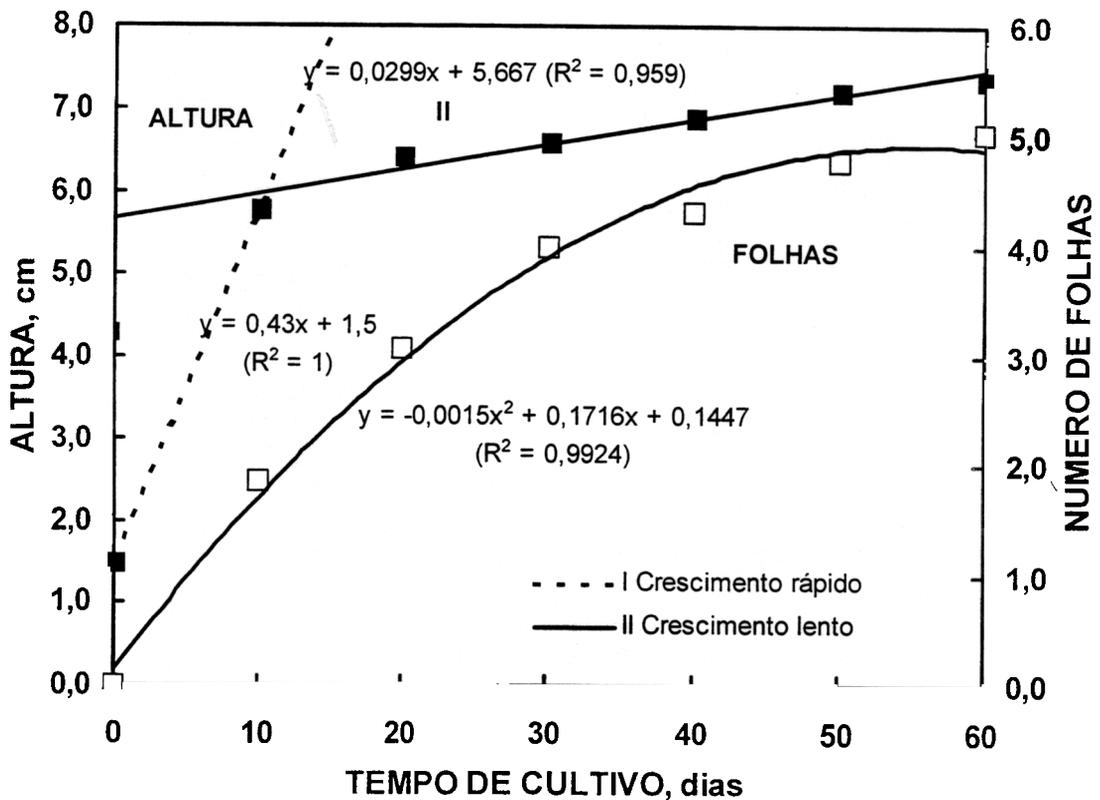


Figura 3. Altura e número médio de folhas em função do tempo de cultivo, em propágulos de bananeira, cv Prata Anã.

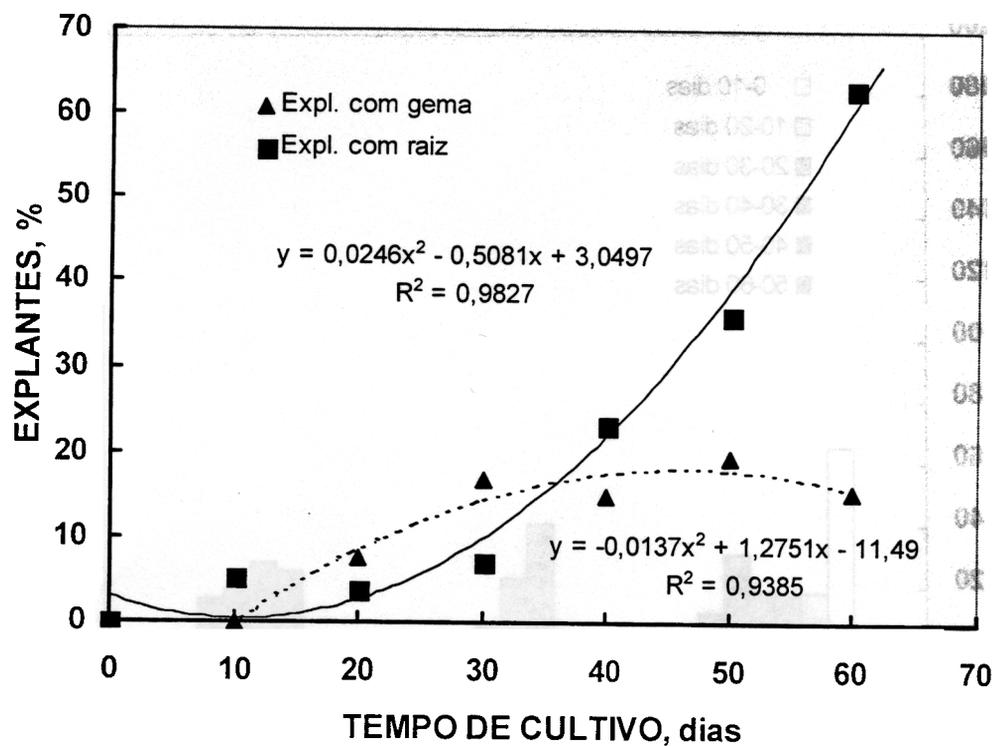


Figura 4. Percentagem de propágulos de bananeira, cv. Prata Anã, com gemas e raízes em função do tempo de cultivo.