

Relação entre o tempo de enraizamento *in vitro* e o crescimento de plantas de bananeira na aclimatização.¹

Ferreira, Ester Alice²; Costa, Frederico Henrique da Silva³; Pasqual, Moacir⁴; Pereira, Jonny Everson Scherwinski⁵; Rodrigues, Filipe Almendagna⁶; Matos, Adriene Matos⁷

² Pesquisadora EPAMIG CTP Caixa Postal 351 - CEP: 38001-970 Uberaba MG. E-mail: ester@epamig.br;

³ Doutorando em Fitotecnia, UFLA, Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras-MG. E-mail: fredericohenrique@yahoo.com.br;

⁴ Professor Titular DAG UFLA, Lavras-MG. E-mail: mpasqual@uffa.br;

⁵ Pesquisador da Embrapa Acre, Caixa Postal 321, CEP 69908-970 Rio Branco-AC. E-mail: jonny@cpafac.embrapa.br.

^{6,7} Estudante de Agronomia da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

INTRODUÇÃO

Embora o Brasil se destaque como segundo maior produtor mundial de banana, problemas fitossanitários como a sigatoka-negra tem trazido preocupações ao setor uma vez que, os danos provocados pela doença, reduzem significativamente a produção das cultivares que atualmente são plantadas e comercializadas. Na tentativa de resolver este entrave, novos genótipos de bananeira vêm sendo produzidos e introduzidos pela Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, entre os quais estão a 'Caipira' (AAA), 'Preciosa' (AAAB) e 'Japira' (AAAB) que são resistentes às principais sigatokas e ao mal-do-panamá.

O cultivo *in vitro* de ápices caulinares e meristemas, também denominado de micropropagação, constitui uma importante ferramenta para a rápida propagação massal de clones com alto padrão genético e fitossanitário, contribuindo para a distribuição de genótipos de bananeira recentemente lançados pelos programas de melhoramento genético (Gübbük & Pekmezci, 2004). Dentre as fases que compõem o processo *in vitro*, o enraizamento/alongamento é considerado fundamental para a maioria das espécies, uma vez que a obtenção de um sistema radicular funcional e uniforme em plantas micropropagadas é um requisito básico para que se alcancem elevadas taxas de sobrevivência na fase de aclimatização. Contudo, estudos evidenciam que a redução do período de enraizamento *in vitro*, ou mesmo sua eliminação, não prejudica a sobrevivência e o posterior desenvolvimento de determinadas espécies durante a aclimatização (Grattapaglia & Machado, 1998; Preece & Sutter, 1991), contribuindo significativamente para a redução dos custos de produção e do tempo para a comercialização (Cuzzuol et al., 1996; Debergh & Read, 1991). Soma-se a isto as afirmações de Grattapaglia & Machado (1998) e Woodhead & Bird (1998) de que, raízes mais curtas normalmente estão em fase de ativo crescimento, sendo mais adequadas ao transplante, por facilitar o manuseio, o pegamento e o posterior desenvolvimento *ex vitro* das plantas.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência do tempo de permanência em meio de enraizamento sobre o crescimento *in vitro* e *ex vitro* de diferentes cultivares de bananeira.

MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal consistiu de brotações axilares de bananeira (desprovidas de raízes), originadas de explantes em fase de multiplicação e mantidas em sala de crescimento sob temperatura de 25°C e 16 horas de irradiância (42 W.m⁻²). Obtidas as brotações, estas foram transferidas para meio MS (Murashige & Skoog, 1962) reduzido a 50% da concentração de sais, adicionado de 30 g.L⁻¹ de sacarose, 1 mg.L⁻¹ de ácido indolbutírico (AIB) e 6 g.L⁻¹ de ágar, com pH 5.8, onde foram aplicados os tratamentos para enraizamento/alongamento. Os tratamentos consistiram de períodos de enraizamento *in vitro* (7, 14, 21 e 28 dias) e três cultivares (Caipira, Preciosa e Japira), num total de 12 tratamentos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições e quatro explantes por frascos de 250 mL contendo 40 mL de meio, selados com filme transparente. O cultivo foi mantido sob as condições anteriormente mencionadas.

¹ Apoio: Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Ao final de cada período de cultivo *in vitro*, foram avaliados a altura da parte aérea e o número e comprimento de raízes. Posteriormente, as plantas foram transferidas para tubetes (0,3 L) preenchidos pela mistura de terra (abaixo de 40 cm): Plantmax HT:casca de arroz carbonizada (1:1:1 v/v), acrescido de 50 g.L⁻¹ de húmus e 20 g.L⁻¹ de super simples, sendo mantidas em casa de vegetação sob sombreamento de 70% e sistema de nebulização intermitente, por 90 dias. A parcela experimental consistiu de três plantas (uma por tubete), com cinco repetições por tratamento, em DIC. Aos 90 dias, a altura da parte aérea, número e comprimento de raízes e massa seca total foram avaliados.

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando o programa estatístico Sanest (Zonta & Machado, 1984) e as médias comparadas pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$). Dados obtidos por contagem (x) foram transformados segundo $(x+0,5)^{0,5}$. A sobrevivência das plantas foi obtida pela razão entre o número de plantas desenvolvidas e o número total de plantas transferidas para as condições *ex vitro* e não foi analisada estatisticamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Enraizamento *in vitro*

Para o número e comprimento de raízes, os melhores resultados entre as cultivares foram observados para a 'Caipira', embora esta não tenha diferido da cultivar Preciosa quanto ao comprimento de raízes. Já quanto ao tempo de permanência em meio de cultivo, maior número de raízes foi verificado em plantas provenientes dos 14, 21 e 28 dias ($P < 0,05$), diferentemente do comprimento, que aumentou de maneira significativa com o tempo de enraizamento *in vitro* (Tabela 1). Assim, pode-se inferir que, após a fase de indução dos primórdios radiculares, não há mais emissão de raízes, mas sim o desenvolvimento/alongamento destas, conforme sugerido por Grattapaglia & Machado (1990) e Woodhead & Bird (1998).

Tabela 1. Número e comprimento de raízes e altura da parte aérea de bananeira, em função do tempo de enraizamento *in vitro* e cultivares.

Tempo (Dias)	Cultivares			Média
	Caipira	Preciosa	Japira	
Número de raízes				
7	2,7	1,6	1,5	1,9b
14	6,3	4,3	4,2	4,9a
21	6,4	4,3	4,2	5,0a
28	6,8	4,8	4,3	5,3a
Média	5,5A	3,7B	3,5B	
Comprimento de raízes (cm)				
7	0,0	0,0	0,0	0,0d
14	3,5	1,9	1,9	2,4c
21	4,2	3,5	4,5	4,1b
28	6,3	6,0	5,6	6,0a
Média	3,5A	2,8B	3,0AB	
Altura da parte aérea (cm)				
7	3,1cA	3,1bA	2,7bA	3,0c
14	3,5cA	3,1bB	2,9bAB	3,2c
21	4,7bA	3,2bB	4,0aA	4,0b
28	5,7aA	4,9aA	4,1aB	4,9a
Média	4,2A	3,6B	3,4B	

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. (C.V. = 9,0%; 25,2% e 11,3%).

Quanto a altura da parte aérea, nenhuma diferença significativa entre as cultivares foi evidenciada aos 7 dias, indicando que os explantes utilizados foram homogêneos, com média de 3 cm. Analisando-se a interação, constata-se que as diferentes cultivares tiveram repostas diferenciadas para cada tempo de enraizamento testado, embora a permanência das brotações por um maior período (28 dias) tenha promovido as maiores alturas (Tabela 1). As diferenças observadas para cada cultivar podem ser atribuídas ao nível de oxidação verificado nos explantes nos primeiros dias após a inoculação, o qual foi mais expressivo

nas cultivares Preciosa e Japira, pertencentes ao grupo genômico AAAB. Isso porque a ocorrência de oxidação durante algumas das etapas do cultivo *in vitro* pode influenciar sobremaneira na absorção dos constituintes do meio pelo explante e, conseqüentemente, seu crescimento.

De acordo com Hirimburegama & Gamage (1997), cultivares portadoras do genoma B (*Musa balbisiana*) mostram maior escurecimento (oxidação) dos tecidos excisados ou cortados do que cultivares portadoras apenas genoma A (*Musa acuminata*), sendo esta oxidação mais intensa aos 2 dias de inoculação.

Aclimatização

O processo de aclimatização apresentou elevada sobrevivência (acima de 80%), em todas as cultivares estudadas e perdas foram verificadas apenas em plantas enraizadas *in vitro* por 7 e 14 dias das cultivares Preciosa e Japira. Para o comprimento de raízes, nenhuma diferença significativa foi observada na cv. Caipira em relação ao tempo de enraizamento *in vitro*. Já as cultivares Preciosa e Japira apresentaram maior comprimento de raízes em plantas cultivadas por 21 e 28 dias e aos 21 dias. Em relação à altura da parte aérea, constatou-se incremento à medida que as plantas permaneceram em meio de enraizamento e aquelas cultivadas por 7 e 14 dias apresentaram os piores resultados. Entre as cultivares, a 'Caipira' foi a que apresentou a maior altura de plantas, diferindo das demais (Tabela 2).

Tabela 2. Comprimento de raízes, altura da parte aérea e massa seca total de bananeira, em função do tempo de enraizamento *in vitro* e cultivares.

Tempo (Dias)	Cultivares			Média
	Caipira	Preciosa	Japira	
Comprimento de raízes (cm)				
7	18,1aA	11,6cB	11,8bB	13,8b
14	18,7aA	13,5bcB	15,0aB	15,7b
21	18,4aA	15,3abB	16,2aAB	16,6a
28	16,9aA	16,3aA	16,1aA	16,4a
Média	18,0A	14,2B	14,8B	
Altura da parte aérea (cm)				
7	11,8	9,9	9,2	10,3b
14	11,8	9,3	10,9	10,7b
21	16,8	13,7	14,4	15,0a
28	16,2	14,4	14,3	15,0a
Média	14,1A	11,8B	12,2B	
Massa seca total (g)				
7	0,70bA	0,30cB	0,40cB	0,50b
14	0,60bA	0,44cB	0,50cAB	0,50b
21	1,4aA	0,85bB	1,30aA	1,2a
28	1,2aA	1,1aAB	0,94bB	1,1a
Média	0,97A	0,65B	0,77B	

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. (C.V. = 9,6%; 8,2% e 15,7%).

Quanto à massa seca total, resultado significativamente superior na cv. Caipira foi verificado aos 21 e 28 dias de cultivo. Já para a 'Japira', o enraizamento *in vitro* por 21 dias possibilitou os melhores resultados, enquanto para a 'Preciosa' brotações enraizadas *in vitro* por um maior período (28 dias) promoveu resultados superiores (Tabela 2).

Resultados semelhantes aos observados neste trabalho foram registrados por Pereira & Fortes (2001), os quais verificaram que quanto menor o tempo de permanência das brotações de macieira em meio de enraizamento, menor é o tamanho do sistema radicular e da parte aérea destas plantas em casa de vegetação, afetando, inclusive, o vigor das plantas.

CONCLUSÕES

A cultivar Caipira apresenta crescimento vegetativo *in vitro* e *ex vitro* superior ao das cultivares Preciosa e Japira.

A fase de indução de raízes *in vitro* em brotações de bananeira ocorre até os 14 dias de cultivo em meio de enraizamento.

O crescimento em altura das plantas é diretamente proporcional ao tempo de permanência de brotações de bananeira em meio de enraizamento *in vitro*.

A sobrevivência de plantas de bananeira em casa de vegetação atinge 100%, após 21 dias de cultivo em meio de enraizamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CUZZUOL, G. R. F.; GALLO, L. A.; CROCOMO, O. J. Enraizamento de cravo (*Dianthus caryophyllus* L.) *in vitro* e *ex vitro*. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 53, n. 1, p. 60-66, jan./abr. 1996.

DEBERGH, P. C.; READ, P. E. Micropropagation. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (Ed.). **Micropropagation: technology and application**. Amsterdam: Kluwer Academic, 1991. p. 1-13

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/Embrapa CNPH, 1990. p. 99-169.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI, 1998. p. 183-260.

GÜBBÜK, H.; PEKMEZCI, M. In vitro propagation of some new banana types (*Musa* spp.). **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, Ankara, v. 28, p. 355-361, 2004.

HIRIMBUREGAMA, K.; GAMAGE, N. Cultivar specificity with respect to *in vitro* micropropagation of *Musa* spp. (banana and plantain). **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 72, n. 2, p. 205-211, Mar. 1997.

MURASHIGE, T.; SKOOG F. A. Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

PEREIRA, J. E. S.; FORTES, G. R. de L. Multiplicação e aclimatização da macieira influenciada pelo tipo de explante e pelo tempo de permanência em meio de cultura de enraizamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 23, n. 2, p. 417-420, ago. 2001.

PREECE, J. E.; SUTTER, E. G. Aclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. **Micropropagation: technology and application**. Amsterdam: Kluwer Academic Publishing, 1991. cap. 5, p. 71-93.

WOODHEAD, J. L.; BIRD, K. T. Efficient rooting and acclimation of micropropagated *Ruppia maritima* Loisel. **Journal of Marine Biotechnology**, New York, v. 6, n. 3, p. 152-156, 1998.

ZONTA, E. P.; MACHADO, A. A. SANEST - **Sistema de análise estatística para microcomputadores**. Pelotas: UFPel, SEI, 1984. 138 p.

PALAVRAS-CHAVE

Musa spp.; micropropagação; estabelecimento *ex vitro*; sistema radicular; genótipo.