



Anais da XIV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Ocidental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Anais da XIV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

*Everton Rabelo Cordeiro
Inocencio Junior de Oliveira
Maria Geralda de Souza
Ronaldo Ribeiro de Moraes
Editores Técnicos*

Embrapa
Brasília, DF
2018

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM-010, Km 29,
Estrada Manaus/Itacoatiara,
Manaus, AM
69010-970
Caixa Postal 319
Fone: (92) 3303-7800
Fax: (92) 3303-7820
www.embrapa.br

www.embrapa.br/fale-conosco/sac

**Unidade responsável pelo
conteúdo e edição**
Embrapa Amazônia Ocidental

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*
Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*
Membros: *Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa, Maria Perpétua Beleza Pereira e Ricardo Lopes*

Revisão de texto
Maria Perpétua Beleza Pereira

Normalização bibliográfica
Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa
(CRB 11/420)

Capa, projeto gráfico e editoração eletrônica
Gleise Maria Teles de Oliveira

1ª edição
Publicação digitalizada (2018)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

Embrapa Amazônia Ocidental.

Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental (14. : 2017: Manaus, AM). Anais da XIV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental; editores, Everton Rabelo Cordeiro.. [et al.]. – Brasília, DF: Embrapa, 2018.

PDF (224 p.).

ISBN 978-85-7035-843-1

1. Iniciação científica. 2. Comunicação científica. 3. Pesquisa. I. Cordeiro, Everton Rabelo. II. Oliveira, Inocencio Junior de. III. Souza, Maria Geralda de. IV. Moraes, Ronaldo Ribeiro de. V. Título. VI. Embrapa Amazônia Ocidental.

CDD 630.72

Uso de BAP e Metatopolina na Indução e Proliferação de Brotações *in Vitro* da Bananeira Cultivar Pacovan

Daniele Coelho Façanha¹

Daniel Nascimento Motta¹

Mirza Carla Normando Pereira²

Regina Caetano Quisen³

Resumo – O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de duas citocininas em concentração crescente na fase de proliferação de brotações adventícias *in vitro* da bananeira cultivar Pacovan. Ápices estabelecidos *in vitro* foram cultivados por 30 dias em meio de indução, MS com 6-benzilaminopurina (BAP) ou metatopolina (mT) (0,0 μ M e 4,5 μ M), seguidos de cinco ciclos de proliferação com 30 dias cada, em mesmo meio com BAP ou mT aumentados para 20 μ M, sendo avaliado o número de brotações emitidas/explante. Enquanto o fator regulador de crescimento isoladamente não apresentou diferença significativa entre as médias dos tratamentos nos três períodos avaliados, o fator indução e a interação entre esses fatores (aos 150 dias) apresentaram diferença estatística significativa entre suas

¹Bolsista de Iniciação Científica, Paic/Fapeam/Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

²Engenheira-agrônoma, M.Sc. em Agronomia (Produção Vegetal), pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

³Engenheira florestal, D.Sc. em Agronomia (Produção Vegetal), pesquisadora da Embrapa Floresta, Colombo, PR.

médias. Os resultados obtidos permitiram concluir a dependência da cultivar Pacovan por citocininas para a efetiva proliferação *in vitro*, sendo favorecida pelos tratamentos com indução com BAP ou mT, os quais possibilitaram aumento em 30%-50% no número total de brotos totais obtidos por explante inicial.

Palavras-chave: micropropagação, musa, reguladores de crescimento.

Pacovan's Banana Shoot Induction and Proliferation in Vitro Using BAP and Metatopoline

Abstract – The aim of this work was to evaluate the influence of two cytokinins in increasing concentration in the multiplication of adventitious shoots of cv. Pacovan. In vitro culture was studied for 30 days in induction medium, MS with 6-benzylaminopurine or metatopolin (0,0 and 4,5 μM), followed by five cycles of proliferation (30 day each one) in the same medium with BAP or mT at 20 μM , and the number of shoots/explant evaluated. Growth regulators did not show significant difference in the three evaluated periods, while the induction treatments demonstrated that were statistically significant differences, and the interaction at 150 days. The results obtained allowed to conclude the dependence of the cultivar Pacovan by cytokinins for an effective in vitro proliferation, being favored by the induction treatments in BAP or mT, which allowed an increase in the multiplication rate of 30%-50%.

Keywords: micropropagation, musa, growth regulators.

Introdução

Dentre as diversas cultivares de bananeira em uso na região Norte do País, a cultivar Pacovan, mesmo apresentando suscetibilidade à sigatoka-negra, sigatoka-amarela e ao moko, é bastante cultivada pelos agricultores em razão da preferência do mercado consumidor para seu uso na gastronomia local.

Segundo Pereira et al. (2010), a qualidade da muda utilizada é um dos fatores mais críticos da bananicultura na região, e, nesse sentido, na última década, diversos laboratórios comerciais (biofábricas) em todo o País têm se dedicado à produção de plantas de qualidade das principais cultivares de bananeira via cultura de tecidos ou micropropagação. Mesmo sendo essa técnica biotecnológica uma importante ferramenta na propagação massal da bananeira, a adequação dos protocolos regenerativos específicos para as diferentes cultivares constitui um passo importante para o aumento da eficiência desse processo por meio da adoção dessas otimizações na produção em escala comercial de clones elite.

Entre os diversos aspectos na definição de um protocolo, o uso de reguladores de crescimento é indispensável à fase de multiplicação *in vitro*. O BAP é a citocinina predominante nos protocolos estabelecidos, utilizada em concentrações que variam de 1,0 mg L⁻¹ a 10,0 mg L⁻¹ (Bernardi et al., 2004; Oliveira et al., 2008). Outra citocinina recentemente utilizada é a metatopolina, que também tem se mostrado bastante eficiente para diversas culturas, visto diminuir a ocorrência de hiper-hidricidade, produzir brotos maiores e plântulas mais vigorosas para posterior aclimatização (Bairu et al., 2008).

Assim, considerando a necessidade de ajuste metodológico de protocolos de micropropagação para cada cultivar de bananeira, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência das

citocininas BAP e mT nas fases de indução e proliferação de brotações adventícias da cultivar Pacovan.

Material e Métodos

Este trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM. Explantes obtidos a partir da redução de rizomas (3 cm-4 cm de pseudocaule e 3 cm-4 cm de rizoma) de bananeira cultivar Pacovan foram submetidos à assepsia em álcool 70% / 2 minutos e hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo) a 50% / 10 minutos, seguida de cinco lavagens em água destilada estéril.

As fases de cultivo que se seguiram foram: (i) Estabelecimento: cultivo por dez dias em meio de cultura basal de MS (Murashige; Skoog, 1962), sacarose (3%), ágar (0,6%), pH 5.8. (ii) Indução: cultivo por 30 dias (explantes cortados longitudinalmente) em MS com AIA (ácido indolacético) a 1,0 μM e BAP ou mT, ambos a 0,0 e 4,5 μM . (iii) Proliferação: transferência dos explantes da fase anterior para meio basal MS acrescido de AIA, mantido a 1,0 μM , BAP ou mT a 20 μM , por cinco subcultivos, com atenção no momento da transferência à citocinina correspondente a cada tratamento. O tratamento testemunha consistiu no cultivo em meio na ausência de reguladores de crescimento. A cada 30 dias foi avaliado o número de brotações adventícias formadas por explante. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 25 °C \pm 1 °C, na ausência de luz (estabelecimento) ou sob fotoperíodo de 16 horas de luz e intensidade luminosa de 30 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (demais fases). O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2 com tratamento adicional (citocininas x com e sem pré-multiplicação), totalizando cinco tratamentos com dez repetições cada. Os dados foram transformados ($\sqrt{x+0,5}$) e submetidos à análise de variância e de comparação de médias, por

meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Também foi obtida a taxa de multiplicação acumulada que consistiu no número total de brotos obtidos desde o terceiro subcultivo (aos 90 dias) até o quinto (aos 150 dias), por explante inicial.

Resultados

Em razão da formação de aglomerados de brotações, que dificultaram a contagem de brotações formadas por explante, somente foram contabilizadas e comparadas as avaliações a partir do terceiro subcultivo, ou seja, aos 90, 120 e 150 dias de cultivo.

Os reguladores de crescimento não apresentam diferença significativa nos três períodos avaliados, enquanto para o fator indução (I) foi verificado efeito significativo aos 90 e 150 dias. A interação entre esses fatores ocorreu somente na última subcultura. O tratamento controle foi significativamente inferior aos demais tratamentos (fatorial) em todas as avaliações. Observou-se que as médias aumentaram significativamente ao longo das subculturas, seja com pré-multiplicação, seja sem pré-multiplicação (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito do uso de reguladores de crescimento (RC) e da indução (ID) na multiplicação de brotações adventícias de bananeira cultivar Pacovan de 90 aos 150 dias de cultivo in vitro. Manaus, 2017.

RC	90 dias			120 dias			150 dias		
	ID		Média	ID		Média	ID		Média
	Com	Sem		Com	Sem		Com	Sem	
BAP	6,5	4,9	5,7 A	5,9	7,5	6,7 A	12,1 Aa	7,7 Ab	9,9 A
mT	6,1	4,0	5,1 A	6,7	6,3	6,5 A	12,5 Aa	8,2 Ab	10,4 A
Média	6,3 a	4,5 b	5,4 A	6,3 a	6,9 a	6,6 A	12,3 a	8,0 b	10,1 A
Meio controle			1,1 B			1,9 B			2,1 B

¹Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas e letra maiúscula nas colunas não diferem entre si (Tukey $p < 0,05$).

Na Tabela 2 são apresentados os valores relativos à taxa de multiplicação ao longo do processo, com taxas de 4,3 a 511,3 brotações por explante inoculado.

Tabela 2. Taxa de multiplicação acumulada por explante inoculado de bananeira cultivar Pacovan produzido ao longo do processo de micropropagação. Manaus, 2017.

Tratamento	Brotações adventícias produzidas/explante		
	90 dias	120 dias	150 dias
BAP com ID	6,5	38,4	464,6
BAP sem ID	4,9	36,8	283,4
mT com ID	6,1	40,9	511,3
mT sem ID	4,0	25,2	206,6
Meio controle	1,1	2,1	4,3

Discussão

A cultivar Pacovan apresentou uma característica peculiar quanto à formação de aglomerados de brotações e de difícil individualização nas duas primeiras repicagens em todos os tratamentos, que, segundo Barboza et al. (2004), pode estar associada à influência do balanço hormonal auxina x citocinina do meio sobre a resposta morfo genética.

O desempenho similar apresentado pelas citocininas BAP e mT nos três subcultivos (médias entre 5,1 e 10,4 brotos/explante) é considerado como nível aceitável, observado também em outras cultivares de bananeira. Segundo Banerjee e De Langhe (1985), essa média entre diversas bananeiras pode variar entre duas e dez plântulas/subcultivo. Apesar de não apresentar diferença significativa entre os reguladores BAP e mT, notou-se que as médias para a citocinina mT foram maiores. Entretanto, outras discussões a respeito somente podem ser aprofundadas quando todo o protocolo estiver finalizado, visto a necessidade de análise de outros aspectos complementares, tais como: vigor, enraizamento e aclimatação, além dos custos envolvidos. As médias do tratamento controle foram inferiores às médias dos demais tratamentos. Confirmando assim a necessidade de suplementação com reguladores de crescimento para a proliferação in vitro dessa cultivar de bananeira.

As diferenças significativas apresentadas pelos tratamentos com fase ID aos 90 e 150 dias (6,3 e 12,3 brotos/explante respectivamente) confirmam a melhoria na capacidade proliferativa com a inclusão da fase de indução ao processo em baixa concentração de citocinina (Tabela 1). Desta forma, o uso de método similar ao aplicado com sucesso por Zaffari et al. (1994), com a elevação gradual da concentração da citocinina (BAP ou mT), contribuiu para a melhoria da proliferação de brotações, proporcionando o aumento de 40% a 60% na taxa de multiplicação para essa cultivar (Tabela 2). Segundo Medeiros (2015), a eficiência da taxa de multiplicação pode ser bastante variável para uma mesma variedade, reforçando a importância da adequação e otimização do meio e condições de cultura.

Conclusões

Os resultados obtidos nas condições estabelecidas no presente trabalho permitiram concluir que os reguladores BAP e mT apresentaram mesmo desempenho na multiplicação *in vitro*; a inclusão da fase de indução com ambas as citocininas favoreceu maior proliferação de brotações adventícias ao final de 150 dias de cultivo *in vitro*; o aumento gradual da concentração de BAP ou mT na fase de multiplicação possibilitou o aumento de 40%-60% na taxa de multiplicação *in vitro* da cultivar Pacovan.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (Fapeam), pela concessão da bolsa do Programa de Apoio a Iniciação Científica do Amazonas (Paic-AM).

Referências

- BAIRU, M. W.; STIRK, W. A.; DOLEŽAL, K.; STADEN, J. van. The role of topolins in micropropagation and somaclonal variation of banana cultivars 'Williams' and 'Grand Naine' (*Musa* spp. AAA). **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 95, n. 3, p. 373-379, Dec. 2008.
- 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 Reports**, v. 4, p. 351-354, 1985.
- BARBOZA, S. B. S. C.; CALDAS, L. S.; SOUZA, L. A. C. Micropropagação do híbrido PExSC-52 e da cultivar Smooth Cayenne de abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 8, p. 725-733, 2004.
- BERNARDI, W. F.; RODRIGUES, B. I.; CASSIERE NETO, P.; ANDO, A.; TULMANN NETO, A.; CERAVOLO, L. C.; MONTES, S. M. N. M. Micropropagação de baixo custo em bananeira cv. Maçã em meios com diferentes fontes de carbono e avaliação da performance em campo das mudas produzidas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 3, p. 503-506, 2004.
- MEDEIROS, D. **Taxa de multiplicação de mudas micropropagadas de bananeira cv. grande naine e cv. prata catarina influenciada pela fase de estabelecimento de cultura**. 2015. 119 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- 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.
- OLIVEIRA, J. P. de; COSTA, F. H. da S.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Micropropagación y estimativa de producción de mudas de bananos para la Amazonia Occidental. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 10, p. 1429-1432, 2008.

PEREIRA, M. C. N.; ARRUDA, M. R. de; PEREIRA, J. C. R. Produção e obtenção de mudas. In: GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J. C. R. **A cultura da bananeira na região Norte do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2010. p. 87-95.

ZAFFARI, G. R.; SOLIMAN FILHO, L. F.; STUKER, H. Efeito do tamanho do explante e da quebra da dominância apical, sobre a brotação das gemas laterais na produção de mudas de bananeira, in vitro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 16, n. 3, p. 71-76, 1994.