

Novembro e Dezembro de 2001

VOL. XLVIII Nº 280

Viçosa – Minas Gerais

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**CRESCIMENTO DE EXPLANTES *IN VITRO* E DE  
MUDAS DE BANANEIRA CV. MAÇÃ  
SUBMETIDAS A DOSES DE SACAROSE NAS  
FASES DE ENRAIZAMENTO E ACLIMATAÇÃO<sup>1</sup>**

Marcio Akira Couceiro<sup>2</sup>  
Dalmo Lopes de Siqueira<sup>3</sup>  
Walter E. Pereira<sup>4</sup>  
Ludmila Lafetá de M. Neves<sup>4</sup>

**RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento da bananeira (cv. Maçã) e a variação do pH no meio de cultura, com e sem plantas, por efeito de diferentes doses de sacarose, na fase de enraizamento. Foi avaliado também o desenvolvimento dessas plântulas, provindas da fase de enraizamento, durante a fase de aclimatação. O experimento foi montado no delineamento em blocos casualizados com quatro repetições e os tratamentos consistiram na cultura dos explantes em meio contendo as doses de sacarose (20, 40, 60 e 80 g L<sup>-1</sup>). Foi avaliado o desenvolvimento das plantas nas fases de enraizamento e aclimatação. Durante a fase de enraizamento, a massa fresca diminuiu com o acréscimo das doses de sacarose no meio. Entretanto, a massa seca aumentou com o acréscimo das doses de sacarose no meio. O pH diminuiu tanto no meio com quanto no sem explantes, ao longo do tempo. Na fase de aclimatação, as plântulas submetidas às maiores concentrações de sacarose, durante a fase de enraizamento, apresentaram menor acúmulo de massa fresca e seca na parte aérea e no sistema radicular.

Palavras-chaves: *Musa* sp., massa fresca, massa seca, pH.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 18.02.2001.

<sup>2</sup> Bolsista de Iniciação Científica do CNPq-UFV. Setor de Fruticultura. 36571-000 Viçosa, MG. marcioakira@bol.com.br

<sup>3</sup> Departamento de Fitotecnia. Universidade Federal de Viçosa. 36571-000 Viçosa, MG.

<sup>4</sup> Aluno de Pós-graduação do Departamento de Fitotecnia, UFV.

## ABSTRACT

### GROWTH OF BANANA (CV. MAÇÃ) EXPLANTS *IN VITRO* AND FROM PLANTLETS AS A FUNCTION OF SUCROSE DOSAGES DURING ROOTING AND ACCLIMATIZATION

The objective of this work was to evaluate the growth of banana (cv. Maçã) and pH variation within culture media, with and without explants, over the rooting phase under different doses of sucrose as well as to evaluate the development of plantlets from rooting during the acclimatization phase. The experiment was arranged in a randomized complete-block with four replications and consisted in culturing the explants in media containing the following sucrose concentrations: 20, 40, 60 and 80 g.L<sup>-1</sup>. Plant performance was evaluated both during rooting and acclimatization. During rooting, fresh matter decreased as sucrose concentration increased in the medium. However, dry matter increased as sucrose concentration increased in the medium. There was a pH decrease both in the medium with explants and in the medium without explants, along the time. During acclimatization, the plants which had been submitted to higher concentrations of sucrose during the rooting phase showed a lower accumulation of both fresh and dry matter in the aerial parts and root system.

Keys words: *Musa* sp., fresh matter, dry matter, pH.

## INTRODUÇÃO

Na exploração da cultura da bananeira não há ainda viveiristas nem produtores que se propõem a multiplicar o material em suas propriedades, para futuros plantios. A expansão da cultura e as reformas de bananais têm sido sustentadas por mudas procedentes de bananais já velhos ou muito jovens, o que é totalmente desaconselhável.

Outro fator que exige do produtor maior atenção são as doenças e pragas disseminadas pela muda, pois esses patógenos têm comprometido seriamente a produção comercial em todo o mundo e, no Brasil, tal comprometimento torna-se mais sério devido à falta de um sistema de produção específico de mudas de bananeira e de normas para a sua comercialização (7).

A qualidade da muda é de extrema importância, pois está estritamente relacionada à uniformidade do material, precocidade de produção, vigor das plantas, sanidade do bananal, custos de produção e produtividade.

A técnica de cultura de tecidos pode ser usada como um método prático de se propagar rapidamente clones de bananeira (4), minimizando o risco de disseminação de insetos e doenças (12). Além disso, pode ser usada para eliminar vírus de plantas infectadas (3).

A cultura de tecidos com bananeiras é ainda objeto de pesquisas, pois não se definiu uma metodologia-padrão para esse fim. Vários

trabalhos têm buscado adequar os diferentes cultivares de bananeira, não só um número de subcultivos limitado, estabelecendo dessa forma um protocolo mais seguro, para multiplicação *in vitro* (13). Existem vários protocolos para micropropagação de bananeira, devido aos tipos de explantes utilizados, aos meios de cultura e à forma de multiplicação (4).

Alguns aspectos da micropropagação da bananeira não estão bem definidos, uma vez que as respostas morfogênicas da planta variam com diversos fatores, incluindo variedade utilizada, balanço de nutrientes e hormônios do meio de cultura.

Diversas formulações de meio básico têm sido utilizadas nos cultivos. Não há uma formulação-padrão, mas o meio MS (11) e suas modificações e diluições têm apresentado resultados satisfatórios (8).

A sacarose é o carboidrato mais utilizado em trabalhos de micropropagação de bananeira. A concentração normalmente utilizada é de 20 a 30 g L<sup>-1</sup>, e sua ausência provoca em pouco tempo a morte do explante, pois a sacarose é a fonte de carbono para a planta. Concentrações muito altas também são prejudiciais, pois o meio de cultura fica com concentrações muito altas e a planta não consegue absorver os nutrientes e a sacarose por osmose.

Os efeitos do pH podem ser diretos ou indiretos. Por exemplo, o pH influi na utilização do amônio como fonte de nitrogênio em células vegetais; valores de pH mais baixos dificultam a utilização do amônio, enquanto valores de pH mais elevados diminuem a utilização do nitrato. Durante o crescimento das células, o pH do meio se altera à medida que diferentes íons são absorvidos pelas células e os produtos metabólicos são excretados para o meio (1).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes doses de sacarose sobre o crescimento de explantes e mudas de bananeira do cultivar Maçã, tanto na fase de enraizamento como na aclimatação, e a influência do tempo e de explantes na variação do pH no meio de cultura, na fase de enraizamento.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Fase de enraizamento*

Foram utilizadas as gemas, provindas da fase de multiplicação e desenvolvidas em laboratório de cultura de tecidos. As gemas foram cultivadas em magentas (6 x 6 cm) contendo o meio de cultura com os sais básicos do meio MS, suplementado com ANA 0,5 mg L<sup>-1</sup>, 100 mg L<sup>-1</sup> i-inositol e 6 g L<sup>-1</sup> de ágar, mais os tratamentos que consistiram em quatro doses de sacarose (20, 40, 60 e 80 g L<sup>-1</sup>), dispostas em blocos casualizados, com quatro repetições. A parcela experimental foi

constituída de uma magenta com 10 explantes. Foram adicionados 100 mg L<sup>-1</sup> de ácido cítrico ao meio para reduzir a oxidação dos explantes. O pH do meio foi ajustado para  $5,7 \pm 0,1$  com o uso de KOH (0,1 N) e HCl (0,1N). O meio foi autoclavado a 121 °C durante 15 minutos.

As gemas foram transferidas para a condição de 16 h de luz por dia, irradiância média de  $45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e temperatura de  $27 \pm 2$  °C.

Os explantes permaneceram 30 dias em meio de cultura. As características avaliadas foram a massa da matéria fresca e da matéria seca, a cada 10 dias, e o pH do meio com plantas e em meio sem plantas, a cada 10 dias.

Os resultados foram submetidos à análise de regressão, testando-se a significância dos coeficientes dos modelos até 10% de probabilidade.

### *Fase de aclimação*

Foram utilizadas mudas provindas da fase I, as quais foram transplantadas para recipientes contendo duas partes de vermiculita para uma parte de terra esterilizada por brometilação. As mudas obtidas dos explantes submetidos aos tratamentos (sacarose 20, 40, 60 e 80 g L<sup>-1</sup>) foram dispostas em quatro blocos casualizados. A parcela experimental foi constituída por três mudas, transferidas para o interior da casa de vegetação, onde cada uma foi plantada em um recipiente (copo plástico de 300 ml) e coberta por um saco plástico transparente e furado, durante duas semanas, para evitar a desidratação. As plantas foram adubadas a cada 15 dias com 5 g L<sup>-1</sup> de cloreto de potássio e 5 g L<sup>-1</sup> de uréia dissolvidos em água.

As mudas foram cultivadas durante 60 dias, sendo avaliadas as massas de matéria seca e de matéria fresca da parte aérea, das raízes e total.

Os resultados foram submetidos à análise de regressão, testando-se a significância dos coeficientes dos modelos até 10% de probabilidade.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### *Fase I (enraizamento)*

#### **a) Massa da Matéria Fresca**

Observa-se na Figura 1 que a massa da matéria fresca diminuiu conforme o aumento da concentração de sacarose no meio. Houve também aumento significativo do peso da matéria fresca no decorrer do tempo, provavelmente porque a fonte de carbono, a sacarose, não se esgotou nos meios com menor concentração, e com isso o potencial osmótico do meio

com menor concentração foi maior. Conseqüentemente, as plantas dos meios com menores concentrações conseguiram absorver mais água para os seus tecidos e, portanto, tiveram maior peso de matéria fresca.

\* Estudos sobre a influência da sacarose em explantes de bananeiras (5, 6) mostraram um aumento da massa de matéria fresca da planta até a concentração de  $70 \text{ g L}^{-1}$  de sacarose no meio, a partir do qual houve uma diminuição, ressaltando-se que na concentração de  $130 \text{ g L}^{-1}$  de sacarose houve diminuição de 14% em relação à concentração de  $40 \text{ g L}^{-1}$ . As diferenças observadas poderiam estar relacionadas com os cultivares, visto que usaram Petite Naine e Grande Naine.

#### b) Massa de Matéria Seca

Verifica-se, na Figura 2, que a sacarose, em diferentes concentrações, influenciou de forma significativa a massa da matéria seca produzida e houve efeito significativo do tempo. Observa-se um comportamento diferente em relação à massa de matéria fresca, que aumentou com o acréscimo da concentração de sacarose no meio. Uma hipótese para esse fato é que na fase de crescimento *in vitro* a maior parte do carbono utilizado para o crescimento das plantas é obtida da sacarose existente no meio, pois a capacidade fotossintética das folhas é muito reduzida (5, 6).

#### c) pH do meio com planta

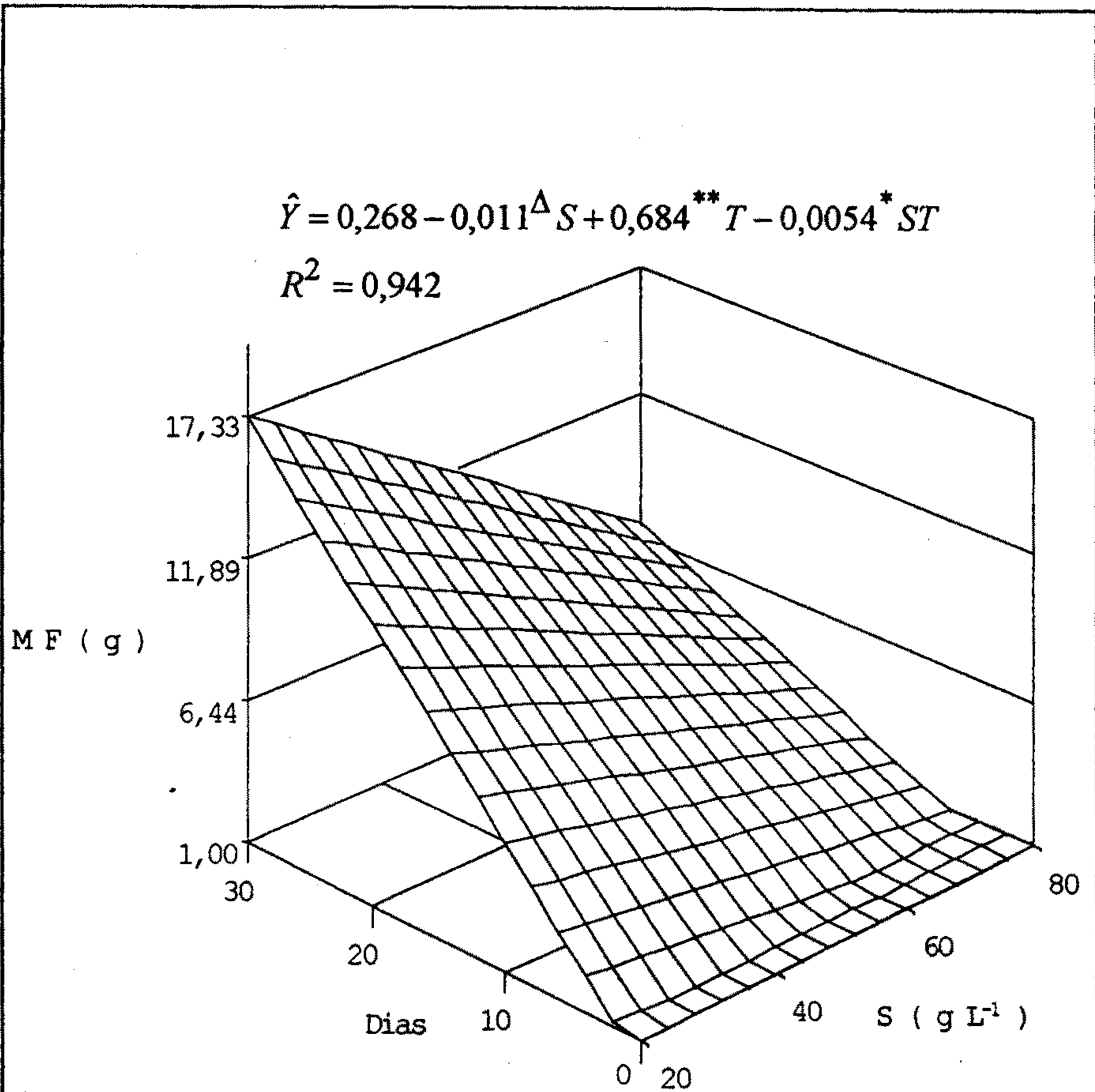
Verifica-se na Figura 3 que as diferentes concentrações de sacarose influenciaram de forma significativa o pH no meio de cultura com plantas, assim como o tempo transcorrido. Observa-se que o pH aumentou com o acréscimo da concentração de sacarose no meio de cultura. Já em relação ao tempo, o pH caiu significativamente nas três primeiras semanas (de 4,91 até 4,10), e depois teve leve aumento.

Essa diminuição provavelmente foi devida à maior absorção de  $\text{NH}_4^+$  no início do experimento, com liberação de íons  $\text{H}^+$  pelas raízes, levando à acidificação do meio. Com o decorrer do tempo, provavelmente houve esgotamento do  $\text{NH}_4^+$ , e então as plantas passaram a absorver nitrato, fazendo com que o pH do meio se estabilizasse ou aumentasse (10).

#### d) pH do meio sem planta

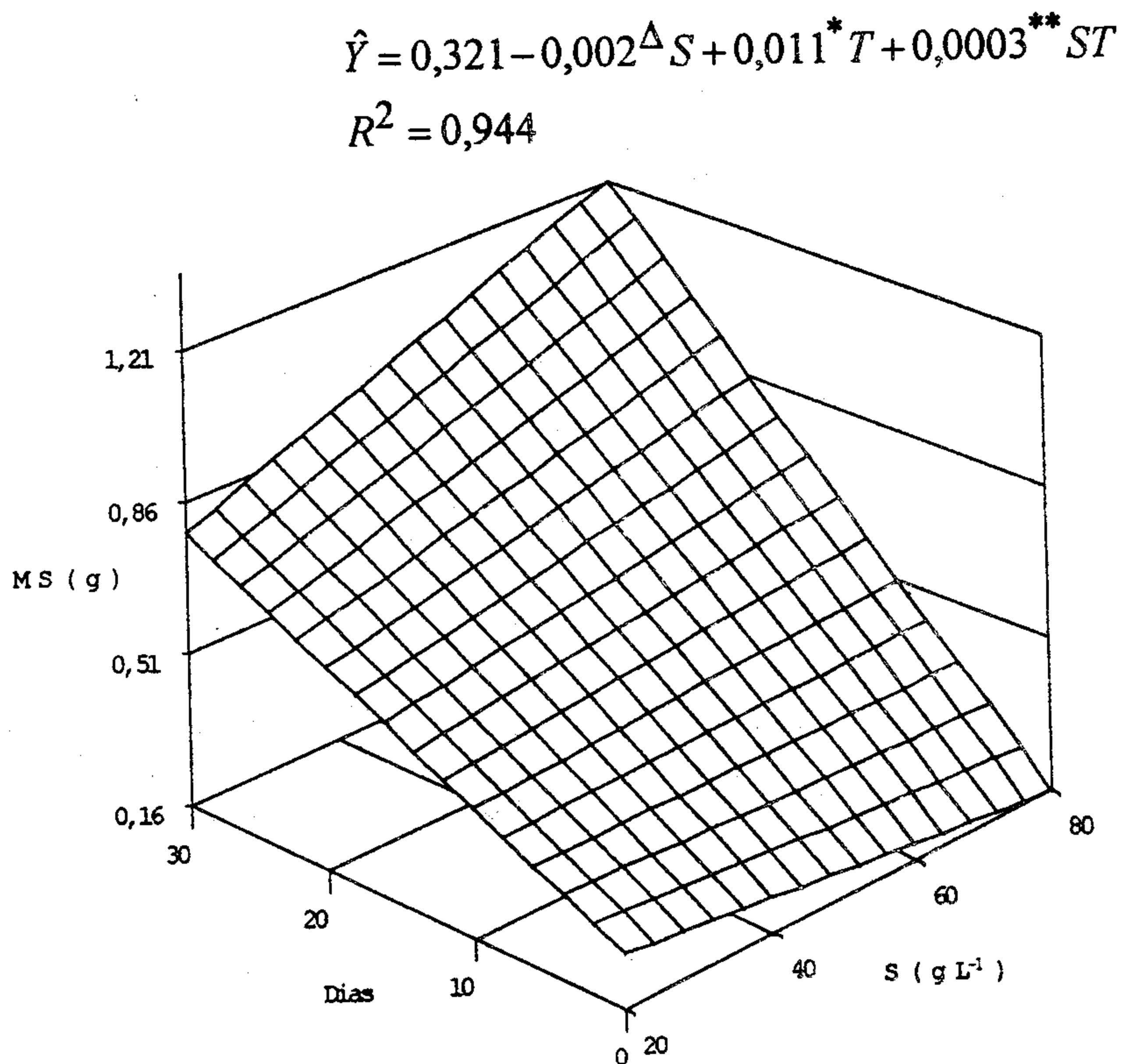
Na Figura 4 pode ser observado que a sacarose e o tempo influenciaram significativamente o pH no meio de cultura sem plantas e, no transcorrer do tempo, o pH torna-se mais ácido, sendo essa

redução do pH maior com o aumento da concentração de sacarose no meio de cultura. Essa acidificação depende de diversos fatores, como temperatura, pH inicial, tempo de esterilização e composição do meio (10).



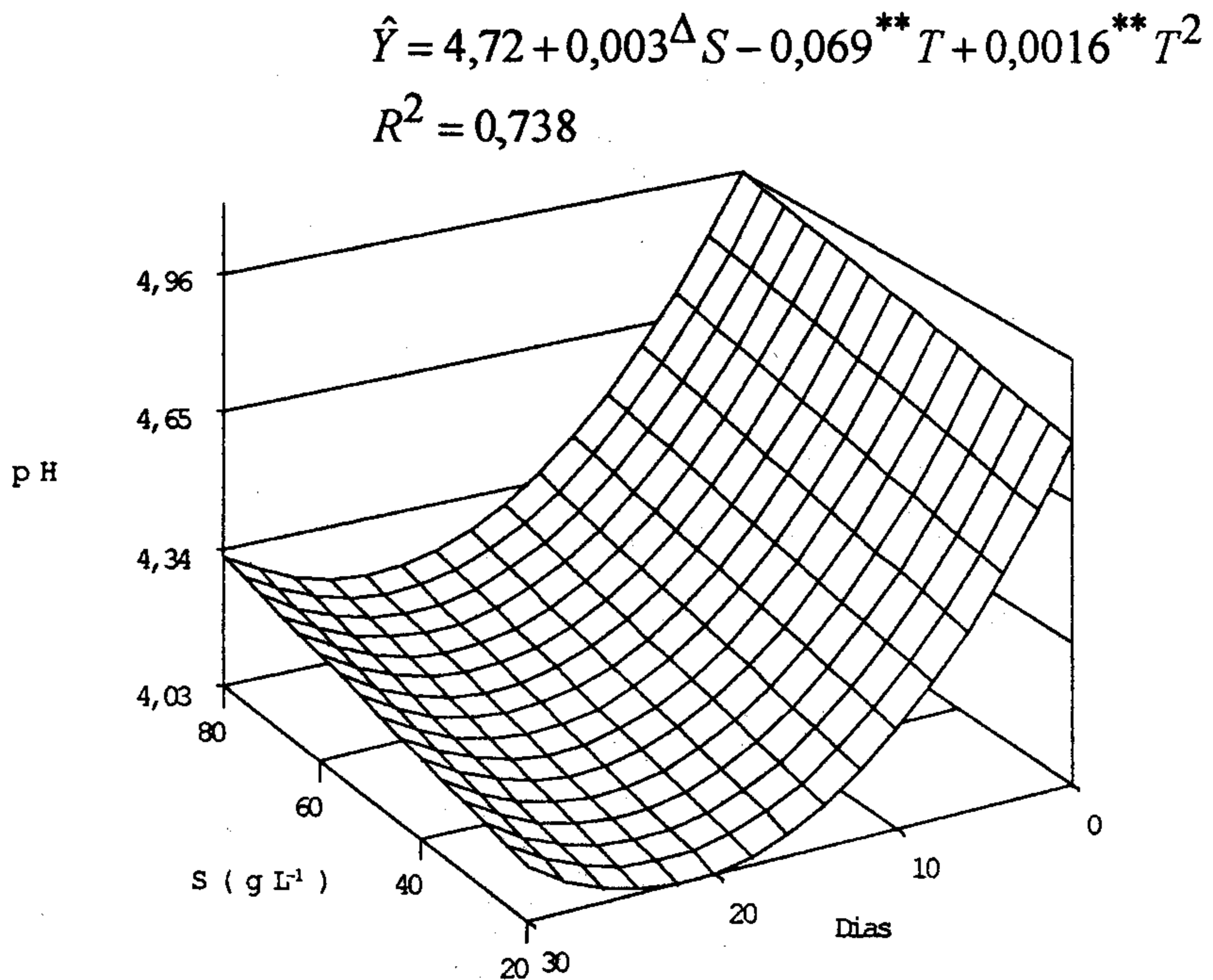
**\*\***, **\***, **Δ**: Significativo a 1, 5 e 10% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

**FIGURA 1** - Médias estimadas da massa de matéria fresca (MF), em função da concentração de sacarose (S) e do tempo (T).



**\*\***, **\***, **Δ**: Significativo a 1, 5 e 10% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

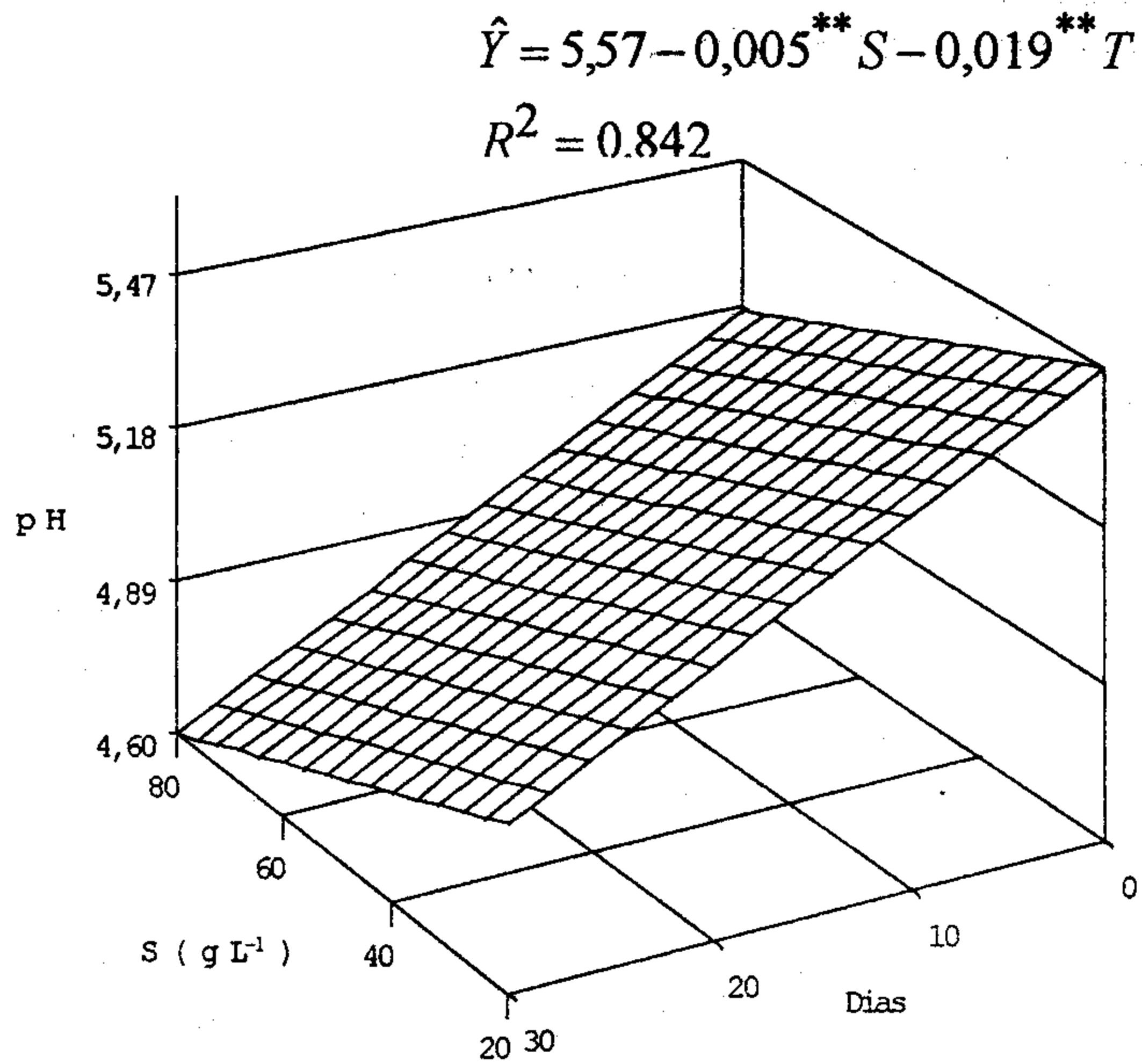
**FIGURA 2** - Médias estimadas da massa de matéria seca (MS), em função da concentração de sacarose (S) e do tempo (T).



**\*\* , \* ,  $\Delta$  :** Significativo a 1, 5 e 10% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

**FIGURA 3 -** Médias estimadas de pH em meio com 10 explantes, em função da concentração de sacarose (S) e do tempo (T).





\*\* : Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

FIGURA 4 - Médias estimadas de pH em meio sem plantas, em função da concentração de sacarose (S) e do tempo (T).

Comparando os gráficos do pH nos meios de cultura com e sem plantas (Figuras 3 e 4, respectivamente), verifica-se que em ambos o pH diminuiu até aproximadamente o vigésimo dia, chegando a 4,06 em meio com plantas e a 5,09 em meio sem planta (na concentração de 20 g.L<sup>-1</sup> de sacarose). Após o vigésimo dia, observa-se que em meio com plantas o pH aumentou, enquanto em meio sem plantas isso não ocorreu e o pH continuou diminuindo de forma linear.

### *Fase II (aclimatação)*

#### a) Massa da matéria fresca e da matéria seca

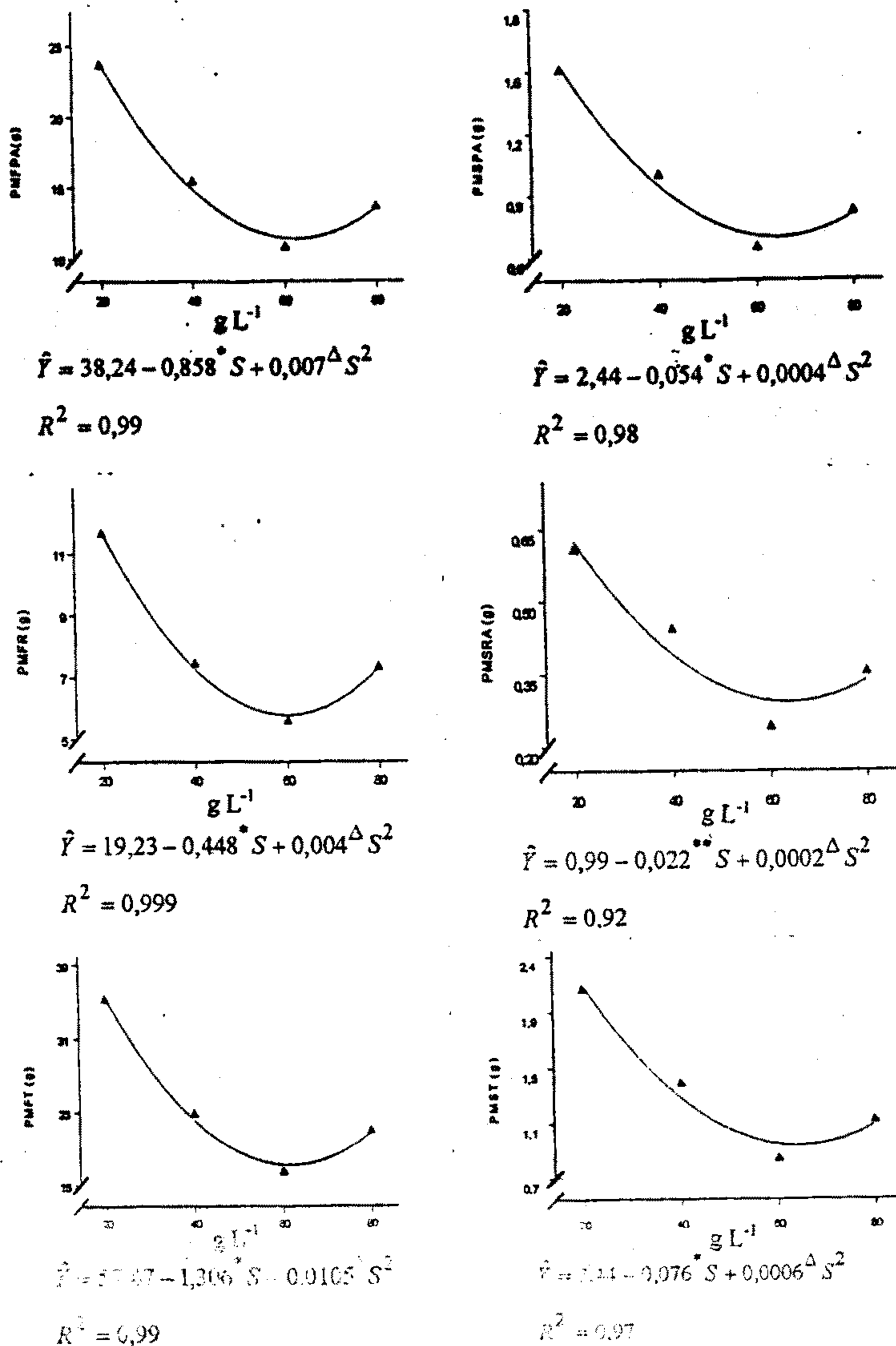
Observa-se na Figura 5 que tanto as massas da matéria fresca, matéria seca da raiz e da parte aérea das mudas na fase de aclimatação foram menores quando produzidas em concentrações mais elevadas de sacarose no meio de cultura utilizado para o enraizamento. Na concentração de 80 g L<sup>-1</sup> verificou-se leve aumento nos valores de todas as características avaliadas. No caso da massa de matéria fresca, os valores obtidos são um reflexo do que aconteceu na fase de enraizamento, ou seja, houve decréscimo da massa de matéria fresca produzida com o aumento da concentração de sacarose no meio de cultura.

Embora na fase de enraizamento tenha ocorrido aumento da massa de matéria seca com aumento da concentração de sacarose no meio, na fase de aclimatação houve um decréscimo dessa massa com o aumento da concentração de sacarose. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de que elevadas concentrações de sacarose no meio fazem com que as folhas das mudas de bananeira tenham menor conteúdo de clorofila, resultando em menor capacidade fotossintética (6).

Segundo Cournoc et al. (2), a capacidade fotossintética de plantas de *Solanum tuberosum* cultivadas em meio enriquecido com sacarose durante a fase de enraizamento num meio sem reguladores de crescimento foi inferior em comparação às plantas autotróficas.

A concentração de clorofila em folhas de *Brassica oleracea* cultivadas in vitro foi 92% menor em comparação às plantas obtidas de sementes (9).

O melhor resultado, quanto às características avaliadas, foi de 20 g.L<sup>-1</sup> de sacarose no meio de cultura, na fase de enraizamento, pois, apesar de as plantas nessa fase terem produzido menos massa de matéria seca, o resultado final após a aclimatação mostrou que elas tinham conseguido superar a massa de matéria seca das plantas que estavam em meios com maiores concentrações de sacarose.



\*\* , \* ,  $\Delta$  : Significativo a 1, 5 e 10% de probabilidade, pelo teste F.

**FIGURA 5** – Médias da massa de matéria fresca radicular (PMFRA), massa de matéria fresca da parte aérea (PMFPA), massa da matéria fresca total (PMFT), massa da matéria seca radicular (PMSRA), massa da matéria seca da parte aérea (PMSRA) e massa da matéria seca total (PMST) das mudas no final da fase de aclimatação, em função da concentração de sacarose no meio de cultura utilizado para o enraizamento.

## CONCLUSÕES

1) Na fase de enraizamento, verifica-se aumento da massa da matéria fresca dos explantes com o aumento da concentração de sacarose no meio. Já a massa da matéria seca diminui com o aumento da concentração de sacarose.

2) O pH no meio de cultura com explantes diminui acentuadamente nas três primeiras semanas e depois se estabiliza. No meio de cultura sem explantes, o pH cai de forma linear com o tempo e com o aumento da concentração de sacarose no meio.

3) Considerando as características relacionadas com o crescimento das mudas na fase de aclimação, o melhor resultado é conseguido com mudas obtidas de explantes colocadas em meio com 20 g L<sup>-1</sup> de sacarose.

## REFERÊNCIAS

1. CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P. & FERREIRA, M. E. Meios nutritivos; cultura de tecidos e transformação genética de plantas. In: Torres, A. C.; Caldas, L. S. & Buso, J. A. (eds.) Brasília, EMBRAPA-SP/ EMBRAPA-CNPQ, 1998. p. 87-132.
2. CURNOC, L.; DIMOM, B.; COURIER, P.; LOHOU, A. & CHAGVORDIEFF, P. Growth and photosynthetic characteristics of *Solanum tuberosum* plantlets cultivated in vitro in different conditions of aeration, sucrose supply, and CO<sub>2</sub> enrichment. *Plant Physiology*, 97: 112-7, 1991.
3. DAMASCO, O. P. & BARBA, R. C. *In vitro* culture of 'Saba' banana [*Musa* sp. cv. Saba (BBB)]. *The Philippine Agriculturist*, 67: 351-8, 1984.
4. DE GUZMAN, E. V.; DECENA, A. C. & UBALDE, E. M. Plantlet regeneration from unirradiated and irradiated banana shoot tip tissue cultured in vitro. *The Philippine Agriculturist*, 63: 140-6, 1980.
5. FOLLIOU, M. & MARCHAL, J. Croissance in vitro des bananiers (cv. Grande Naine): Étude de la consommation de la carbonée et des principaux éléments minéraux du milieu de culture. *Fruits*, 47: 565-70, 1992.
6. FOLLIOU, M. & MARCHAL, J. Croissance in vitro des bananiers: influence de la concentration en saccharose du milieu de culture sur le développement des plants du cultivar Petite Naine. *Fruits*, 47: 649-55, 1992.
7. GODINHO, F. DE. P. Mudanças de bananeira: tecnologia de produção. Belo Horizonte, EPAMIG, 1994. 44p. (Boletim técnico).
8. GRATTAPAGLIA, D. & MACHADO, M. A. Meios nutritivos. Parte II: Micropropagação, técnicas e aplicações da cultura de tecidos em plantas. In: Torres, A. C. & Caldas, L. S. (eds.). Brasília, ABCTP/EMBRAPA CNPQ, 1990. p. 37-70.
9. GROU, B. & ASTON, H. Transplanting of cauliflower plants regenerated from meristem culture. II. Carbon dioxide fixation and the development of photosynthetic ability. *Horticultural Research*, 17: 1-7, 1978.
10. MARCHAL, J.; SENS, I. & TEISSON, C. Influence des sucres et de facteurs bioclimatiques sur la culture in vitro du bananier. *Fruits*, 47: 17-23, 1992.

11. MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures . *Physiology Plant* ,15: 473-97, 1962.
12. RADHA DEVI, D. S. & NAYAR, N. K. Micropropagation in banana var. 'Nendran'. *Indian Journal Genetics*, 53: 76-8, 1993.
13. SMITH, M. K. A review of factors influencing the genetic stability of micropropagated bananas. *Fruits*, 43: 219-23, 1988.