

## **Aclimação de cultivares de bananeira, influenciada por alterações no ambiente de cultivo *in vitro*.<sup>1</sup>**

Costa, Frederico Henrique da Silva<sup>2</sup>; Pasqual, Moacir<sup>2</sup>; Pereira, Jonny Everson Scherwinski<sup>3</sup>; Santos, Adriene Matos dos<sup>2</sup>; Miyata, Luzia Yuriko<sup>2</sup>.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Lavras – UFLA, Departamento de Agricultura, Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG. E-mail para contato: [fredericohenrique@yahoo.com.br](mailto:fredericohenrique@yahoo.com.br); <sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Acre, Caixa Postal 321, CEP 69908-970, Rio Branco, AC.

### **INTRODUÇÃO**

A técnica de micropropagação constitui, atualmente, a base da propagação massal de material propagativo certificado de bananeira. Relatos das primeiras aplicações desta técnica na multiplicação de espécies do gênero *Musa* datam da década de 1960. Desde então, houve uma intensificação nas pesquisas visando à utilização de técnicas mais eficientes, produtivas e menos onerosas. Dentre os avanços obtidos para a diminuição dos custos de produção, a substituição das lâmpadas fluorescentes, comumente utilizadas nas salas de crescimento pela luz natural, associada ou não à redução nos níveis exógenos de sacarose, é um dos mais importantes (Kodym & Zapata-Arias, 1999, 2001; Rocha, 2005).

Efeitos benéficos da utilização da luz solar, associada a algumas modificações na composição nutricional e física dos meios de cultura, foram observados para a micropropagação das cultivares de bananeira ‘Grande Naine’ (AAA) e ‘Maçã’ (AAB), com redução nos custos de produção das mudas de até 90% (Kodym & Zapata-Arias, 1999, 2001; Sendin, 2001). Contudo, as informações e o entendimento sobre os efeitos da luz natural sobre as plantas cultivadas *in vitro* e, mais ainda, sobre sua subsequente aclimação, ainda são incipientes, o que dificulta a aceitação e aplicação desta fonte de luz pelas biofábricas. Além disso, modificações nas concentrações exógenas de carboidratos nos meios de cultivo podem ser determinantes para que se alcancem elevadas taxas de sobrevivência de plantas na aclimação (Calvete, 1998), já que influenciam vários processos metabólicos nas culturas, com efeitos diretos sobre o crescimento e a diferenciação dos tecidos (George, 1996).

Objetivou-se avaliar a influência do ambiente de cultivo e de concentrações de sacarose sobre a aclimação de bananeiras, em condições de casa de vegetação.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Brotações axilares de bananeira (com cerca de 2,0 a 3,0 cm), originadas da fase de multiplicação e mantidas a 16 horas de irradiância ( $42 \text{ W.m}^{-2}$ ) e  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , foram utilizadas. Obtidas as brotações, estas foram transferidas para meio constituído pelos sais e vitaminas de MS (Murashige & Skoog, 1962),  $1 \text{ mg.L}^{-1}$  de ANA (ácido naftalenoacético) e  $6 \text{ g.L}^{-1}$  de ágar, com pH 5.8, onde foram aplicados os tratamentos para enraizamento/alongamento. Os tratamentos consistiram de duas concentrações de sacarose ( $15$  e  $30 \text{ g.L}^{-1}$ ), duas cultivares de bananeira [Caipira (AAA) e Pacovan (AAB)] e dois ambientes de cultivo (sala de crescimento – artificial e casa de vegetação – natural). O cultivo foram realizados em frascos de 250 mL contendo 40 mL de meio e selados com filme transparente.

O ambiente artificial foi constituído de uma sala de crescimento, possuindo iluminação fornecida por lâmpadas fluorescentes tubulares (Osram 20 W, luz do dia especial), com irradiância média de  $42 \text{ W.m}^{-2}$ , fotoperíodo de 16 horas e  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . O ambiente natural consistiu de uma casa de vegetação, coberta por filme de polietileno transparente (150 microns) e sombreamento de 70%, apresentando os seguintes parâmetros ambientais: (temperaturas máximas, mínimas e médias de  $26^\circ\text{C}/32^\circ\text{C}$ ;  $16^\circ\text{C}/16^\circ\text{C}$  e  $20^\circ\text{C}/23^\circ\text{C}$ ) e (irradiâncias máximas, mínimas e médias de  $93,95 \text{ W.m}^{-2}/199,69 \text{ W.m}^{-2}$ ;  $11,13 \text{ W.m}^{-2}/10,66 \text{ W.m}^{-2}$  e  $49,38 \text{ W.m}^{-2}/99,43 \text{ W.m}^{-2}$ ), referentes a dias nublado e

---

<sup>1</sup> Trabalho realizado com o apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

claro típicos do período de experimentação. Dados de radiação solar diurna, incidente na altura dos frascos, foram obtidos por sensores de radiação (LI-200SA, Li-cor, Lincoln, Nevasca, USA), acoplados a um sistema de registro (LI 1400; Li-cor.Neb), a intervalos de meia hora, enquanto os dados de temperatura foram obtidos com termo-higrógrafo.

Para a aclimatização, plantas submetidas aos tratamentos acima foram inicialmente removidas dos frascos, submetidas a lavagem de suas raízes e transferidas para tubetes de 0,3 L preenchidos pela mistura de terra de subsolo (abaixo de 40 cm):Plantmax<sup>®</sup> HT:casca de arroz carbonizada (1:1:1 v/v), acrescido de 50.g L<sup>-1</sup> de húmus e 20 g.L<sup>-1</sup> de super simples. Em seguida, foram mantidas sob as condições de casa de vegetação anteriormente descritas e sistema de nebulização intermitente. Ao final de 60 dias da transferência *ex vitro*, foram avaliados: a altura da parte aérea (APA), o número de folhas expandidas (NF'EXP) e de raízes (NR), o comprimento médio de raízes (CR), o diâmetro do pseudocaulo (DP) (1,0 cm acima do coleto), a massa seca de raízes (MS'R), da parte aérea (MS'PA) e total (MS'T) das plantas. Adicionalmente, a sobrevivência foi registrada aos 30 dias.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2x2, com sete repetições por tratamento, cada uma representada por 3 plantas. Os dados obtidos foram inicialmente submetidos às análises de variâncias individuais (para cada ambiente de cultivo), realizando-se em seguida, o teste de homogeneidade de variância e a análise conjunta. Para isso, utilizou-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000), sendo as médias comparadas pelo Teste F ( $P < 0,05$ ). A sobrevivência das plantas foi obtida por observação visual e expressa pela razão entre o número de plantas desenvolvidas e o total de plantas transferidas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A sobrevivência foi de 100% em plantas enraizadas *in vitro* sob ambiente natural em detrimento da condição artificial, em ambas as concentrações de sacarose e cultivares. Por outro lado, perdas foram verificadas em plantas oriundas do ambiente artificial, com 72,0% a 100% de sobrevivência, sendo as maiores perdas em plantas cultivadas com 15 g.L<sup>-1</sup> de sacarose (Tabela 1).

**Tabela 1.** Percentual de sobrevivência de cultivares de bananeira, em função do ambiente de cultivo (natural e artificial) e sacarose (15 e 30 g.L<sup>-1</sup>), após 30 dias de aclimatização. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Ambiente	Caipira		Média	Pacovan		Média
	15	30		15	30	
Natural	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Artificial	72,0	93,7	82,9	83,3	100,0	91,7
Média	86,0	96,9		91,7	100,0	

Dados não analisados estatisticamente devido ao reduzido número de plantas por parcela.

Alto percentual de sobrevivência em plantas oriundas do cultivo *in vitro* sob luz natural foi obtido por Talavera et al. (2005) para a espécie *Cocos nucifera*. Quanto a sacarose, resultados similares foram observados por Folliot & Marchal (1992), que avaliando a influência da sacarose (40, 70, 100 e 130 g.L<sup>-1</sup>) na fase de enraizamento, não tiveram dificuldades na aclimatização de plantas de 'Grande Naine', com maiores médias de sobrevivência com 40 g.L<sup>-1</sup> (85 %). Porém, efeitos negativos da remoção parcial ou total da sacarose sobre o crescimento *ex vitro* foram observados por Fuentes et al. (2005) e Skrebsky et al. (2004) para *Cocos nucifera* L. e *Ginseng brasileiro* cultivadas *in vitro*.

Interação significativa entre os três fatores estudados foi observada para o NF'EXP, NR, APA e DP. Para o NF'EXP, as melhores respostas para a cv. Caipira foram notadas em plantas oriundas de ambiente natural com 15 ou 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose. Já o ambiente artificial com 30 g.L<sup>-1</sup> promoveu os melhores resultados para a 'Pacovan', embora, no geral, não tenham sido verificadas diferenças para o fator sacarose ( $P < 0,05$ ) (Tabela2). Possivelmente, a exposição das plantas a condições mais próximas ao ambiente *ex vitro*, na fase antecedente a transferência *ex vitro*, reduziu o estresse após sua remoção dos frascos, permitindo a rápida adaptação e emissão de novas folhas (transição).

Quanto ao NR, a 'Caipira' não foi significativamente influenciada pelos fatores estudados, diferentemente da 'Pacovan', em que maior número de raízes foi obtido em plantas provenientes do ambiente artificial, com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose (Tabela 2). Efeitos negativos sobre o desenvolvimento de raízes na fase de aclimatização foram verificados por Fuentes et al. (2005), em *Cocos nucifera* L. cultivada em meio desprovido ou contendo baixa concentração de sacarose. Nesse mesmo sentido, George (1996) afirma ser fundamental a existência de uma fonte de energia para a formação de raízes em plantas micropropagadas.

**Tabela 2.** Número de folhas expandidas (NF'EXP) e de raízes (NR), altura da parte aérea (APA) e diâmetro do pseudocaule (DP) de cultivares de bananeira, em função do ambiente de cultivo (natural e artificial) e sacarose (15 e 30 g.L<sup>-1</sup>), após 75 dias de aclimatização. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Ambiente	Caipira		Média	Pacovan		Média
	15	30		15	30	
<b>Número de folhas expandidas</b>						
Natural	4,4 Aa	4,8 Aa	4,6 a	5,1 Aa	4,3 Bb	4,6 a
Artificial	3,8 Ab	3,9 Ab	4,6 a	5,1 Aa	5,4 Aa	4,6 a
Média	4,6 A	4,6 A		4,6 A	4,6 A	
CV (%)			7,18			
<b>Número de raízes</b>						
Natural	5,3 Aa	6,0 Aa	5,5 b	5,8 Aa	5,0 Bb	5,5 b
Artificial	5,5 Aa	6,1 Aa	6,0 a	5,9 Aa	6,7 Aa	6,0 a
Média	5,6 A	6,0 A		5,6 A	6,0 A	
CV (%)			11,43			
<b>Altura da parte aérea (cm)</b>						
Natural	12,8 Ba	15,0 Aa	13,3 b	13,6 Aa	11,7 Bb	13,3 b
Artificial	12,5 Ba	14,9 Aa	14,1 a	13,5 Ba	15,5 Aa	14,1 a
Média	13,1 B	14,3 A		13,1 B	14,3 A	
CV (%)			8,07			
<b>Diâmetro do pseudocaule (cm)</b>						
Natural	0,65 Ba	0,74 Aa	0,68 a	0,73 Aa	0,62 Bb	0,68 a
Artificial	0,61 Bb	0,67 Ab	0,69 a	0,72 Ba	0,76 Aa	0,69 a
Média	0,68 B	0,70 A		0,68 B	0,70 A	
CV (%)			3,24			

Médias seguidas por letras distintas, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, dentro de cada variável, diferem entre si, pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

Para a APA e DP, na cultivar Caipira, nenhum efeito significativo do ambiente foi observado quanto APA, em ambas as concentrações de sacarose, enquanto que resultados significativos para DP foram verificados em plantas provenientes de luz natural. Para a 'Pacovan', melhores resultados para a APA e DP foram obtidos para o ambiente artificial com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, embora resultados satisfatórios tenham sido verificados com 15 g.L<sup>-1</sup>, em ambos os ambientes de cultivo ( $P < 0,05$ ) (Tabela 2). Acrescenta-se ainda que, para o comprimento de raízes, resultados significativamente superiores na cultivar Caipira foram observados para o ambiente natural e 15 ou 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose. Na 'Pacovan', as plantas provenientes do meio contendo 15 g.L<sup>-1</sup> de sacarose tiveram resposta superior, porém, nenhum efeito significativo do ambiente de cultivo foi observado (dados não mostrados).

## CONCLUSÕES

O enraizamento *in vitro* em ambiente de luz natural promove 100% de sobrevivência e satisfatório crescimento *ex vitro* das plantas de bananeira 'Caipira' e 'Pacovan', tornando-se uma alternativa às lâmpadas fluorescentes, além de contribuir para a redução dos custos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CALVETE, E. O. **Concentração de sacarose *in vitro* e seleção de substratos para aclimatização *ex vitro* de morangueiro cv campinas (*Fragaria ananassa* Duch.).** 1998. 108 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

FERREIRA, D. F. **SISVAR 4. 3:** sistema de análise estatística. Lavras: UFLA/DEX, 2000. Software.

FOLLIOT, 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**, Paris, v. 47, n. 6, p. 565-571, Nov./Dec. 1992.

FUENTES, G.; TALAVERA, C.; OROPEZA, C.; DESJARDINS, Y.; SANTAMARÍA, J. M. Exogenous sucrose can decrease *in vitro* photosynthesis but improve field survival and growth of coconut (*Cocos nucifera* L.) *in vitro* plantlets. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, Wallingford, v. 41, n. 1, p. 69-76, Jan./Feb. 2005.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. 2. ed. Edington: Exegetics, 1996. 1361 p. Part 2: In Practice.

KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Low-cost alternatives for the micropropagation of banana. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 66, n. 1, p. 67-71, 2001.

KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata* cv. 'Grande Naine'). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 55, n. 2, p. 141-145, 1999.

MARCHAL, J.; SENS, I.; TEISSON, C. Influence des sucres et de facteurs bioclimatiques sur la culture *in vitro* du bananier. **Fruits**, Paris, v. 47, n. 1, Jan./Feb. 1992.

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

ROCHA, H. S. **Luz e sacarose na micropropagação da bananeira "Prata Anã": alterações morfoanatômicas**. 2005. 98 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SENDIN, A. P. P. M. **Micropropagação de bananeira dos cultivares Maçã e Grande Naine visando a produção de mudas de baixo custo**. 2001. 72 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

SKREBSKY, E. C.; NICOLOSO, F. T.; FERRÃO, G. da E. Sacarose e período de cultivo *in vitro* na aclimatização *ex vitro* de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1471-1477, set./out. 2004.

TALAVERA, C.; CONTRERAS, F.; ESPADAS, F.; FUENTES, G.; SANTAMARÍA, J. M. Cultivating *in vitro* coconut palms (*Cocos nucifera*) under glasshouse conditions with natural light, improves *in vitro* photosynthesis nursery survival and growth. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 83, n. 3, p. 287-292, Dec. 2005.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Musa* spp.; luz natural; cultivo heterotrófico; ambiente *ex vitro*.