

Luz natural no cultivo *in vitro* de *Musa* spp.: uma alternativa a utilização de lâmpadas fluorescentes na fase de enraizamento.¹

Fontes, Zacharias Dannyel de Alencar Guedes²; Santos, Adriene Matos dos³; Costa, Frederico Henrique da Silva³; Pasqual, Moacir³; Rodrigues, Filipe Almendagna³.

² Centro Universitário de Lavras – UNILAVRAS, Departamento de Biologia, CEP 37200-000, Lavras, MG. E-mail para contato: zacariasdanniel@terra.com.br; ³ Universidade Federal de Lavras – UFLA, Departamento de Agricultura, Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG.

INTRODUÇÃO

Dentre os avanços obtidos para diminuição dos custos de produção, a substituição das lâmpadas fluorescentes comumente utilizadas nas salas de crescimento pela luz natural ou solar, associado ou não a redução nos níveis exógenos de sacarose, são um dos mais importantes (Kodym & Zapata-Arias, 1999, 2001; Sendin, 2001; Rocha, 2005). Isso porque os gastos com iluminação artificial nas salas de cultivo representam cerca de 65% do total de energia elétrica (Standaert de Metsenaere, 1991). Adicionalmente, modificações nas concentrações exógenas de carboidratos nos meios de cultivo podem promover efeitos benéficos ou deletérios as culturas *in vitro*, já que influenciam vários processos metabólicos nas plantas, com efeitos diretos sobre o crescimento e diferenciação dos tecidos (George, 1996), além de ser fator determinante para que se alcancem elevadas taxas de sobrevivência de plantas na aclimatização (Calvete, 1998).

Efeitos benéficos da luz solar associada a algumas modificações na composição nutricional e física dos meios de cultura foram observadas 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, a existência de informações e de entendimento sobre os efeitos advindos das modificações no ambiente de cultivo *in vitro*, especialmente pelo uso da luz natural, sobre as plantas cultivadas *in vitro* ainda são incipientes. Assim, objetivou-se avaliar a influência do ambiente de cultivo e concentrações de sacarose sobre o crescimento e anatomia de cultivares de bananeira na fase de enraizamento *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Brotações axilares de bananeira (2,0 a 3,0 cm), originadas da fase de multiplicação e mantidas a 16 horas de irradiância (42 W.m^{-2}) e $25 \pm 2^\circ\text{C}$, foram utilizadas como explantes. Obtidas as brotações, estas foram transferidas para meio constituído pelos sais e vitaminas de MS (Murashige & Skoog, 1962), 1 mg.L^{-1} de ANA (ácido naftalenoacético) e 6 g.L^{-1} de ágar, com pH 5,8, onde foram aplicados os tratamentos para enraizamento/alongamento, que consistiram de duas concentrações de sacarose (15 e 30 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), em esquema fatorial $2 \times 2 \times 2$. O cultivos 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 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 claro típicos do período de experimentação. Dados de radiação solar diurna, incidente na

¹ 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).

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.

Decorrido 45 dias de enraizamento *in vitro*, foram avaliados: altura da parte aérea, número de folhas senescentes e massa seca total. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições e quatro explantes por parcela. Os dados obtidos foram inicialmente submetidos às análises de variâncias individuais (para cada ambiente de cultivo), realizando em seguida o teste de homogeneidade de variância e a análise conjunta dos ambientes. Para isso, o programa estatístico SISVAR 4.3 (Ferreira, 2000) foi utilizado, sendo as médias comparadas pelo Teste F a 5 % de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nenhuma interação significativa entre os três fatores estudados (Ambiente x Sacarose x Cultivar) foi observada. Por outro lado, efeito significativo ocorreu somente entre as interação A x S e C x S para a variável NF'SEN (Tabelas 1) e NF'SEN, APA e MST (Tabelas 1 e 2), respectivamente. Influência do ambiente de cultivo sobre as cultivares (A x C) foi ainda observada, neste caso para APA e MST (Tabela 2).

Para o número de folhas senescentes (NF'SEN), resultado significativamente superior foi verificado em plantas enraizadas em ambiente natural, tanto com 15 g.L⁻¹ quanto 30 g.L⁻¹ de sacarose. Entre as cultivares, diferenças significativas foram observadas apenas para 'Caipira', com maior senescência foliar na concentração de 15 g.L⁻¹ (Tabela 1). Essa maior senescência foliar em ambiente natural é benéfica para a qualidade das plantas, favorecendo inclusive seu posterior desenvolvimento *ex vitro*. Isso porque as novas folhas emitidas sob luz solar estão mais sujeitas à influência de flutuações ambientais (temperatura, irradiância e umidade), as quais são mais parecidas às condições do ambiente *ex vitro*, fato que pode possibilitar rustificação das plantas e conseqüentemente menor estresse no momento do transplantio para a casa de vegetação.

Tabela 1. Número de folhas senescentes (NF'SEN) de cultivares de bananeira, em função do ambiente de cultivo (Natural e Artificial) e da sacarose (15 e 30 g.L⁻¹), após 45 dias de enraizamento *in vitro*. UFLA, Lavras-MG, 2007.

Sacarose (g.L ⁻¹)	Ambiente		Média	Cultivar		Média
	Natural	Artificial		Caipira	Pacovan	
15	1,9 Aa	0,4 Ba	1,2 a	1,2 Aa	1,2 Aa	1,2 a
30	1,4 Ab	0,6 Ba	1,0 a	0,7 Bb	1,3 Aa	1,0 a
Médias	1,7 A	0,5 B		0,9 B	1,2 A	
CV (%)						20,57

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.

Quanto ao suprimento exógeno de sacarose, é sugerido que as folhas formadas *in vitro*, na presença deste carboidrato, iniciam um importante papel na fotossíntese, contribuindo para a emissão e expansão de novas folhas *in vitro* e durante o posterior desenvolvimento *ex vitro* (Yué et al., 1993). No entanto, apesar das folhas formadas *in vitro* mostrarem função nutritiva transitória, o subsequente crescimento *ex vitro* pode ser suportado somente pelas folhas formadas após o transplantio (Grout & Millam, 1985).

Em relação à altura da parte aérea, maiores médias para a cultivar Caipira foram obtidas em ambiente artificial com 15 ou 30 g.L⁻¹ de sacarose, enquanto que para a 'Pacovan' o cultivo em ambiente artificial e a concentração de 15 g.L⁻¹ foi o tratamento que promoveu resultados significativamente superiores (Tabela 2). A menor altura em plantas sob ambiente natural já era esperada, uma vez que as brotações utilizadas neste trabalho foram obtidas de ambiente com níveis de irradiância inferiores àqueles verificados no ambiente de casa de vegetação, fato que possivelmente favoreceu a senescência de folhas e o maior estresse das brotações. Por outro lado, brotações submetidas ao ambiente artificial não aparentaram apresentar estresse ambiental, como a senescência das folhas

advindas da fase de multiplicação, pois continuaram sob o mesmo nível de irradiância, favorecendo assim seu contínuo crescimento.

Tabela 2. Altura da parte aérea e massa seca total de cultivares de bananeira, em função do ambiente de cultivo (Natural e Artificial) e da sacarose (15 e 30 g.L⁻¹), após 45 dias de enraizamento *in vitro*. UFLA, Lavras – MG, 2007.

Cultivar	Ambiente		Média	Sacarose		Média
	Natural	Artificial		15	30	
Altura da parte aérea (cm)						
Caipira	4,2 Ba	6,6 Aa	5,4 a	5,3 Ab	5,5 Aa	5,4 a
Pacovan	3,7 Bb	6,8 Aa	5,3 a	5,8 Aa	4,8 Bb	5,3 a
Médias	4,0 B	6,7 A		5,5 A	5,1 B	
CV (%)	9,48					
Massa seca total (g)						
Caipira	0,11 Aa	0,10 Ab	0,10 b	0,10 Aa	0,11 Ab	0,10 b
Pacovan	0,12 Ba	0,15 Aa	0,13 a	0,11 Ba	0,16 Aa	0,13 a
Médias	0,11 A	0,13 A		0,11 B	0,13 A	
CV (%)	21,13					

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

Outra possível razão para o reduzido crescimento das plantas em ambiente de luz natural pode ser atribuída as baixas temperaturas (16°C e 20°C) observadas nesta condição de cultivo. De acordo com Robinson (2003), a bananeira é uma espécie frutífera tropical, para a qual a temperatura ótima para emergência foliar é cerca de 31°C, e a temperatura global média para o ótimo crescimento (assimilação) e desenvolvimento (emergência foliar) é aproximadamente de 27°C.

Para a massa seca total, nenhum efeito significativo do ambiente de cultivo e sacarose foi notado para a cultivar 'Caipira', diferentemente da cultivar 'Pacovan', em que o ambiente artificial com 30 g.L⁻¹ proporcionou resultados superiores (Tabela 2). Esta ausência de diferenças observada para MS total na cultivar 'Caipira' demonstra que, embora as brotações crescidas em ambiente de luz natural tenham apresentado plantas com menor altura da parte aérea, possivelmente tenha havido menor acúmulo de água nos tecidos submetidos a esta condição, já que a massa seca representa o crescimento efetivo de quaisquer órgãos vegetais. Efeitos semelhantes do ambiente de cultivo foram também verificados por Rocha (2005), em que o meio de enraizamento acrescido com 30 g.L⁻¹ de sacarose na condição de luz natural e artificial, possibilitou os maiores valores para a variável massa seca total (MS'T), com 0,46 g e artificial 0,31 g. Navarro et al. (1994), trabalhando com a cv. 'Grande Naine' (AAA), observaram que após 30 dias de cultivo *in vitro* o rendimento de massa seca sob alta intensidade luminosa (240 µmol.m⁻².s⁻¹) foi 2,3 vezes superior ao tratamento controle (30 µmol.m⁻².s⁻¹).

Efeitos positivos da adição exógena de sacarose e do aumento na intensidade luminosa foram anteriormente reportados por Marchal et al. (1992), com a banana cv. 'Grande Naine' (AAA), os quais demonstraram que o aumento da intensidade luminosa de 45 para 340 µmol.m⁻².s⁻¹, com 40 g.L⁻¹ de sacarose, promoveu ganho de massa fresca (1,89 e 3,87 g) e seca (0,12 e 0,24 g) das plantas, além de causar redução quanto a altura da parte aérea (3,33 e 2,88 cm). Respostas benéficas advindas do uso da luz natural (estufa) foram também reportadas por Talavera et al. (2005) em plantas de *Cocos nucifera* L, que tiveram maior taxa fotossintética do que àquelas cultivadas em sala de crescimento convencional. Em termos de crescimento, as condições de estufa foram ligeiramente superiores quanto ao acúmulo de massa fresca e seca das plantas, assim como para número de folhas.

CONCLUSÕES

Com exceção da altura da parte aérea, o cultivo *in vitro* das brotações sob ambiente de luz natural e meio contendo 30 g.L⁻¹ de sacarose proporciona as melhores respostas para a cultivar Caipira. Para a cultivar Pacovan o cultivo sob luz artificial sob 30 g.L⁻¹ de sacarose possibilita melhores resultados; embora a luz natural pode ser satisfatoriamente utilizada. É

possível o uso da luz natural em detrimento das lâmpadas fluorescentes para o enraizamento *in vitro* de bananeira.

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. 108f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- FERREIRA, D.F. **SISVAR 4.3**: sistema de análise estatística. Lavras: UFLA;DEX, 2000. Software.
- GEORGE, E.F. **Plant Propagation by Tissue Culture**. 2. Ed., Edington: Exegetics, 1996. 1361 p. Part 2: In Practice.
- GROUT, B.; MILLAM, S. Photosynthetic development of micropropagated strawberry plantlets following transplanting. **Annals of Botany**, v. 55, p. 129-131, 1985.
- 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.
- KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Low-cost alternatives for the micropropagation of banana. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 66, p. 67-71, 2001.
- KOZAI, T.; KUBOTA, C.; BYOUNG, R.J. Environmental control for the large-scale production of plants through *in vitro* techniques. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 51, p. 49-56, 1997.
- MARCHAL, J.; SENS, I.; TEISSON, C. Influence des sucres et de facteurs bioclimatiques sur la culture *in vitro* du bananier. **Fruits**, v. 47, n. 1, 1992.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- NAVARRO, C.; TEISSON, C.; CÔTE, F.; GANRY, J. Effects of light intensity and CO₂ concentration on growth of banana plants (*Musa* AAA, cultivar 'Petite Naine') *in vitro* and subsequent growth following acclimatization. **Scientia Horticulturae**, v. 60, p. 41-54, 1994.
- ROBINSON, J.C. **Bananas and plantains**. Wallingford: CAB International. v. 5, p. 48-69, 2003. 238 p.
- ROCHA, H.S. **Luz e sacarose na micropropagação da bananeira "Prata Anã": alterações morfoanatômicas**. 2005. 98p. :il. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- SENDIN, A.P.P.M. **Micropropagação de bananeira dos cultivares Maçã e Grande Naine visando a produção de mudas de baixo custo**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. 2001. 72 p.
- STANDAERT-DE-METSANAERE, R.E.A. Economic considerations. In: DEBERGH, P.C.; ZIMMERMAN, R.H. **Micropropagation technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p. 131-140.
- 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**, v. 83, p. 287-292, 2005.
- YUÉ, D.; GOSSELIN, A.; DESJARDINS, Y. Re-examination of the photosynthetic capacity of *in vitro*-cultured strawberry plantlets. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 118, p. 419-424, 1993.

PALAVRAS-CHAVE

Musa spp.; níveis de irradiância; sacarose; micropropagação.