

EFEITO DA VENTILAÇÃO DO FRASCO E CONCENTRAÇÃO DA SACAROSE NO CULTIVO *IN VITRO* DE BANANA (*Musa sp.*)¹

Flávia Antunes², Deyse Cristina Oliveira da Silva³, Wellington Faria Araújo⁴, Edvan Alves Chagas⁵, Marcio Akira Couceiro⁴

¹ Projeto desenvolvido na Biofábrica da Universidade Federal de Roraima (UFRR), BR174, Km 12, s/n, Campus do Cauamé, Boa Vista-RR, Brasil, 69301-970, apoio financeiro PRODOC-CAPEES; ² Pesquisadora PRODOC-CAPEES, UFRR; ³ Bolsista do programa de iniciação científica (PIC)-CNPq, aluna do curso de Agronomia, UFRR; ⁴ Professor da UFRR; ⁵ Pesquisador Embrapa Roraima, email<biofabrica@ufr.br>

Introdução

No estado de Roraima, de forma geral, as mudas usadas na bananicultura provêm de plantas de pomares antigos. Entretanto esse sistema é totalmente desaconselhável, pois não garante a qualidade do material devido, principalmente, a problemas de contaminação biótica e abiótica.

Uma alternativa para produção de mudas de qualidade é a utilização de sistemas de propagação *in vitro*. Porém, o cultivo convencional *in vitro* (heterotrófico e fotomixotrófico) é restrito principalmente devido ao elevado custo de produção, atribuído ao lento desenvolvimento e longo período de regeneração das plantas, a elevada porcentagem de contaminação, e a baixa porcentagem de sobrevivência das plantas na aclimatização *ex vitro* (KOZAI et al., 2005).

Para melhorar o ambiente *in vitro* e, conseqüentemente, reduzir ou eliminar os problemas morfológicos e fisiológicos das plantas, foi desenvolvido o sistema fotoautotrófico de cultivo *in vitro*. Este sistema é caracterizado pelo crescimento e desenvolvimento das plantas dependentes somente da fotossíntese e absorção de nutrientes inorgânicos do meio. Outro fator negativo relacionado às condições convencionais de cultivo *in vitro* é a falta de ventilação dos frascos. Nessa condição a concentração de CO₂ dentro do frasco decresce rapidamente até o ponto de compensação. Como conseqüência, as plantas apresentam baixas taxas fotossintéticas durante o resto do fotoperíodo. Foi comprovado o aumento no crescimento, desenvolvimento e na porcentagem de sobrevivência das plantas relacionadas com o aumento da ventilação dos frascos de cultivo (AFREEN-ZOBAYED et al., 2000; COUCEIRO et al., 2006).

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo implantar técnicas de micropropagação fotoautotrófica *in vitro* para o desenvolvimento de um sistema eficiente de produção de mudas de bananeira.

Material e métodos

Foram utilizadas mudas de bananeiras *Musa* sp., cultivar Phya 18, cedidas pela empresa Multiplantas de Andradadas-MG. As gemas apicais foram desinfestadas e inoculadas em meio de cultivo MS (MURASHIGE E SKOOG, 1962) com 30 g L⁻¹ de sacarose e 7 g L⁻¹ de ágar. Os frascos com os explantes foram mantidos no escuro durante 20 dias e, posteriormente, transferidos para iluminação artificial (16 h d⁻¹ de fotoperíodo) e temperatura controlada (25 ± 2°C). Após o estabelecimento os explantes passaram para a fase de multiplicação em meio MS, descrito acima, acrescido de 7 mg L⁻¹ BAP (benzilaminopurina).

Plântulas provenientes da fase de multiplicação foram transferidas para meio MS sem adição de vitaminas, sem BAP e com 7 g L⁻¹ de ágar. Para forçar a circulação do ar ao redor dos frascos foram instalados ventiladores de computador nas prateleiras da sala de cultivo. Nas tampas dos frascos, foram feitos dois furos de 10 mm de diâmetro. Para evitar a entrada de microorganismos patógenos, os furos foram cobertos com filtros de membrana (Milliseal, diâmetro do poro 0,5 µm; Millipore).

Os tratamentos consistiram no fatorial de três concentrações de sacarose (0, 15 e 30 g L⁻¹) e três condições de ventilação do frasco: (1) frasco sem filtro e sem ventilação (S/V), (2) frasco com filtros em prateleiras sem ventiladores (CF/SV) e (3) frascos com filtro em prateleiras com ventiladores (CF/CV). Os parâmetros avaliados foram: massa fresca total (MFT); massa seca total (MST) e número de folhas (NF). Para cada tratamento foram utilizados três frascos com três plantas por frasco, totalizando nove repetições. Os resultados foram obtidos pelas médias das repetições para cada tratamento.

Resultados e discussão

O melhor resultado para massa fresca (1,05 g), massa seca (0,08 g) e número de folhas (3,22 folhas) (Tabela 1) foi obtido quando as plântulas foram cultivadas em frascos com filtros e submetidas à ventilação em meio com 15 g.L⁻¹ de sacarose. Os valores de massa fresca, massa seca e número de folhas das plântulas cultivadas em frascos sem filtros e sem ventilação foram aproximadamente reduzidos à metade comparados àqueles obtidos no melhor tratamento (Tabela 1).

Em meio sem sacarose somente as plantas cultivadas em frascos com filtros sobreviveram. O tratamento com filtros e ventilação apresentou os melhores resultados (0,56 g massa fresca, 0,04 g massa seca e 1,33 folhas) quando comparados às plantas cultivadas somente com filtros e sem ventilação (0,13 g massa fresca, 0,01 g massa seca e 0,78 folhas) (Tabela 1).

O aumento da concentração de sacarose no meio de cultura de 15 para 30 g.L⁻¹ foi prejudicial às plântulas cultivadas em frascos com filtros, porém estimulou o crescimento e desenvolvimento das plântulas cultivadas em frascos sem ventilação. Nesta maior

concentração de sacarose, o melhor resultado foi obtido quando as plântulas foram cultivadas em frascos sem filtros, 0,88 g massa fresca e 0,06 g massa seca (Tabela 1). Entretanto, a diferença das plântulas cultivadas nos frascos sem filtros, comparadas às plântulas cultivadas em frascos com filtros e com ventilação foi menor para massa seca (redução de 25%) e número de folhas (redução de 17%) do que para massa fresca (redução de 52%).

Tabela 1. Crescimento e desenvolvimento de plantas de banana (*Musa* sp) cultivadas por 30 dias nos seguintes sistemas *in vitro*: frasco sem filtro e sem ventilação (S/V); frasco com filtros em prateleiras sem ventiladores (CF/SV) e frascos com filtro em prateleiras com ventiladores (CF/CV), todos combinados com três concentrações de sacarose (0, 15 e 30 g.L⁻¹). Os dados apresentados são valores médios de nove repetições do número de folhas (NF), da massa fresca total (MFT) e massa seca total (MST), seguidos do desvio padrão.

sacarose (g.L ⁻¹)	ventilação	NF	MFT (g)	MST (g)
0	S/V	0	0	0
0	CF/SV	0,78 ± 0,44	0,13 ± 0,08	0,01 ± 0
0	CF/CV	1,33 ± 1,32	0,56 ± 0,51	0,04 ± 0,04
15	S/V	1,67 ± 1,32	0,52 ± 0,44	0,04 ± 0,03
15	CF/SV	2,22 ± 1,3	0,46 ± 0,30	0,03 ± 0,02
15	CF/CV	3,22 ± 0,67	1,05 ± 0,39	0,08 ± 0,03
30	S/V	2,67 ± 1,00	0,88 ± 0,43	0,06 ± 0,03
30	CF/SV	0,78 ± 0,97	0,18 ± 0,24	0,02 ± 0,02
30	CF/CV	2,22 ± 0,67	0,42 ± 0,19	0,04 ± 0,01

Em meio de cultura sem adição de açúcar a contaminação pode ser facilmente controlada e as plântulas são forçadas a desenvolver o seu aparelho fotossintético durante o cultivo *in vitro*, o que facilita a sua aclimatização *ex vitro* e a sobrevivência ao ambiente externo (KOZAI et al., 2005). De acordo com a Tabela 1 verificamos que a ventilação dos frascos e a concentração de sacarose no meio influenciam o crescimento e desenvolvimento das plântulas. Em meio sem sacarose, somente as plântulas cultivadas em frascos com filtros sobreviveram. Este resultado mostra a importância da troca de ar entre o ambiente e o frasco e ressalta a capacidade das plântulas *in vitro* de desenvolver o aparelho fotossintético e crescerem dependentes somente da fonte de carbono endógena (ZOBAYED et al., 2002).

Normalmente, em cultura de tecidos e órgãos, é adicionada sacarose ao meio de cultura como fonte de carbono para o metabolismo das plântulas *in vitro*. Em micropropagação, a concentração geralmente é de 30 g.L⁻¹ de sacarose. Entretanto, de acordo com os resultados mostrados e considerando o fato que as concentrações de CO₂ nos frascos sem filtros são menores que o ponto de compensação (KOZAI et al., 2005), pode-se dizer que a sacarose, como fonte de carbono, é indispensável somente quando a ventilação do frasco e, conseqüentemente, o CO₂ do ambiente não é suficiente para o desenvolvimento do aparelho fotossintético das plântulas *in vitro*.

De acordo com os resultados, pode-se dizer que apesar das plântulas crescerem fotoautotroficamente em meio sem fonte de carbono, o crescimento foi melhor em meio com

baixa concentração de sacarose (15 g.L⁻¹) de sacarose comparado às plântulas em meio com alta concentração (30 g.L⁻¹). Este resultado é semelhante ao obtido com craveiro (*Dianthus caryophyllus*) (KOZAI e IWANAMI, 1998) onde o aumento da concentração de sacarose foi prejudicial ao crescimento das plântulas *in vitro*.

Conclusões

A ventilação dos frascos e a concentração de sacarose no meio influenciaram o crescimento e desenvolvimento de plântulas de banana cultivadas *in vitro*. Conclui-se, que a fonte de carbono exógena (sacarose) pode ser reduzida do meio de cultura caso haja um aumento da concentração de CO₂ no ambiente *in vitro*, indicando uma melhora no desenvolvimento do aparelho fotossintético da plântula.

Agradecimentos

À Iolete do Nascimento Araújo Maciel, pelo suporte técnico, à CAPES e ao CNPq pela concessão de bolsas.

Referências bibliográficas

- AFREEN, F.; ZOBAYED, S.M.A.; KUBOTA, C.; KOZAI, T. Physiology of *in vitro* plantlets grown photoautotrophically. *In*: KUBOTA, C; CHUN, C. Transplant production in the 21st century. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000. p.238-245.
- COUCEIRO, M.A.; AFREEN, F.; ZOBAYED, S.M.A.; KOZAI, T. Enhanced growth and quality of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) under photoautotrophic *in vitro* conditions. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* v.42, p.278-282, 2006.
- KOZAI, T.; AFREEN, F.; ZOBAYED, S.M.A. Photoautotrophic (sugar-free medium) micropropagation as a new propagation and transplant production system. Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2005, 315p.
- KOZAI, T.; IWANAMI, Y. Effects of CO₂ enrichment and sucrose concentration under photon fluxes on plantlet growth of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) in tissue culture during the preparation stage. **Journal Japan Society Horticulture Science**, v.57(2), p.279-28.8, 1998.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.
- ZOBAYED, S.M.A.; ARMSTRONG, J.; ARMSTRONG, W. Leaf anatomy of *in vitro* tobacco and cauliflower plantlets as affected by different types of ventilation. **Plant Science**, v.161, p.537-548, 2002.