

Comunicado 159

Técnico

ISSN 1808-9984
Outubro, 2014
Petrolina, PE

on line



Foto: Juliana Martins Ribeiro.

Uso da Rapadura com o Objetivo de Reduzir Custos no Cultivo In Vitro de Bananeira

Juliana Martins Ribeiro¹
Natoniel Franklin de Melo²
Sílvia Lopes Teixeira³
Márcio dos Santos Teixeira Pinto⁴

Introdução

A micropropagação é uma técnica biotecnológica utilizada para a produção de mudas que oferece vantagens como a possibilidade de multiplicação de plantas em larga escala, em curto período de tempo e espaço físico reduzido. Possibilita a obtenção de elevada quantidade de plantas que são produzidas completamente livres de doenças e pragas e em condições de independência, quase completa, do ambiente externo. No caso da bananeira (*Musa* spp.), além das características citadas, mudas produzidas in vitro são mais produtivas no primeiro ciclo e apresentam maior precocidade, antecipando em até 4 meses o seu florescimento (ÁLVARES; CALDAS, 2002).

Mesmo apresentando vantagens em relação ao produto final, a técnica de cultivo in vitro de plantas ainda é considerada dispendiosa, principalmente por causa da aquisição e manutenção de determinados

equipamentos, bem como da utilização de reagentes com alto grau de pureza no preparo de meios nutritivos. Segundo Kodym e Zapata (2001), apenas com a utilização da luz natural e a substituição de alguns reagentes do meio nutritivo por produtos mais baratos, pode haver redução no custo de produção de mudas em laboratório em até 90%.

A utilização de meios nutritivos alternativos, preparados a partir de derivados do processamento da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) apresentou resultados satisfatórios para o cultivo in vitro de diferentes espécies vegetais (BUAH et al., 2011; DHAMANKAR, 1992; RIBEIRO et al., 2012; SANTANA et al., 2009).

A rapadura é um derivado do processamento da cana-de-açúcar que apresenta em sua composição uma série de nutrientes que a tornam promissora para utilização como meio nutritivo alternativo para cultivo in vitro. Cada 100 g de rapadura contém carboidratos como sacarose (72 g a 78 g), frutose (1,5 g a 7 g) e glicose (1,5 g a 7 g); minerais

¹Bióloga, D.Sc. em Produção Vegetal, pesquisadora da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, juliana.ribeiro@embrapa.br.

²Biólogo, D.Sc. em Biologia Vegetal, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, natoniel.melo@embrapa.br.

³Engenheiro-agrônomo, Ph.D. em Botânica, bolsista DCR CNPq/Fapepe/Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, teixeira70@yahoo.com.br.

⁴Biólogo, D.Sc. em Biotecnologia e Biotecnologia, professor da Universidade Federal do Tocantins (UFT), Gurupi, TO, marciostp@yahoo.com.br.

como potássio (10 mg a 13 mg), cálcio (40 mg a 100 mg), magnésio (70 mg a 90 mg), fósforo (20 mg a 90 mg), sódio (19 mg a 30 mg), ferro (10 mg a 13 mg), manganês (0,2 mg a 0,5 mg), zinco (0,2 mg a 0,4 mg), flúor (5,3 mg a 6 mg) e cobre (0,1 mg a 0,9 mg); vitaminas como a pró-vitamina A (2 mg), vitamina A (3,8 mg), vitamina B1 (0,01 mg), vitamina B2 (0,06 mg), vitamina B5 (0,01 mg), vitamina B6 (0,01 mg), vitamina C (7 mg), vitamina D2 (6,5 mg), vitamina E (111,3 mg) e vitamina PP (7 mg). Também fazem parte da sua composição proteínas (280 mg), água (1,5 a 7 mg) e calorias (312 Kcal) (OLIVEIRA et al., 2003).

O objetivo deste trabalho foi descrever um protocolo desenvolvido para o cultivo in vitro de mudas de bananeira, utilizando-se a rapadura em substituição parcial aos sais de MS (RIBEIRO et al., 2013). Foram testadas as concentrações de 0%, 10%, 25%, 50% e 75% de rapadura, em substituição à sacarose, sais de MS e reguladores vegetais. Observou-se que após 60 dias de cultivo, a concentração de 50% de rapadura se apresentou como a adequada para a obtenção de números médios de folhas, brotos e raízes em valores estatisticamente iguais ao controle (meio MS). Acima de 50% de rapadura em substituição aos sais de MS, observou-se um aumento do número médio de explantes oxidados.

Preparo do meio nutritivo

1) Na bancada do laboratório, preparar uma solução de rapadura a 3%, partindo-se do princípio de uma concentração de 100% para a rapadura sólida. Para isso, deve-se cortar um pedaço de rapadura, tritirá-lo no liquidificador ou almofariz e dissolvê-lo em água destilada. Caso o volume final de meio que se deseja preparar seja de 200 mL, utilizar 6 g de rapadura. Para um volume final de 1 L, utilizar 30 g de rapadura. O cálculo da quantidade de rapadura deverá ser realizado de acordo com o volume final de meio nutritivo a ser preparado.

2) Em um erlenmeyer, preparar uma solução com formulação de sais inorgânicos e vitaminas MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), de acordo com as Tabelas 1 e 2. A solução deve ser preparada para o volume final desejado, utilizando-se água destilada ou deionizada, conforme a rotina de cada laboratório.

Tabela 1. Preparo de meio nutritivo com formulação de sais inorgânicos MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962).

Meio MS		
Componente	Fórmula	mg L ⁻¹
Macronutrientes		
Nitrato de amônio	NH ₄ NO ₃	1.650
Nitrato de potássio	KNO ₃	1.900
Cloreto de cálcio	CaCl ₂ .2H ₂ O	440
Sulfato de magnésio	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
Fosfato de potássio	KH ₂ PO ₄	170
Sódio EDTA	Na ₂ EDTA	37,25
Nitrato de cálcio	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	-
Sulfato de potássio	K ₂ SO ₄	-
Micronutrientes		
Sulfato de ferro	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,85
Sulfato de manganês	MnSO ₄ .H ₂ O	22,3
Sulfato de zinco	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	6,2
Molibdato de sódio	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
Cloreto de cobalto	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
Sulfato de cobre	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
Iodeto de potássio	KI	0,83
Cloreto de níquel	CaCl ₂ .6H ₂ O	-
Sulfato de berílio	BeSO ₄ .4H ₂ O	-
Outros		
Ágar	-----	7.000
Sacarose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	30.000

Tabela 2. Preparo das vitaminas MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962).

Vitaminas meio MS		
Componente	Fórmula	mg L ⁻¹
Ácido nicotínico	C ₆ H ₅ NO ₂	0,5
Cloridrato de piridoxina	C ₆ H ₁₂ ClNO ₂	0,5
Cloridrato de tiamina	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₄ OS	0,1
Glicina	C ₂ H ₅ NO ₂	2
Mio-inositol	C ₆ H ₁₂ O ₆	100
Biotina	C ₁₀ H ₁₆ O ₃ N ₂ S	-
Pantotenato de cálcio	C ₁₈ H ₃₂ CaN ₂ O ₁₀	-

3) Na bancada do laboratório, no momento do preparo do meio nutritivo, adicionar em um erlenmeyer, 50% solução de rapadura (item 1) + 50% de solução de MS (item 2), as vitaminas, 100 mg L⁻¹ de inositol e 6,5 g L⁻¹ de ágar. O pH deve ser mantido em 5,9 e os meios nutritivos esterilizados por autoclavagem (121 °C, por 20 minutos).

Caso o volume final de meio seja de 200 mL, utilizar 100 mL de solução de rapadura + 100 mL de solução de MS. Para um volume final de 1 L, utilizar 500 mL de solução de rapadura + 500 mL de solução de MS. O cálculo deverá ser realizado de acordo com o volume final do meio nutritivo que se deseja preparar.

4) No interior da capela de fluxo laminar, distribuir o meio nutritivo em frascos de cultivo (vidro, polietileno, tubo de ensaio, etc.), esterilizados. A quantidade de meio nutritivo a ser distribuída nos frascos de cultivo dependerá do tamanho dos mesmos. Logo após, realizar a inoculação das plantas, utilizando-se vidrarias, pinças e bisturis esterilizados.

5) Utilizar como explantes, brotações de plantas de bananeira pré estabelecidas in vitro, em meio de cultura preparado de acordo com a formulação de sais inorgânicos e vitaminas de MS (Tabelas 1 e 2), 100 mg L⁻¹ de inositol, 6,5 g L⁻¹ de ágar, 30 g L⁻¹ de sacarose, 2,5 mg L⁻¹ de benzilaminopurina (BAP), manter o pH em 5,9 e esterilizado por autoclavagem (121 °C, por 20 minutos).

Considerações finais

Excetuando-se as etapas do estabelecimento da cultura in vitro, o meio de cultura formulado com rapadura pode ser utilizado para a indução de brotos e para a formação de raízes sem a necessidade da adição de reguladores vegetais.

Em meios nutritivos para cultivo in vitro de bananeira, formulados com 50% de rapadura, não há necessidade da adição de sacarose, nem reguladores vegetais e necessitam apenas da

metade da concentração de sais inorgânicos de MS. Além disso, resultam em plantas com o mesmo número de brotos, raízes e folhas daqueles obtidos em plantas cultivadas em meio MS (100%), adicionado de sacarose.

Referências

- ÁLVARES, M. C.; CALDAS, L. S. Crescimento, produção e variação somaclonal em bananeiras micropropagadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 37, n. 3, p. 415-420, 2002.
- BUAH, J. N.; TACHIE-MENSON, J. W.; ADDAE, G.; ASAREV, P. Sugarcane juice as an alternative carbon source for *in vitro* culture of plantains and bananas. **American Journal of Food Technology**, New York, v. 6, n. 8, p. 685-694, 2011.
- DHAMANKAR, V. S. Molasses, a source of nutrients for *in vitro* sugar cane culture. **Sugar Cane**, [S.l.], v. 4, p. 14-15, 1992.
- KODYM, A.; ZAPATA, F. J. A. Low-cost alternatives for the micropropagation of banana. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 66, p. 67-71, 2001.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.
- OLIVEIRA, A. F.; ANEFALOS, L. C.; GARCIA, L. A. F.; ISTAKE, M.; BURNQUIST, H. L. Sistema agroindustrial da cachaça e potencialidade de expansão das exportações. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ECONOMIA E GESTÃO DE REDES AGROALIMENTARES, 4., Ribeirão Preto, 2003. **Anais...** Ribeirão Preto: USP, 2003. 1 CD-ROM.
- RIBEIRO, J. M.; MELO, N. F.; COELHO, A. K. N. S.; PINTO, M. S. T. Efeito do melado de cana-de-açúcar no desenvolvimento *in vitro* de bananeira (*Musa* spp.) cv. Maçã. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 59, n. 3, p. 293-298, 2012.
- RIBEIRO, J. M.; MELO, N. F.; COELHO, A. K. N. S. e PINTO, M. S. T. Uso da rapadura como meio nutritivo para cultivo *in vitro* de bananeira cv. Maçã. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 60, n. 5, p. 722-725, 2013.
- SANTANA, M. A.; ROMAY, G.; MATEHUS, J.; VICENTE-VILLARDÓN, J. L.; DEMEY, J. R. A simple and low-cost strategy for micropropagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **African Journal of Biotechnology**, [Lagos], v. 8, n. 16, p. 3.789-3.897, 2009.

Comunicado Técnico, 159

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Semiárido
Endereço: BR 428, km 152, Zona Rural, Cx. Postal 23, 56302-970 Petrolina, PE
Fone: (87) 3866-3600
Fax: (87) 3866-3815
E-mail: cpatsa.sac@embrapa.br

1ª edição (2014): Formato digital

Comitê de publicações

Presidente: Maria Auxiliadora Coêlho de Lima.
Secretário-Executivo: Sidinei Anuniação Silva.
Membros: Ana Valéria Vieira de Souza, Aline Camarão Telles Biasoto, Ana Cecília Poloni Rybka, Anderson Ramos de Oliveira, Fernanda Muniz Bez Birolo, Flávio de França Souza, Gislene Feitosa Brito Gama, José Mauro da Cunha e Castro, Juliana Martins Ribeiro, Welton Lima Simões.

Expediente

Supervisão editorial: Sidinei Anuniação Silva.
Revisão de texto: Sidinei Anuniação Silva.
Tratamento das ilustrações: Nivaldo Torres dos Santos.
Editoreção eletrônica: Nivaldo Torres dos Santos.