

Efeito de Antioxidantes e Descontaminantes no Estabelecimento de Explantes de Bananeira (*Musa spp*) *in vitro*

Effect of Antioxidants and Decontaminating on Establishment of Explants of Banana Plant (*Musa spp*) *in vitro*

Lindaray Conceição de Anicezio^{a*}

^aCentro Universitário de Várzea Grande, MT, Brasil

*E-mail: lindaray.anicezio@bol.com.br

Resumo

A bananeira (*Musa spp*) é uma planta cultivada em regiões de clima tropical, cuja fruta é a de maior produção e comercialização do mundo, porém seus cultivares de plantações convencionais vêm sofrendo grande problemática quanto à infestação de pragas. A fim de mitigar essas infestações é que estão sendo desenvolvidas técnicas de micropropagação vegetal mais segura e asséptica desta planta tão importante para a economia do Brasil. Este trabalho teve como objetivo testar o efeito antioxidante em tratamentos com o ácido ascórbico em concentrações de A1 (sem ácido ascórbico), A2 (15 ml.L⁻¹), A3 (25 ml.L⁻¹) e A4 (35 ml.L⁻¹), e testar também o efeito desinfestante do ácido peracético nas concentrações P1 tratamento testemunha (sem ácido peracético), P2 (10 ml.L⁻¹), P3 (20 ml.L⁻¹) e P4 (30 ml.L⁻¹), e a influência destes ácidos no desenvolvimento dos explantes na fase de introdução *in vitro*. O meio de cultura utilizado foi o MS, suplementado com 30 g.L⁻¹ de sacarose e o solidificante phytigel a 2,3 g.L⁻¹. O tratamento com o ácido ascórbico foi realizado à partir da incorporação deste ao meio de cultura, o experimento apresentou os resultados esperados. O ácido peracético foi utilizado como soluções para imersão dos explantes antes da introdução no meio de cultura. Este tratamento apresentou resultados adversos ao esperado.

Palavras-chave: Antioxidante. Desinfestante. Micropropagação.

Abstract

The banana (Musa spp) is a plant cultivated in tropical regions, whose fruit is the largest production and marketing of the world, but their conventional crops have been suffering major problem regarding pest infestation. In order to mitigate these infestations, vegetable micropropagation techniques more secure and aseptic of this plant so important for the economy of Brazil are being developed. This study aimed to test the effect of antioxidant treatment with ascorbic acid at concentrations of A1 (without ascorbic acid), A2 (15 ml.L⁻¹), A3 (25 ml.L⁻¹) and A4 (35 ml.L⁻¹), and also test the disinfect effect of peracetic acid in P1 concentrations control (without peracetic acid), P2 (10 ml.L⁻¹), P3 (20 ml.L⁻¹) and P4 (30 ml.L⁻¹), and the influence of these acids in the development of the explants at the stage of release in vitro. The culture medium used was MS medium supplemented with 30 g.L⁻¹ sucrose and gelling phytigel to 2.3 g.L⁻¹. Treatment with ascorbic acid was carried out to the incorporation of the medium, the experiment produced the expected results. The peracetic acid was used as solutions for immersion of the explants prior to introduction into the culture medium. This treatment showed adverse results than expected.

Keywords: Antioxidant. Disinfect. Micropropagation.

1 Introdução

A banana é uma fruta típica de países de clima tropical, produzida em larga escala na Índia em seguida no Equador e Brasil, sendo assim, é um dos frutos mais consumidos em todo o mundo. A maior parte da produção de banana no Brasil é direcionada para consumo interno. As regiões produtoras que mais se destacam na exportação é Santa Catarina, que exporta para o MERCOSUL e o Rio Grande do Norte, que exporta para a Europa (NEVES, 2005).

Conforme Souza e Feguri (2004), o estado de Mato Grosso foi um dos maiores produtores de banana do Brasil, voltado principalmente para o consumo “*in natura*” tanto dentro como fora do estado, até que em 1999 a infestação de uma doença denominada Sigatoka Negra, alastrou-se em quase todas as regiões de cultivo de bananeiras. Devido a isso, Mato Grosso ficou impossibilitado de produzir e comercializar o produto para as regiões não afetadas com a praga. Até os dias atuais, as bananeiras de Mato Grosso vêm sofrendo altas taxas de

contaminação e infestação de pragas como Mal do Panamá e o Moleque da bananeira.

De acordo com Francelli (2003), o método convencional de plantio de bananeiras está cada dia mais arriscado, pois mesmo controlando as doenças em alguns cultivares, existe ainda a possibilidade do solo estar infectado pelos agentes causadores das principais doenças das bananeiras, tais como a Sigatoka Negra e Amarela, Mal-do-Panamá, Mancha do Cordana entre outras doenças causadas por microrganismos ou insetos.

Diante desta problemática, os pesquisadores adotaram uma técnica de produção em que se torna possível uma propagação ampla de bananeiras e livre de contaminações, esta técnica é denominada micropropagação de tecidos vegetais, que é uma das ramificações da biotecnologia muito usada na agricultura atualmente, consistindo em um processo de clonagem de plantas em ambiente asséptico. Pode-se dizer que é uma atividade já antiga, pois data desde os anos 20,

porém só alçou grande desenvolvimento a partir da década de 60 (CRUZ JUNIOR, 2004). Esse método tornou-se uma das alternativas mais seguras de produzir mudas com alto potencial para o comércio e com boa aceitação no mercado (TORRES *et al.*, 1998).

Hoje a micropropagação de tecido vegetal é uma técnica com extensa aplicação na agricultura. Isso se dá porque novas plantas são produzidas a partir do isolamento de pequenos fragmentos de tecido vegetal vivo, denominados explante, que por sua vez, passam por um tratamento de desinfecção e posteriormente são cultivados assepticamente em meio de cultura apropriado. Devido a esses cuidados a muda vai para o campo livre de contaminação por vírus, fungos ou bactérias. Esta técnica permite que se obtenha uma nova planta geneticamente idêntica à planta mãe, pois se trata de uma clonagem vegetal, definida como uma propagação assexuada (TORRES *et al.*, 2000).

A produção *in vitro* só é possível havendo um explante de boa qualidade e um meio de cultura nutritivo que atenda as necessidades fisiológicas da planta a ser clonada. O meio de cultura mais utilizado nesta técnica é o de Murashige e Skoog (1962), que deve conter os elementos básicos, porém essenciais à nutrição vegetal, que pode ser alterado ou suplementado de acordo com as necessidades fisiológicas da planta a ser clonada, uma vez que o explante é incapaz de realizar fotossíntese nas condições em que é mantido. Devido a essa incapacidade fotossintética o meio de cultura deve conter todos os nutrientes, vitaminas, sais inorgânicos e principalmente uma fonte de carbono eficiente para que a planta se desenvolva (CAMARA; WILADINHO, 2001).

No entanto esta prática vem sendo comprometida no que se diz respeito à produção em escala comercial, um dos maiores problemas encontrados é a contaminação no meio de cultura, por bactérias e/ou fungos, na etapa de estabelecimento do material nos frascos de cultura, e mesmo durante as outras etapas de micropropagação de tecido vegetal *in vitro*. A contaminação estabelece-se no meio de cultura ou no explante e acaba competindo pelos nutrientes com a planta e, além disso, podem ser liberadas substâncias tóxicas no meio que podem inibir o desenvolvimento do explante, e desta forma, levar à perda deste material (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Outro problema frequentemente encontrado e difícil de ser superado na micropropagação de bananeiras é a oxidação dos explantes, esta oxidação é o escurecimento do explante causado pela liberação de compostos fenólicos que são liberados quando os tecidos são lesados, e de acordo com Gupta (1986), Lameira, Pinto e Pasqual (1990) e Utino Carneiro e Chaves (2001) a oxidação dos explantes é prejudicial na fase inicial, provocando uma redução na taxa de multiplicação e muitas vezes, a morte do explante.

De acordo com Hirata e Mancini Filho (2002), o método mais utilizado para o controle da infestação em explantes é o etanol nas concentrações de 70% a 80%, pois além de obter um

alto potencial germicida é um ótimo surfactante, que facilita a ação de outros produtos. Dentre muitas substâncias germicidas a base de cloro utilizada para a desinfestação de explantes, a mais utilizada é o hipoclorito de sódio em sua formulação comercial em água sanitária ou o hipoclorito de cálcio, que é vendido em pó em lojas comerciais (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Para controlar os índices de contaminação, Marana, Miglioranza e Faria (2009), realizaram um experimento testando a eficiência do ácido peracético junto com o hipoclorito de sódio na desinfestação de microorganismos nos explantes de *Jacaratia spinosa*. O resultado alcançado foi de 60% a 80% de desinfestação, o que pode ser considerado um bom índice comparado com outros métodos de desinfestação utilizando fungicida e antibiótico que podem acabar afetando o desenvolvimento do explante.

Mendonça *et al.* (2004) usaram ácido ascórbico para controlar os níveis de oxidação nos explantes de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.), cujos resultados foram indiferentes quanto à oxidação, porém vantajosos quanto ao desenvolvimento dos explantes. Silva *et al.* (2001), utilizaram vários antioxidantes na cultura *in vitro* de bananeira (*Musa sp. cv. Pioneira*), dentre eles o ácido ascórbico, e por sua vez alcançou bons resultados no controle da oxidação.

Este trabalho teve por objetivo testar diferentes concentrações de ácido peracético e ácido ascórbico para o controle de contaminação e oxidação respectivamente, dos explantes de bananeira (*Musa spp*) durante o estabelecimento de material *in vitro*.

2 Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetal da Empresa Mato-grossense de Pesquisa, Assistência e Extensão Rural S/A - EMPAER-MT, localizado no Município de Várzea Grande, MT, no período entre 22 de setembro de 2009 e 07 de outubro de 2009.

Foram utilizadas mudas de bananeira do tipo chifrinho, procedentes do Campo Experimental da EMPAER-MT, localizado no Município de Cáceres-MT.

Inicialmente, os rizomas passaram por um processo de limpeza que consistiu na retirada das bainhas mais externas, ficando com o tamanho aproximado de 20 cm. Após esta limpeza, os rizomas foram levados à sala de secção e desinfecção, onde passaram por mais dois processos de redução intercalados por imersão em solução de uma parte de hipoclorito de sódio 2%, em formulação comercial, com duas partes de água. Não foi utilizado o álcool 70% durante o processo de desinfestação, pois este pode acelerar o processo de oxidação dos rizomas de bananeira.

2.1 Experimento com o ácido peracético

Os rizomas ficaram com um tamanho aproximado de 7cm, e após os cortes, foram submetidos a um processo de assepsia mais rigoroso. Foi usada uma solução com 700 ml de

hipoclorito de sódio 2% em formulação comercial, e 300 ml de H₂O deionizada e destilada, na qual os explantes ficaram imersos por 20 minutos.

Para a imersão dos explantes no ácido peracético 0,25% em sua formulação comercial, foram utilizados quatro frascos, em que os explantes de cada tratamento permaneceram em quantidades de oito em cada frasco, sendo um frasco para cada tratamento. Posteriormente foram adicionadas as soluções de ácido peracético 0,25% em sua formulação comercial, os tratamentos consistiram nas seguintes concentrações: P1 (testemunha, sem ácido peracético); P2 (10 mL.L⁻¹ de ácido peracético); P3 (20 mL.L⁻¹ de ácido peracético) e P4 (30 mL.L⁻¹ de ácido peracético). O tratamento testemunha após ser retirado da solução com hipoclorito foi levado à câmara de fluxo laminar em um recipiente seco (sem a presença de água), ao passo que os tratamentos P2, P3 e P4 permaneceram imersos em suas respectivas soluções por 20 minutos.

Os explantes foram levados à câmara de fluxo laminar, a fim de evitar qualquer tipo de contaminação exógena, foram retirados dos recipientes que continham as soluções de Ácido Peracético e submetidos à uma tríplex lavagem com água previamente destilada, deionizada e autoclavada por 20 minutos à uma temperatura de 120 °C ± 1 a 1,0 atm. de pressão.

Após a tríplex lavagem, os rizomas foram novamente seccionados, dentro da câmara de fluxo laminar, e reduzidos a aproximadamente 3cm com o auxílio de pinça e bisturi esterilizados e constantemente flambados, sendo metade deste a região do rizoma e outra metade o pseudocaulo.

Concluído o processo de secção, esses explantes foram inoculados em um recipiente contendo meio de cultura MS formulado por Murashige e Skoog (1962), suplementado com sacarose a 30 g.L⁻¹ e o solidificante Phytigel a 2,3 g.L⁻¹, com pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 120 °C com 1,0 atm. durante vinte minutos.

Os explantes foram mantidos em salas de crescimento por um período de 15 dias sob as condições de temperatura a 25 ± 3° C com fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 30 μmol.m⁻².s⁻¹, fornecida por lâmpadas fluorescentes tubulares brancas frias. Os parâmetros avaliados foram o potencial desinfestante do ácido peracético, contando-se o número de explantes contaminados, e o desenvolvimento do explante que foi avaliado a partir da coloração do pseudocaulo após 15 dias de cultivo.

Os explantes deste experimento que apresentaram contaminações foram enviados para análise microbiana no Laboratório de Fitopatologia da Empresa Mato-grossense de Pesquisa, Assistência e Extensão Rural S/A - EMPAER-MT, para identificação das bactérias e automaticamente a natureza das contaminações presentes no experimento.

Quanto à relação existente entre a concentração de ácido peracético e o número de contaminações, foi efetuado o cálculo de coeficiente de Correlação de Pearson representado pela equação:

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{(\sum (x_i - \bar{x})^2)(\sum (y_i - \bar{y})^2)}}$$

O coeficiente de correlação de Pearson é uma medida do grau de relação linear entre duas variáveis quantitativas. Este coeficiente varia entre os valores -1 e 1. O valor zero significa que não há relação linear, o valor 1 indica uma relação linear perfeita e o valor -1 também indica uma relação linear perfeita, mas inversa, ou seja, quando uma das variáveis aumenta a outra diminui. Quanto mais próximo estiver de 1 ou -1, mais forte é a associação linear entre as duas variáveis (VIEIRA, 1980).

2.2 Experimento com o ácido ascórbico

Os rizomas ficaram com um tamanho aproximado de 7cm, e após os cortes, foram submetidos a um processo de assepsia mais rigoroso. Foi usada uma solução com 700 ml de hipoclorito de sódio 2% em formulação comercial, e 300 ml de H₂O deionizada e destilada, na qual todos os explantes deste tratamento ficaram imersos por 20 minutos. Posteriormente os explantes foram submetidos a uma imersão em solução de ácido peracético, 0,25% em sua formulação comercial, a 30 mL.L⁻¹ em 1L de H₂O deionizada e destilada por mais 20 minutos.

Os explantes foram levados à câmara de fluxo laminar e submetidos à tríplex lavagem com água previamente destilada e estéril. Após a tríplex lavagem, os rizomas foram novamente seccionados e reduzidos a aproximadamente 3cm com o auxílio de pinça e bisturi esterilizados e constantemente flambados, sendo metade deste a região do rizoma e outra metade o pseudocaulo.

Concluído o processo de secção, esses explantes foram introduzidos em recipientes contendo meio de cultura MS, previamente preparado e esterilizado, suplementado com sacarose a 30 g.L⁻¹ e o solidificante Phytigel a 2,3 g.L⁻¹, e tendo adicionado ao meio diferentes concentrações de ácido ascórbico, antes da autoclavagem, os tratamentos que constituíram o experimento foram: A1 (testemunha, sem ácido ascórbico); A2 (15 g.L⁻¹ de ácido ascórbico); A3 (25 g.L⁻¹ de ácido ascórbico) e A4 (35 g.L⁻¹ de ácido ascórbico). Finalmente com pH ajustado para 5,8 e levado à autoclave a 120 °C com 1,0 atm. durante 20 minutos.

Os explantes permaneceram em salas de crescimento por um período de 15 dias sob as condições de temperatura a 25 ± 3 °C com fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 30 μmol.m⁻².s⁻¹, fornecida por lâmpadas fluorescentes tubulares brancas frias.

Os parâmetros avaliados neste experimento foram o potencial antioxidante em % de explantes oxidados, do ácido ascórbico e o desenvolvimento do explante quanto à coloração do pseudocaulo, que deverá diferenciar-se da cor apresentada quando introduzido ao meio de cultura, que neste momento é branca e posteriormente deverá apresentar a cor verde (Figuras 1 e 2).

Figura 1: Explante Branco

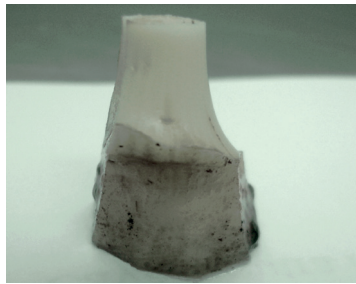
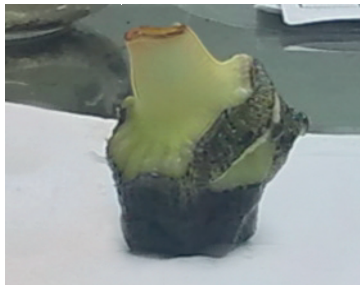


Figura 2: Explante Verde



Quando o explante apresenta a cor branca, tem uma textura de vegetal cozido, quando está com característica o material deve ser descartado, pois provavelmente não irá se desenvolver e se por ventura houver algum desenvolvimento não produzirá mudas com qualidade.

Para calcular a relação existente entre a coloração dos explantes e a quantidade de ácido ascórbico adicionado ao meio, foi efetuado o cálculo de coeficiente de Correlação de Pearson, utilizando os dados recolhidos das amostras contendo as concentrações de ácido ascórbico, 15 ml.L⁻¹, 25 ml.L⁻¹ e 35 ml.L⁻¹.

3 Resultados e Discussão

3.1 Experimento com ácido peracético

Os resultados para os tratamentos utilizando ácido peracético em diferentes concentrações para assepsia dos explantes estão ilustrados na Tabela 1. No tratamento sem ácido peracético observou-se 12% de contaminação, enquanto que nos tratamentos com 10 ml.L⁻¹ e 20 ml.L⁻¹ de ácido peracético houve 37% de contaminação já no tratamento com 30 ml.L⁻¹ de ácido peracético houve a maior percentagem de explantes contaminados com 62%.

Tabela 1: Porcentagens de contaminação no tratamento com ácido peracético.

Ácido Peracético	% de Contaminação
0,0 ml/L	12
10 ml/L	37
20 ml/L	37
30 ml/L	62

Todas as amostras observadas foram contaminadas somente por bactérias na análise visual, e não apresentaram contaminação por fungos, este resultado da observação foi comprovado pela análise microbiana realizada. E quanto maior a concentração de ácido, maior foi o número de explantes contaminados.

A hipótese levantada é que pelo fato das concentrações serem menores do que a utilizada por Marana, Miglioranza e Faria (2009), apresentou efeito contrário, facilitando a dispersão das bactérias entre os explantes, uma vez que estes ficaram imersos juntos em seus respectivos tratamentos. E ao contrário ocorreu com o tratamento testemunha, que depois de serem retirados da solução com hipoclorito de sódio, ficaram secos na câmara de fluxo laminar, logo sem a presença de água não houve dispersão dos microorganismos.

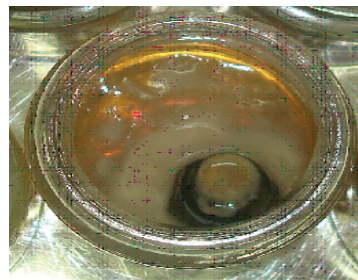
A partir de amostras coletadas dos explantes contaminados, foi possível, através de análise microbiológica, constatar que as contaminações por bactérias são de origem endógena, uma vez que estas foram identificadas pelo Laboratório de Fitopatologia da Empresa Mato-grossense de Pesquisa, Assistência e Extensão Rural S/A - EMPAER-MT como *Xanthomonas sp* e *Erwinia sp*, e ambas são bactérias de solo, deste modo, o controle por meio do ácido peracético não foi eficiente, pois as técnicas de desinfestação adotadas neste experimento foram superficiais. Provavelmente se o ácido peracético for adicionado ao meio de cultura poderá apresentar resultados positivos quanto à inibição de infestação por bactérias.

Devido ao grande número de contaminações encontradas neste experimento, foi impossível observar a coloração do pseudocaule, uma vez que estes estavam cobertos pelas bactérias, assim como o meio de cultura (Figuras 3 e 4).

Figura 3: Explantes Contaminados



Figura 4: Explante Contaminado



Marana, Miglioranza e Faria (2009), em *Jacaratia spinosa*, verificaram baixo índice de contaminação com o uso de Saniagri® (ácido peracético 2%), durante 15 minutos, o que resultou em uma porcentagem de descontaminação entre 60% e 80%.

Vianna *et al.* (1997) utilizando para a desinfestação de ápices de mamoeiro o hipoclorito de sódio a 1% por dez minutos, conseguiram controlar a contaminação por fungos, porém, os autores, tal como neste trabalho, não conseguiram a descontaminação por bactérias.

Ao comparar os resultados obtidos pelos dois autores, infere-se que as concentrações de ácido peracético utilizadas neste experimento podem ter sido insuficientes, tendo em vista que em sua formulação comercial contem 0,25%, e mesmo com a concentração maior de 30 ml/L representa apenas 0,075% do ácido dissolvidos em H₂O, concentração menor que a utilizada em outros trabalhos. O motivo pelo qual o tratamento não apresentou os resultados esperados provavelmente pode ter relação com o tempo de imersão, uma vez que a quantidade de ácido peracético foi menor que a utilizada por Marana, Miglioranza e Faria (2009), o tempo deveria ter sido maior do que 20 minutos.

Quanto ao uso do hipoclorito de sódio a 2,5% em sua formulação comercial, comparado ao trabalho de Vianna *et al.* (1997), os resultados obtidos neste trabalho foram semelhantes, pois com a concentração de 1,75% por 20

minutos de imersão dos explantes, apresentou controle de infestação por fungos, mas não de bactérias.

Conforme mostrado na Tabela 2, os resultados dos cálculos de centralidade, média, moda e mediana apresentam dados de falsa simetria, posto que o número de amostras utilizadas no experimento foi relativamente baixo, o que pode ser comprovado com o desvio padrão de 1,63%, nota-se uma variação 1,37% a 4,63% em torno da média de explantes contaminados.

Tabela 2: Cálculos de centralidade quanto à quantidade de amostras contaminadas

Cálculos	Valores
Média	3,00
Moda	3,00
Mediana	3,00
Variância	2,67
Desvio Padrão	1,63

Os dados utilizados para o cálculo de Correlação de Pearson estão apresentados na Tabela 3. Estes cálculos baseiam-se nas análises das amostras compostas dos tratamentos com o ácido peracético, cujo resultado obtido pelo cálculo é 0,01 de correlação, que representa uma fraca relação.

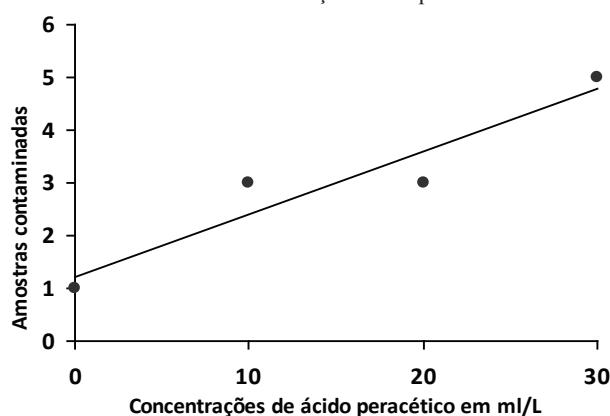
Tabela 3 Dados para o cálculo de Correlação de Pearson entre a Concentração de Acido Peracético e a Contaminação dos explantes.

Concentração (ml/L) Ac. Peracético(X)	Contaminação (Y)	$(X - \bar{X})$	$(Y - \bar{Y})$	$(X - \bar{X}) \cdot (Y - \bar{Y})$	$(X - \bar{X})^2$	$(Y - \bar{Y})^2$
0	1	-15	-1	15	225	1
10	3	-5	0	0	25	0
20	3	5	0	0	25	0
30	5	15	2	30	225	4

O resultado do cálculo pode ser analisado através da Figura 5, que indica uma fraca relação positiva entre as

concentrações do ácido peracético e a quantidade de amostras contaminadas.

Figura 5: Correlação de Pearson entre a Concentração de Ácido Peracético e a Contaminação dos explantes.



Analisando os resultados dos tratamentos com o ácido peracético, observa-se que os resultados obtidos foram diferentes do que se esperava para este experimento, uma vez que este ácido é reconhecido pelo seu alto teor desinfestante. Por outro lado, foi observado que os tratamentos foram contaminados apenas por bactérias, não foi constatada presença de infestação por fungos, que é uma das maiores problemáticas no laboratório de Micropropagação de Tecido Vegetal da EMPAER, Várzea Grande.

Como este experimento utilizou o ácido peracético em baixa concentração, e os resultados obtidos não foram os esperados, é recomendado que realizem novos estudos a fim de testar concentrações mais altas deste ácido e desta forma alcançar um maior índice de desinfestação dos explantes.

3.2 Experimento com ácido ascórbico

Os tratamentos utilizando o ácido ascórbico em diferentes concentrações no meio de cultura apresentaram resultados similares de acordo com a avaliação realizada quinze dias após o início do trabalho (Tabela 4).

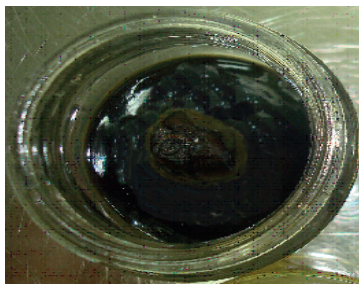
Tabela4: Porcentagens de oxidação no tratamento com ácido ascórbico

Ácido Ascórbico	% de Oxidação	Pseudocaule	
		%	Cor*
00 ml/L	12	88	A
15 ml/L	0	100	A
25 ml/L	0	60	A
25 ml/L	0	40	B
35 ml/L	0	100	B

Cor*: A – Verde / B – Branco

Observa-se que no tratamento em que não foi adicionado o ácido ascórbico ocorreu oxidação em 12% das amostras (Figura 6), enquanto que nos tratamentos com 15 mL.L⁻¹, 25 mL.L⁻¹ e 35 mL.L⁻¹ de ácido ascórbico não houve oxidação.

Figura 6: Explante Oxidado



Quanto à coloração dos pseudocaulos dos explantes (Figuras 1 e 2), observou-se uma variação de acordo com a concentração de ácido ascórbico incorporado ao meio de cultura. O experimento contendo 15 mL.L⁻¹ de ácido ascórbico

apresentou coloração A (verde) em 100% as amostras, o com 25 mL.L⁻¹ resultou em 60% com a coloração A (verde) e 40 % com a coloração B (branca) e o experimento contendo 35 mL.L⁻¹ apresentou 100% das amostras com coloração B (branca).

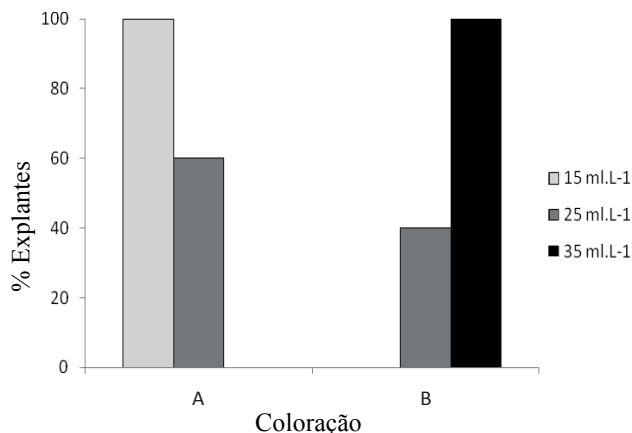
Mendonça *et al.* (2004) usaram o ácido ascórbico acrescido ao meio MS para diminuir os índices de oxidação nos explantes de *Lippia Sidoides* Cham, em concentração de 100 ml/L resultou em apenas 3,37% de oxidação. Já Siqueira e Inoue (1990), testaram os efeitos antioxidantes em várias concentrações do ácido ascórbico em explantes de folhas de plantas jovens de *Cocos nucifera* L, cujo tratamento se deu por imersão dos explantes nessas soluções, os resultados obtidos foram de 50% de oxidação.

Ao comparar os resultados alcançados neste trabalho, com os experimentos contendo o ácido ascórbico, com os trabalhos de Mendonça *et al.* (2004) e Siqueira e Inoue (1990), nota-se que os resultados obtidos para os explantes de bananeira foram os esperados. Posto que houve um controle na oxidação.

Não houve oxidações nos tratamentos com presença de ácido ascórbico, porém os explantes apresentaram reações adversas quanto à coloração do pseudocaule. O tratamento com 15 mL.L⁻¹ apresentou cor A (verde), o tratamento com 25 mL.L⁻¹ apresentou a coloração B (branca) em algumas amostras e A (verde) em outras, já o tratamento com 35 mL.L⁻¹ inibiu o desenvolvimento dos explantes, que permaneceram com a cor B (branca), enquanto que o normal seria apresentarem a cor A (verde), conforme apresentado na Tabela 4.

A Figura 2 apresentou a quantidade relativa à coloração encontrada em cada experimento. Nota-se que o experimento contendo 25 mL.L⁻¹ de ácido ascórbico apresentou as duas colorações, branca e verde nas porcentagens de 60% e 40% respectivamente.

Figura 7: Comparação da porcentagem de cores dos explantes em cada tratamento.



O ácido ascórbico em altas concentrações se mostrou tóxico aos explantes, por este motivo afetou diretamente seu desenvolvimento e estabelecimento. Explantes mal desenvolvidos resultam em baixa produção ou produção sem

a qualidade necessária exigida na micropropagação.

Para determinar a relação existente entre a coloração dos explantes e a concentração de ácido ascórbico (Tabela 5),

foi calculado o Coeficiente de Correlação de Pearson, cujo resultado foi 0,20 de correlação, que determina uma alta relação entre as variáveis em questão.

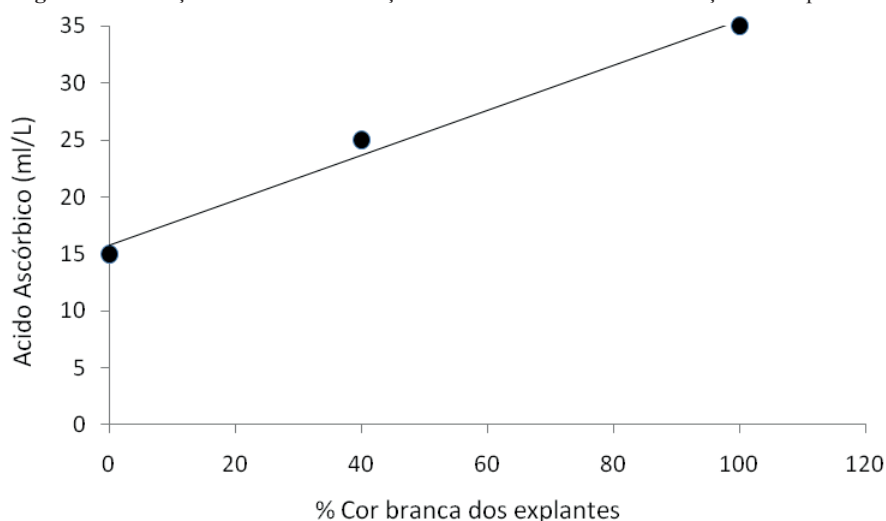
Tabela 5: Dados para o cálculo de correlação de Pearson entre a concentração de Ácido Ascórbico e Coloração dos explantes.

Concentração (ml/L) Ac. Ascórbico (Y)	Coloração Branca (X)	$(X - \bar{X})$	$(Y - \bar{Y})$	$(X - \bar{X}) \cdot (Y - \bar{Y})$	$(X - \bar{X})^2$	$(Y - \bar{Y})^2$
15	0	-6,67	-10	466,7	0	225
25	40	-6,67	0	0	1600	625
35	100	53,33	10	533,3	10000	1225

A coloração branca foi escolhida para representar os dados por significar explante mal desenvolvido, porém o calculo feito com a coloração verde apresenta o mesmo resultado de correlação.

Para melhor visualização do resultado a Figura 8 representa a correlação existente entre as concentrações de ácido ascórbico com a coloração dos explantes. Nota-se uma grande relação entre as variáveis.

Figura 8 Correlação entre as concentrações de ácido ascórbico e a coloração dos explantes.



De acordo com os resultados obtidos pelos tratamentos realizados com o ácido ascórbico, pode-se considerar que apresentou os resultados esperados quanto à ação antioxidante em explantes de bananeira (*Musa spp*), em observações realizadas notou-se que todas as concentrações foram eficientes no controle da oxidação dos explantes.

Portanto, é interessante que seja utilizado na menor concentração, pois neste tratamento os explantes introduzidos no meio de cultura contendo 15 ml/L de ácido peracético, apresentaram forte coloração verde no pseudocaule, o que indica um bom estabelecimento e desenvolvimento. Através deste resultado, pode-se afirmar que é recomendado o uso desta concentração na micropropagação de bananeira, posto que a fase de estabelecimento é decisiva quanto à qualidade da muda micropropagada, e quanto menos oxidação maior é a probabilidade de produzir-se mudas com qualidade.

4 Conclusão

O ácido peracético em sua concentração comercial de 0,25% é ineficiente para desinfestação dos explantes, é recomendado que se realize outros testes utilizando maior concentração.

O tratamento com ácido peracético foi eficiente contra oxidações dos explantes em todas as concentrações utilizadas, porém o recomendado é a quantidade de 15 ml.L⁻¹, por não interferir no desenvolvimento e estabelecimento do explante.

Referências

- CAMARA, T.; WILLADINO, L. *Cultura de tecidos vegetais*. Pernambuco: UFRPE, 2001.
- CRUZ JUNIOR, A. *et al. Biotecnologia: histórico e tendências*. Florianópolis: UFSC, 2004.
- FRANCELLI, M. *Cultivo da banana para o estado do Amazonas: doenças e métodos de controle*. Amazonas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003.

- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa, 1998, p.183-260.
- GUPTA, P.P. Erradication of mosaic disease and rapid clonal multiplication of bananas and plantains through meristem tip culture. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, v.6, p.33-39, 1986.
- HIRATA, M.H.; MANCINI-FILHO, J. *Manual de biossegurança*. Barueri: Manole, 2002.
- LAMEIRA, O.A.; PINTO, J.E.B.P.; PASQUAL, M. Propagação *in vitro* da bananeira-Prata através da cultura de tecidos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.25, n.11, p.1613-1617, 1990.
- MARANA, J.P.; MIGLIORANZA, E.; FARIA, R.T. Estabelecimento *in vitro* de *Jacaratia spinosa* (Aubl.) ADC. *Semina: Ciências Agrárias*, v.30, n.2, p.271-274, 2009.
- MENDONÇA, A.B. *et al.* Influência de concentrações de meio MS, ácido ascórbico e BAP na micropropagação de Alecrim-Pimenta (*Lippia Sidoides* Cham.). São Cristóvão: Embrapa, 2004.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobaccotissue cultures. *Physiologia Plantarum*, v.15, p.473-479, 1962.
- NEVES, M.C.M. Banana: mercado nacional e perspectivas. *Brasil Hortifruti*, 2005. Disponível em: <http://www.gestaodoagronegocio.com.br/agrinvest/Downloads/Banana%20mercado%20nacional%20e%20internacional.pdf>. Acesso em: 2 ago. 2009.
- SILVA, K.S. *et al.* Utilização de antioxidantes na micropropagação de Bananeira CV. Pioneira. *Magistra*, v.13, n.1, 2001. Disponível em: <http://www.magistra.ufrb.edu.br/publica/magist13/01-13-02c.html>. Acesso em: 20 set. 2009.
- SIQUEIRA, E.R.; INOUE, M.T. Controle de oxidação na cultura de tecidos do coqueiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.26, n.7, p.949-953, 1991.
- SOUTO, R.F. *et al.* *Sistema de produção da Bananeira-prata-anã no norte de Minas Gerais*. Belo Horizonte: EPAMIG, 1997.
- SOUZA, A.S. *et al.* *A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais*. Brasília: EMBRAPA-CNPMPF, 1999.
- SOUZA, N.S.; FEGURI, E. Ocorrência da *Sigatoka Negra* em bananeira causada por *Mycosphaerella fijiensis* no Estado de Mato Grosso. *Fitopatologia Brasileira*, v.29, n.2, p.225-226, 2004.
- TORRES, A.C. *et al.* *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa, 1998.
- TORRES, A.C. *et al.* *Glossário de biotecnologia vegetal*. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2000.
- UTINO, S.; CARNEIRO, I.F.; CHAVES, L.J. Adequação de técnicas de cultura *in vitro* na obtenção de mudas de bananeira (*Musa AAB*) cultivar Maçã. *Rev. Bras., Frutic.* v.23, n.2, p.409-412, 2001. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452001000200042>.
- VIANNA, G.R. *et al.* Rifampicina na descontaminação bacteriana de explantes de mamoeiro provenientes do campo. *Bragantia*, v.56, n.2, p.249-254, 1997.
- VIEIRA, S. *Introdução à bioestatística*. São Paulo: Campus, 1980.