

VARIAÇÃO DO PH NO MEIO DE CULTURA *IN VITRO* PARA EXPLANTES DE BANANEIRA CV. PRATA ANÃ*

Changes in pH medium used for growth of banana, cv. 'Prata Anã', explants in vitro

JOSEFA DIVA NOGUEIRA DINIZ**

ANTONIO NATAL GONÇALVES***

KEIGO MINAMI****

RESUMO

Variações de pH foram observados durante a preparação do meio de cultura e ao longo do cultivo in vitro de explantes de Bananeira (Musa, sp. AAB) cv. Prata Anã. Explantes de plantas estabelecidas in vitro foram inoculados em meio básico MS suplementado com 3,5 mg/l de BAP e 30 g/l de sacarose. No preparo do meio, a adição de ágar ocasionou um ligeiro aumento do pH (de 5,72 para 5,95). Todavia, o aquecimento para a diluição e homogeneização, bem como a esterilização em autoclave, reduziram o pH para um valor próximo do inicial (5,61). Na ausência dos explantes, o pH permaneceu estável durante o período observado de 60 dias, apenas com uma pequena redução, ficando em torno de 5,0. Por outro lado, com a inoculação dos explantes, o pH caiu rapidamente nos primeiros cinco dias, estabilizando-se em torno de 4,0 e permanecendo aproximadamente constante até o final do cultivo.

PALAVRAS-CHAVE: Explantes, banana, meio de cultivo, variação do pH.

SUMMARY

Changes on pH of the medium (MS with BAP, 3,5 mg/l, and sucrose, 30 g/l) were observed during its preparation and also in the course of the growth of 'Prata Anã' banana explants. The pH of the medium, with and without explants, was observed for a 60-day period. Medium pH increased from 5,72 to 5,95 with the addition of agar. However, heating and autoclave sterilization decreased it to approximately the initial value (5,61). The pH of the medium without explants lowered to 5,0 remaining unchanged during the 60-day period. On the other hand, with explant inoculation, the pH decreased rapidly during the first five days, from 5,61 to 4,00, remaining about the same for the rest of the observed period.

KEY-WORDS: Banana explants, culture medium, pH changes.

* Parte da Tese apresentada pelo primeiro autor à Universidade de São Paulo (USP) para obtenção do título de Doutor.

** Eng. Agr. M.Sc. Dep. de Fitotecnia-CCA/UFC. CP 12.168, e-mail: diva@base.com.br

*** Eng. Agr. Dr. Professor do Dep. de Ciências Florestais-ESALQ/USP.

**** Eng. Agr. Dr. Professor do Dep. de Horticultura-ESALQ/USP.

Outras medidas foram feitas diariamente até os 10 dias e em períodos de 10 dias até o final dos 60 dias, no meio com e sem explante.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pH da solução nutritiva inicialmente ajustado para 5.72, sofreu um aumento para 5.95 pela adição do ágar, reduzindo ligeiramente a acidez do meio. Com o aquecimento do meio para dissolver o ágar, houve uma pequena redução do pH de 5.95 para 5.86 (Figura 1). Este resultado, também foi observado por SINGHA¹³ e SKIRVIN *et al.*¹⁵). Segundo WILLIAMS *et al.*¹⁷, esses aumentos são mais significativos quando o pH inicial é ajustado para 5.5 ou menos, porém tem pouco efeito para pH acima dessa faixa.

Quando o meio foi autoclavado, o pH caiu de 5.86 para 5.61, que de acordo com SKIRVIN *et al.*¹⁵, depende do pH inicial e essa variação ocorre, principalmente, dentro da faixa mais usada no cultivo *in vitro* (5.60 a 5.80).

O pH foi modificado ao longo do tempo com e sem inoculação de propágulos. Na ausência do propágulo, houve uma pequena redução durante os 60 dias, fato também verificado por WILLIAMS *et al.*¹⁷ e MEZZETTI *et al.*⁸. Quando os propágulos foram inoculados houve uma rápida mudança no pH durante os primeiros 4 dias, quando caiu de 5.61 para 4.18 (Figura 2a). A partir dos 4 dias até os 60 dias, permaneceu estável em torno de 4.0 com pequenas oscilações (Figura 2b). Estes resultados confirmam o encontrado por SKIRVIN *et al.*¹⁵ e WILLIAMS *et al.*¹⁷, que afirmam que após a inoculação dos propágulos, há uma rápida alteração no pH do meio até alcançar um equilíbrio, que depende do tipo de propágulo e do tipo de ágar usado e que, independentemente do pH inicial, no equilíbrio, fica em torno de 4.0.

A redução do pH até a obtenção do equilíbrio é atribuída a diferentes causas que envolvem a atividade metabólica, no início do desenvolvimento dos propágulos em contato com o meio. Entre as quais, são consideradas reações de troca de íons entre o propágulo e o meio de cultivo (WILLIAMS¹⁶). De acordo com DOUGALL citado por WILLIAMS¹⁶, o balanço de NO_3^- e NH_4^+ e a absorção ou excreção diferenciada destes íons pelas plantas, participam na regulação do pH do meio. Quando as plantas absorvem íons NH_4^+ , íons H^+ são liberados, contribuindo para a redução do pH (SKIRVIN *et al.*¹⁵). Desta for-

ma, a rápida redução do pH observado nos primeiros dias de cultivo, pode ser causada pela intensa e preferencial absorção de NH_4^+ que ocorre no início do cultivo, até sua completa utilização, quando o propágulo passa, então a absorver maiores quantidades de NO_3^- , que podem provocar elevação do pH em períodos prolongados de cultivo (SINGHA *et al.*¹⁴; MEZZETTI *et al.*⁸). WILLIAMS *et al.*¹⁷ consideram como possível mecanismo de regulação do pH do meio, a absorção diferencial de K^+ com a correspondente liberação de H^+ .

CONCLUSÕES

1. No cultivo de explantes de bananeira *in vitro* no meio básico MS semi-sólido, o pH inicial (5.61) reduziu-se rapidamente atingindo o equilíbrio aos 5 dias de cultivo, ficando em torno de 4,0, e permanecendo constante até os 60 dias de cultivo.

2. Na ausência dos explantes de bananeira o pH do meio básico MS apresenta uma ligeira tendência a reduzir-se e isso ocorre a uma taxa constante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALDAS, L.S. Cultura de tecidos em bananeira. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE BANANEIRA PRATA 1., Cariacica, 1983. *Anais*. Cariacica: EMCAPA, 1983. p.106-112.
- CONGARD, B.; BEAUJARD, F.; VIEMONT, J.D. Les bruyères *in vitro*. VI. Croissance de *Calluna vulgaris* sur milieu strictement nitrique ou ammoniacal et cinétique du pH en fonction du développement des plantes. *Canadian Journal of Botany*, v. 64, p. 959-964, 1986.
- COX, E.A.; STOTZKY, G.; GOOS, R.D. In vitro culture of *Musa balbisiana* Colla embryos. *Nature*, v.185, n.4710, p.403-404, 1960.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. *Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas*. Brasília: ABCTP/EMBRAPA; CNPH, 1990. p. 99-169.
- LEVA, A.R.; BARROSO, M.; MURILLO, J. M. La multiplicazione del melo com la tecnica della micropropagazione. Variazione del pH in substrati diversi durante la fase di multiplicazione. *Rivista della Ortoflorofruitticoltura*, v. 68, p. 483-492, 1984.

6. 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, p.17-24, 1992.
7. MENGEL, K; KIRKBY, E.A. *Principles of plant nutrition*. 3 ed. Berne: International Potash Institute, 1982. 665p.
8. MEZZETTI, B.; ROSATI, P.; CASALICCHIO, G. *Actinidia deliciosa* C.F. Liang *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v.25, p.91-98, 1991.
9. MOHAN RAM, H.Y.; STEWARD, F. C. The induction of growth in explanted tissue of the banana fruit. *Canadian Journal of Botany*, v. 42, p. 1559-1579, 1964.
10. MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, v. 15, p. 473-497, 1962.
11. RÉDEI, G.P. 'Fructose effect' in higher plants. *Annals of Botany*, v. 38, p. 287-297, 1974.
12. SHEPHERD, K.; DANTAS, J.L.L.; ALVES, E.J. Melhoramento genético da bananeira. *Informe Agropecuário*, v. 12, n. 133, p. 11-19, 1986.
13. SINGHA, S. Influence of agar concentration on *in vitro* shoot proliferation of *Malus* sp. 'Almey' and *Pyrus communis* 'Seckel'. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v. 107, n. 4, p. 657-660, 1982.
14. _____ OBERLY, G.H.; TOWNSEND, E.C. Changes in nutrient composition and pH of the culture medium during *in vitro* shoot proliferation of crabapple and pear. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 11, p. 209-220, 1987.
15. SKIRVIN, R.M.; CHU, M.C.; MANN, M.L.; YOUNG, H.; SULLIVAN, J.; FERMANIAN, T. Stability of tissue culture medium pH as a function of autoclaving, time, and cultured plant material. *Plant Cell Reports*, v. 5, p. 292-294, 1986.
16. WILLIAMS, R.R. Mineral nutrition *in vitro* - a mechanistic approach. *Australian Journal of Botany*, v. 41, p. 237-251, 1993.
17. _____; TAJI, A.M.; WINNEY, K.A. The effect of *Ptilotus* plant tissue on pH of *in vitro* media. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 22, p. 153-158. 1990.

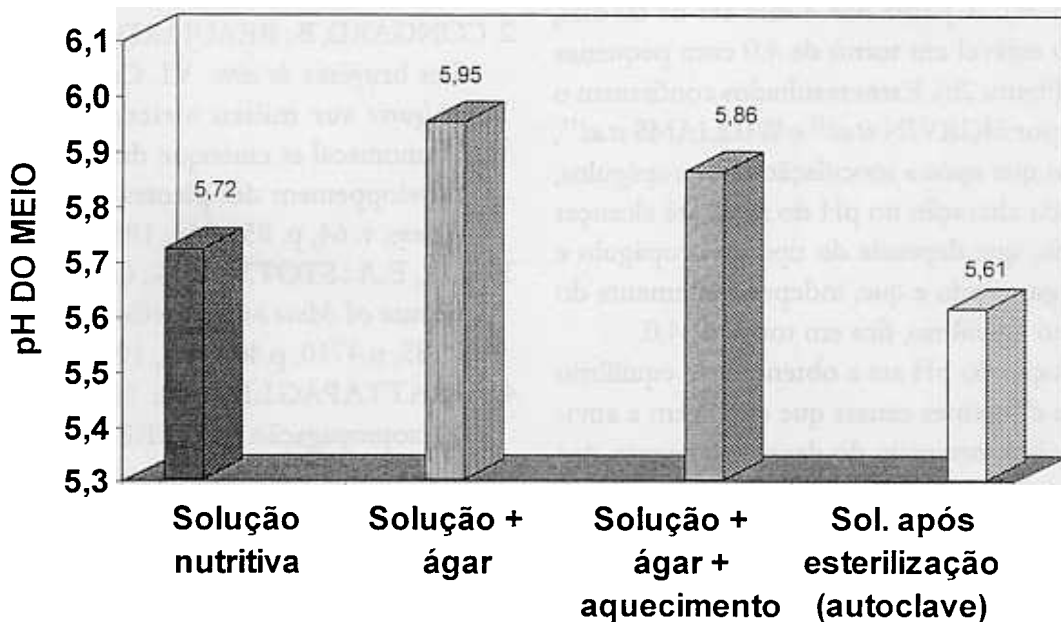


Figura 1 Variação do pH do meio básico de cultivo de Murashige & Skoog (1962), durante o preparo.

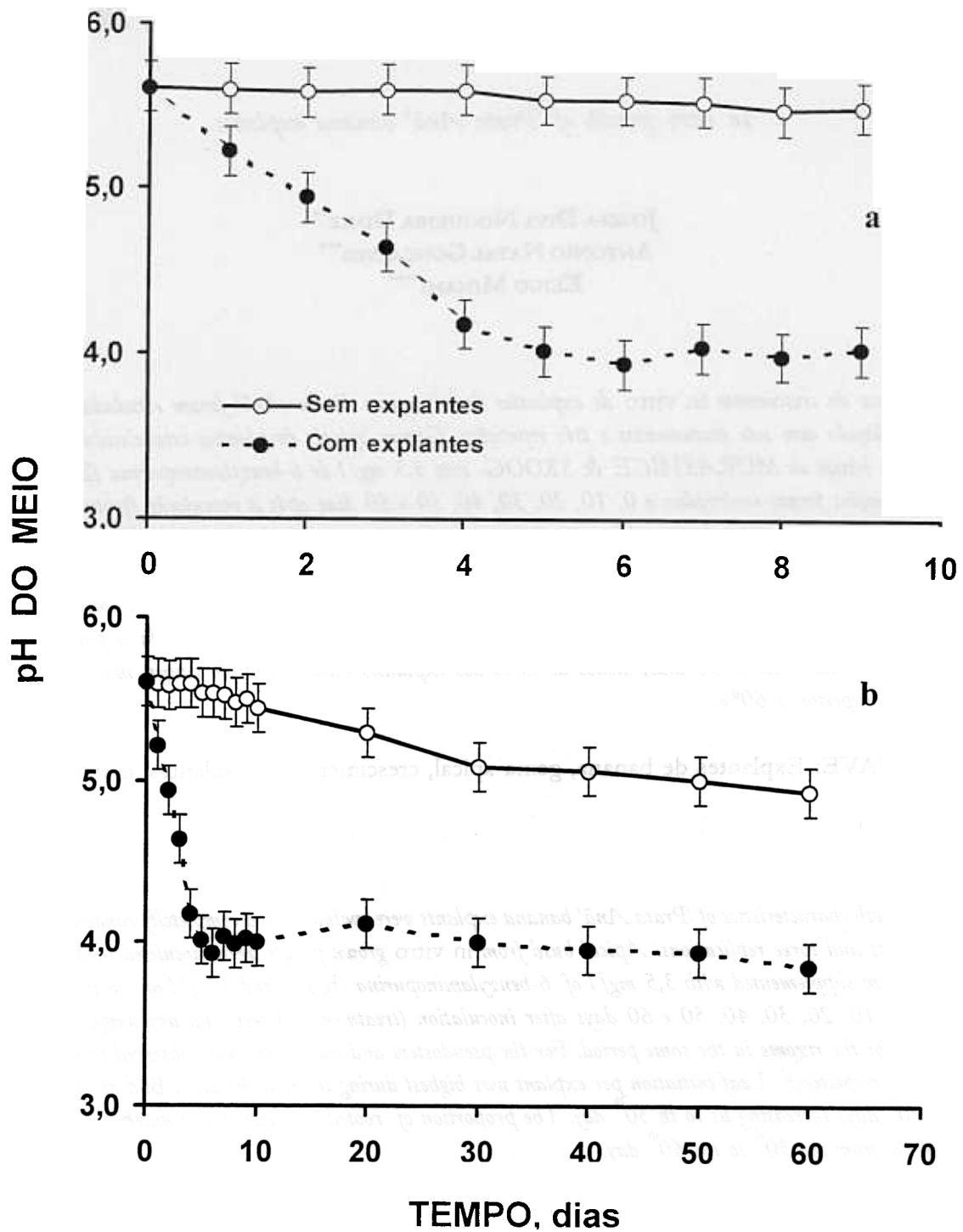


Figura 2 - Variação do pH do meio de cultivo em função do tempo, sem propágulos e com propágulos de bananeira cv. Prata Anã, de 0 - 10 dias (a) e de 0 - 60 dias (b).