UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

FERNANDA OLIVEIRA DOS SANTOS

MORFOFISIOLOGIA DA BANANEIRA cv. WILLIAMS CULTIVADA *IN VITRO* EM DIFERENTES INTENSIDADES DA RADIAÇÃO FOTOSSINTETICAMENTE ATIVA E CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE

SÃO LUÍS – MA
2026

FERNANDA OLIVEIRA DOS SANTOS

MORFOFISIOLOGIA DA BANANEIRA cv. WILLIAMS CULTIVADA *IN VITRO* EM DIFERENTES INTENSIDADES DA RADIAÇÃO FOTOSSINTETICAMENTE ATIVA E CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – PPGCIAG/UEMA, como parte dos pré-requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias.

Orientador: Prof. Dr. Eliemar Campostrini

Co-orientadora: Prof. Drª. Thais Roseli Corrêa

SÃO LUÍS - MA

2026

Santos, Fernanda Oliveira dos.

Morfofisiologia da bananeira cv. Williams cultivada in vitro em diferentes intensidades da radiação fotossinteticamente ativa e concentrações de sacarose./ Fernanda Oliveira dos Santos. - São Luís - MA, 2026.

68p.

Dissertação (Pós-Graduação em Ciências Agrárias) - Universidade Estadual do Maranhão, 2026 .

Orientador: Prof. Dr. Eliemar Campostrini.

1. Musa spp. 2. Micropropagação. 3. Eficiência fotossintética. 4. Aclimatação. I. Título.

CDU: 582.548.21:613.11

Elaborado por Luciana de Araújo - CRB 13/445

FERNANDA OLIVEIRA DOS SANTOS

MORFOFISIOLOGIA DA BANANEIRA cv. WILLIAMS CULTIVADA *IN VITRO* EM DIFERENTES INTENSIDADES DA RADIAÇÃO FOTOSSINTETICAMENTE ATIVA E CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – PPGCIAG/UEMA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias.

Orientador: Prof. Dr. Eliemar Campostrini

Co-orientadora: Prof. Drª. Thais Roseli Corrêa

Aprovada em: 26/02/2026

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
ELIEMAR CAMPOSTRINI
Data: 27/04/2026 09:45:07-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Eliemar Campostrini (Orientador)
Universidade Estadual do Maranhão

Documento assinado digitalmente
ANYELA MARCELA RIOS RIOS
Data: 27/04/2026 14:24:20-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Drª. Anyela Marcela Ríos Ríos
Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas

Documento assinado digitalmente
FABRICIO DE OLIVEIRA REIS
Data: 27/04/2026 10:05:41-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Fabrício de Oliveira Reis
Universidade Estadual do Maranhão

RESUMO

A bananeira (*Musa* spp.) é uma frutífera tropical de grande relevância econômica e social. Todavia, a expansão da cultura é limitada principalmente pelos métodos convencionais de propagação, o que torna a micropropagação uma estratégia fundamental para a produção em larga escala de mudas com elevada qualidade fitossanitária. Nesse contexto, o ajuste da concentração de sacarose e da intensidade da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) no cultivo *in vitro* contribui para a otimização da eficiência fotossintética e do crescimento das plântulas. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o impacto da concentração de sacarose e da RFA na maquinaria fotossintética e crescimento *in vitro* da bananeira 'Williams', bem como os efeitos destes fatores na fase de aclimatação das plântulas. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x3, correspondendo à combinação de três concentrações de sacarose (0, 15 e 30 g L^{-1}) com três intensidades de RFA (60, 120 e 180 µmol m^{-2} s^{-1}). Aos 30 dias de cultivo *in vitro*, foram avaliados o crescimento, as trocas gasosas, a eficiência fotoquímica, os pigmentos fotossintéticos, e as características anatômicas. Os resultados indicaram que a ausência total de sacarose, independente da intensidade de RFA, limitou a produção de biomassa e o crescimento das plântulas. Entretanto, os tratamentos com a combinação de 120 µmol m^{-2} s^{-1} de RFA e 15 g L^{-1} de sacarose e o tratamento com a combinação de 180 µmol m^{-2} s^{-1} e 30 g L^{-1} de sacarose proporcionaram melhorias no processo fotossintético, e no crescimento, com maiores valores de índice fotossintético e maiores teores de pigmentos fotossintéticos, e incremento no comprimento da parte aérea, área foliar, massa fresca da parte aérea. Após o período de cultivo *in vitro*, as plântulas foram transferidas para casa de vegetação, onde permaneceram por 30 dias em fase de aclimatação. Nesta fase *ex vitro*, observou-se 100% de sobrevivência das plântulas, independente dos tratamentos aplicados na etapa *in vitro*. No entanto, o crescimento e o vigor das plântulas em condições *ex vitro* foram influenciados pela interação entre a intensidade de RFA e a concentração de sacarose utilizadas durante o cultivo *in vitro*, com melhor desempenho nos tratamentos com 120 µmol m^{-2} s^{-1} associados a 15 g L^{-1} de sacarose e 180 µmol m^{-2} s^{-1} associados a 30 g L^{-1}. Dessa forma, conclui-se que o cultivo fotomixotrófico da bananeira var. 'Williams', sob RFA 120 e 180 µmol m^{-2} s^{-1} e com concentrações de sacarose de 15 e 30 g L^{-1}, favorece a eficiência fotossintética, e o crescimento, tanto na fase *in vitro* quanto durante a aclimatação, e constitui uma estratégia eficiente para sistemas de micropropagação desta variedade.

Palavras-chave: *Musa* spp; micropropagação; eficiência fotossintética; aclimatação

ABSTRACT

The banana plant (*Musa* spp.) is a tropical fruit crop of great economic and social importance. However, the expansion of its cultivation is mainly limited by conventional propagation methods, making micropropagation a fundamental strategy for the large-scale production of seedlings with high phytosanitary quality. In this context, adjusting the sucrose concentration and the intensity of photosynthetically active radiation (PAR) in *in vitro* cultivation contributes to optimizing photosynthetic efficiency and seedling growth. Thus, this work aimed to evaluate the impact of sucrose concentration and PAR on the photosynthetic machinery and *in vitro* growth of the 'Williams' banana plant, as well as the effects of these factors on the seedling acclimation phase. Thus, the experiment was conducted in a completely randomized design, in a 3x3 factorial scheme, corresponding to the combination of three sucrose concentrations (0, 15, and 30 g L^{-1}) with three PAR intensities (60, 120, and 180 µmol m^{-2} s^{-1}). After 30 days of *in vitro* cultivation, growth, gas exchange, photochemical efficiency, pigments, and anatomical characteristics were evaluated. The results indicated that the total absence of sucrose, regardless of the PAR intensity, limited biomass production and seedling growth. However, treatments with the combination of 120 µmol m^{-2} s^{-1} of RFA and 15 g L^{-1} of sucrose, and the treatment with the combination of 180 µmol m^{-2} s^{-1} and 30 g L^{-1} of sucrose, provided improvements in the photosynthetic process and growth, with higher values of photosynthetic index and higher contents of photosynthetic pigments, and an increase in shoot length, leaf area, and shoot fresh mass. After the *in vitro* cultivation period, the seedlings were transferred to a greenhouse, where they remained for 30 days in the acclimatization phase. In this *ex vitro* phase, 100% seedling survival was observed, regardless of the treatments applied in the in vitro stage. However, the growth and vigor of seedlings under *ex vitro* conditions were influenced by the interaction between the intensity of PAR and the sucrose concentration used during in vitro cultivation, with better performance in treatments with 120 µmol m^{-2} s^{-1} associated with 15 g L^{-1} of sucrose and 180 µmol m^{-2} s^{-1} associated with 30 g L^{-1}. Thus, it is concluded that the photomixotrophic cultivation of the banana var. 'Williams', under PAR of 120 and 180 µmol m^{-2} s^{-1} and with sucrose concentrations of 15 and 30 g L^{-1}, favors photosynthetic efficiency and growth, both in the *in vitro* phase and during acclimation, and constitutes an efficient strategy for micropropagation systems of this variety.

Keywords: *Musa* spp; micropropagation; photosynthetic efficiency; acclimation

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL **13**
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA **15**
2.1 Origem da bananeira 15
2.2 Características gerais da bananeira 15
2.3 Importância econômica 16
2.4 Micropropagação da bananeira 18
2.5 Influência das troca gasosas no cultivo *in vitro* da bananeira 19
2.6 Impacto da sacarose no cultivo *in vitro* 21
2.7 Importância da intensidade luminosa no cultivo *in vitro* 22
8. REFERÊNCIAS BILIOGRÁFICAS **26**
1. INTRODUÇÃO **33**
2. OBJETIVOS **34**
2.1 Objetivo geral 34
2.2 Objetivos específicos 34
3. MATERIAL E MÉTODOS **35**
3.1 Estabelecimento e multiplicação das brotações de bananeira 35
4.4 Variáveis analisadas 37
4.4.1 Área foliar e variáveis de massas fresca e seca 37
4.4.2 Caracterização anatômica 38
4.4.3 Índice estomático 38
4.4.4 Pigmentos fotossintéticos 39
4.4.5 Eficiência fotoquímica, trocas gasosas e índice SPAD 39
4.4.6 Análises estatísticas 40
5. RESULTADOS **41**
6. DISCUSSÃO **51**
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS **65**

A Deus, por guiar meu caminho e sustentar meus passos.

À minha mãe, Rosangela, a quem dedico este trabalho como quem devolve, em forma de conquista, tudo aquilo que um dia recebeu em forma de amor, cuidado e renúncia. Este trabalho é reflexo da sua força e do seu apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

Quero tornar público os meus agradecimentos e declarar meu amor a Deus, pelo dom da vida e pela coragem e força concedidas para que eu chegasse até aqui. Tu és o meu sustento e minha fortaleza.

À minha família, agradeço o amor, apoio e torcida, especialmente à minha mãe, Rosangela. Amo-a imensamente! Sou grata por cada palavra de incentivo e por todo suporte em meio às dificuldades ao longo dessa jornada. Ao meu pai, Francisco José Carvalho dos Santos (*in memoriam*), sei o quanto ele torcia pela realização dos meus sonhos. Se estivesse aqui, certamente estaria muito orgulhoso. Aos meus avós, Tereza **e** José, que cuidaram de mim desde criança e sempre me incentivaram, vocês são meu lar. À minha irmã, Teresa Raquel, e às minhas sobrinhas, Julia e Jamilly, agradeço o carinho e por tornarem minha vida ainda mais especial.

Ao meu orientador Eliemar Campostrini, por todo direcionamento e apoio durante o desenvolvimento deste trabalho. À minha coorientadora, Thais Roseli Corrêa, por me acolher em seu grupo de pesquisa e pela confiança, orientação e contribuições ao longo deste trabalho.

Agradeço à minha amiga Adriely Sá Menezes, que caminhou ao meu lado neste desafio. Nossa amizade vai muito além do ambiente acadêmico. Obrigada por me apoiar nos dias difíceis, por celebrar comigo cada conquista e por cada momento ao longo de tantos anos de amizade. Com certeza a tua amizade tornou essa trajetória mais leve.

Ao Thainan Barros, pela amizade e por cada palavra de incentivo, por não medir esforços para me ajudar durante toda essa trajetória e até antes dela. A tua amizade tornou a minha jornada mais divertida. Sou muito grata!

Ao Laboratório de Cultura de Tecidos – LCT/UEMA, e todos os amigos que fazem parte da equipe e que muito me ajudaram: Adriely Sá, Thainan Barros, Matheus Henrique, Thayanna Vieira, Cinthya Veras, Myrella Araújo, Régilla Reis e Osmar Vasconcelos. Toda a ajuda de vocês foi fundamental para tornar este sonho possível.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. 36
Figura 2..... 36
Figura 3...... 42
Figura 4...... 44
Figura 5...... 45
Figura 6...... 47
Figura 7...... 49
Figura 8...... 51
Figura 9........ 53
Figura 10...... 54
Figura 11. 55

LISTA DE SIGLAS

ANA - Ácido naftalenoacético

BAP - 6- benzilaminopurina

Cv – Cultivar

Fv/Fm - Rendimento quântico máximo do FSII

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

MFPA - Massa fresca da parte aérea

MFR - Massa fresca de raiz

MSPA - Massa seca da parte aérea

MSR - Massa seca de raiz

PI - Índice fotossintético

PFPA- Produção de fotoassimilados da parte aérea

PFR- Produção de fotoassimilados da raiz

RC/ABS - Densidade de centros de reação ativos do fotossistema II

RFA - Radiação fotossisteticamente ativa

Capítulo 1

Referencial Teórico

1. INTRODUÇÃO GERAL

A bananeira (*Musa* spp.) pertence à família *Musaceae*, e é uma planta cultivada em regiões tropicais e subtropicais (Deltour et al., 2017). Notadamente nos trópicos, esta espécie é considerada de grande importância como fonte alimentar, e pode ser utilizada como produtora de fibra, e como planta ornamental. A produção de banana possui maior importância social e econômica no Brasil, e é superada apenas pelas frutíferas cítricas (Gerum et al., 2020; EMBRAPA, 2021).

O Brasil é considerado o quinto maior produtor mundial de banana, somente superado pela Índia, China e Indonésia (Moura, 2022). No Brasil, o consumo de banana pode ser superior a 25 kg/ano por pessoa (Araujo et al., 2019). Ainda, de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2023, a balança comercial brasileira obteve uma produção de aproximadamente 6.854.222 toneladas, com área colhida de 457.910 hectares (14 ton ha^{-1}). Na região nordeste, a produção foi de 2.408.775 toneladas, com área colhida de 183.960 hectares (13 ton ha^{-1}).

Na produção de bananeira, um obstáculo observado é o tipo propagação, que é predominantemente de forma vegetativa. Este tipo de propagação é feita a partir da separação de brotos do rizoma da planta-mãe, e resulta em um baixo rendimento. Ademais, neste sistema de propagação tradicional (macropropagação) pode ocorrer uma elevada disseminação de pragas, fungos e nematoides (Sagi et al., 1998; Roels et al., 2005), e assim resultar em perdas de até 100% na produtividade (Silva et al., 2013). Por ser realizada em condições assépticas e controladas, a micropropagação é uma técnica de cultura de tecidos vegetais que permite a multiplicação rápida e em larga escala de plantas. Portanto, é uma ferramenta importante para superar os obstáculos de espécies que possuem a propagação do tipo vegetativa. No caso da bananeira, a micropropagação envolve a seleção criteriosa dos explantes, a desinfestação e a introdução em meios de cultura estéreis para multiplicação, enraizamento e posterior aclimatação (Pereira, 2012). Essa técnica reduz drasticamente a transmissão de patógenos e possibilita a obtenção de mudas com alta qualidade fitossanitária, elevado vigor, uniformidade e melhor crescimento do sistema radicular (Santos et al., 2015).

Apesar dos inúmeros benefícios da micropropagação, a forma convencional, que é a propagação em frascos completamente vedados, com reduzida intensidade da radiação fotossinteticamente ativa (RFA), e com elevada concentração de sacarose no meio de

cultivo, pode apresentar distúrbios anatômicos e metabólicos, os quais podem comprometer a capacidade fotossintética e crescimento do material vegetal cultivado *in vitro* (Xiao e Kozai, 2004; Fuentes et al., 2007). Para superar estes problemas, algumas alterações no sistema de cultivo *in vitro* podem ser realizadas, como exemplo o sistema de cultivo do tipo fotomixotrófico. No cultivo fotomixotrófico tem-se uma redução na concentração do carboidrato no frasco de cultivo (sacarose), uma elevação nas trocas gasosas no interior do frasco, e a alteração na qualidade e na intensidade da RFA. Com estas modificações no ambiente *in vitr*o, pode-se elevar a assimilação fotossintética do carbono e a eficiência fotoquímica, o que pode proporcionar planta com maior vigor metabólico e maior tolerância às variações ambientais supra e infra-ótimas durante a aclimatação *ex vitro* (Xiao e Kozai, 2004; Alves et al., 2022; Silva et al., 2024; Mu et al., 2025).

Assim, retirar completamente ou reduzir a concentração de sacarose no meio de cultivo constitui uma estratégia utilizada para estimular o metabolismo fotoautotrófico e aumentar a rusticidade das plantas cultivadas já na condição *in vitro* (Kozai; Kubota, 2001). Em contrapartida, em determinadas espécies, as concentrações elevadas desse carboidrato podem prejudicar a síntese de clorofila (Santos et al., 2020). Além disso, as condições como maior disponibilidade de CO_2, menor acúmulo de etileno e redução da umidade relativa e da sacarose no interior dos frascos, associadas ao incremento da intensidade e qualidade da radiação fotossinteticamente ativa, características estas do ambiente fotoautotrófico, podem contribuir para melhorar a capacidade fotossintética e favorecer o crescimento vegetal (Kozai; Kubota, 2001).

Apesar de diversos estudos abordarem cada fator isoladamente, para a espécie *Musa* spp., ainda existem poucas investigações sobre como a combinação de sacarose e da RFA e como a forma integrada destes dois fatores podem afetar a bananeira cultivada em condição *in vitro*. O trabalho de Costa et al. (2009) foi um dos poucos estudos que avaliaram simultaneamente diferentes concentrações de sacarose (15 e 30 $g\,L^{-1}$) e a intensidade da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) na multiplicação e enraizamento de explantes da bananeira das cultivares ‘Caipira’ e ‘Pacovan’. No entanto, o efeito combinado desses fatores sobre o crescimento e a morfofisiologia das plantas de bananeira não foram investigados de forma detalhada, o que evidencia a necessidade de estudos adicionais. As pesquisas mais recentes consideram a RFA e a sacarose

separadamente ou em protocolos distintos (Rocha, 2005; Guambe et al., 2024; Erol et al., 2025),

Assim, o equilíbrio adequado entre a disponibilidade de sacarose e a RFA pode ser decisivo para melhorar o desempenho fisiológico das plântulas de bananeira no cultivo *in vitro*. Diante desse contexto, este trabalho tem como objetivo avaliar o impacto da concentração de sacarose e da RFA na maquinaria fotossintética e crescimento *in vitro* da bananeira. Tal avaliação visa otimizar as condições de cultivo para obtenção de mudas micropropagadas com maior eficiência fotossintética, mais vigorosas, e adaptáveis às condições *ex vitro*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Origem da bananeira

A bananeira (*Musa* spp.) é originária do Sul e Sudeste do continente Asiático, notadamente entre a Índia até a Papua Nova Guiné, incluindo a Malásia, Indonésia e as Filipinas (Perrier et al, 2011), e é uma planta típica da zona tropical. Portanto, em quase todo o Brasil, se tem condições climáticas satisfatórias para o cultivo desta espécie (Landau, 2020). Assim, destacam-se as regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, grande parte da região Sudeste e alguns microclimas do Sul adequados para a produção da bananeira (Vieira et al., 2010).

No Brasil, os povos originários foram os primeiros a consumir a banana *in natura*, uma vez que este fruto é muito digestivo, rico em amido e frequentemente este fruto é cozido. Na época, outros nomes regionais foram dados às bananas, as quais precisavam ser preparadas antes do consumo. Assim observam-se nomes como “Branco”, Pacoba" ou "Pacova” (Souza Júnior, 2019).

2.2 Características gerais da bananeira

A bananeira (*Musa* spp.), pertencente à família *Musaceae,* é uma planta perene do grupo das monocotiledôneas, e apresenta como característica um caule subterrâneo curto, denominado rizoma. O sistema de raízes é formado por numerosas radicelas distribuídas pela superfície externa, responsáveis pela absorção de água e nutrientes minerais, os quais são essenciais para o crescimento e o desenvolvimento da planta (Nomura et al., 2017). Além disso, as características do solo, as condições climáticas, o tipo de manejo e a variação genética influenciam diretamente o crescimento e a produtividade final desta

espécie (Lorena, 2015). Nesse contexto, a bananeira necessita de condições climáticas específicas, como a temperatura em torno de 21ºC a 30ºC, com mínimas não inferiores a 16ºC e máximas não superiores a 38ºC. As temperaturas inferiores a 15ºC e acima de 35ºC, inibem o crescimento da planta. Para uma adequada produtividade, a precipitação pluviométrica necessita ser bem distribuída (em torno de 1.200 a 2.200 mm ano^{-1}), bem como a umidade relativa deve estar acima de 80% (EMBRAPA, 2023).

O rizoma da bananeira constitui o eixo central da planta, e é essencial para o desenvolvimento vegetativo. A partir dele, desenvolvem-se as raízes subcilíndricas, organizadas em feixes, que se estendem superficialmente, e influenciam o estabelecimento das mudas e o manejo das plantações (Florentino, 2020). O crescimento do rizoma é simpodial, e a partir dele surgem rebentos, predominantemente nas áreas externas. Como os frutos da bananeira são partenocárpicos, a propagação é principalmente vegetativa, seja por meio de fragmentos de rizoma contendo brotos, ou por técnicas de micropropagação em laboratório (Silva, 2016).”

As folhas da bananeira possuem grande superfície e a tonalidade pode variar do verde-claro ao verde-escuro, com um total aproximado de 25 a 35 folhas por ciclo. Em média, uma nova folha é emitida a cada 7 a 10 dias (Lima et al., 2012). Após a emissão de um número suficiente de folhas, a planta inicia a floração por meio do lançamento da inflorescência terminal, que emerge dentro do pseudocaule e se curva em direção à radiação solar. Esta estrutura é protegida por brácteas geralmente ovais e avermelhadas, e constitui uma extensão do caule subterrâneo.

A espiga é composta por flores completas, porém unissexuais. Na mesma inflorescência, podem ocorrer flores femininas, masculinas e, raramente, hermafroditas (Embrapa, 2000; Moreira, 1999). As flores da bananeira se desenvolvem de forma sequencial, com as flores femininas surgindo primeiro, seguidas pelas masculinas, as quais são localizadas na extremidade distal da inflorescência. Cada nó da espiga dá origem a 12 a 20 flores femininas, que se organizam em unidades chamadas “mãos”, e, dessa forma, os cachos se formam individualmente, e podem conter entre 5 e 15 mãos. O pedúnculo atinge aproximadamente 1,5 m, terminando na região conhecida como coração da bananeira, onde se concentram as flores masculinas (Paull; Duarte, 2011).

2.3 Importância econômica

A Índia tem a produção mundial de banana que corresponde aproximadamente a 26% do total da produção mundial, em seguida no *ranking*, está a China, com uma

produção aproximada em 10%. Neste *ranking*, a Indonésia possui 8% da produção mundial e o Brasil ocupa o 4º lugar, com cerca de 6% da banana produzida no mundo (FAO, 2021). O estado de São Paulo se destaca como principal produtor, com média de 991.836 toneladas de frutos numa área de 46.416 hectares (21,3 ton ha^{-1}), e o Maranhão se encontra na posição 19° no *ranking* de produção nacional, com média de 75.872 toneladas de frutos em uma área de 4.514 hectares (16,8 ton ha^{-1}) (IBGE, 2022).

No Brasil, as cultivares de bananas 'Prata' e 'Nanica' predominam nas áreas de plantio, bem como o mercado consumidor. Dentre as bananas do tipo Prata, a 'Prata-Anã' é a principal cultivar explorada comercialmente. Com relação à bananeira 'Williams', tem-se a cultivar do grupo Cavendish, que ocupa posição de destaque no mercado nacional e internacional, devido às adequadas características agronômicas e sensoriais (Garcês-Moncayo et al., 2025). Essa bananeira 'Williams' pertence ao subgrupo Nanica, e difere da 'Grande Naine' principalmente pelo porte mais elevado e pseudocaule mais robusto (Saúco et al., 1995).

A cultura da bananeira é propagada por todo território, por ser considerada um alimento básico, colabora para a segurança alimentar, e, por conta do comércio nos mercados locais, gera renda e emprego para as populações rurais (Sousa et al, 2019). A fruta pode ser destinada tanto para consumo *in natura* como para indústria, na forma de fruta desidratada (Almeida, 2011; Santos et al., 2010; Souza, 2002), doces, aguardente, banana passa, polpa, entre outros produtos. Além disso, a partir da bananicultura, podem ainda ser aproveitados subprodutos como o palmito, as fibras para artesanato, os móveis, os objetos de decoração, o papel e os polímeros naturais (Alvarenga, 2011; Alves et al., 2016;).

Devido ao baixo teor calórico, a banana tem grande importância nutricional, pois contém satisfatória quantidade de potássio e várias vitaminas como (A, B e C), minerais (cálcio, potássio e ferro), carboidratos (23 a 32 g/100g), proteínas (1,0 a 1,3 g/100g), gordura (0,37 a 0,48 g/100g) e baixo teor calórico (90 a 120 kcal/100g) (Sousa et al, 2012). Os frutos possuem vitamina A, vitamina C e vitaminas do complexo B, possui um elevado teor de fibras, proteínas, carboidratos, cinzas, lipídeos, potássio, fósforo, magnésio, sódio, e compostos bioativos, como exemplo os polifenóis (Alcântara et al., 2014; Ranjha, 2020). Ainda, os frutos da bananeira possuem características peculiares de aroma e sabor que fazem esta fruta ser bastante apreciada pela grande maioria da população, desde as classes mais baixas, até aquelas com alto poder aquisitivo (EMBRAPA, 2009). Além do fruto, as demais partes obtidas da bananeira como as

cascas, o pseudocaule, o rizoma, e as folhas são utilizadas em diversas indústrias, como exemplo a alimentícia e a *têxtil* (Adeniyi et al., 2021; Ighalo; Adeniyi, 2019).

2.4 Micropropagação da bananeira

A propagação vegetativa convencional da bananeira é lenta e apresenta vários impactos negativos, os quais incluem problemas fitossanitários, manejo inadequado e número reduzido de cultivares com alto potencial produtivo, e adaptadas às condições ambientais de cultivo. Estes problemas contribuem para a baixa produtividade da bananeira brasileira (Lima et al., 2018; AGRIANUAl, 2021). Dentre as condições ambientais relacionadas aos estresses abióticos, destacam-se o déficit hídrico e as temperaturas extremas (Abdoussalam et al., 2023). Entre os problemas bióticos relacionados à propagação convencional da bananeira, além da ocorrência de pragas, merecem destaque as doenças causadas por fungos, como a Sigatoka Amarela (*Mycosphaerella musicola* Leach), a Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) e o mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*), que possuem grande relevância para a cultura (Silva et al., 2016; Alakonya et al., 2018).

Os problemas supracitados e relacionados à macropropagação podem ser resolvidos por meio da técnica de cultura de tecidos (Ali et al., 2011; Esposito-Polesi, 2020). Dentro da cultura de tecidos, tem-se a micropropagação, em que os explantes mais utilizados são as gemas oriundas de rizomas (Nkengla-Asi et al., 2021). Este método é eficiente para a produção rápida de mudas de excelente qualidade, e, o caso específico da bananeira, o cultivo *in vitro* passou por avanços expressivos ao longo das décadas. Os primeiros registros datam da década de 1970, com estudos pioneiros que investigaram a formação de brotos adventícios após a decapitação do ápice do caule (Ma; Shii, 1972). Já na década de 1980, as pesquisas em banana envolveram a multiplicação de Musa a partir de pontas de extremidades de caule excisadas (Cronauer & Krikorian, 1982). No mesmo período, ocorreu o desenvolvimento da embriogênese somática em banana (Jarret; Gawel, 1985). Na década de 1990, para a regeneração de plantas de variedades comerciais, foram estabelecidas culturas de células embriogênicas em suspensão (Novak et al., 1993; Strosse et al., 1995).

O uso de reguladores de crescimento também foi explorado para melhorar a multiplicação *in vitro* da bananeira (Oliveira, 2004; Santos, 2004). A partir dos anos 2000, a tecnologia avançou significativamente com o uso de biorreatores para a micropropagação em larga escala desta espécie (Cheng-Wei, 2011). Atualmente, as

pesquisas continuam a explorar novas técnicas e perspectivas futuras, como evidenciado pelos recentes estudos sobre biotecnologia e o uso crescente de biorreatores para otimizar a produção de mudas de bananeira (Gonzalez et al., 2020; Erol et al., 2023).

Esses avanços destacam a importância contínua da cultura de tecidos para o melhoramento genético e a produção sustentável desta importante espécie. A cultura de tecidos é uma técnica que permite cultivar células, tecidos, órgãos ou partes deles por um período definido, em meio nutritivo, sob ambiente estéril e com controle rigoroso de temperatura, fotoperíodo, umidade e da intensidade/qualidade da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) (Carvalho et al., 2011). Apesar da ampla aplicação da cultura de tecidos, a micropropagação convencional pode apresentar limitações que afetam o crescimento e o desenvolvimento das plantas. Um exemplo que pode limitar o cultivo o crescimento *in vitro* na condição convencional é o uso de frascos hermeticamente fechados, que reduzem as trocas gasosas e favorece o acúmulo de etileno, bem como a reduzida intensidade da RFA dentro do frasco (Gonzalez et al., 2020).

2.5 Influência das trocas gasosas no cultivo *in vitro* da bananeira

No cultivo *in vitro* de plantas, a dinâmica das trocas gasosas (CO_2, O_2, H_2O e etileno) dentro do frasco de cultura são determinantes para o sucesso da micropropagação (Gonçalves et al., 2008; Ferreira, 2021). Adicionalmente, a utilização de tampas com membranas microporosas tem se mostrado eficaz na regulação da concentração desses gases no interior dos frascos de cultivo. Estes tipos de vedação permitem uma maior ventilação, e favorecem a competência fotossintética, e o crescimento das plantas (Rodrigues et al., 2012).

Os estudos recentes indicam que esse tipo de tampa com membrana porosa otimiza as trocas gasosas, e resulta, em maior entrada de CO_2 no frasco quando o explante recebe a RFA, o que é benéfico para a fotossíntese (Miranda et al., 2024). Estas tampas porosas promovem a redução de etileno no interior do frasco, uma vez que este gás pode induzir senescência prematura das plantas (Martins et al., 2020), e podem alterar a morfologia e o crescimento das plantas, por meio da diminuição da expansão foliar, bem como o comprimento dos brotos (Jackson et al., 1991; Saldanha et al., 2012; Pinheiro et al., 2013).Vollmer et al. (2024) estudaram plantas *in vitro* de *Solanum tuberosum*, e observaram um aumento significativo do acúmulo de etileno no interior de frascos hermeticamente fechados.

Em frascos hermeticamente fechados ocorre diminuição da transpiração e, quando a planta recebe radiação fotossiteticamente ativa (RFA), a concentração de CO_2 no interior do fraco fechado é reduzida drasticamente, o que limita a fotossíntese (Askari et al., 2022). Em condições de cultivo em ambiente heterotrófico ou fotomixotrófico, o explante utiliza os açúcares presentes no meio de cultura como fonte de carbono (Nguyen; Kozai, 2005; Xiao et al., 2011). Em plantas de *Aechmea blanchetiana* (Baker), propagadas *in vitro* sob cultivo fotoautotrófico e fotomixotrófico, houve uma quantidade maior de raízes, quando as plântulas foram mantidas em condições com maior troca gasosa, independentemente da quantidade de sacarose no meio (Martins et al. 2020). De forma semelhante, Silva et al. (2024) verificaram que o aumento das trocas gasosas favoreceu o crescimento, a taxa fotossintética e o metabolismo primário de *Eryngium foetidum***.** Alves et al. (2022) demonstraram que em *Ananas comosus*, o uso de tampas com membranas permeáveis associado a baixa concentração de sacarose (10 g L^{-1}), promovem maior crescimento, aumento da capacidade fotossintética, e melhores índices de aclimatação das plantas.

Em sistemas de cultivo *in vitro* sob condições heterotróficas e sem o uso de tampas com membranas porosas, podem ocorrer distúrbios fisiológicos e alterações anatômicas nas plantas. Esses efeitos decorrem da elevada umidade relativa interna dos frascos, da limitação entre trocas gasosas e da reduzida intensidade da RFA. Tais condições em frasco fechados podem comprometer a funcionalidade dos estômatos, interferindo na transpiração e na fotossíntese, além de induzir hiperidricidade, que é caracterizada pelo acúmulo excessivo de água nos tecidos vegetais (Carvalho et al., 2011; Zobayed et al., 2001). Estudos de Saldanha et al. (2012) demonstram que a redução das trocas gasosas nos frascos de cultivo pode resultar em alterações anatômicas, como a redução do número e da funcionalidade dos estômatos, como observado em plântulas de bananeira (*Musa* spp) cultivadas *in vitro* (Vendrame et al., 2022). Essas modificações anatômicas e fisiológicas comprometem o crescimento das plantas durante a fase *in vitro* e prejudicam as plantas microprogadas durante a fase da aclimatação.

Por fim, na cultura da bananeira cultivada em condições *in vitro*, os estudos sobre as trocas gasosas são praticamente inexistentes. Embora haja pesquisas que avaliem as trocas gasosas em mudas cultivadas *ex vitro*, estas pesquisas não refletem as condições do ambiente controlado. Esta lacuna na literatura evidencia a necessidade de estudos específicos que avaliem as respostas fisiológicas das mudas de bananeira sob condições *in vitro*. Estas informações são essenciais para otimizar protocolos, pois como já

mencionado, a implementação de tampas com membranas microporosas nos frascos de cultivo *in vitro* é uma estratégia eficaz para otimizar as condições microambientais no interior destes tipos de frascos. Esta otimização visa promover a competência fotossintética, e o crescimento das plantas, e dessa forma, aumentar a eficiência da micropropagação.

2.6 Impacto da sacarose no cultivo *in vitro* da bananeira

A sacarose tem uma função importante no cultivo *in vitro*, pois fornece energia e carbono percussores para biossíntese de componentes estruturais e funcionais da planta. (Park et al., 2023; Akyüz., 2025). Entre as diversas fontes de carboidratos utilizadas no cultivo *in vitro*, a glicose e a frutose tendem a favorecer o crescimento vegetativo, enquanto a sacarose se destaca por promover um melhor crescimento/desenvolvimento do sistema radicular (Bahmani et al., 2009) Isso ocorre porque a sacarose atua não apenas como fonte de energia, mas como um regulador fisiológico, que funciona como molécula sinalizadora, e influencia a expressão de genes associados à morfogênese e ao crescimento (Rolland et al., 2006: Aluko et al., 2021).

O uso dessa fonte de carbono requer cuidados quanto à concentração empregada, pois concentrações excessivas podem comprometer não somente o crescimento e a emissão de raízes, como o crescimento da parte aérea das plantas (Galdiano Júnior et al., 2013; Alves et al., 2022). As concentrações mais reduzidas desta fonte de carbono, quando combinados com sistemas que promovem trocas gasosas, podem favorecer um ambiente autotrófico, uma vez que, não afeta negativamente o processo fotossintético, e ao mesmo tempo fornece energia e fonte de carbono (Kozai et al., 2005). Em concentrações adequadas da sacarose, a produção de biomassa pode ser potencializada, bem como o estímulo da diferenciação celular, especialmente nas fases de multiplicação e alongamento de brotos pode ser observado (Siqueira et al., 2011).

Os estudos relacionados à bananeira confirmam que a resposta no cultivo *in vitro* em relação à presença da sacarose no meio de cultivo é dose-dependente. Como exemplo, em experimento realizado por Guambe et al. (2024), foi observado que as concentrações entre 20 e 30 $g \cdot L^{-1}$ foram as mais adequadas para o crescimento de brotos de bananeira (cv. *Grande Naine*), e promoveram maiores médias de altura, número de folhas e massa fresca. As concentrações elevadas (acima de 40 $g \cdot L^{-1}$) mostraram-se prejudiciais, indicando efeitos osmóticos negativos, o que ocorreu diminuição do crescimento. De modo semelhante, Siqueira et al. (2001) reportaram que, nas fases finais de enraizamento,

a redução da sacarose de 30 para 15 $g \cdot L^{-1}$ promoveu aumento na sobrevivência das mudas durante a aclimatação, sugerindo que ajustes nas doses ao longo das fases do cultivo podem beneficiar o desempenho fisiológico das plantas na condição *ex vitro*.

Os efeitos da sacarose também podem estar relacionados ao tipo de explante e ao sistema de cultivo. Na cultura da bananeira em biorreatores ou sob sistemas de imersão temporária ou não, por exemplo, a difusão de nutrientes e a absorção de sacarose podem ser mais eficientes, o que impacta diretamente nos resultados obtidos (Nhut et al., 2003; Wilken et al., 2014). Portanto, a sacarose exerce importante influência no cultivo *in vitro* da bananeira, não apenas como fonte energética, mas também como regulador do crescimento, e a concentração deste açúcar deve ser cuidadosamente ajustada de acordo com a fase do cultivo, o genótipo e o sistema utilizado (Walter, 2019).

2.7 Importância da intensidade da RFA no cultivo *in vitro* da bananeira

A radiação solar é um fator determinante para o desempenho fisiológico das plantas, influencia diretamente a fotossíntese e, de forma indireta, desencadeia mecanismos de fotorresposta, os quais estão relacionados aos ajustes fisiológicos e morfológicos das plantas (Morini; Muleo, 2003; Jao; Fang, 2004; Küpers et al., 2020). A intensidade ideal desta radiação varia conforme a espécie e as condições de cultivo. Em sistemas *in vitro*, o controle da RFA (artificial por meio do uso de lâmpadas e ajuste de espectro, duração e intensidade) permite otimizar a formação de brotos, folhas e raízes, o que favorece o estabelecimento de mudas vigorosas e a aclimatação posterior. (Hartmann et al., 2011; Mu et al., 2025). Nestes sistemas, as propriedades da RFA podem afetar diversos processos morfogênicos observados em condições de cultivo *in vitro (*Mu et al., 2022).

Os estudos recentes têm explorado diferentes intensidades de uma parte da radiação que é a radiação fotossinteticamente ativa (RFA) com resultados expressivos. Silva (2023) avaliou três espécies medicinais sob RFA de 35, 45 e 75 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$, e observou aumento no número de brotos e na concentração de clorofila à medida que a intensidade da RFA foi incrementada. Ramos (2024), em diferentes condições de meio de cultura, sistema de vedação e RFA, ao estudar a propagação de *Cattleya walkeriana* Gardner (*Orchidaceae*), observou que o uso da RFA de 128 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ resultou em mudas com maior crescimento do que a RFA de 86 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$. Este resultado evidencia que o aumento da intensidade da RFA pode favorecer diretamente o crescimento das plantas. De acordo com Zhang et al. (2025), a qualidade e a quantidade da RFA são

determinantes para regular vias bioquímicas ligadas ao crescimento e à morfogênese, fato que corrobora com os estudos supracitados. Além disso, a intensidade e qualidade da RFA devidamente ajustadas em cultivos *in vitro* têm potencial para favorecer a expansão foliar, promover o acúmulo de carboidratos e induzir modificações anatômicas (Hung et al., 2016; Fritsche et al., 2022).

Em bananeira, Vendrame et al. (2022) observaram que a intensidade da RFA de 116 μmol m^{-2} s^{-1} foi mais eficiente na promoção do crescimento de plântulas do que intensidades infra-ótimas deste valor. Complementarmente, Wilken et al. (2014) destacaram que a intensidade da RFA, associada ao sistema de imersão temporária, foi decisivo para o aumento da biomassa na cultivar 'Grande Naine'. Esses resultados reforçam que, mesmo entre diferentes genótipos e condições experimentais, a RFA exerce influência significativa sobre a eficiência dos protocolos de cultivo *in vitro*.

Na aclimatação de bananeira (*Musa* ssp.), a intensidade da RFA desempenha uma importância fundamental no crescimento das mudas micropropagadas. Os estudos, como os de Leal (2006), Lédo et al., (2008) e Scaranari et al. (2008), abordaram a influência da intensidade da RFA na aclimatação *ex vitro* da bananeira (*Musa* ssp.), e observaram que as condições intermediárias da RFA (por exemplo, uso de telas de sombreamento de 30–70%) favorecem o crescimento vegetativo, como exemplo a altura, a área foliar e a massa seca, indicando que a intensidade da RFA deve ser ajustada para otimizar o desempenho das plantas em casa de vegetação. Assim, diferentes intensidades e qualidades de RFA podem favorecer a expansão foliar, aumento de biomassa e desenvolvimento radicular das mudas durante a aclimatação. Dessa forma, as intensidades e qualidades da RFA podem favorecer a expansão foliar, o aumento da biomassa e o desenvolvimento do sistema radicular, contribuindo para plantas mais vigorosas (Vendrame et al., 2022). Os sistemas de iluminação compostos por lâmpadas do tipo LEDs permitem fornecer tanto diferentes intensidades quanto diferentes qualidades da RFA de forma controlada e adequada, oferecendo condições mais adequadas para a aclimatação (Mitchell et al, 2012). Apesar do potencial dessa tecnologia, o uso ainda é pouco explorado na aclimatação de bananeira (Aragón et al., 2005).

Assim, a literatura reforça que a intensidade da RFA deve ser considerada uma variável crítica na otimização de sistemas de micropropagação, especialmente para espécies como a bananeira, cujos protocolos demandam ajustes entre intensidades/qualidade da RFA, a composição do meio de cultura e condições microambientais do cultivo *in vitro*.

2.8 Aclimatação *ex vitro* de plantas de bananeira

Antes de serem levadas ao campo, as mudas de bananeira obtidas por micropropagação precisam passar por um período de adaptação, denominado aclimatação. Esta etapa consiste na transferência das plantas do ambiente *in vitro* para o ambiente *ex vitro* (Melo et al., 2024; Sparta; Di Sario et al., 2025). Durante essa etapa, é possível cultivá-las em recipientes variados, como bandejas ou tubetes, utilizando diferentes tipos de substratos, que podem incluir fibra de coco, solo ou as combinações entre estes substratos (Cardoso et al., 2019; Rodrigues et al., 2019; Couto et al., 2022). Além disso, as mudas devem receber suplementação nutricional apropriada, proveniente de fontes químicas, orgânicas ou biológicas (Medhane et al., 2023; Hassan et al., 2022). Uma vez que a adaptação de mudas aclimatadas é um mecanismo importante no processo de transplante de plantas micropropagadas, esta adaptação está relacionada à porcentagem de sobrevivência (Pinar et al., 2020).

Dessa forma, a aclimatação que pode ser já *in vitro* ou na condição *ex vitro* tem como objetivo preparar as plantas micropropagadas para o ambiente definitivo de cultivo, corrigindo alterações morfofisiológicas adquiridas durante o cultivo *in vitro* (plasticidade fenotípica). Nas condições controladas *in vitro* tradicionais as mudas desenvolvem uma epicutícula mais fina, os estômatos são menos funcionais e o sistema radicular fica pouco desenvolvido. Estas características fenotípicas podem comprometer o crescimento e a sobrevivência fora do ambiente *in vitro* (Hazarika, 2006; Sha Valli Khan et al., 2018). Para minimizar esses impactos, além da escolha do substrato, na aclimatação é fundamental adotar estratégias, como a aplicação gradual da radiação solar ou artificial, e o controle da umidade, para criar condições que favoreçam a adaptação fisiológica das plantas. Tais medidas contribuem para o maior vigor, crescimento eficiente do sistema radicular e o sucesso na aclimatação (Rocha, 2005; Santos-Bermudez, 2020).

Especificamente para a cultura da bananeira, o sucesso na aclimatação impacta diretamente a viabilidade econômica da produção de mudas em larga escala (Silva et al., 2020). Assim, ainda na fase *in vitro*, o desenvolvimento de protocolos nesta fase que promovam o maior vigor, um sistema radicular robusto e folhas com maior capacidade fotossintética, é essencial para garantir altas taxas de sobrevivência. As práticas como o manejo adequado da RFA e da ventilação dentro do frasco de cultivo ainda na fase *in vitro*, têm mostrado resultados promissores na melhoria da qualidade das mudas e na

redução de perdas durante a aclimatação (Rodriguez et al., 2003; Khoddamzadeh et al., 2017). Como exemplo, durante a aclimatação do abacaxizeiro, Pires et al. (2023) observaram que a ventilação natural e a concentração adequada de sacarose influenciam positivamente o crescimento e a sobrevivência das mudas. Além disso, Navarro et al. (1994) demonstraram em plantas micropropagadas de bananeira que o cultivo *in vitro* sob a intensidade de RFA de 240 µmol m^{-2} s^{-1} associada à maior disponibilidade de CO_2, resultaram em maior acúmulo de biomassa e teores mais elevados de clorofila, refletindo em melhor desempenho das plantas durante a fase de aclimatação *ex vitro*.

Dessa forma, observa-se um elevado potencial no uso de estratégias de manejo *in vitro* que possam otimizar o desempenho de plantas neste ambiente e assim assegurar o sucesso na transferência destas plantas micropropagadas para as condições *ex vitro*.

8. REFERÊNCIAS BILIOGRÁFICAS

Abdoussalam, I.; Zhenghuahu; Slam, T. R. A; Wu, Z. Climate change and its impacts on banana production: a systematic analysis. **Environment, Development and Sustainability**, v. 25, n. 11, p. 12217-12246, 2023.

Adeniyi A.G., Adeoye A.S., Ighalo J.O., Onifade D.V. FEA of effective elastic properties of banana fiber-reinforced polystyrene composite. **Mech. Adv. Mater. Struct**, v, 28, n, 18. p. 1869–1877, 2021.

Adeniyi A.G., Ighalo J.O., Onifade D.V. Banana and plantain fiber-reinforced polymer composites. J. **Polym. Eng**. v, 39, n, 7, p. 597–611, 2019.

Akyüz, B. Effect of different carbon sources and concentrations on *in vitro* propagation of chestnut. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v.160. n. 25, 2025.

Ali, A., Sajid, A., Naveed, N.H., Majid, A., Saleem, A., Khan, U.A., Jafery, F.I. and Naz, S. Initiation, Proliferation and Development of Micro-Propagation System for Mass Scale Production of Banana through Meristem Culture. **African Journal of Biotechnology**, v.10, p. 15731-15738, 2011.

Aluko, O. O.; Li, C.; Wang, Q.; Liu, H. Sucrose Utilization for Improved Crop Yields: A Review Article. **International Journal of Molecular Sciences**. v, 22. n, 9, p.4704, 2021.

Alves, Juliana;Pinheiro, Marcos; Corrêa, Thais; Lopes Alves, Givago; Santos, Tacila; Batista, Diego; Figueiredo, Fábio Afonso; Reis, Fabrício & Ferraz, Tiago; Campostrini, E. Morphophysiology of Ananas comosus during in vitro photomixotrophic growth and ex vitro acclimatization. ***In Vitro* Cellular & Developmental Biology - Plant**. 2022. 1. 1. 10.1007/s11627-022-10321-5.

Araujo, M. B. F.; Machado, N. A. F.; DE Andrade, H. A. F.; Leite, M. R. L.; Pinheiro, J. B. S.; DA Silva-Matos, R. R. S. Produtividade da bananeira 'Nanicão' sob doses crescentes de potássio associado a cobertura do solo com palha de carnaúba. Revista Trópica: **Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 10, n. 2, 2019.

Bahmani, R.; Karami, O.; Gholami, M. Influence of carbon sources and their concentrations on rooting and hiperhydricity of apple Rootstock MM.106. World Applied **Sciences Journa**l, Teerã, v. 6, n. 11, 2009.

Bian, Z., Yang, Q; Liu, W. Effect of light quality on the accumulation of phytochemicals in vegetables produced in controlled environments: A review. **Journal of the Science of Food and Agriculture,** v, 95, ed, 5, p. 869-877, 2015.

Cardoso, E. R. C.; Lima, J. D.; Rodrigues, D. S.; Nomura, E. S.; Garcia, V. A. Growth of micropropagated banana seedlings cv. 'Prata Catarina' in substrates containing green coconut fiber and soil. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 18, n. 3, p. 401–406, 2019.

Costa, F. H. S.; Donato, S. L. R.; Lima, J. S.; Costa, F. F. S.; Silva, R. M.; Lima, A. L. A. Crescimento e anatomia foliar de bananeiras (*Musa* spp.) submetidas a diferentes condições de cultivo in vitro. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 2, p. 303–311, 2009.

Couto, C. A.; Lima, J. D.; Rodrigues, D. S.; Nomura, E. S.; Barbosa, E. R. Physiological Analysis of Micropropagated Banana 'BRS Conquista' Seedlings Acclimatized in

Different Substrates and Organomineral Fertilizer Doses. **Rev.Bras.Frutic,** v.44, n.4. 2022.

Cronauer, S. S.; Krikorian, A. D. (1982). Multiplication of *Musa* from excised stem tips. **Annals of Botany**, v. 49, n.4, p. 459-466, 1982.

Deltour, P., França, S. C., Pereira, O. L.,Cardoso, I.,Neve, S., Debode, J., & Höfte, M. Disease suppressiveness to Fusarium wilt of banana in an agroforestry system: Influence of soil characteristics and plant community. **Agriculture, Ecosystems and Environment,** 239, p. 173–181, 2017.

Di sario, L.; Navarro-payá, D.; Zubillaga, M. F.; Matus, J. T.; Boeri, P. A.; Pizzio, G. A. Abscisic Acid Improves *Ex Vitro* Acclimatization Performance in Hop (*Humulus lupulus* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 14, p. 6923, 2025.

Erol, MH, Dönmez, D., Biçen, B., Şimşek, Ö., & Kaçar, YA. Modern Approaches to In Vitro Clonal Banana Production: Next-Generation Tissue Culture Systeams. v.9, n. 10, p.1154. **Horticultura**, 2023.

Esposito-polesi, Natalia Pimentel. Contaminação versus manifestação endofítica: implicações no cultivo *in vitro* de plantas. **Rodriguésia**, v. 71, 2020.

Falcioni, Renan; Antunes, Werner Camargos; de oliveira, Roney Berti; ChicatI, Marcelo Luiz; DEMATTÊ, José Alexandre M.; Nanni, Marcos Rafael. Comparative insights into photosynthetic, biochemical, and ultrastructural mechanisms in *Hibiscus* and P*elargonium* plants. **Plants**, v. 13, n. 19, p. 2831, 2024.

Franklin, K. A.; Whitelam, G. C. Phytochromes and shade-avoidance responses in plants. **Annals of Botany**, London, v. 96, n. 2, p. 169–175, 2005.

Fritsche, Yohan; inheiro, Marcos;Guerra, Miguel. Light quality and natural ventilation have different effects on protocorm development and plantlet growth stages of the *in vitro* propagation of Epidendrum fulgens (Orchidaceae). South African **Journal of Botany**, p. 146, 2022.

Fuentes, G.; Talavera, C.; Desjardins, Y.; Santamaría, J. M. Low exogenous sucrose improves ex vitro growth and photosynthesis in coconut in vitro plantlets if grown *in vitro* under high light. **Acta Horticulturae**, v. 748, p. 151-156, 2007.

Galán saúco, V.; Cabrera Cabrera, J.; Hernández Delgado, P. M. A comparison of banana cultivars Dwarf Cavendish, Grande Naine and Williams, for the Canary Islands. **Fruits**, v. 50, p. 255–266, 1995.

Galdiano junior, R. F.; Mantovani, C.; DE Faria, R. T.; DE Macedo Lemos, E. G. Concentrações de sacarose no desenvolvimento in vitro e na aclimatação de *Cattleya loddigesii* Lindley. Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 583- 592, 2013.

Garcés-moncayo, María Fernanda; Guevara-Viejó, Fabricio; Valenzuela-Cobos, Juan Diego; Galindo-Villardón, Purificación; Vicente-galindo, Purificación. Modeling of the physicochemical and nutritional composition of *Musa paradisiaca* (*Williams variety*) at different ripening stages in Ecuador**. Agriculture**, v. 15, n. 10, p. 1025, 2025.

Gerum, A.F.A.A.; Santana, M.A.; Rocha, S.L. Impactos da Covid-19 na bananicultura brasileira. Cruz das Almas: **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento), 2020.

Gonzalez, J. L. M., Garcia, J. D., Gonzalez, M. A. G. "Advances in banana biotechnology: Current status and future perspectives. **Plant Biotechnology Journal**, v. 18, n, 5, p. 1036-1048. 2020.

Guambe, B. H. C.; Mulima, E. P.; Bettencourt, G. M. F. Necessidade de sacarose no cultivo *in vitro* de bananeira (*Musa* spp). **BioEnsaios**, Campinas, SP, v. 2. 2024.

Gupta, S. D.; Jatothu, B. Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in *in vitro* plant growth and morphogenesis. **Plant Biotechnology Reports**, v. 7, p. 211–220, 2013.

Hassan, S. A. M.; Taha, R. A.; Zaied, N. S. M.; ESSA, E. M.; ABD el-rheem, K. M. Effect of vermicompost on vegetative growth and nutrient status of acclimatized Grand Naine banana plants. **Heliyon**, v. 8, n. 10, 2022.

Hung, C. D.; Hong, C.-H.; Kim, S.-K.; Lee, K.-H.; Park, J.-Y.; Dung, C. D.; Nam, M.-W.; Choi, D.-H.; Lee, H.-I. *In vitro* proliferation and ex vitro rooting of microshoots of commercially important rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade) using spectral lights. **Scientia Horticulturae**, v. 211, p. 248–254, 2016.

Jung, W. S.; Kim, H. J.; Lee, S. H.; Park, J. H.; Kim, Y. S. Effects of light-emitting diode (LED) spectral combinations on growth, yield, and quality of plants. **Molecules**, v. 26, n. 5p.1477, 2021.

Justine, Angima Kibari; Kaur, Navdeep; Savita; Pati, Pratap Kumar. Biotechnological interventions in banana: current knowledge and future prospects. **Heliyon**, v. 8, n. 11, p. e11636, 2022.

Küpers, Jesse J.; Oskam, Lisa; Pierik, Ronald. Photoreceptors Regulate **Plant Developmental Plasticity through Auxin.** ***Plants***, v. 9, n. 8, art. 940, 2020.

Landau, E.; Silva, G. Dinâmica da produção agropecuária e da paisagem natural do Brasil nas últimas décadas, produtos de origem vegetal: Evolução da Produção da Banana (*Musa* spp., *Musaceae*). **Brasília: Embrapa**. p. 409-433, 2020.

Lédo, A. da S.; Silva Júnior, J.F. da; Lédo, C.A. da S.; Silva, S. de O. e. Avaliação de genótipos de bananeira na região do Baixo São Francisco, Sergipe. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, p.691-695, 2008.

Lichtemberg, L. A.; Lichtemberg, P. S. F. Avanços na bananicultura brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 29-36, 2011.

Ma, S.S. and Shii, C.T. *In Vitro* Formation of Adventitious Buds in Banana Shoot Apex Following Decapitation. **Journal of the Chinese Society for Horticultural Science**, v, 18, p.135-142, 1972.

Martins, J. P. R.; Rodrigues, L. C. A.; Santos, E. R.; et al. I*m*pacts of photoautotrophic, photomixotrophic and heterotrophic conditions on the anatomy and photosystem II of

Aechmea blanchetiana (Baker) L. B. Sm. (*Bromeliaceae*) propagated *in vitro). **In Vitro* Cellular & Developmental Biology** – Plant*,* v. 56, p. 350–361, 2020.

Melo, Jonathas Nunes de; Pastori, Patrik Luiz; Carvalho, Ana Cristina Portugal Pinto de; Taniguchi, Carlos Alberto Kenji; Borges, Wardsson Lustrino; Silva, Christiana de Fátima Bruce da. Aclimatação de mudas micropropagadas de bananeira cv. 'Prata Catarina' em diferentes condições ambientais. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 19, n. 4, 2024.

Miranda, D. P., Walter, R., Carvalho, V. S., Campostrini, E. Optimizing biomass production and photochemical efficiency of in vitro-grown *Capsicum annuum* L. using gas-permeable membrane flasks***. In Vitro* Cellular & Developmental Biology - Plant**, v. 60, n.1, p.1–11, 2024.

MOREIRA, R. S. Banana: **teoria e prática de cultivo**. São Paulo: Fundação Cargill, 1999.

MU, Z**. Overcoming Bottlenecks in the Clonal Propagation of Coconut *(Cocos nucifera* L.*).*** 2022. Tese (Doutorado em Ciências) – The University of Queensland, St. Lucia, QLD, Australia, 2022.
Mu, Z., Li, Z., Nulu, N. P. C., Kalaipandian, S., Biddle, J. M., Bazrafshan, A., Kong, E., Adkins, S. W. A Photomixotrophic System to Improve the Growth of *In Vitro*-Cultured Seedlings of Coconut (*Cocos nucifera* L.*). **Horticulturae***, v. 11, n. 3, p. 224, 2025.

Navarro, C., Teisson, C., Côte, F; Ganry, J. Effect of light intensity and aeration during in vitro growth (stage III of micropropagation) of banana plants (*Musa* AAA cv. *Petite Naine*). In P. J. Lumsden, J. R. Nicholas; W. J. Davies (Eds.), **Physiology, Growth and Development of Plants in Culture**, p. 215–219, 1994.

Nhut, D. T.; Takamura, T.; Watanabe, H.; Tanaka, M. Efficiency of a novel culture system by using light-emitting diode (LED) on in vitro and subsequent growth of micropropagated banana plantlets. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 616, p. 121-127, 2003.

Nkengla-Asi L., Eforuoku F., Olaosebikan O., Adejoju Ladigbolu T., Amah D., Hanna R., Kumar PL. Gender Roles in Accessing and Sharing Banana Planting Materials in Communities With and Without Banana Bunchy Top Disease in Nigeria. **Sustentabilidade**. v.13, n.6. p.3310, 2021.

Nomura, E. S. **Desempenho agronômico e pós-colheita de cultivaas de bananeiras sob adução nitrogenada e potássica**. 2017. 210 f. Tese (Doutorado em Agronomia - Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba-R, 2017.

Ochoa, Maria del C.; Catan, Alexandra; Targa, Maria G.; Francisco, Alicia; Caro, Roque; Chaila, Salvador. Morphoanatomical characterization of leaves of Gomphrena perennis and Gomphrena pulchella. **Advances in Weed Science**, v. 41, 2023.

Pan, T.; Wang, Y.; Wang, L.; Ding, J.; Cao, Y.; Qin, G.; Yan, L.; XI, L.; Zhang, J.; Zou, Z. Increased CO_2 and light intensity regulate growth and leaf gas exchange in tomato. **Physiologia Plantarum**, v. 168, n. 3, p. 694–708, 2020.

Park, C. H., Choi, M., Park, Y. E., Yeo, H. J., Kim, J. K., Kim, Y. B., Sankaranarayanan, S., Sathasivam, R., & Park, S. U. Influence of different types of carbon sources on glucosinolate and phenolic compounds in radish sprouts. **Horticulturae**, v. 9, n.6, p.679, 2023.

Perrier, X. Langhe, E. Donohue, M. et al. Multidiciplinary perspectives on banana (*Musa* spp.) domestication. **Proceedings of the National Academy of Sciences** of USA, Washington, v.108, n.28, p.1311-1318, 2011.

Pinar, Hasan; Kılınc, Nadide; Uzun, Aydin. Effect of different temperature and moisture on development of in vitro derived banana plantlets. **Current Trends in Natural Sciences**. v. 9 n.17. p. 216-221. 2020

Ramos, J. C. M.; Ribeiro, L. M.; Nunes, G. P. Propagação de *Cattleya walkeriana* Gardner (Orchidaceae): meio de cultura, sistema de selagem e irradiância. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 84, n. 2, 2024.

Rocha, H. S. **Luz e sacarose na micropropagação da bananeira "Prata Anã": alterações morfoanatômicas**. 2005. 98 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, Lavras, MG, 2005.

Rodrigues, Filipe Almendagna; Costa, Frederico Henrique da Silva; PASQUAL, Moacir. Growth of micropropagated banana plants in function of substrate and controlled release fertilizer. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 18, n. 1, p. 146–149, 2019.

Roels, S.; Escalona, M.; Cejas, I.; Noceda, C.; Rodriguez, R.; Canal, M. J.; Sandoval, J.; Debergh, P. Optimization of plantain (Musa AAB) micropropagation by temporary immersion system. **Plant Cell**, Tissue and Organ Culture, v. 82, p. 57-66, 2005.

Rolland, F.; Baena-gonzález, E.; Sheen, J. Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. **Annual Review of Plant Biology**, v. 57, p. 675–709, 2006.

Sagi, L.; MAY, G. D.; Remy, S.; Swennen, R. Recent developments in biotechnological research on bananas (*Musa* spp.). Biotech. **Genet. Engineer. Rev**., v. 15, p. 313-327, 1998.

Santos, Elizangela Rodrigues; Martins, João Paulo Rodrigues; Rodrigues, Luiz Carlos de Almeida; Falqueto, Antelmo Ralph. Morphophysiological responses of *Billbergia zebrina* Lindl. (Bromeliaceae) in function of types and concentrations of carbohydrates during conventional in vitro culture**. Ornamental Horticulture**, v. 26, n. 1, p. 18-34, 2020.

Scaranari, C.; Leal, P. A. M.; Pellegrino, G. Q. Estudo de simulações de microclimas em casas de vegetação visando à aclimatação de mudas micropropagadas de bananeira cv Grande Naine. **Revista Brasileira de Fruticultura,** Jaboticabal, v. 30, n. 4, p. 1.001-1.008, 2008.

Scoffoni, C.; Rawls, M.; Mckown, A.; Cochard, H.; Sack, L. Light-induced plasticity in leaf hydraulics, venation, anatomy, and gas exchange in ecologically diverse Hawaiian lobeliads. **New Phytologist**, v. 208, n. 1, p. 324-337, 2015.

Silva, D. R.; Soares, M. N. B.; Silva, M. C. R.; Lima, M. C.; Silva-Moraes, et al. Unlocking the Potential of In Vitro Photoautotrophy for Eryngium foetidum: Biomass, Morphophysiology, and Acclimatization**. Horticulturae**, v. 10, n.1, p.107, 2024.

Silva, A. C. B. da; Lameira, O. A.; Oliveira, H. S. de; Souza, J. M. de M.; Rodrigues, S. de M.; Ferreira, T. A. A.; Guedes, A. S.; Costa, M. S. M. da. Efeito da intensidade de luz no desenvolvimento de espécies medicinais e aromáticas em condições *in vitro***. Contribuciones a las Ciencias Sociales**, v. 16, n. 5, p. 2632–2649, 2023.

Souza, C. S. C. R.; Santos, V. A. H. F.; Ferreira, M. J.; Gonçalves, J. F. C**.** Biomass, growth, and ecophysiological responses of young *Bertholletia excelsa* Bonpl. plants subjected to different irradiance levels. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 2, p. 557–569, 2017.

Tang, W.; LI, H.; Zhang, L.; LIU, Y.; Wang, J.; LI, Z. Effect of light intensity on morphology, photosynthesis and carbon metabolism of alfalfa (*Medicago sativa L.*) seedlings cultured in vitro. **Plants**, v. 11, n. 13, p. 1688, 2022.

Vendrame, W. A; Feuille, C; Beleski, D; Bueno, P. M. C. *In Vitro* Growth Responses of Ornamental Bananas (*Musa* sp.) as Affected by Light Sources. **Horticulturae**, v. 8, n. 2. p. 92, 2022.

Vollmer, Rainer; Espirilla, Janeth; Espinoza, Ana; Villagaray, Rosalva; Castro, Mario; PINEDA, Sandra; Sánchez, Juan Carlos; Mello, Alexandre F. S.; Azevedo, Vania C. R. Effect of Gas Exchange Rate, Vessel Type, Planting Density, and Genotype on Growth, Photosynthetic Activity, and Ion Uptake of *In Vitro* Potato Plants. Plants, v. 13, n. 19, p. 2830, 2024.

Walter, R. (2019). **Aplicação da cultura de tecidos no melhoramento de Capsicum annuum: superação de barreiras pós-zigóticas, produção de genótipos em larga escala e protocolo para obtenção de haploide**s. Campos dos Goytacazes. Tese (Doutorado), 164p. 2019.

Wilken, D.; Jiménez Gonzalez, E., Gerth, A., Gómez-kosky, R., Schumann, A., & CLAUS, D.. Effect of immersion systems, lighting, and TIS designs on biomass increase in micropropagating banana (*Musa* spp. cv.'Grande naine'AAA). *In Vitro* **Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 50, n. 5, p. 582- 589, 2014.

Xiao, Y.; Kozai, T. Commercial application of a photoautotrophic micropropagation system using large vessels with forced ventilation: plantlet growth and production cost. **Hort Science**, v. 39, p. 1387-1391, 2004.

Zhang, H., Li, X., Han, T., Huang, Q., Liu, J., Tian, A., Liu, L., Sun, G., Dong, L., Wang, H., Xie, X., Peng, S., Li, Q., ; Li, H. Effects of Light Quality and Photoperiod on Growth, Dry Matter Production and Yield of Ginger. **Plants**, v.14, n. 6, p. 953, 2025.

Capítulo 2

A sacarose e a radiação fotossinteticamente ativa no cultivo *in vitro* influenciam o processo fotossintético e o crescimento da bananeira 'Williams'

1. INTRODUÇÃO

A bananeira (*Musa* spp.), comercialmente propagada principalmente por técnicas *in vitro*, apresenta elevada importância econômica devido à produtividade e a aceitação no mercado (Justine et al., 2022; Chukwu et al., 2025). A propagação convencional por rizomas ou mudas de campo é limitada por problemas fitossanitários, que inclui a disseminação de doenças e pragas, o que torna a micropropagação uma alternativa eficiente para a produção de mudas livres de patógenos (Gupta et al., 2020; Costa et al., 2021). Contudo, a micropropagação convencional apresenta alguns desafios, como exemplo a existência de reduzidas trocas gasosas no interior dos frascos de cultivo (frascos completamente vedados), o acúmulo de etileno, a reduzida intensidade da radiação fotossinteticamente ativa (RFA), e elevada concentração de sacarose no meio de cultivo. Estas características do ambiente *in vitro* podem comprometer o vigor, o enraizamento e a qualidade morfofisiológica das plantas micropropagadas (Silva et al., 2020; Agbadjet al., 2021).

Dessa forma, uma das alternativas para otimizar o cultivo *in vitro* é explorar a interação entre a concentração de sacarose no meio de cultura, a ventilação dos frascos de cultivo, bem como a intensidade da RFA. Estes fatores do microambiente *in vitro* exercem uma importante influência direta sobre a capacidade fotossintética e o desenvolvimento morfofisiológico das plantas (Xiao & Kozai, 2004; Arigita et al., 2010). Embora a sacarose seja essencial como fonte exógena de carbono em ambientes com reduzida radiação fotossinteticamente ativa (RFA), quando utilizada de forma isolada, não permite a planta ter um eficiente metabolismo fotossintético. A sacarose em concentrações elevadas pode comprometer não somente o crescimento e a emissão de raízes, como também pode afetar negativamente crescimento da parte aérea das plantas micropropagadas (Galdiano Júnior et al., 2013; Alves et al., 2022).

Uma estratégia eficiente para otimizar o cultivo *in vitro*, é elevar a taxa de assimilação de CO_2 por meio da utilização de tampas nos frascos de cultivo com membranas microporosas. Estas estruturas na tampa ampliam as trocas gasosas e reduzem o acúmulo de etileno. A baixa concentração de CO_2 no interior dos frascos hermeticamente fechados pode afetar negativamente o vigor das plântulas, ocasionando clorose e abscisão foliar (Bashir et al., 2022; Neves et al., 2023), e o uso das membranas porosas pode favorecer o crescimento dos explantes (Gris et al., 2021; Alves et al., 2022; Carrari-Santos et al., 2023).

Outro fator que exerce um papel determinante na fotossíntese, no suprimento de carbono e na otimização das trocas gasosas é a intensidade/qualidade da RFA, a qual pode ainda contribuir para o crescimento, as propriedades morfofisiológicas e melhoram a qualidade final das mudas produzidas *in vitro* (Paradiso; Proietti, 2021*)*. O aumento da intensidade da RFA até intensidades específicas para cada espécie e condição de cultivo pode elevar a capacidade fotossintética, a transpiração e a condutância estomática, bem como incrementar a área foliar e a biomassa (Oliveira et al., 2021; Rocha et al., 2022; Tang et al., 2022; Proietti et al., 2023).

No entanto, para cultivares comerciais de ampla utilização, como a 'Williams', embora haja avanços na compreensão isolada dos fatores relatados, ainda são escassos os estudos que avaliam de forma integrada a interação entre concentrações de sacarose e intensidades da RFA. Essa lacuna é especialmente relevante, considerando que a eficiência fotossintética *in vitro* está diretamente relacionada ao vigor, ao enraizamento e à taxa de sobrevivência na fase de aclimatação, e impacta diretamente os custos e a viabilidade técnica da produção em larga escala.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho é avaliar o efeito de diferentes concentrações de sacarose no meio de cultivo e intensidades da RFA sobre as características anatômicas, a capacidade fotossintética, e o crescimento de plântulas de bananeira cv. *William*s cultivadas *in vitro*, bem como estudar a resposta das plântulas micropropagadas cultivadas durante a aclimatação.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- ✓ Avaliar o impacto da concentração de sacarose e da intensidade da RFA no crescimento *in vitro* da bananeira cv. Williams*,* afim de otimizar as condições de cultivo de mudas micropropagadas de modo a ter maior eficiência fotossintética *in vitro*, mais vigor, maior rusticidade e adaptáveis às condições *ex vitro*.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar o efeito de diferentes concentrações de sacarose no meio de cultivo no crescimento e nas características anatômicas de plântulas de bananeira cultivadas *in vitro;*
- ✓ Determinar se diferentes intensidades da RFA influenciam na capacidade fotossintética, acúmulo de biomassa e anatomia em condições de cultivo *in vitro;*

- ✓ Produzir mudas com maior capacidade fotossintética e com maior rusticidade *in vitro*, de modo que favoreça o processo de adaptação à condição *ex vitro*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Estabelecimento e multiplicação das brotações de bananeira

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos da Universidade Estadual do Maranhão (LCT/UEMA). (2º34'57" S e 44º12'56" W). Para tanto, foram utilizadas brotações obtidas a partir dos ápices caulinares de bananeira cv. *Williams* com aproximadamente 2 cm de comprimento, e os explantes foram inoculados em frascos, em meio MS (Murashige e Skoog, 1962), contendo 30 g/L de sacarose, suplementado com 4,0 mg L^{-1} de 6- benzilaminopurina (BAP), solidificado com 2,0 g/L de Phytagel. O pH do meio foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121ºC e 118 kPa por 15 min.

3.2 Crescimento e alongamento das brotações

Após 45 dias no meio de estabelecimento, as brotações foram subcultivadas em meio MS (Sigma®, St. Louis, MO, USA), suplementado com 4,0 mg L^{-1} de 6-benzilaminopurina (BAP). Para a realização do experimento, foram utilizados os explantes com a parte aérea desenvolvida, e com aproximadamente 2 cm. Após os cortes, os explantes foram transferidos para frascos de vidro transparentes com capacidade de 350 mL contendo 60 mL de meio de cultivo MS (Murashige e Skoog, 1962), suplementado com 0,5 mg L^{-1} da auxina ANA (ácido naftalenoacético).

Os frascos de cultivo foram vedados com tampas de prolipropileno, e estas tampas possuíam orifícios cobertos por membranas permeáveis a gases. Nas tampas, foram feitos dois orifícios de 10 mm de diâmetro cada, os quais foram cobertos por uma membrana composta por duas camadas de fita microporosa Missner® de 0,05 ± 0,01 mm de espessura, segundo metodologia proposta por Saldanha et al. (2012) (Figura 1).

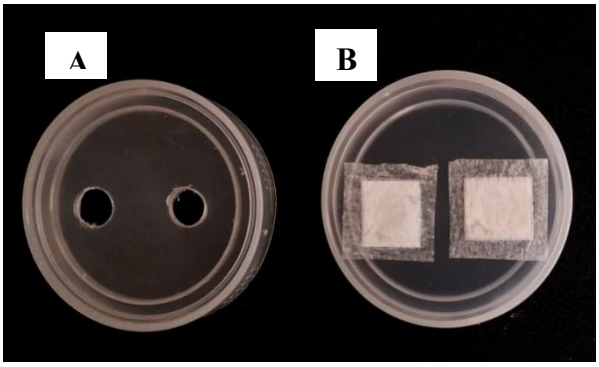

Figura 1. Tampa rígida de polipropileno perfurada com orifícios (A); Tampa rígida com membranas (B).

Após a inoculação dos explantes no meio, os frascos foram alocados em estante de cultivo com três intensidades ajustáveis de altura, permitindo a aplicação de diferentes intensidades da RFA, fornecidas por lâmpadas LEDs (Diodos Emissores de Luz) de cor branca (Tubular T8 Led, 10W, Brilia, Brasil). As intensidades foram determinadas por meio do uso de um espectrorradiômetro (ILT-350 (International Light Technologies, EUA), expressas em µmol m^{-2} s^{-1} (Figura 2).

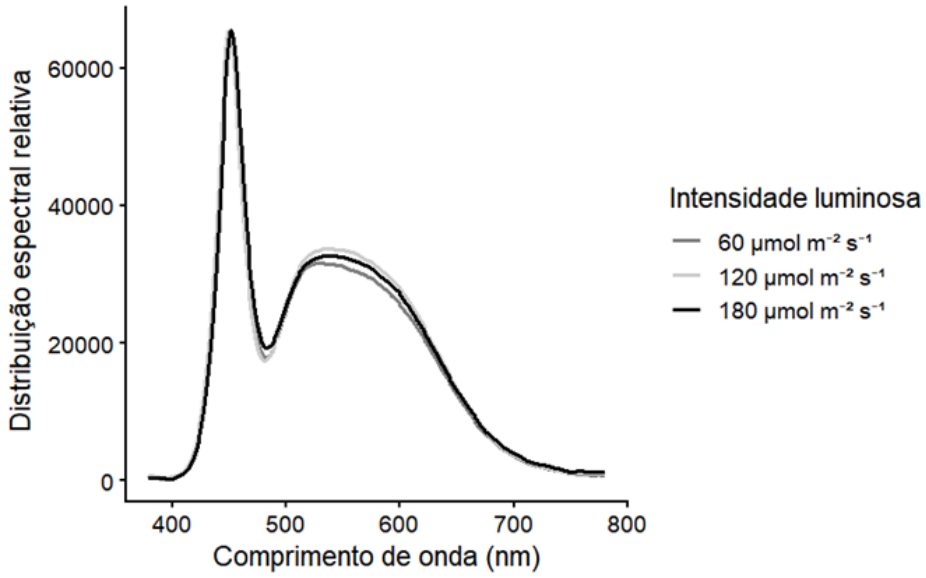

Figura 2. Distribuição espectral relativa da radiação emitida pelas lâmpadas LED brancas (400-800 nm) utilizadas no experimento.

O fotoperíodo foi de 16 horas de luz e 8 horas de escuro, com temperatura média controlada de 25 ± 2°C. Os frascos permaneceram em cultivo por 30 dias.

3.5 Delineamento experimental

Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 3 × 3, correspondendo à combinação de três concentrações de sacarose (0, 15 e 30 g L^{-1}) com três intensidades da RFA (60, 120, 180 µmol m^{-2} s^{-1}), que resultou em nove combinações de tratamento (Tabela 1). Cada tratamento foi composto por 15 repetições, totalizando 135 frascos, e com cada frasco contendo dois explantes. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC).

Tabela 1. Descrição dos tratamentos com diferentes concentrações de sacarose e intensidades da RFA.

Tratamentos	Sacarose (g L^{-1})	Intensidade da RFA (µmol m^{-2} s^{-1})
RFA_{60}–S_0	0	60
RFA_{60}–S_{15}	15	60
RFA_{60}–S_{30}	30	60
RFA_{120}-S_0	0	120
RFA_{120}-S_{15}	15	120
RFA_{120}-S_{30}	30	120
RFA_{180}-S_0	0	180
RFA_{180}-S_{15}	15	180
RFA_{180}-S_{30}	30	180

4.4 Variáveis analisadas

4.4.1 Área foliar e variáveis de massas fresca e seca

Aos 30 dias após o início do experimento, foi realizada a avaliação do número de raízes principais, comprimento da maior raiz (medidas com o auxílio do paquímetro, em cm), comprimento da parte aérea, área foliar (cm^2), número de folhas, 'diâmetro do pseudocaule' e massa da matéria fresca e seca da parte aérea (MSPA) e radicular (MSR) (g). A partir da massa seca da raiz e da parte aérea, foi determinada a relação entre a MSR/MSPA. A porcentagem de distribuição de fotoassimilados foi obtida por meio da relação entre a MSPA/MST e MSR/MST, em que, MST é a soma da MSPA +MSR. Com relação à massa fresca, esta foi determinada por meio da pesagem do material em balança analítica (ATY224R, Shimadzu, Kyoto, Japão). A massa da matéria seca foi determinada por meio da secagem do material em estufa a 70ºC, (Ambikontrol, Novus, nº1030) por 48

horas, e, após, foi feita a pesagem individual em balança analítica (ATY224R, Shimadzu, Kyoto, Japão).

A área foliar (AF cm^2) de cada plântula foi mensurada por meio do software Image J®.

4.4.2 Caracterização anatômica

Para a caracterização anatômica, as amostras foram fixadas em solução FAA 70% (formaldeído, ácido acético e álcool etílico), seguindo metodologia de Johansen (1940). Após 48h, as amostras foram desidratadas com concentrações crescentes de etanol em série etílica (30%, 40%, 50%, 60% e 70%) e permaneceram durante 1h em cada concentração. Em seguida as amostras foram desidratadas novamente em série etílica de (80%, 90%, 95% e 100%) e permaneceram durante 2h em cada concentração à 4°C. Posteriormente, houve inclusão das amostras em historesina (Historesin®, Leica Instruments, Heidelberg, Alemanha), de acordo com as recomendações do fabricante.

Para a montagem das lâminas, cortes transversais com 5 µm de espessura foram obtidos em micrótomo rotativo (Lupetec modelo MRP2015). Os cortes foram recolhidos em lâminas de vidro, secos à temperatura ambiente e corada com azul de toluidina (0,05% em pH 4,0) (O'Brien; McCully, 1981) por 8 min. As imagens foram capturadas em fotomicroscópio (Global Optics® modelo NO226T) equipado com câmera (Bioptika® CMOS 5.0).

4.4.3 Índice estomático

Para avaliar o índice estomático, foi usado adesivo instantâneo (Super Bonder®). Essa resina foi aplicada na parte abaxial da folha, e, após a secagem, a resina foi retirada. Em seguida, as lâminas foram preparadas e montadas utilizando-se a resina seca (impressão epidérmica abaxial da folha mais desenvolvida). O material foi analisado em microscópio Leica DME, fotografado com auxílio do aplicativo LAS EZ (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) e o índice calculado de acordo com Cutter (1978):

$$\text{Índice Estomático (\%)} = C2 * 100/ (C1 + C2)$$

Em que: C1 = células epidérmicas e C2 = estômatos

4.4.4 Pigmentos fotossintéticos

Aos 30 dias do cultivo *in vitro* (final do experimento), os teores de pigmentos fotossintéticos foram determinados por meio do método espectrofotométrico, e a extração foi feita com o solvente orgânico dimetilsulfóxido (DMSO) (Santos et al., 2008). As variáveis clorofila a e b, carotenoides, clorofila total, razão clorofila a/b, clorofila total/carotenoides foram analisadas. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (BEL Engineering, UV-M51 UV/Vis Spectrophotometer), nas absorvâncias de 480, 645 e 665 nm (Wellburn, 1994). Os teores de clorofila e carotenoides foram calculados de acordo com as equações de Wellburn (1994):

Clorofila a (μg mL^{-1}) = 12,19A665 – 3,45A645

Clorofila b (μg mL^{-1}) = 21,99A645 – 5,32A665

Carotenoides (μg mL^{-1}) = (1000A480 – 2,14 Clorofila a – 70,16 Clorofila b)/220

Os teores de pigmentos fotossintéticos foram expressos em μmol m^{-2}, após conversão dos valores de μg mL^{-1} para μmol pelos fatores 1,119 (clorofila a), 1,102 (clorofila b) e 1,835 (carotenoides), e correção pela área foliar correspondente à amostra, de acordo com Lichtenthaler, (1987).

4.4.5 Eficiência fotoquímica e Trocas gasosas

Para a avaliação da eficiência fotoquímica, foram utilizadas as variáveis rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m), o índice fotossintético (PI) e a densidade de centros de reação ativos do fotossistema II (RC/ABS), RC/CS, e ET/TR. Estas variáveis foram determinadas na quinta folha expandida (maior área foliar), contada a partir do ápice do explante. Uma folha por planta foi avaliada. Para isso, foi utilizado o fluorímetro não-modulado modelo Pocket PEA (Plant Efficiency Analyser, Hansatech, UK). Antes das avaliações da emissão da fluorescência da clorofila, foi posicionada uma pinça nas folhas para a adaptação ao escuro por 30 minutos. Esta adaptação foi realizada para que os centros de reações estivessem completamente abertos com uma perda mínima de calor (sistema fotoquímico completamente oxidado). Após realizado essa adaptação, um pulso de luz saturante de 3500 μmol m^{-2} s^{-1} foi aplicado por meio de três diodos emissores de luz de comprimento de onda de 650 nm (Gonçalves, et al., 2010).

A assimilação fotossintética de CO_2 (A_{net}) (μmol m^{-2} s^{-1}), a concentração de CO_2 intercelular (C_i) (μmol mol^{-1}), a condutância estomática (g_s) (mol m^{-2} s^{-1}), a transpiração (E) (mmol m^{-2} s^{-1}) foram avaliadas por meio de um analisador de gás a infravermelho –

IRGA, equipamento portátil de sistema aberto (Li-Cor 6400xt, LI-COR Inc., Lincoln, EUA). Um controlador de injeção de CO_2 e um sistema artificial de fonte luminosa acoplada a câmara [fonte de luz vermelho-azul (6400-02B) emitida por meio de *light emitting diodes* (LED's)] foram utilizados para manter uma concentração constante de CO_2 ([CO_2]) de 400 ppm na câmara do IRGA e a intensidade de 100 µmol m^{-2} s^{-1} da RFA, respectivamente. Tanto para as medições da eficiência fotoquímica, como para as trocas gasosas, foram utilizadas uma folha por planta. As avaliações das trocas gasosas foram realizadas nas mesmas folhas utilizadas para avaliar a eficiência fotoquímica.

4.4.6 Avaliações na fase de aclimatação *ex vitro*

Após 30 dias de cultivo, as plântulas provenientes do cultivo *in vitro* oriundas do primeiro experimento foram aclimatadas conforme os tratamentos utilizados anteriormente. De cada tratamento, dez plântulas foram retiradas dos frascos de cultivo, lavadas em água corrente para retirada de resíduos do meio de cultivo e transferidas para copos descartáveis com capacidade total de 500 ml cada. Estes copos foram preenchidos com substrato comercial (Carolina Soil®, composto por 75% de turfa Sphagnum e 25% vermiculita) com textura fina a média. As plântulas foram então transferidas para uma casa-de-vegetação (2°31'51"S, 44°18' 24"W) e mantida sob irrigação por sistema de microaspersão funcionando por 15 minutos a cada 3 horas, das 6:00h às 18:00h, em uma temperatura média.

Após 30 dias de aclimatação, as avaliações realizadas *in vitro*, incluindo as taxas de sobrevivência, as características de crescimento, a concentração de pigmentos fotossintéticos, área foliar, massas frescas e seca, caracterização anatômica, índice estomático, eficiência fotoquímica, e trocas gasosas, foram também realizadas nas plântulas transferidas para condições *ex vitro*.

4.4.6 Análises estatísticas

Os dados foram inicialmente submetidos à verificação dos pressupostos de normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade das variâncias (teste de Bartlett). Para as variáveis massa seca radicular, massa seca total, F_v/F_m, clorofila b, e relação de clorofila a/b, os dados foram transformados em raiz quadrada de Y= $\sqrt{x} + 1$. As características como o número de folhas, o comprimento da maior raiz, a partição de fotoassimilados para raiz e a partição de fotoassimilados para a parte aérea foram

transformados em raiz quadrada de Y= $\sqrt{x} + 1$. Atendidos os pressupostos, foi realizada análise de variância (ANOVA) para o modelo fatorial 3 × 3. Em caso de interação significativa entre os fatores (sacarose × RFA), foi realizado desdobramento da interação.

As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. As análises foram realizadas no software R (R Core Team, 2024). Os mesmos procedimentos estatísticos foram aplicados aos dados obtidos nos tratamentos das plântulas de bananeiras transferidas para condições *ex vitro* após 30 dias.

5. RESULTADOS

As plântulas de bananeira cv. Williams, quando cultivadas *in vitro* na condição de RFA_{60}–S_0 apresentaram aparência de coloração verde-clara nas folhas, foram menos vigorosas, e teve redução no crescimento radicular. Com o fornecimento de sacarose no meio de cultivo (S_{15} e S_{30}), observou-se o melhor crescimento das plântulas de bananeira (Figura 3), particularmente nos tratamentos em que foram utilizadas intensidades de RFA consideradas intermediárias (RFA_{120}) e elevadas (RFA_{180}). Nestas condições, foram obtidas plântulas com maior crescimento, coloração verde das folhas mais intensa, folhas mais longas, brotos eretos e sistema radicular robusto e altamente ramificado. Estas características indicam que as intensidades RFA_{120} e RFA_{180}, associadas às concentrações S_{15} E S_{30}, foram adequadas para o crescimento *in vitro* dessa variedade.

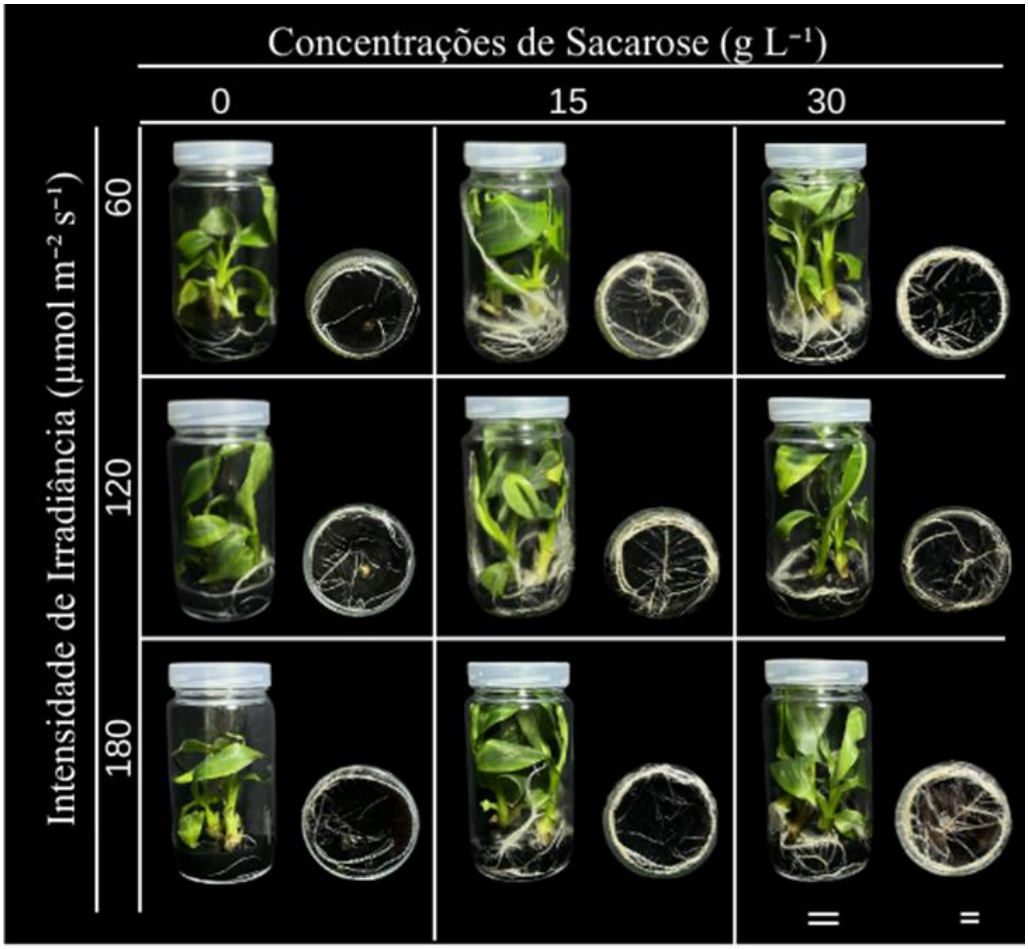

Figura 3. Desenvolvimento morfológico das plântulas de bananeira 'Willians' após 30 dias de cultivo *in vitro*, sob diferentes concentrações de sacarose (0, 15 e 30 g L^{-1}) e intensidades de irradiância (60, 120 e 180 µmol m^{-2} s^{-1}). Barras = 2 cm; 1cm.

Em relação às variáveis de crescimento das plântulas de bananeira, estas foram, em sua maioria, significativamente afetadas pelas intensidades da RFA e pela concentração de sacarose (Figura 4).

No comprimento da parte aérea, observou-se interação significativa entre os fatores concentrações de sacarose e intensidades da RFA (Figura 4A). As maiores médias (13 cm), foram verificadas nas plântulas sob RFA_{180} e RFA_{120}, independente das concentrações de sacarose. Em contrapartida, a RFA_{60} resultou em plântulas de bananeira com crescimento limitado da parte aérea (7 cm), independentemente da concentração de sacarose (Figura 4A). Houve interação significativa entre concentrações de sacarose e intensidades de RFA para o número de raiz ($p<0,05$). (Figura 4B).

O maior número de raízes foi observado nas plântulas do tratamento sob RFA_{180}-S_{30}, sob RFA_{120} não houve diferença estatística entre as concentrações de S_{15} e S_{30}, enquanto a ausência de sacarose resultou em menor emissão radicular comparada com a RFA_{180}. Em relação ao comprimento da maior raiz, observou-se que as plântulas nos tratamentos com RFA_{120} e RFA_{180} diferiram entre si, independente das concentrações de sacarose testadas (Figura 4C). A RFA_{180} apresentou plântulas com maior alongamento radicular (≅ 27 cm). Enquanto as plântulas na condição de RFA_{60} e nas três concentrações de sacarose testadas apresentaram comprimento radicular reduzido (≅ 15 cm). Para a variável "diâmetro", e número de folhas não houve diferença significativa (Figura 4D e 4E).

Para a área foliar, as plântulas nas três condições de RFAs com S_{15} apresentaram maior expansão foliar (≅ 20 cm^2), e não diferiram da RFA_{180} com S_{15} e S_{30}, em comparação com S_0 nas três RFAs testadas e RFA_{60}-S_{30} que apresentaram menor expansão foliar (Figura 4F).

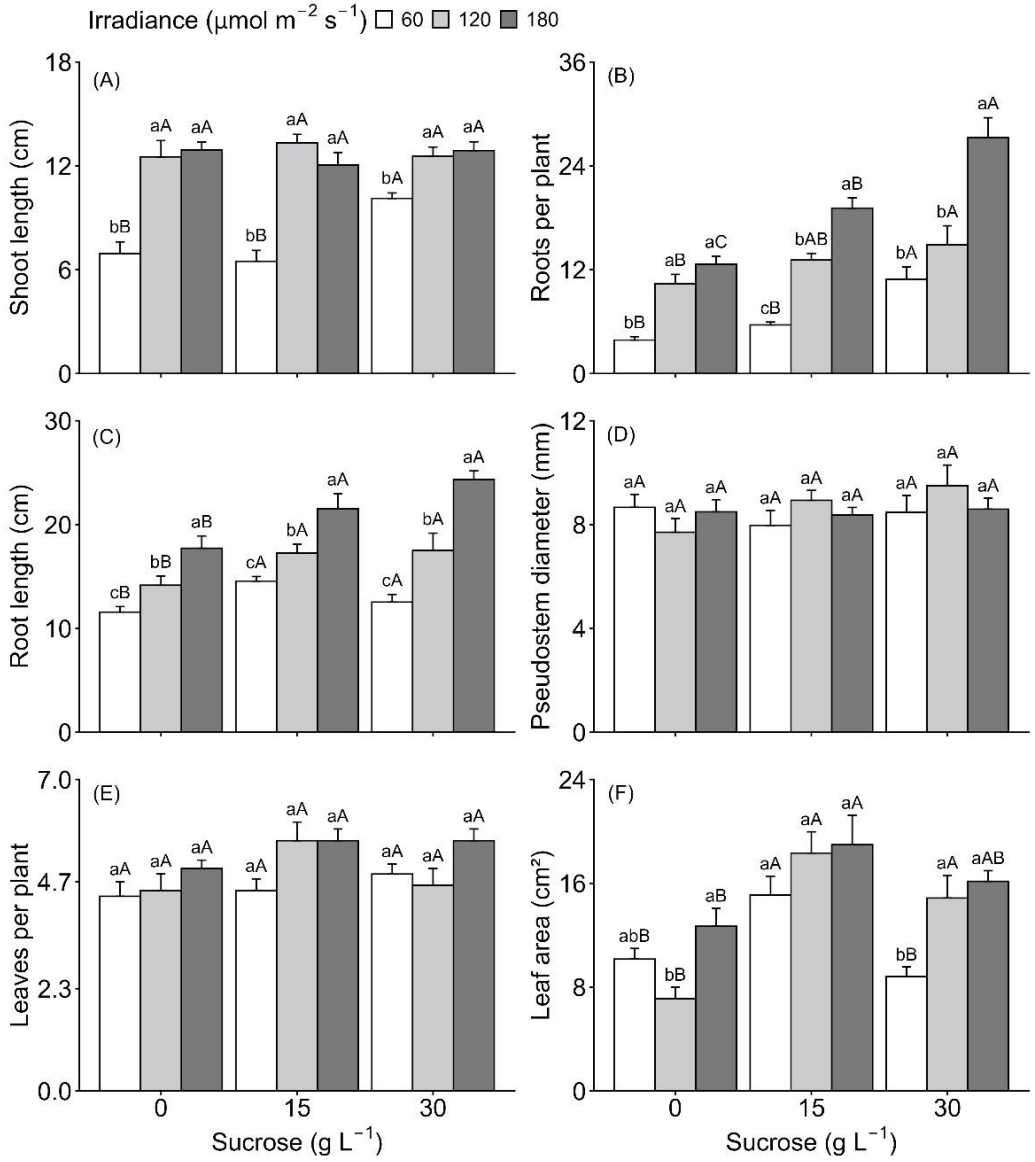

Figura 4. Variáveis de crescimento de plântulas de bananeira 'Willians' após 30 dias de cultivo *in vitro* sob diferentes intensidades de irradiância (60, 120 e 180 µmol m^{-2} s^{-1}) e concentrações de sacarose (0, 15 e 30 g L^{-1}). A) Comprimento da parte aérea. B) Número de raízes. C) Comprimento da maior raiz. D) diâmetro do pseodocaule. E) Número de folhas. F) Área foliar. Letras maiúsculas comparam as concentrações de sacarose dentro de cada intensidade de RFA, e letras minúsculas comparam as intensidades da RFA dentro de cada concentração de sacarose. Barras indicam o erro padrão da média (n = 8).

As variáveis massa fresca da parte aérea, massa fresca da raiz, massa seca da parte aérea e massa seca da raiz apresentaram interação significativa entre as intensidades de RFA e concentrações de sacarose ($p < 0,05$) (Figura 5). A massa fresca da parte aérea (MFPA) foi significativamente influenciada por ambos os fatores, e observou-se maior valor de MFPA (≅2,5 g) nas plântulas submetidas a RFA_{180} independente das concentrações de sacarose. Enquanto a RFA_{60} E RFA_{120} não apresentaram diferenças significativas (Figura 5A). Resposta semelhante foi observada para a variável massa seca

da raiz (MFR) (Figura 5B). Em relação à massa seca da parte aérea (MSPA), e em comparação com as plântulas nos tratamentos de RFA_{60} e RFA_{120} as plântulas do tratamento de RFA_{180} independente da concentração de sacarose, apresentaram as maiores médias dessa variável (≅0,25g). Resultados semelhantes foram observados para a massa seca da raiz (MSR) (Figura 5D)

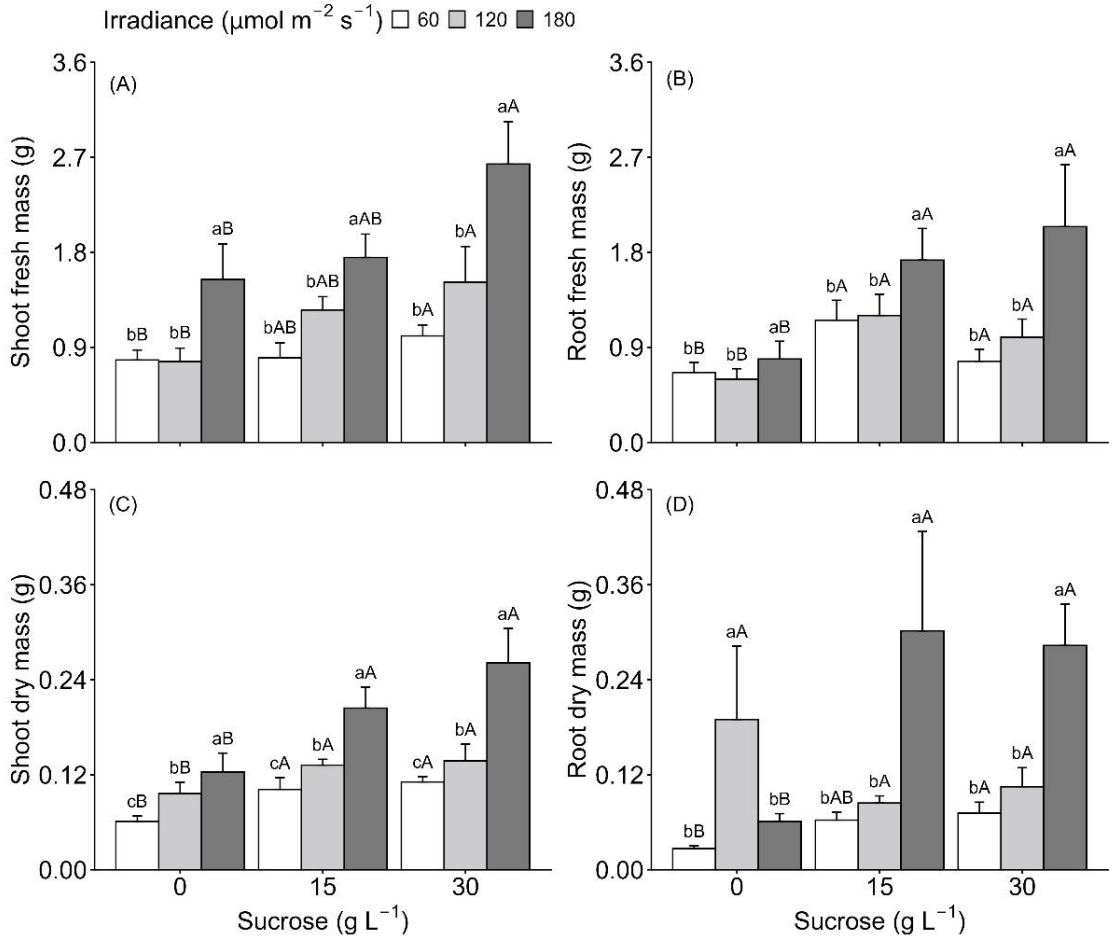

Figura 5. Massa fresca e seca de plântulas de bananeira 'Willians' após 30 dias de cultivo *in vitro* sob diferentes concentrações de sacarose (0, 15 e 30 g L^{-1}) e intensidade RFA (60, 120 e 180 µmol m^{-2} s^{-1}). A) Massa fresca da parte aérea. B) Massa fresca das raízes. C) Massa seca da parte aérea. D) Massa seca das raízes. Letras maiúsculas comparam as concentrações de sacarose dentro de cada intensidade de RFA, e letras minúsculas comparam as intensidades de RFA dentro de cada concentração de sacarose. Barras indicam o erro padrão da média (n = 8).

Os valores de fluorescência mínima (F_o), fluorescência variável (F_v) e a fluorescência máxima (F_m), bem como a razão F_v/F_m não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos (Figuras 6A; 6B; 6C e 6F). Contudo, a razão Fv/Fo apresentou diferenças significativas entre os tratamentos. Os menores valores de Fv/Fo

foram observados nas plântulas cultivadas nas concentrações de S_0 E S_{15} sob RFA_{180}, não diferindo estatisticamente da RFA_{120} nessas mesmas concentrações. Por outro lado, os maiores valores foram verificados nos tratamentos na condição de RFA_{120}-S_{30} e RFA_{180}-S_{30}, os quais não diferiram da RFA_{60} (Figura 6D).

Nas plântulas de bananeira, o índice de desempenho (PI) apresentou diferença significativa entre os tratamentos (Figura 6G). Os maiores valores de PI foram observados nas plântulas cultivadas sob RFA_{180}-S_{30}. Em contrapartida, a RFA_{180}, as menores médias foram verificadas na ausência de sacarose (S_0). Para RFA_{60} e RFA_{120} não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações de sacarose.

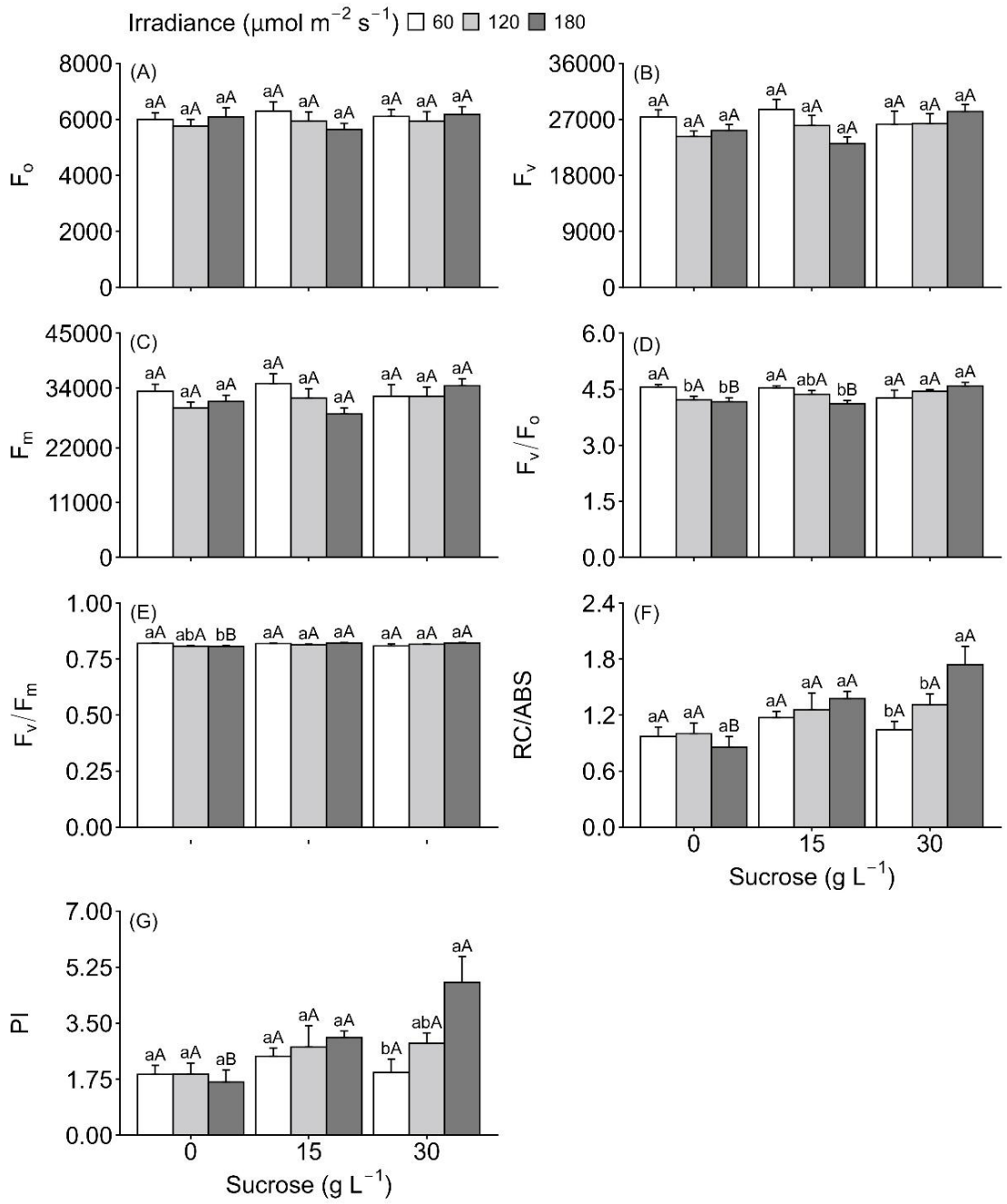

Figura 6. Parâmetros de fluorescência da clorofila em plântulas de bananeira 'Willians' após 30 dias de cultivo *in vitro* sob diferentes intensidades de RFA (60, 120 e 180 µmol m^{-2} s^{-1}) e concentrações de sacarose (0, 15 e 30 g L^{-1}). A) Fluorescência mínima (Fo). B) fluorescência variável (Fv). C) fluorescência máxima (Fm). D) razão Fv/Fo. E) razão Fv/Fm. F) densidade de centros de reação ativos do fotossistema II. G) Índice de desempenho. Letras maiúsculas comparam concentrações de sacarose dentro de cada intensidade de RFA, enquanto letras minúsculas comparam as intensidades de RFA dentro de cada concentração de sacarose (teste de Tukey; $p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média (n = 6).

Com relação aos teores de clorofila *a*,clorofila *b*, carotenoides, clorofila total, relação clorofila a/b, e relação clorofila total/carotenoides, estas características foram, em sua maioria, significativamente afetadas pelas intensidades da RFA e pela concentração de sacarose avaliados (Figura 7).

Com relação ao teor de clorofila *a*, em comparação as plântulas do tratamento de RFA_{120} com S_{15} e S_{30} (≅ 390 g µmol m^{-2}), as plântulas de bananeira cultivadas no tratamento de RFA_{180}, apresentaram os maiores valores (≅ 450g µmol m^{-2}), independente das concentrações de sacarose (Figura 7). O teor de clorofila *b* não teve diferença significativa, tanto as concentrações de sacarose quanto para as intensidades de RFA (Figura 7B). Os carotenoides não apresentaram diferenças significativas nas plântulas na condição de S_{15} e S_{30}, independente da RFA testada, entretanto, as plântulas na condição de S0, apresentaram valores inferiores nas três RFAs testadas (Figura 7C).

Para a relação clorofila *a/b* (Figura 7D), não houve diferenças significativas entre os tratamentos testados. Resultados semelhantes foram encontrados para relação clorofila total/carotenoides (Figura 7F). Enquanto a clorofila total, as plântulas dos tratamentos com concentrações de S_{15} e S_{30} apresentaram valores superiores em relação as plântulas dos tratamentos com concentração de 0 g L^{-1}. Independente das RFAs testadas (Figura 7E).

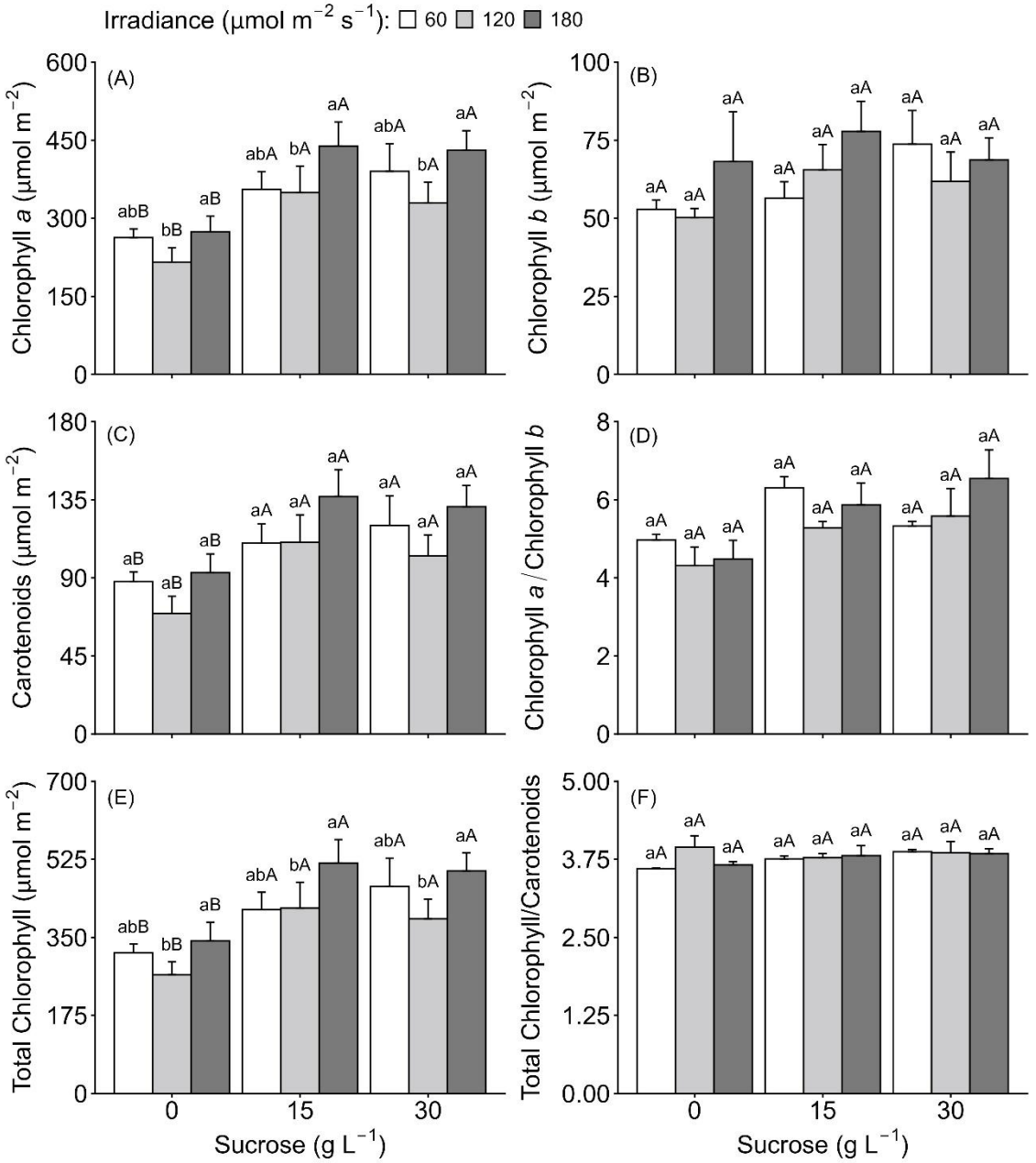

Figura 7. Teores de pigmentos fotossintéticos em plântulas de bananeira 'Willians' após 30 dias de cultivo *in vitro* sob diferentes concentrações de sacarose (0, 15 e 30 g L^{-1}) e intensidade de RFA (60, 120 e 180 µmol m^{-2} s^{-1}). A) Clorofila *a*. B) Clorofila *b*. C) Carotenoides. D) Clorofila *a*/Clorofila *b*. E) Clorofila total. F) Razão Clorofila total/Carotenoides. Letras maiúsculas comparam concentrações de sacarose dentro de cada intensidade de RFA, enquanto letras minúsculas comparam as intensidades de RFA dentro de cada concentração de sacarose (teste de Tukey; $p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média (n = 6).

.

A assimilação fotossintética de CO_2 (A), a concentração de CO_2 no mesofilo foliar (C_i), e da relação entre a concentração de CO_2 no mesofilo foliar e a concentração externa de CO_2 na folha (C_i/C_a) apresentaram interação significativa entre os fatores intensidades de RFA e concentrações de sacarose ($p<0,05$) (Figura 8).

Nos tratamentos sob a RFA_{60}, e nas três concentrações de sacarose (S_0, S_{15} e S_{30}), a assimilação fotossintética de CO_2 (A) apresentou valores negativos (Figura 8A). No tratamento com RFA_{120}-S_{30}, também foram registrados valores negativos para as plântulas de bananeira. Nas condições de RFA_{120} com S_0 e S_{15} foram observadas plântulas com valores positivos da assimilação fotossintética de CO_2. E não diferiram das plântulas dos tratamentos RFA_{180}, independente das concentrações de sacarose avaliadas (Figura 8A).

Nas três concentrações de sacarose avaliadas (S_0, S_{15} e S_{30}), a concentração de CO_2 no mesofilo foliar (C_i) foi maior nas plântulas cultivadas sob a RFA_{60} (≅ 450 µmol mol^{-1}) (Figura 8B). E não diferiram das plântulas cultivadas sob $RFA_{120}S_{30}$ (≅ 490 µmol CO_2 µmol mol^{-1}), enquanto os valores reduzidos de Ci foram observados nas plântulas do tratamento sob condição de RFA_{120} com S_0 e S_{30} e RFA_{180}, independente das concentrações de sacarose. A mesma reposta foi observada na relação Ci/Ca (Figura 8C).

Nas plântulas dos tratamentos com S_0 e S_{15} independente da RFA, apresentaram valores maiores para condutância estomática (gs), em comparação com as plântulas nas condições de RFA_{180}-S_{30} (Figura 8D). Em relação a transpiração (E), as plântulas nas condições de (RFA_{60} com S_0 e S_{15}) não diferiram das plântulas nas condições de (RFA_{120} com S_0 e S_{15}), em comparação com RFA_{180}, que apresentaram valores menores, independente das concentrações de sacarose (Figura 8E).

O índice estomático foi menor nas plântulas cultivadas sob RFA_{120}-S_{30} e RFA_{180}-$S_{30,}$ em comparação com as plântulas nas condições de $RFA_{60,}$ nas três concentrações de sacarose, em $RFA1_{20}$ com S_0 e S_{15} e RFA_{180}-$S_{15,}$ que apresentaram os maiores valores.

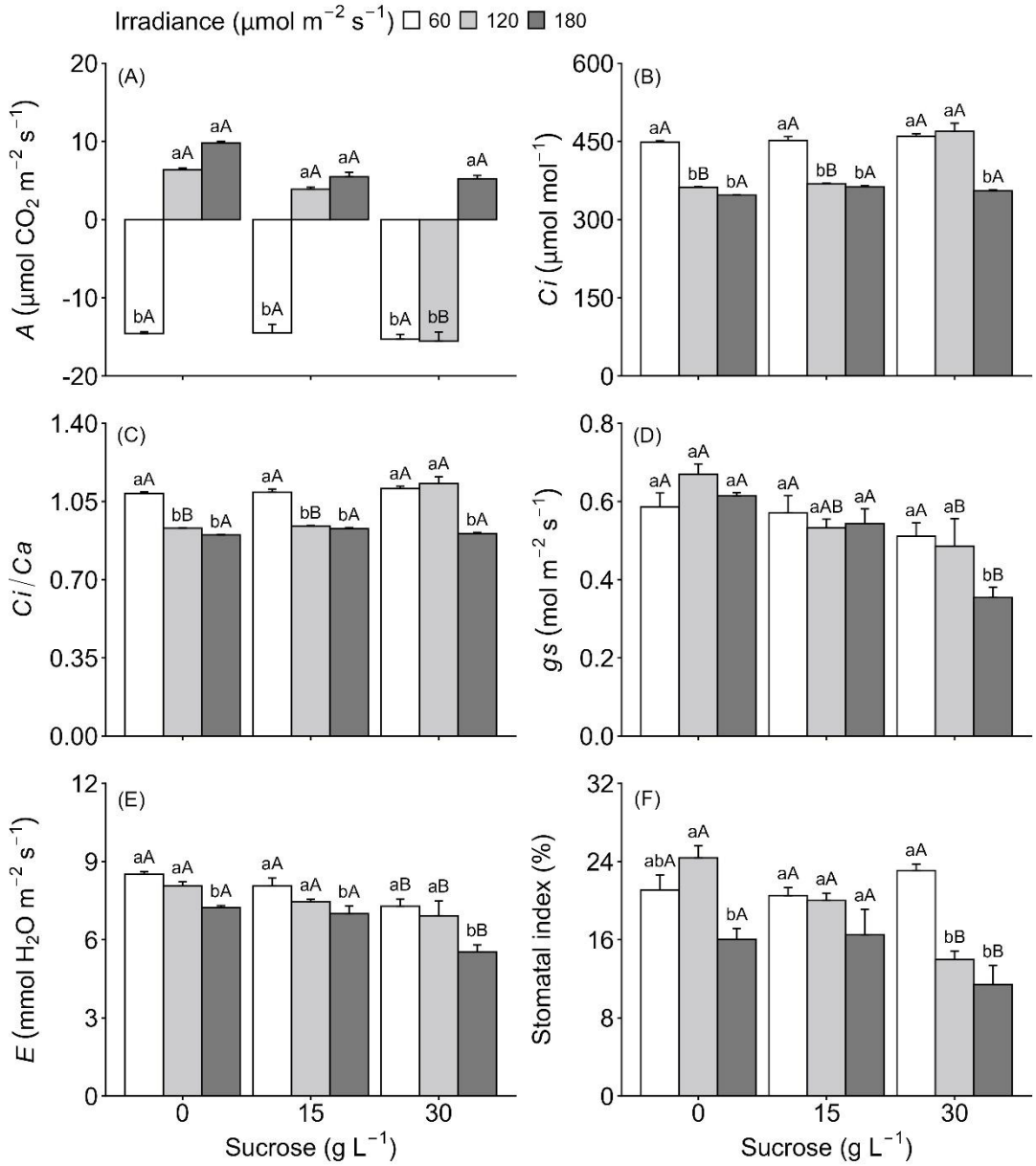

Figura 8. Trocas gasosas de plântulas de bananeira 'Willians' após 30 dias de cultivo *in vitro* sob diferentes concentrações de sacarose (0, 15 e 30 g L^{-1}) e intensidades de RFA (60, 120 e 180 µmol m^{-2} s^{-1}). A) Taxa fotossintética líquida (A). B) Concentração interna de CO_2 (Ci)(µmol mol^{-1}). C) Razão entre concentração interna e ambiente de CO_2 (Ci/Ca). D) Condutância estomática (gs) (A unidade de gs é mol m^{-2} s^{-1}). E) Taxa de transpiração. F) Índice estomático. Letras maiúsculas comparam concentrações de sacarose dentro de cada intensidade de RFA, enquanto letras minúsculas comparam as intensidades de RFA dentro de cada concentração de sacarose (teste de Tukey; $p \leq 0,05$). Barras indicam o erro padrão da média (n = 6).

Em relação, as análises anatômicas das folhas de plântulas de bananeira 'Williams' cultivadas *in vitro* evidenciaram diferenças estruturais em função da intensidade da radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Em todos os tratamentos, as folhas apresentaram epiderme adaxial (Eax) e epiderme abaxial (Eab), mesofilo diferenciado em

parênquima paliçádico (PP) e parênquima esponjoso (PE), além de feixes vasculares (FV) distribuídos ao longo da lâmina foliar.

Nas plântulas submetidas à RFA_{60}, observou-se mesofilo com menor grau de diferenciação, caracterizado por parênquima paliçádico pouco espesso, formado por células curtas e pouco alongadas. O parênquima esponjoso apresentou células relativamente compactas, com lacunas intercelulares (LI) pouco evidentes. Os feixes vasculares mostraram-se de menor dimensão, com organização simples e reduzido desenvolvimento dos tecidos condutores (Figuras 9A, 9B e 9C). Sob RFA_{120}, as folhas apresentaram aumento da espessura do mesofilo, com parênquima paliçádico mais desenvolvido e constituído por células alongadas e dispostas de forma mais organizada. O parênquima esponjoso exibiu maior número de lacunas intercelulares, distribuídas de maneira mais uniforme ao longo do mesofilo. Os feixes vasculares tornaram-se mais evidentes, com maior diferenciação dos tecidos associados (Figuras 9D, 9E e 9F). Nas plântulas cultivadas sob RFA_{180}, verificou-se maior diferenciação anatômica das folhas. O parênquima paliçádico apresentou-se mais espesso e bem definido, com células alongadas e compactas. O parênquima esponjoso mostrou ampliação das lacunas intercelulares, com espaços intercelulares mais evidentes ao longo do mesofilo. Os feixes vasculares apresentaram maior desenvolvimento, com tecidos condutores mais espessos e melhor delimitados (Figuras 9G, 9H e 9I)

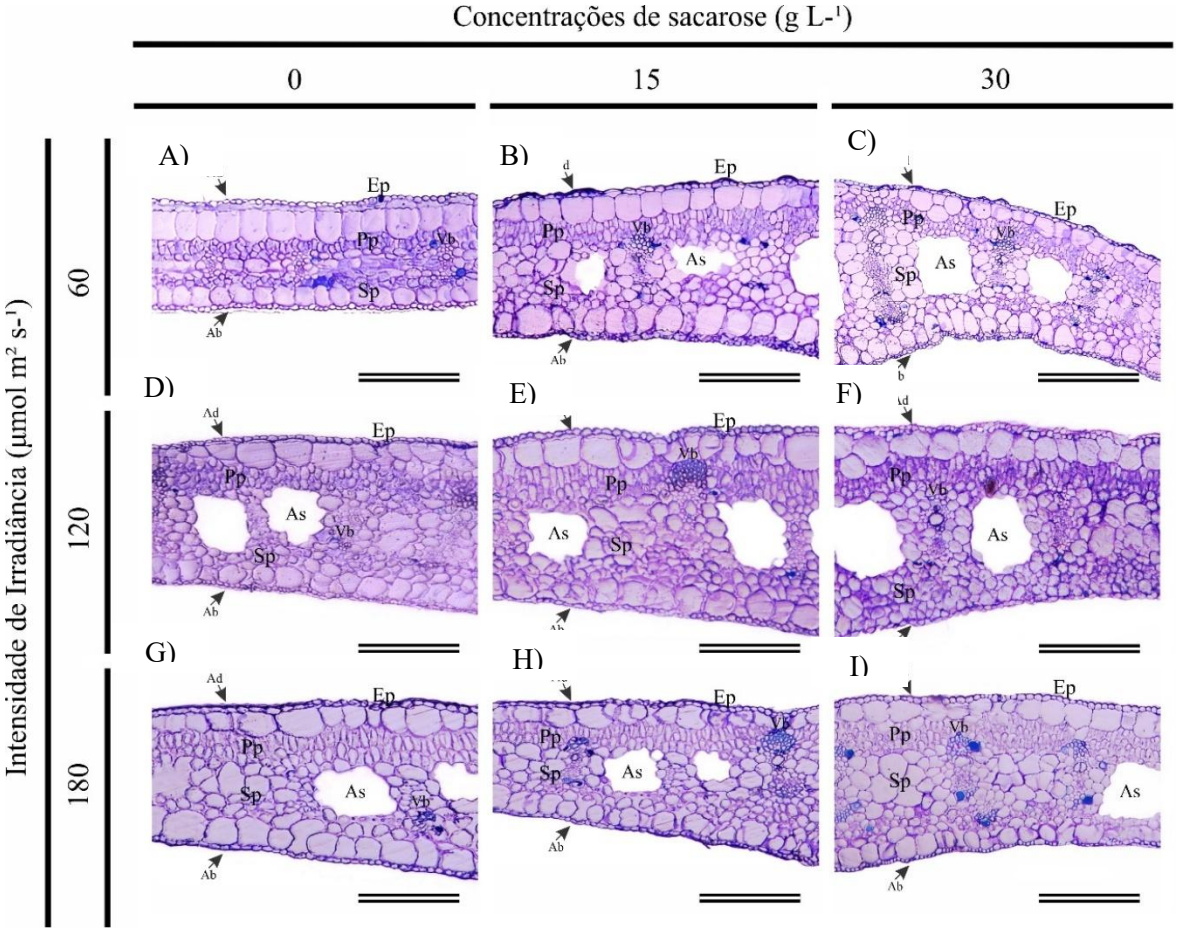

Figura 9. Cortes transversais do limbo das folhas de bananeira cv. Williams cultivadas *in vitro* sob diferentes intensidades da radiação fotossinteticamente ativa (60, 120 e 180 µmol m^{-2} s^{-1}) e concentrações de sacarose no meio de cultivo (0, 15 e 30 g L^{-1}). Epiderme adaxial (Ad) e abaxial (Ab), epiderme (Ep), parênquima paliçádico (Pp), parênquima esponjoso (Sp), feixes vasculares (Vb) e espaços intercelulares (As). Barras = 200 µm

Influência da sacarose e da intensidade da RFA no crescimento e atributos fisiológicos de bananeira 'Williams' após transferência para a fase de aclimatação

Após 30 dias de aclimatação em casa-de-vegetação, as plântulas de bananeira cv. Williams mantiveram os padrões semelhantes aos observados no cultivo *in vitro* (Figura 10). As plântulas na condição de RFA_{60}-S_0, foi observado que as plântulas de bananeira durante o cultivo *in vitro*, e quando transferidas para o ambiente externo, também apresentaram menor vigor. Na condição *ex vitro*, as plântulas submetidas aos tratamentos de RFA_{120}-S_{15} e RFA_{180}-S_{30} na condição *in vitro* apresentaram brotos eretos e sistema radicular robusto.

Com relação a porcentagem de sobrevivência das plântulas na condição *ex vitro*, a taxa foi 100% (dados não mostrados), ou seja, mesmo as plântulas dos tratamentos com vigor reduzido, sobreviveram ao processo de aclimatação.

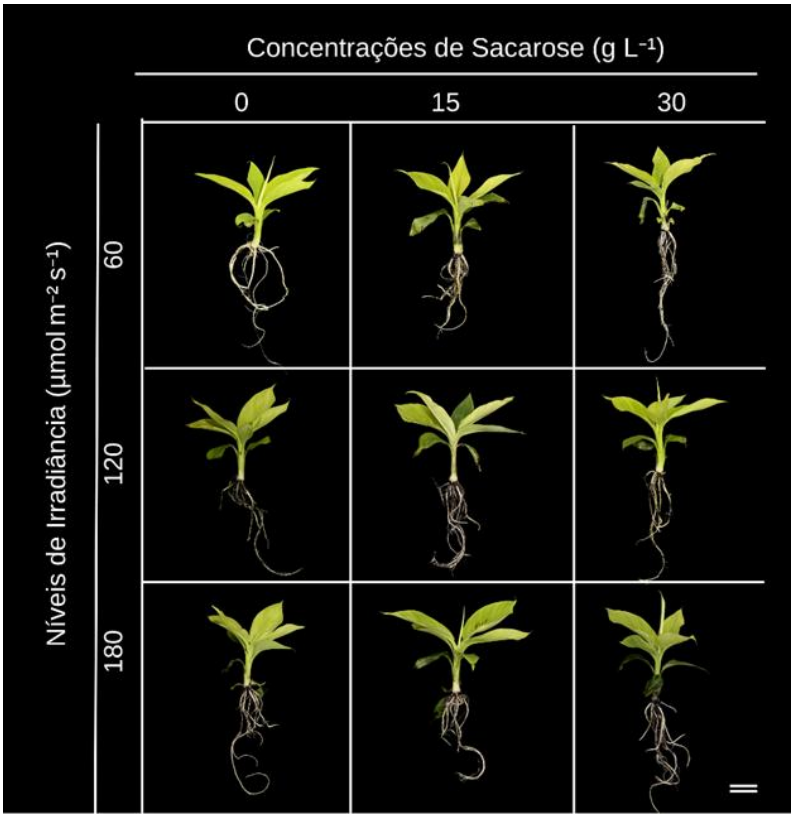

Figura 10. Desenvolvimento morfológico das plântulas de bananeira 'Willians' após 30 dias de cultivo *ex vitro*. Barras = 2 cm.

Após a aclimatação, e em relação à RFA e à concentração de sacarose durante o cultivo *in vitro,* as plântulas de bananeira apresentaram diferenças significativas relacionadas às caraterísticas de crescimento (Figura 11).

O comprimento da parte área das plântulas cultivadas em menor intensidade de $RFA_{60,}$ independente das concentrações de sacarose, apresentaram o crescimento *ex vitro* limitado (≅ 10 cm) ((Figura 11A). Embora no ambiente *in vitro* a adição de sacarose tenha promovido pequeno incremento no comprimento, na condição *ex vitro*, as diferenças entre os fatores sacarose e RFA não foram significativas ($p > 0,05$). Em contrapartida, as plântulas sob irradiância de RFA_{120}-S_{15} e RFA_{180}-S_{15}, observou-se expressivo aumento no comprimento da parte aérea, que atingiram valores médios próximos de (≅18 cm).

Para o número de folhas, as plântulas submetidas os tratamentos de RFA_{120}-S_0, RFA_{120}-S_{15} e RFA_{180}-S_{30}, apresentaram maior emissão foliar (Figura 11B).

Em relação ao número de raízes (Figura 11C), observou-se interação significativa entre os fatores RFA e concentração de sacarose. As plântulas cultivadas sob RFA_{120}, nas concentrações de (S_{15} e S_{30}) de sacarose apresentaram os maiores valores (≅ 15), diferindo significativamente das plântulas do tratamento com S_0 nesta mesma irradiância.

Independente das concentrações de sacarose, e as plântulas submetidas à RFA_{60} e RFA_{180} não diferiram entre si.

Com relação ao comprimento da maior raiz, foi observado que as plântulas cultivadas sob RFA_{60}-S_0 e RFA_{60}-S_{30}, apresentaram valores maiores (≅ 37 cm) e não diferiram das plântulas nos tratamentos de RFA_{120}-S_0, RFA_{120}-S_{15} e RFA_{180}-S_{30} (Figura 11D). Para o 'diâmetro do pseudocaule', foi observado uma resposta diferente de quando as plântulas estavam em ambiente *in vitro* (Figura 11E). Assim, observou-se que, as plântulas submetidas as condições com RFA_{60} com S_0 e S_{30}, apresentaram maiores valores (≅ 15 mm) e não diferiram das plântulas nos tratamentos de RFA_{120}-S_{15} e RF_{180} com S_{15} e S_{30}.

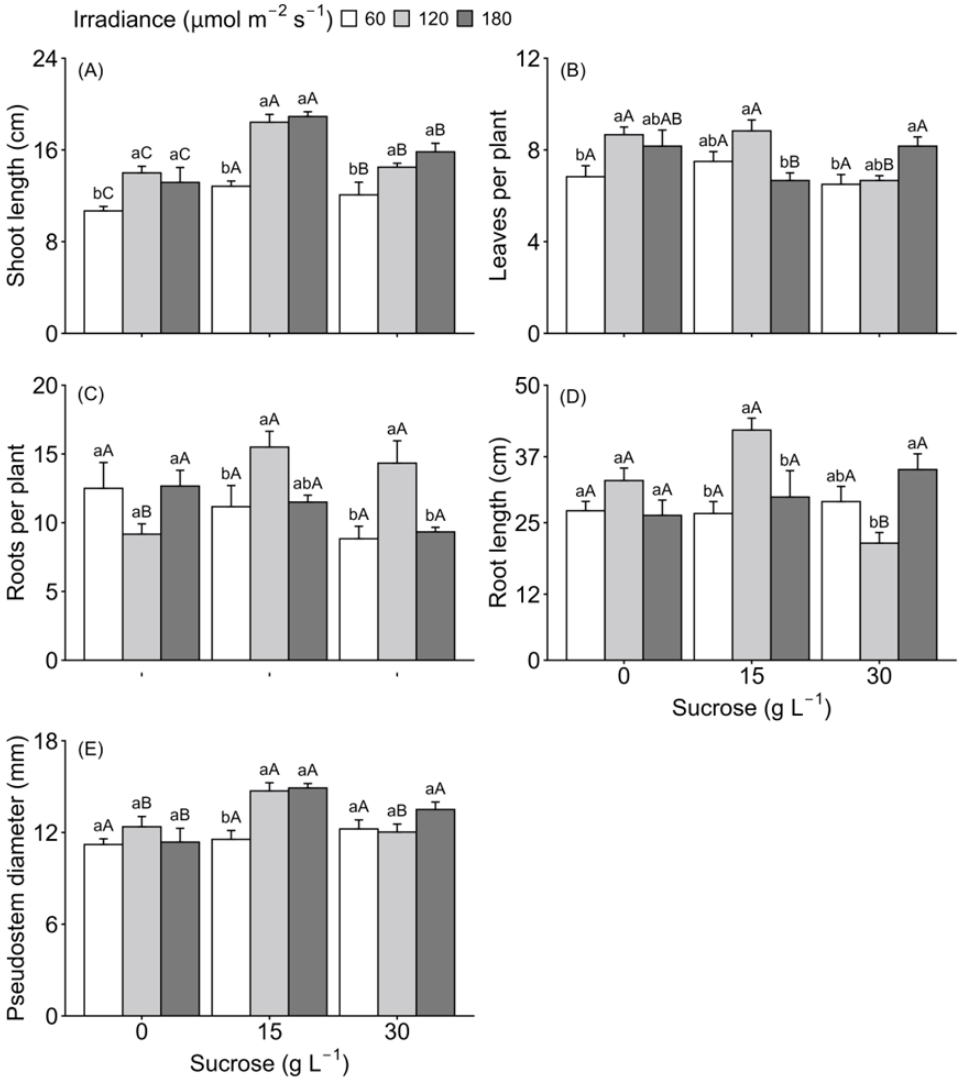

Figura 11. Características de crescimento de plântulas de bananeira 'Willians' após 30 dias de cultivo *ex vitro*. A) Comprimento da parte aérea. B) Número de folhas. C) Número de raízes. D) Comprimento da maior raiz. E) "Diâmetro do pseudocaule". Letras maiúsculas comparam concentrações de sacarose dentro de cada intensidade de RFA, enquanto letras minúsculas comparam as intensidades de RFA dentro de cada concentração de sacarose (teste de Tukey; $p \leq 0{,}05$). Barras indicam o erro padrão da média (n = 6).

6. DISCUSSÃO

Para as variáveis de crescimento das plântulas de bananeira 'Williams' em cultivo *in vitro*, os resultados obtidos foram modulados tanto pela intensidade de RFA, quanto pelas concentrações de sacarose estudadas.

O crescimento das plântulas de bananeira foi favorecido pelas condições de RFA_{120} e RFA_{180}, associado a S_{15} e S_{30} de sacarose. Já sob $RFA_{60,}$ associado a S_0 e S_{15} de sacarose, observou-se crescimento reduzido das plântulas (Figura 4A). Esse efeito pode ser explicado pela condição de cultivo fotomixotrófico, em que mesmo com sacarose no meio de cultivo, as plântulas assimilam uma quantidade de CO_2. Para construir os esqueletos carbônicos, as plântulas utilizam o carbono proveniente da fotossíntese e o carbono proveniente da sacarose adicionada no meio (Ainsworth et al. 2011; Patrick 2013). Ainda, observou-se que as intensidades da RFA_{120} e RFA_{180}, contribuíram significativamente para o crescimento das plântulas *in vitro* de bananeira, e este resultado reforça a importância da RFA no crescimento vegetativo *in vitro*.

De acordo com Ramos et al. (2024), a intensidade da RFA influencia as vias fotoquímicas e bioquímicas da fotossíntese, e estas fases da fotossíntese são fundamentais para a assimilação de carbono, o acúmulo de carboidratos, responsáveis pelo crescimento da planta. De fato, neste estudo, com a bananeira cultivada *in vitro*, houve aumento da massa fresca e seca da parte aérea e da raiz (Figura 5). Nessa condição, quando comparado as plântulas dos tratamentos com reduzida RFA ou reduzida concentração de sacarose, o equilíbrio entre fotossíntese e respiração permite que as plântulas utilizem tanto a RFA quanto os açúcares do meio, o que favorece o crescimento (Van Huylenbroeck; Debergh, 1996; Durand et al., 2018).

Esses resultados corroboram os resultados encontrados por Pereira et al. (2020), os quais trabalharam com a cultura *in vitro* de *Musa* spp. Estes autores observaram que as concentrações reduzidas de sacarose não foram satisfatórias para o crescimento dos explantes. Possivelmente em função da limitada capacidade fotossintética em condições *in vitro*, tornando a sacarose essencial como fonte de carbono. Ao que tudo indica, para esta espécie, a presença da sacarose no meio de cultivo é importante na resposta ao aumento da intensidade da RFA. Assim, a interação entre fonte exógena de carbono e intensidade luminosa adequada atuam de forma conjunta para otimizar o crescimento da parte aérea em plântulas de bananeira Willians cultivada *in vitro*.

Para o número de folhas, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos no cultivo *in vitro* (Figura 4E), o que pode estar relacionado às condições do

ambiente *in vitro*, como a presença de sacarose no meio e a limitação da atividade fotossintética, que reduzem a dependência das plântulas em relação à luz como fonte de carbono (Saeedi et al., 2023). Dessa forma, mesmo com a variação da RFA, os mecanismos de percepção luminosa, como os mediados por fitocromos e criptocromos, podem não ter sido suficientemente estimulados para promover diferenças na emissão foliar (Gao et al., 2024). Já no cultivo *ex vitro*, em que as plantas passam a depender mais da fotossíntese e estão expostas a condições ambientais variáveis, a RFA exerce papel mais evidente na regulação do crescimento, o que explica o aumento no número de folhas nas plântulas sob maiores níveis de RFA (Figura 11A) (Muleo et al., 2025).

Em condições de maior concentração de sacarose e maior intensidade da RFA, o aumento do número de raízes e do comprimento da maior raiz nas plântulas de bananeira, bem como a redução observada na ausência de sacarose e sob reduzida intensidade de RFA (Figura 4B e 4C), pode ser explicado pela dependência das raízes em relação ao aporte de fotoassimilados proveniente da parte aérea. De acordo com Hennion et al. (2018), as raízes são órgãos tipicamente heterotróficos, que dependem exclusivamente da importação de sacarose via floema para suprir demandas energéticas, tanto para o crescimento quanto para a manutenção metabólica. As concentrações mais altas de açúcares solúveis aumentam diretamente a taxa de alongamento da raiz primária e favorecem a formação de raízes laterais (Freixes et al 2002; Ogawa et al., 2009).

No entanto, no cultivo *ex vitro*, foi observado comportamento distinto, em que as plântulas submetidas a RFA_{60} e RFA_{180} não diferiram entre si, independente da concentração de sacarose (Figura 11C e 11D). Esse resultado pode estar associado à maior qualidade fisiológica das plântulas formadas sob menor disponibilidade de sacarose, as quais apresentam maior capacidade autotrófica e, consequentemente, melhor adaptação às condições *ex vitro*. Além disso, raízes formadas *in vitro*, especialmente sob altas concentrações de sacarose, podem apresentar baixa funcionalidade, sendo frequentemente substituídas após a aclimatação, o que reduz a eficiência inicial na absorção de água e nutrientes.

Em condições de cultivo *in vitro*, as características relacionadas à emissão da fluorescência da clorofila a constituem ferramentas sensíveis para avaliar a eficiência fotoquímica do fotossistema II (PSII). Neste estudo, a modulação da RFA e das concentrações de sacarose afetou de forma distinta as diferentes características avaliadas, refletindo em ajustes na maquinaria fotoquímica das plântulas de bananeira ‘Willians’

Os valores de F_o, F_m e F_v se mantiveram estáveis entre as plântulas de todos os tratamentos. Essa constância sugere que a estrutura funcional e a integridade básica do PSII foram preservadas nas diferentes combinações da RFA e suprimento energético.

A relação entre a fluorescência variável e a fluorescência máxima (F_v/F_m) é uma medida da eficiência quântica máxima do FSII, ou seja, é uma relação que avalia a eficiência quântica de todos os centros do PSII, quando estes estão abertos. Dessa forma, essa variável indica a probabilidade de que um elétron absorvido pelos pigmentos fotossintéticos do PSII reduza a quinona A (Krause; Weis, 1991). Neste estudo, esta relação F_v/F_m, permaneceu dentro do intervalo fisiológico considerado ideal (0,75–0,85) (Bolhàr-Nordenkampf et al., 1989). Esses valores sugerem que, independentemente da combinação entre sacarose e RFA, o PSII manteve a integridade funcional (Guidi et al., 2019).

Entre as variáveis avaliadas, a relação Fv/Fo apresentou pequenas variações em função das condições de cultivo, especialmente sob maior irradiância. A redução observada em plântulas de bananeira 'Willians' cultivadas em condição fotoautotrófica (S_0) e sob baixo suprimento exógeno de carbono (S_{15}), notadamente sob RFA_{180}, uma limitação funcional do fotossistema II associada ao aumento da demanda energética nessa condição. Nessas condições, a ausência ou redução da sacarose, associada à elevada RFA, pode limitar a capacidade de utilização dos produtos da fase fotoquímica no ciclo de Calvin–Benson. Como consequência, ocorre um desequilíbrio entre a absorção de energia luminosa e sua utilização metabólica, o que pode comprometer a eficiência do PSII e se refletir na redução da relação Fv/Fo (Iñiguez et al., 2021).

A variação do PI foi ainda mais evidente para as plântulas de bananeira, cultivadas na condição de RFA_{180}-S_{30}. Este índice, por integrar diversas etapas do processo fotoquímico, desde a absorção de energia até a eficiência de transporte de elétrons, é considerado por alguns autores como um dos melhores indicadores da vitalidade fotossintética (Strasser et al., 2004; Verma et al., 2025). O aumento de RC/ABS e PI nesse mesmo tratamento revela maior densidade de centros de reação ativos e maior estabilidade do aparato fotossintético (Strasser et al., 2000). Essa maior eficiência se reflete diretamente em maior produção de ATP e NADPH, moléculas fundamentais para o ciclo de Calvin, o que assegura o fornecimento de energia química e poder redutor necessários à assimilação de carbono (Iñiguez et al., 2021). Por outro lado, a ausência de sacarose associada à reduzida RFA resultou em redução significativa dos parâmetros PI e

RC/ABS. Esses resultados indicam que, em condições de baixo aporte de carbono exógeno e irradiância insuficiente, ocorre limitação na eficiência do metabolismo fotoautotrófico, refletida na menor capacidade de conversão da energia luminosa em energia química (Kozai, 2010; Fuentes et al., 2007).

Para a variável índice estomático, o estudo mostrou que as plântulas de bananeira apresentaram maior valor desta variável sob reduzida RFA_{60}, enquanto na concentração de RFA_{120} e RFA_{180}, associado a S_{30}, o índice estomático foi inferior. Esse padrão pode ser explicado pelo fato de que, sob reduzida RFA e limitação de sacarose exógena, as plântulas podem ter restrição energética e de carbono, o que resulta em menor produção de ATP e NADPH. Como resposta adaptativa, a planta aumenta a densidade relativa de estômatos, e eleva o índice estomático na tentativa otimizar a entrada de CO_2 no mesofilo e favorecer o processo fotossintético. (Han et al., 2020; Lemonnier; Lawson, 2023). Ainda, uma outra justificativa pode estar relacionada à reduzida formação de células da folha, devido ao reduzido suporte de energia e esqueleto carbônico.

Em contraste, sob elevada RFA e a presença de sacarose resultou em plântulas com uma redução do índice estomático. Resultados semelhantes foram relatados por Vahdati et al. (2017), no estudo com plantas de *Juglans regia,* os autores indicaram que o aumento da concentração de sacarose pode reduzir o índice estomático, particularmente em condições onde o acúmulo de CO_2 no interior dos frascos é suficiente para manter a fotossíntese. Esta ação favorece a formação de estômatos menores, funcionais e com melhor controle da perda de água (Saeedi et al., 2023). Além disso, a alta disponibilidade de fotoassimilados, somada à suplementação de sacarose exógena, pode funcionar como um sinal de *feedback* negativo, e indica à planta que não há necessidade de expandir ainda mais a superfície estomática, e assim, limitar a divisão e expansão celular (Flütsch et al., 2020; Han et al., 2020).

O excesso da RFA pode induzir o estresse fotoinibitório, e esse estresse pode acontecer devido ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), e assim, acionar mecanismos de proteção que restringem a formação de novos estômatos (Lawson; Matthews, 2020; Wong et al., 1979. Esse conjunto de fatores fisiológicos pode explicar o maior índice estomático observado nas plântulas sob reduzida RFA, e também refletem nos teores de pigmentos fotossintéticos.

Os teores de pigmentos fotossintéticos refletem diretamente a capacidade das plântulas em captar RFA e converter a energia dos fótons em atividade fotoquímica, Além disso, pigmentos acessórios, como os carotenoides, desempenham papel fundamental na proteção do aparato fotossintético, atuando na dissipação do excesso de energia e prevenindo danos às moléculas de clorofila (Zhang et al. 2023). Nas plântulas de bananeira, o aumento dos teores de clorofila *a* foi observado apenas nos tratamentos com presença de sacarose (S_{15} e S_{30}), e mais evidente sob RFA_{180} (Figura 7A). Esses resultados indicam que o suprimento adequado de carbono exógeno favorece a biossíntese de pigmentos fotossintéticos em plântulas cultivadas *in vitro.* Esse efeito pode estar relacionado à ação da protochlorofilida oxidorredutase (POR) uma enzima que transforma a protochlorofila em clorofila funcional. Embora a presença da RFA seja necessária para que a POR funcione, o aumento da clorofila observado ocorreu principalmente devido à disponibilidade de sacarose, que forneceu energia e carbono suficientes para a produção de pigmentos (Hdider; Desjardins, 1994; Kozai et al., 2005).

As plântulas dos tratamentos em que foram testadas concentrações de S_{15} e S_{30} de sacarose apresentaram maiores teores de pigmentos de carotenoides. Enquanto as plântulas cultivadas na ausência de sacarose (S_0), apresentaram menores teores destes compostos (Figura 7C). Resultados semelhantes foram encontrados por Nhut et al. (2003), que observaram maior acúmulo de carotenoides em plântulas cultivadas com sacarose no meio. Os carotenoides são de extrema importância para as plantas, pois mitigam o dano fotoinibitório do aparato fotossintético (Merzlyak; Solovchenko, 2022). Estes pigmentos possuem a função de proteger as moléculas de clorofilas contra o excesso de RFA. As maiores concentrações de clorofilas necessitam de maiores concentrações de carotenoides para protegê-las (Torres-Netto, 2005; Sun et al., 2022).

O menor teor de clorofila total foi observada nas plântulas de bananeira cultivadas na ausência de sacarose, independente da RFA, o que pode ser atribuída à limitação de carbono exógeno, que restringe o suprimento de energia e de materiais necessários à síntese de pigmentos, proteínas e membranas do aparato fotossintético. Em condições fotoautotróficas, as plântulas jovens apresentam aparato fotossintético ainda imaturo, o que limita a produção endógena de carboidratos e compromete a biossíntese de pigmentos e proteínas associadas à fotossíntese. Nessa situação, a ausência de sacarose dificulta a maturação de cloroplastos imaturos em cloroplastos funcionais, retarda a organização das

lamelas tilacoides e, consequentemente, a montagem dos complexos fotossintéticos (Eckstein et al., 2012; Dewir et al., 2023).

As variáveis relacionadas às trocas gasosas são características centrais para entender a atividade do aparato fotossintético, o balanço hídrico e a capacidade das plântulas micropropagadas de transitar do metabolismo heterotrófico para o fotomixotrófico. Os dados deste estudo evidenciam que tanto a sacarose quanto a RFA modulam significativamente essas variáveis.

A assimilação fotossintética de CO_2 (A) foi maior nas plântulas de bananeira na condição de RFA_{180}-S_0 (Figura 8A), o que sugere uma ativação do metabolismo autotrófico que foi favorecida pela elevada intensidade da RFA e pela ausência de fonte exógena de carbono (Wong et al., 1979; Lawson et., 2012). Em condições de maior intensidade da RFA e sem sacarose no meio de cultivo, a planta necessita ativar rotas autotróficas para manter o metabolismo, o que também favorece a abertura estomática e, consequentemente, o consumo de CO_2 (Lawson; Matthews, 2020). Esta resposta foi confirmada quando se avalia a variável de condutância estomática (g_s), em que os valores desta variável foram mais elevados na condição de (S_0 e S_{15}) de sacarose em comparação com (S_{30}) (Figura 8D). O que está de acordo com Kozai et al. (2005), que indicam que a eliminação gradual de sacarose combinada à elevação da RFA estimula a transição funcional para o autotrofismo.

Em contraste, a assimilação fotossintética de CO_2 (A) nas plântulas crescidas sob RFA_{60}, teve valores negativos (apenas respiração) nas três concentrações de sacarose avaliadas (Figura 8A). Este fato mostra que, independentemente da disponibilidade de carbono exógeno, ocorreu uma limitação energética via fotossíntese devido à insuficiência de fótons. De maneira semelhante, na condição de RFA_{120}-S_{30}, não houve assimilação de CO_2 para as plântulas de bananeira testadas. Este resultado está de acordo com Fuentes et al. (2005), que indica que, mesmo sob alta RFA, o excesso de sacarose pode limitar a assimilação fotossintética de CO_2. Dessa forma, sugere-se que um excesso de carboidrato suprimiu a assimilação de CO_2, o que reduziu a abertura estomática e o consumo de CO_2 (Cowan; Troughton, 1971; Lawson; Matthews, 2020).

Nas plântulas de bananeira crescidas nas condições, tanto sob RFA_{60} nas três concentrações de sacarose testadas, e em RFA_{120}-S_{30}, os valores para as variáveis de C_i e C_i/C_a foram mais elevados para as plântulas (Figura 8B, C). Essa resposta indica que a

assimilação de carbono foi limitada, seja pela restrição energética imposta pela reduzida intensidade da RFA ou pelo excesso de carboidratos no meio de cultivo. Essas duas condições atuam como sinalizadores, e, desta maneira, houve redução na taxa de assimilação fotossintética de CO_2 (McAusland et al., 2016; Lemonnier; Lawson, 2024). Embora a condutância estomática (gs) (Figura 8D) não tenha diferido em função da intensidade da RFA, o aumento no valor da relação C_i/C_a mostra que o CO_2 difundido para o interior da folha não foi eficientemente assimilado, e evidencia um desacoplamento entre abertura estomática e fixação de carbono. Essa resposta se torna ainda mais evidente considerando que a bananeira é uma espécie de metabolismo C3 e é altamente dependente da atividade da Rubisco das células do mesofilo para a fixação de CO_2 (Siles et al., 2013). Nessas condições, o acúmulo de CO_2 nos espaços do mesofilo aliado à reduzida eficiência carboxilativa reflete uma limitação típica de plantas C3 sob restrição energética ou feedback negativo do excesso de açúcares (Daloso et al., 2015; Lawson et al., 2016; Deams et al., 2019). Dessa forma, reforça que tanto a insuficiência de fótons da RFA, quanto o excesso de sacarose podem comprometer a eficiência fotossintética e limitar a transição para um metabolismo autotrófico eficiente, refletindo-se também em alterações nas características anatômicas das folhas.

As alterações anatômicas observadas nas folhas de plântulas de bananeira 'Williams' cultivadas *in vitro* evidenciam que a RFA exerce um papel determinante na diferenciação estrutural do mesofilo, independentemente da concentração de sacarose utilizada no meio de cultivo, especialmente em condições de menor intensidade de RFA.

Sob RFA_{60}, a semelhança anatômica observada entre as diferentes concentrações de sacarose indica que, em condições de baixa disponibilidade de RFA, a fonte de carbono exógena não foi suficiente para promover alterações estruturais significativas na lâmina foliar. Nessas condições, as folhas apresentaram mesofilo pouco diferenciado, com parênquima paliçádico reduzido e lacunas intercelulares menores, padrão comumente associado a ambientes de baixa irradiância em sistemas de cultivo *in vitro.* Essa resposta sugere que, mesmo com variação na concentração de sacarose, a limitação por RFA atua como fator predominante na organização anatômica das folhas (Li et al 2017; Karabourniotis et al., 2021).

Com o aumento de RFA_{120}, observou-se maior diferenciação do mesófilo, com aumento da espessura do parênquima paliçádico e maior desenvolvimento das lacunas intercelulares no parênquima esponjoso. Esse padrão estrutural indica uma transição no

desenvolvimento anatômico das folhas, refletida no aumento do volume e da organização dos tecidos do mesófilo diretamente associados à captação da RFA e na difusão de CO_2 (Amitrano et al., 2025). Nessa condição, a disponibilidade de RFA intermediária, associada à presença de sacarose no meio de cultivo, pode ter favorecido um estado metabólico mais equilibrado, caracterizado pela atuação conjunta da fotossíntese e da fonte exógena de carbono, resultando no desenvolvimento de folhas com organização anatômica funcionalmente ajustada às condições do cultivo *in vitro* (Li et al., 2020; Tammo et al., 2025).

Sob RFA_{180}, as folhas apresentaram o maior grau de diferenciação anatômica, caracterizado por parênquima paliçádico mais espesso, células mais alongadas e compactas, ampliação das lacunas intercelulares e feixes vasculares mais desenvolvidos. Esses ajustes estruturais indicam que, em condições de maior intensidade da RFA, as plântulas *in vitro* passam a direcionar o desenvolvimento foliar para otimização da captação de luz, da difusão de CO_2 e do transporte de água e fotoassimilados (Hoshino et al., 2019; Théroux-Rancourt et al., 2023). Mesmo na presença de sacarose no meio de cultivo, observa-se que a intensidade maior da RFA estimula o desenvolvimento de características típicas de folhas com maior atividade fotossintética.

7. Conclusão

O crescimento e o desempenho fisiológico das plântulas de bananeira 'Williams' são influenciados pela intensidade da RFA e pela concentração de sacarose no meio de cultivo. As maiores respostas de crescimento foram obtidas sob RFA_{120}-S_{15} e RFA_{180}-S_{30}. A concentração (S_{30}) mostrou-se adequada para o cultivo *in vitro*, porém a redução para (S_{15}), também foi eficiente, e permitiu a obtenção de plântulas com crescimento satisfatório e bom acúmulo de biomassa.

Assim, todas as plântulas apresentaram sucesso na aclimatação, independentemente dos tratamentos *in vitro*, evidenciando a capacidade de adaptação da espécie, mesmo quando oriundas de condições com menor potencial fotoautotrófico.

Dessa forma, a combinação de RFA_{120}-S_{15} constitui uma estratégia eficiente para a produção de mudas de bananeira, com potencial de aplicação em sistemas comerciais de micropropagação, e pode contribuir para a redução de custos e para a obtenção de plantas com adequada qualidade fisiológica.

8. **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Ainsworth, E. A.; Bush, D. R. Carbohydrate export from the leaf: a highly regulated process and a target for increasing photosynthesis and productivity. **Physiology Plantarum** , v. 155, p. 64–69, 2011.

Cardoso, J. C., Rossi, M. L., Rosalem, I. B., Teixeira da Silva, J. A. Pre-acclimatization in the greenhouse: An alternative to optimizing the micropropagation of gerbera. **Scientia Horticulturae**, v.164, p.616–624. 2013.

Costa, F. H. da S.; Pasqual, M.; Rocha, H. S.; Pereira, J. E. S.; CASTRO, E. M.; Miyata, L. Y. Crescimento e anatomia foliar de bananeiras submetidas a diferentes condições de cultivo *in vitro*. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 2, p. 303–311, 2009.

Daloso, D. M; Antunes, W.C; Pinheiro, D. P; Waquim, J. P; Araujo WL; Loureiro, M. M. E,Fernie AA.R,Williams, T.C.R. 2015.Tobacco guard cells fix CO_2 via Rubisco and PEPcase, while sucrose acts as a substrate during light-induced stomatal opening. **Plant, Cell & Environment**, v.38, p.2353-2371, 2015.

Deans, R. M., Brodribb, T. J., Busch, F. A., & Farquhar, G. D. Plant water-use strategy mediates stomatal effects on the light induction of photosynthesis. **New Phytologist**, v. 222, n.1, p.382–395, 2019.

Durand, M.; mainson, D.; porcarça, B.; Maurousset, L.; Lemoine, R.; Pourtau, N. **Source-sink carbon relation in Arabidopsis thaliana: the role of sucrose transporters.** Planta, v. 247, p. 587–601, 2018.

Flütsch, S., Wang, Y., Takemiya, A., Vialet-Chabrand, S. R. M., Klejchová, M., Nigro, A., Hills, A., Lawson, T., Blatt, M. R., & Santelia, D. Guard cell starch degradation yields glucose for rapid stomatal opening in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v.32, n.7, p.2325–2344. 2020

Franklin, K. A.; Whitelam, G. C. Phytochromes and shade-avoidance responses in plants. **Annals of Botany**, London, v. 96, n. 2, p. 169–175, 2005.

Freixes, S.; Thibaud, M. C.; Tardieu, F.; Muller, B. Root elongation and branching are related to local hexose concentration in Arabidopsis thaliana seedlings. Plant, **Cell & Environment**, v. 25, p. 1357–1366, 2002.

Fuentes, G. et al. High irradiance can minimize the negative effect of exogenous sucrose on the photosynthetic capacity of *in vitro* grown coconut plantlets. **Biologia Plantarum**, Dordrecht, v. 49, n. 1, p. 7–15, 2005. DOI: 10.1007/s10535-005-7015-6.

Guambe, B. H. C.; Mulima, E. P.; Bettencourt, G. M. F. Necessidade de sacarose no cultivo *in vitro* de bananeira (*Musa* spp). **BioEnsaios**, Campinas, SP, v. 2, 2024. DOI: 10.20396/bioe. v2i00.18561.

Hoshino, Rina; Yoshida, Yuki; Tsukaya, Hirokazu**.** *Multiple steps of leaf thickening during sun-leaf formation in Arabidopsis.* **The Plant Journal**, v. 100, n. 4, p. 738–753, 2019.

Iñiguez C, Aguiló-Nicolau P, Galmés J. Improving photosynthesis by increasing the carboxylation capacity of Rubisco. **Biochem Soc Trans** v. 49 n.5, p. 2007–2019, 2021.

Jorge, M. A. B. et al. Light intensity and sucrose concentration on *in vitro* growth of cassava (Manihot esculenta Crantz). Plant Cell, **Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 63, n. 3, p. 231–237, 2000. DOI: 10.1023/A:1006474706798.

Krause, G. H.; Weis, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.42, n.1, p. 313–349, 1991.

Lawson, T., & Blatt, M. R. Stomatal size, speed, and responsiveness impact photosynthesis and water-use efficiency. **Plant Physiology**, v.164, p. 1556–1570, 2014.

Lawson, T., & Matthews, J. Guard cell metabolism and stomatal function. **Annual Review of Plant Biology**, v.71, p. 273–302. 2020.

Lawson, T., Kramer, D. M., & Raines**, C. A.** Improving yield by exploiting mechanisms underlying natural variation of photosynthesis. **Current Opinion in Biotechnology,** v. 23, n.2, p.215–220. 2012.

LI, L.; Sheen, J. Dynamic and diverse sugar signaling. **Current Opinion in Plant Biology,** v. 33, p. 116–125, 2016. DOI: 10.1016/j.pbi.2016.06.020.

Li, Y.; Xin, G.; Liu, C.; Shi, Q.; Yang, F.; Wei, M. Effects of red and blue light on leaf anatomy, CO_2 assimilation and the photosynthetic electron transport capacity of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings. **BMC Plant Biology**, v. 20, p. 318, 2020.
Maxwell, K.; Johnson, G. N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal of Experimental Botany,** v. 51, n. 345, p. 659–668, 2000.

McAusland, L., Vialet-Chabrand, S., Davey, P., Baker, N. R., Brendel, O., & Lawson, T. Effects of kinetics of light-induced stomatal responses on photosynthesis and water-use efficiency. **New Phytologist**, v.211, n.4, p.1209–1220, 2016.
Mitache, M., Baidani, A., Bencharki, B. *et al.* Exploring the impact of light intensity under rapid propagation conditions on the development and growth of lentil and chickpea **Plant Methods** *v.* 20, n.30, 2024.
Ogawa, A.; Ando, F.; Toyofuku, K.; Kawashima, C. Sucrose metabolism for seminal root development in maize seedlings. **Plant Production Science**, v. 12, p. 9–16, 2009.

Patrick, J. Don Fisher's high-pressure manifold collector model for phloem transport and resource partitioning? **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 184, 2013.

Paul, M. J.; Foyer, C. H**.** Sink regulation of photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. **52,** n.360, p.1383–1400, 2001.

Pego, J. V.; Kortstee, A. J.; Huijser, C.; Smeekens, S. C. Photosynthesis, sugars and the regulation of gene expression. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 344, p. 407–416, 2000. DOI: 10.1093/jexbot/51.344.407.

Ramos, J. C. M., Ribeiro, L. M., & Nunes, G. P. *Cattleya walkeriana* Gardner (Orchidaceae) propagation: culture medium, sealing system and irradiance. **Brazilian Journal of Biology,** v. 84, 2024.

Rolland, F.; Baena-gonzález, E.; Sheen, J. Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. **Annual Review of Plant Biology**, v. 57, p. 675–709, 2006. DOI: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105441.

Siles, P.; Bustamante, O.; Valdivia, E; Burkhardt, J; Staver, C. (2013). Photosynthetic performance of banana ('gros michel', AAA) under a natural shade gradient. **Acta horticulturae**. v. 986, p. 71-77, 2013.

Silva, T. D. et al. Irradiance-driven 20-hydroxyecdysone production and morphophysiological changes in Pfaffia glomerata plants grown in vitro. **Protoplasma,** [s.l.], v. 257, p. 1511–1526, 2020. DOI: 10.1007/s00709-020-01558-1.

Sun, Tianhu; Rao, Sombir; Zhou, Xuesong; LI, Li. Plant carotenoids: recent advances and future perspectives. **Molecular Horticulture**, v. 2, n. 3, p. 1–18, 2022.

Tammo; R; Pons, Thijs L.; Poorter, Hendrik. Stomatal density and index are more responsive to light intensity than to [CO_2]: a meta-analysis and implications for paleo-CO_2 reconstruction. **Plant Ecophysiology**, v. 1, n. 1, p. 1, 2025.

Théroux-rancourt, Guillaume; Herrera, José Carlos; Voggeneder, Klara; et al. Analyzing anatomy over three dimensions unpacks the differences in mesophyll diffusive area between sun and shade Vitis vinifera leaves. **Plant Ecophysiology***,* v. 15, p. 1–13, fev. 2023.

Van huylenbroeck, J. M.; Debergh, P. C. Impact of *in vitro* sugar concentration on photosynthesis and carbon metabolism during ex vitro acclimation of Spathiphyllum plantlets. **Physiologia Plantarum**, v. 96, n. 2, p. 298–304, 1996. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1996.tb00217.x.

Wong, S.C., Cowan, I.R., & Farquhar, G.D.Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature*, v. 282, p.424–426, 1979.