

Otimização da Propagação *In vitro* de Curauá (*Ananas erectifolius* L. B. SMITH)

Propagação massal de plantas através da cultura de tecidos

Osmar Alves Lameira

Eng^o Agrônomo/Pesquisador Dr.
Embrapa Amazônia Oriental
osmar@cpatu.embrapa.br

Iulla Naiff Rabelo de Souza Reis

Graduanda/Bolsista PIBIC/CNPq/UFRA

Iracema M^a Castro Coimbra Cordeiro

Eng^a Florestal, MSc Bolsista/CNPq

Ilustrações cedidas pelos autores

Resumo

A propagação vegetativa utilizando técnicas de cultura de tecido pode ser um valioso instrumento na propagação clonal rápida de mudas de curauá, em larga escala. O trabalho teve como objetivo otimizar a propagação *in vitro* do curauá. Foram realizados dois experimentos: No primeiro, os explantes foram inoculados em frascos contendo 5,0; 7,5; 10,0 e 15,0 ml do meio líquido MS, suplementados com 2,5 mg.L⁻¹ de BAP (6-Benzilaminopurina). No segundo, os explantes foram inoculados em frascos contendo 15ml do meio líquido MS, suplementado com 0; 1,5; 2,5; 3,0; 3,5 e 4,5 mg.L⁻¹ de BAP. Nos dois experimentos a condição de incubação foi realizada sob fotoperíodo de 16h luz branca fria e irradiância de 25 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Os tratamentos contendo 10 e 15 ml do meio líquido de cultura MS, suplementado com 2,5 mg.L⁻¹ de BAP, foram mais eficientes na proliferação de brotos de curauá.

1. Introdução

Na Amazônia várias são as espécies de plantas fibrosas com utilização atual. Dentre elas destaca-se o curauá (*Ananas erectifolius* L. B. Smith), planta nativa da região do Lago Grande de Curuai no Município de Santarém (PA) sendo cultivada principalmente por pequenos produtores e utilizada na fabricação de cordas, sacos e utensílios domésticos (Medina, 1959).

O curauá é planta pertencente a família bromeliacea distribuída nos Estados do Pará, Acre, Mato Grosso, Goiás, Amapá e Amazonas. Há duas variedades distintas do curauá, uma de folha roxa-avermelhada, chamada de

“curauá roxo” e outra de folha verde-claro, denominada de “curauá branco” (Ledo, 1967), ambas são relativamente pouco exigentes, não necessitando de solos férteis para o seu cultivo. Podendo ser plantada em solos arenosos, em plantios solteiros ou em consórcio com culturas anuais ou perenes e no aproveitamento de áreas degradadas (Oliveira *et al* 1991).

Estudos recentes têm demonstrado o grande potencial desta planta como produtora de fibra de excelente qualidade, podendo ser utilizada na indústria automobilística, por apresentar boa resistência, maciez e peso reduzido (Ledo, 1967). Além dessas razões e principalmente pela exigência do mercado consumidor, grupos empresariais estão preocupados na utilização de produtos naturais biodegradáveis. Ademais, o cultivo dessa espécie impulsionará o desenvolvimento do Estado e ao mesmo tempo cria uma perspectiva de melhoria da qualidade de vida dos pequenos produtores.

Atualmente a demanda por fibras de curauá para indústria automotiva e têxtil é superior a 500 ton/mês, entretanto, no momento o Estado consegue produzir até 8 ton/mês. Um dos problemas para a formação de áreas de cultivo dessa planta está na dificuldade de formação de mudas pelo método convencional. Nesse sentido, a propagação vegetativa, através da cultura de tecidos, apresenta-se como alternativa na propagação clonal rápida de mudas de curauá.

Visando equacionar este problema, a Embrapa Amazônia Oriental através do Laboratório de Biotecnologia de Plantas, realizou coletas da espécie nos municípios paraense de Santarém e Bragança, para formação de um banco

de germoplasma visando trabalhos de propagação *in vitro*, caracterização molecular e melhoramento genético da cultura. A utilização da técnica de cultura de tecidos possibilita a produção em larga escala e manutenção das características fenotípicas e genotípicas das plantas doadoras (Giacometti, 1990).

O processo de micropropagação de plantas envolve etapas definidas como, estabelecimento de explantes, multiplicação, subcultivos e enraizamento *in vitro*. Entretanto, após definido um protocolo de micropropagação de qualquer espécie, este pode ser otimizado com redução e até mesmo substituição de substâncias utilizadas no processo, como é o caso da fonte de carbono, e também pela supressão da fase de enraizamento *in vitro*, o que diminui sobremaneira os custos de produção de mudas por esta técnica. Assim sendo, o trabalho teve como objetivo otimizar a propagação *in vitro* de curauá.

2. Metodologia

O trabalho foi desenvolvido no laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental utilizando-se inicialmente plantas do curauá oriundas do banco de germoplasma da referida Instituição (Figura 1). Após a retirada das folhas, o caule foi lavado com água corrente e sabão neutro. As gemas axilares foram excisadas e passaram pelo processo de desinfestação com lavagem em água corrente e imersão em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2% por quinze minutos, sendo cinco minutos em agitação. Após o desenvolvimento, as plântulas obtidas *in vitro* serviram como fonte de explantes primário, para os experimentos (Figura 2).

Das plântulas obtidas *in vitro* foram retiradas o excesso de folhas e cortadas em segmentos de 2 cm de comprimento ficando com pelo menos uma gema lateral. Para o estabelecimento da cultura, os explantes utilizados nos experimentos foram inoculados em frascos contendo meio líquido MS (Murashige e Skoog, 1962). O meio de cultura foi ajustado a um pH de 5,8 utilizando-se NaOH (hidróxido de sódio) e/ou HCl (ácido clorídrico) em solução 0,5 N e autoclavado a 121°C durante 15 minutos.

Foram realizados dois experimentos em delineamento inteiramente



Figura 1 - Banco de Germoplasma de Curauá Roxo e Verde. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, PA, 2003.



Figura 2 - Plântulas de Curauá obtidas *in vitro*. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, PA, 2003.

casualizado. O primeiro foi composto de 4 tratamentos com 6 repetições onde foram testadas as quantidades 5,0; 7,5; 10,0 e 15,0 ml do meio de cultura, suplementado com 2,5 mg.L⁻¹ de BAP (6 - Benzilaminopurina). O segundo experimento foi composto de 6 tratamentos com 5 repetições onde se testou as concentrações 0; 1,5; 2,5; 3,0; 3,5 e 4,5 mg.L⁻¹ de BAP. Nos dois casos as condições de incubação foram realizadas sob fotoperíodo de 16h luz branca fria e irradiância de 25 μmol.m⁻².s⁻¹ e temperatura de 26 ± 1°C. Trinta dias após a inoculação foi realizada a avaliação. A variável número de brotos foi transformada em $\sqrt{0,5 + x}$ e avaliada através da análise de variância e comparação de

médias pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

As plântulas micropropagadas foram transferidas para bandejas de plástico de 24 células contendo substrato organo-vegetal e colocadas em ambiente de telado com sombrite a 70% sob irrigação intermitente até a completa formação de mudas. Após 30 dias as mudas foram cultivadas no campo.

3-Resultados e Discussão

O efeito da quantidade de meio de cultura sobre a produção de brotos de curauá pode ser observado na Figura 3. Aos trinta dias de cultivo, foi observado que houve formação de

brotos em todos os tratamentos, e diferenças significativas entre os mesmos. Os tratamentos mais eficientes foram os que continham 10 e 15 ml do meio de cultura MS, produzindo em média 1,21 e 1,54 brotos/explante, respectivamente. Os tratamentos contendo 5 e 7,5 ml do meio de cultura MS, foram os menos eficiente, não diferindo estatisticamente entre si.

Na Figura 3, é possível observar que a produção de brotos foi diretamente proporcional a quantidade de meio de cultura, ou seja, quanto maior a quantidade de meio de cultura maior foi o número de brotos obtidos por explante. Este fato, muito provavelmente pode ser decorrente da maior disponibilidade de nutrientes às plantas.

É importante ressaltar que o aumento na quantidade de meio talvez possa tornar possível a redução na concentração de regulador de crescimento. Este fato foi evidenciado por Preece (1995) em trabalho sobre a composição de meio de cultura, no qual observou que com a otimização de nutrientes salinos é possível reduzir a concentração ou até mesmo eliminar a suplementação de reguladores de crescimento. Segundo Ammiranto (1983), meios de cultura contendo alta concentração salina, como o meio MS, pode otimizar o crescimento e desenvolvimento de plantas, principalmente pela presença do nitrogênio sob a forma de nitrato de amônia.

Estudos sobre a quantidade ideal de meio de cultura para o cultivo de curauá inexistem, encontrando-se na literatura apenas informações sobre concentrações e tipos de reguladores de crescimento. Embora não se possam oferecer explicações satisfatórias a respeito do assunto, os resultados obtidos evidenciaram o efeito positivo na proliferação de brotos de curauá com o aumento da quantidade do meio líquido de cultura MS.

Na Tabela 1, são apresentados os resultados obtidos com as diferentes concentrações de BAP na proliferação de brotos de curauá a partir de explantes obtidos de plântulas *in vitro*. Houve diferenças significativas entre as concentrações utilizadas.

O tratamento mais eficiente foi o que continha o meio de cultura MS suplementado com 2,5 mgL⁻¹ de BAP, produzindo em média 4,15 brotos/explante, não diferindo porém do que

Tabela 1. Efeito de diferentes concentrações de BAP no número de brotos de curauá. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, PA, 2003

| BAP (mg.L ⁻¹) | Número médio de brotos/explante |
|---------------------------|---------------------------------|
| 0,0 | 0,71 d |
| 1,5 | 1,33cd |
| 2,5 | 4,15 a |
| 3,0 | 2,25 bc |
| 3,5 | 3,34 ab |
| 4,5 | 2,15 bc |

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade

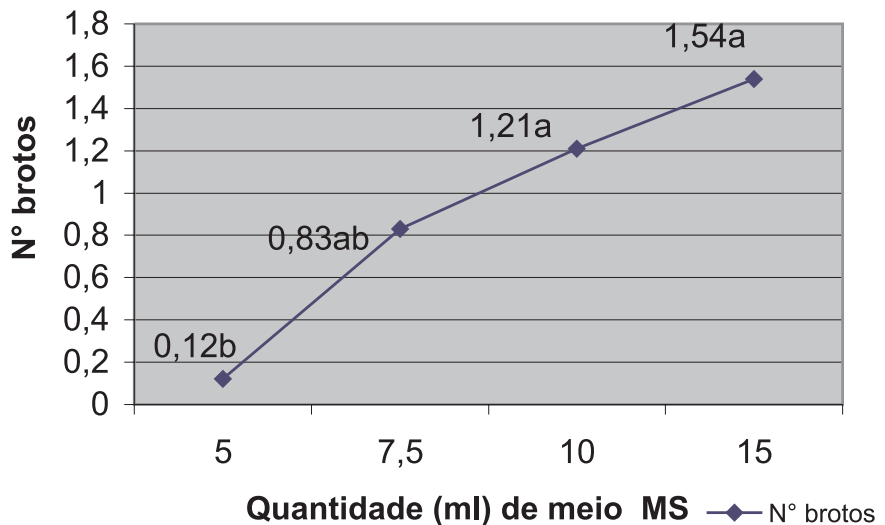


Figura 3 - Efeito da quantidade de meio de cultura na formação de brotos de curauá aos 30 dias de cultivo. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, PA, 2003.

continha 3,5 mgL⁻¹ de BAP, que produziu em média 3,34 brotos/explante. O tratamento menos eficiente foi aquele na ausência de BAP, produzindo em média 0,71 brotos/explante. Resultados similares foram obtidos por Rios (2002) em seu trabalho sobre a eficiência do BAP na proliferação de brotos de curauá.

Conforme a Figura 4, além da proliferação de brotos maior que 1cm de comprimento, houve a proliferação em grande número de brotos na forma de rosetas na presença do meio de cultura MS, suplementado com 2,5 mgL⁻¹ de BAP. Marciani-Benzedeu *et al* (1990) quando utilizaram a cultivar de abacaxizeiro Smooth Cayenne obtiveram maior número de brotos quando a concentração de BAP foi aumentada. Estudos realizados por Lemos *et al* (1998) revelaram que o BAP adicionado ao meio de cultura foi eficiente na proliferação *in vitro* de brotos de abacaxizeiro, cultivar Cabeça-de-onça, ocorrendo maior taxa de multiplicação a medida que a concentração do regulador de crescimento foi aumentada.

Por outro lado, Menezes *et al* (1999) em resultados preliminares sobre micropropagação de curauá observaram que houve intensa proliferação de brotos com a concentração de 3mg.L⁻¹ de BAP, porém, ocorreu intensa oxidação nos explantes. Bonilla (2002) estudou o efeito do BAP adicionado aos meios MS e WPM sobre a indução de brotações em segmentos nodais de *Rudgea viburnoides*, observando maior taxa de brotações em ambos os meios de cultura na presença de 2mg.L⁻¹ de BAP.

Tem sido reportado que o efeito benéfico do BAP na multiplicação de brotações relaciona-se com a influência deste regulador de crescimento na divisão celular e na liberação das gemas auxiliares imitidas pela dominância apical. Nesse sentido, supõe-se que, plantas que não apresentam uma divisão celular eficiente, o uso de altas dosagens de BAP em diferentes meio de cultura proporcionaria aumento na multiplicação de brotos. Entretanto, algumas espécies são sensíveis a altas concentrações de reguladores de crescimento, sendo necessário estudos para



Figura 4 - Proliferação de brotos de curauá cultivado em meio MS na presença de 2,5 mgL⁻¹ de BAP. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, 2003.



Figura 5 - Vista parcial de mudas de curauá em fase de aclimação. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, 2003.



Figura 6 - Mudas de curauá cultivadas no campo. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, 2003.

determinar qual o meio de cultura e o regulador de crescimento adequado para cada espécie.

As plântulas formadas foram levadas para aclimação e apresentaram crescimento e desenvolvimento uniforme, conforme pode ser observado na Figura 5. Após, 30 dias de cultivo as mudas foram cultivadas no campo. O índice de sobrevivência no campo aos 6 meses de cultivo foi de 100%, não sendo observada deficiência ou deformidade nas plantas (Figura 6).

4. Conclusão

As quantidades de 10 e 15 ml do meio líquido de cultura MS, suplementado com 2,5 mg.L⁻¹ de BAP são mais eficientes para proliferação de brotos de curauá;

Mudas de curauá provenientes da micropropagação podem ser cultivadas no campo com 100% de sobrevivência.

Palavras-chave: Cultura de tecidos, reguladores de crescimento, *Ananas erectifolius*.

5. Referências Bibliográficas

- AMMIRATO, P.V. Embryogenesis. In: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. ed. **Handbook of plant cell culture**. New York; MacMillan, 970p. 1983.
- BONILLA, M. G. O. **Propagação in vitro, indução, curva de crescimento de calos e arborização fitoquímica em Rudgea viburnoides (Cham.)**. Lavras: UFLA, 2002. 162p. (Tese de Doutorado em Fitotecnia).
- FERREIRA, P.R. Fibras. **Agroamazônia**. n.13, p.26-29, 2003.
- GIACOMETTI, D. C. Impacto atual da cultura de tecidos de plantas In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.

Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos de Plantas.

Brasília: Ministério da Agricultura. p. 19-25, 1990.

- LEDO, I. A. de M. **O cultivo do curauá no lago grande de Franca**. Belém: Banco da Amazônia S/A - BASA - 1967. 23 p.
- LEMOS, O.F.; SILVA, S.P.G da; ALBIM, E. de M.e S.; LAMEIRA, O. A.; REGO, J.R.; MENEZES, I.C. Efeito de reguladores de crescimento na multiplicação *in vitro* de brotos de abacaxizeiro. Belém: Embrapa-CPATU, 1998. **Boletim de Pesquisa**, 204. 14 p.
- MARCIANI-BENDEZEU, J.A.; PINTO, J.E.B.P.; PASQUAL, M. Efeito de 6-Benzilaminopurina (BAP) sobre a proliferação de brotos de abacaxizeiro, a partir de plântulas produzidas *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Cruz das Almas, v. 12, n.1, p. 35-39, 1990.
- MEDINA, J. C. **Plantas fibrosas da flora mundial**. Instituto Agrônomico de Campinas. 913 p. 1959.
- MENEZES, I.C.; LEMOS, O.F.; MENEZES, M.A.; LAMEIRA, O. A.; LOPES, S. da C. Micropropagação de curauá (*Ananas erectifolius*): Respostas preliminares. Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal, 7. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11 (supl) p. 168, 1999.
- MURASHIGE, T. SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.
- OLIVEIRA, J.; ALMEIDA, S. S. de; VILHENA-POTYGUARA, R.; LOBATO, L. C. B. **Espécies vegetais produtoras de fibras utilizadas por comunidades Amazônicas**. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Botânica, v. 7, n. 2, p. 393-428, 1991.
- PREECE, J.E. Can nutrient salts partially substitute for plant growth regulators. **Plant Tissue Culture and Biotechnology**, v. 1, p. 26-37, 1995.
- RIOS, M. S. **Multiplicação de plantas de curauá (*Ananas erectifolius* L. B. Smith) através de técnicas de cultura de tecidos**. Belém: UFPA, 12p, 2002 (Trabalho de Conclusão de Curso – TCC).