

Estiolamento e Regeneração *in vitro* de Abacaxizeiro 'Pérola'

Aparecida Gomes de Araujo¹, Camila Santos Almeida², José Edmário dos Santos³, Ana da Silva Léo⁴, Milena Mascarenhas de Jesus Ribeiro⁵

Resumo

Objetivou-se otimizar a multiplicação do abacaxizeiro por meio do estiolamento *in vitro* com uso de sacarose e ácido giberélico e regeneração em diferentes consistência de meio de cultura e condições de luz. Rizomas de abacaxizeiro com 1 cm foram transferidos para frascos contendo meio MS semissólido (6 gL⁻¹ de ágar) com os diferentes tratamentos [ácido giberélico (GA₃) (0; 2,5; 5,0 e 10,0 mgL⁻¹) x sacarose (15, 30 e 45 gL⁻¹)]. Após estiolados, os brotos foram transferidos para meio MS líquido estacionário e MS semissólido, em condições de sala de crescimento (luz artificial) e casa de vegetação (luz natural), totalizando quatro tratamentos. O método do estiolamento *in vitro* é viável sendo recomendado o meio MS contendo de 30 a 45 g/L de sacarose para alongamento caulinar e para a regeneração dos segmentos, o meio MS líquido e incubação dos frascos em luz artificial.

Palavras-chave: *Ananas comosus* L., carboidrato, giberelina, multiplicação *in vitro*.

¹ Engenheira-agrônoma, Doutora em Fitotecnia, pesquisadora da Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe (Emdagro), Aracaju, SE, agaraujo2003@hotmail.com.

² Engenheira-agrônoma, bolsista da Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristovão, SE, kmilinhafsa@hotmail.com.

³ Graduação em Química Licenciatura, Bolsista da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, edmario_jeds2012@hotmail.com.

⁴ Engenheira-agrônoma, Doutora em Fitotecnia, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros (CPATC), Aracaju, SE, ana.ledo@embrapa.br.

⁵ Engenheira-florestal, bolsista da Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe (Emdagro), Aracaju, SE, milenarjm@gmail.com.

Introdução

A micropropagação é a técnica mais utilizada e demandada para multiplicar diversas espécies vegetais, com aplicações práticas comprovadas (ERIG e SCHUCH, 2005). Em escala comercial, o sucesso dessa tecnologia depende do desenvolvimento de protocolos mais eficientes e de menor custo, bem como da capacidade da planta produzida em superar, sem grandes estresses, a transferência para condições *ex vitro*. A técnica do estiolamento *in vitro* (cultivo na ausência de luz) durante a multiplicação permite o alongamento caulinar, podendo seus segmentos nodais serem utilizados na propagação vegetativa (SUZUKI et al. 2004), eliminando a constante necessidade por subcultivos e reduzindo a manipulação, número de frascos envolvidos no processo de cultivo *in vitro* e o espaço laboratorial. Dessa forma, objetivou-se otimizar a multiplicação do abacaxizeiro por meio do estiolamento *in vitro* com uso de sacarose, ácido giberélico e regeneração em diferentes tipos de luz e meios de cultivo.

Material e Métodos

Brotações de abacaxizeiro já estabelecidas *in vitro* foram desfolhadas completamente, restando apenas a porção basal com 1 cm, que foram transferidos para frascos contendo 30 mL do meio MS semissólido com os diferentes tratamentos os quais foram constituídos por concentrações de ácido giberélico (GA_3) (0; 2,5; 5,0 e 10,0 mg L⁻¹) em combinação com sacarose (15, 30 e 45 g L⁻¹). O meio foi solidificado com ágar (6 g L⁻¹) e teve seu pH ajustado para 5,7 ± 0,1, antes da autoclavagem a 121°C, pressão de 1,1 atm por 20 minutos e, em seguida as culturas foram incubadas no escuro a 25 ± 2°C, por dois meses. Após esse período, as plântulas foram avaliadas por meio do número de brotos, número de nós, número de raízes e comprimento da parte aérea. O experimento foi instalado em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 4x3, num total de 12 tratamentos com seis repetições composta por três explantes cada uma. Após as avaliações, os brotos estiolados foram submetidos à regeneração. Para isso, o sistema radicular dos brotos estiolados foi removido e os segmentos caulinares colocados horizontalmente em frascos contendo 20 mL de meio MS líquido estacionário e MS semissólido (6 g/L de ágar), em condições de sala de crescimento (luz artificial) e casa de vegetação (luz natural), totalizando quatro tratamentos. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC) e cada repetição constitui-se de um frasco contendo cinco segmentos caulinares

estiolados e cada um contendo duas gemas. Aos 60 dias, foi avaliado o número de brotos regenerados a partir de cada segmento estiolado. Os dados de todos os experimentos foram submetidos à análise e as médias comparadas pelo teste de Tukey, do programa Sisvar, a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Após 60 dias de incubação, o número de brotos, bem como o número de raízes, tiveram influência da concentração de sacarose utilizada, sendo 45 g/L eficaz na obtenção de maior número de brotos (3,28) e a de 15 g/L responsável pelo maior número de raízes (1,3), conforme Figuras 1A e 1B. Altas concentrações de sacarose no meio podem aumentar a taxa de contaminação, a qual interferirá negativamente na sobrevivência e no desenvolvimento das plântulas durante a aclimatização (SOUZA et al. 2007).

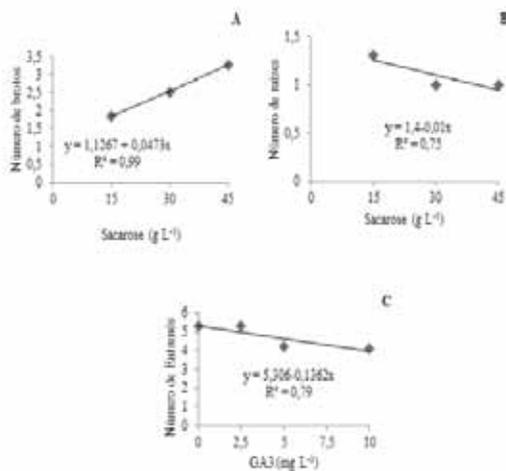


Figura 1. Número de brotos (A) e Número de raízes (B) de brotos estiolados e cultivados em diferentes concentrações de sacarose; e Número de nós (C) oriundos de segmentos estiolados de abacaxizeiro cv. Pérola cultivados em diferentes concentrações de ácido giberélico (GA3).

Apesar de o número de nós ter sido significativo para o fator ácido giberélico, a ausência do regulador de crescimento favoreceu a emissão dos mesmos (5,28), conforme Figura 1C. Concentrações crescentes do fitorregulador reduziram o número de nós emitidos de forma linear. Os dados obtidos corroboram com os de Moreira et al. (2003).

O número de brotos regenerados por número de nós bem como o número de brotos total apresentaram significância para os tratamentos testados.

Melhores resultados de regeneração *in vitro* de brotos da cv. Pérola foram obtidos em meio de cultura MS líquido e em frascos mantidos em luz artificial ou sala de crescimento (Tabela 1). Nota-se que com o uso do meio líquido apresentou melhores resultados em comparação ao meio sólido, independente do ambiente. Os brotos obtidos em meio sólido, independente do ambiente de cultivo, se apresentavam amarelados e com menores comprimento.

Tabela 1. Médias do número de folhas, comprimento da parte aérea, número de folhas com abscisão e vigor de plântulas de jenipapeiro cultivadas em diferentes concentrações de meio MS e sacarose.

Tratamento	NBR/nó	NBR/frasco
Luz artificial e meio líquido	4,42 a	18,00 a
Luz artificial e meio sólido	1,09 b	5,33 b
Luz natural e meio líquido	1,52 ab	8,00 b
Luz natural e meio sólido	1,02 b	4,67 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente, entre si, ao nível de 5% pelo teste de Scott-Knott. T1-Meio MS gelificado + 30 g/L de sacarose; T2- ½ MS + 15 g/L de sacarose; T3- ½ MS + 30 g/L de sacarose; T4- ¼ MS + 15 g/L de sacarose e T5- ¼ MS + 30 g/L de sacarose.

* Escala de notas adaptada de Lemos et al. (2002) 5 - folhas e brotos totalmente verdes; 4 - início do secamento e morte das folhas; 3 - secamento e morte das folhas e dos brotos entre 30 e 50%; 2 - mais de 50% de secamento e morte de folhas e brotos e 1 - folhas e brotos totalmente mortos.

Conclusões

O método do estiolamento *in vitro* é viável para abacaxizeiro 'Pérola', sendo recomendado o meio MS contendo de 30 a 45 g/L de sacarose para alongamento caulinar e para a regeneração dos segmentos, o meio MS líquido e incubação dos frascos em luz artificial.

Agradecimentos

Ao CNPq, à Fapitec-SE, ao Sergipetec e à Embrapa Tabuleiros Costeiros.

Referências

ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Micropropagação fotoautotrófica e uso da luz natural. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.4, p. 961-965, jul-ago. 2005.

MOREIRA, M.A.; PASQUAL, M.; CARVALHO, J.G.; FRÁGUAS, C.B. Estiolamento na micropropagação do abacaxizeiro cv. Pérola. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, p. 1002-1006, set-out. 2003.

SOUZA, G.C.; CLEMENTE, P.L.; ISAAC, V.L.R.; FARIA, S.P.; CAMPOS, M.R.C. Contaminação microbiana na propagação in vitro de *Cattleya walkeriana* e *Schomburgkia crista*. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, p.405-407, jul. 2007.

SUZUKI, R.M.; KERBAUY, G.B.; ZAFFARI, G.R. Endogenous hormonal levels and growth of dark-incubated shoots of *Catsetum fimbriatum*. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.161, p.929-935, aug. 2004.