

MICROPROPAGAÇÃO DE HÍBRIDO DE ABACAXI ORNAMENTAL

Everton Hilo de Souza¹, Fernanda Vidigal Duarte Souza², Mariane de Jesus da Silva³,
Antônio da Silva Souza² e Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa⁴

Resumo

Este trabalho teve por objetivo avaliar a adição de BAP e ANA em meios de cultura líquido e gelificado, visando a micropropagação de híbrido de abacaxi ornamental. Os brotos micropropagados no primeiro subcultivo foram inoculados em meio de cultura MS em diferentes tratamentos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 4, sendo dois estados físicos do meio e quatro meios de cultivo, totalizando oito tratamentos. Após 45 e 90 dias foram avaliados o número médio de brotos por explante, altura da parte aérea e número de raízes. O meio de cultura MS em estado líquido suplementado com 2,68 µM ANA + 2,22 µM BAP, foi o que apresentou as maiores taxas de multiplicação, enquanto que a ausência de BAP, favoreceu o enraizamento e o maior crescimento das plantas regeneradas, porém sem formação de brotos.

Introdução

O mercado de abacaxizeiro ornamental está pautado em poucas variedades, principalmente o *Ananas comosus* var. *erectifolius* que atualmente representa 70% do abacaxi ornamental comercializado no mundo (BOMFIM *et al.*, 2007). Devido a isto, foi iniciado um programa de melhoramento genético para obtenção de híbridos de abacaxi ornamental na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical com características apropriadas para uso como flor de corte em arranjos florais, no paisagismo e para cultivo em vasos (SOUZA *et al.*, 2009).

A necessidade de um elevado número de plantas do híbrido selecionado para as diversas avaliações a serem realizadas, aumenta significativamente o tempo para a obtenção do híbrido final, visto que a propagação do abacaxizeiro é lenta e produz poucas mudas por planta matriz (REINHARDT & CUNHA, 1999).

A micropropagação de plantas por meio da cultura de tecidos é uma técnica usada para a produção em larga escala de plantas saudáveis e vem sendo aplicada, com êxito, para as principais variedades comercializadas de abacaxi (ARAÚJO *et al.*, 2008). No entanto, trabalhos realizados com variedades silvestres do gênero *Ananas* mostraram uma resposta diferenciada, com taxas de multiplicação mais baixas e presença de bactérias endógenas, evidenciando a necessidade de ajuste nos protocolos testados. Os híbridos obtidos no programa de melhoramento genético em andamento na Embrapa, voltado para abacaxi ornamental, são oriundos de cruzamentos entre variedades silvestres, demandando, portanto, estudos semelhantes.

Vários fatores podem influenciar a resposta *in vitro*, como a espécie, genótipo, explante e meio de cultura, dentre outros. O ajuste do meio de cultura, no entanto, está entre os mais determinantes para a obtenção de boas taxas de multiplicação e a produção de plantas saudáveis, assim como a utilização de auxinas e citocininas, seja nas fases de estabelecimento ou de multiplicação. Outro fator relevante é o estado físico do meio de cultura, que pode ser gelificado ou líquido. Registros de bons resultados com o uso de meios líquidos em abacaxi são frequentes.

¹ Eng. Agrônomo e Mestrando em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, BA, CEP 44380-000. E-mail: hilosouza@gmail.com.

² Doutor (a) e Pesquisador (a) da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, BA, CEP 44380-000. E-mail: fernanda@cnpmf.embrapa.br, assouza@cnpmf.embrapa.br.

³ Graduanda em Agronomia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, BA, CEP 44380-000. E-mail: marianejs@yahoo.com.br

⁴ Doutora e Professora da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, BA, CEP 44380-000. E-mail: mapcosta@ufrb.edu.br

Em vista do exposto, esse trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da adição de 6-benzilaminopurina (BAP) e ácido naftalenoacético (ANA) em meio de cultura líquido e gelificado, visando a proliferação de brotos em híbrido melhorado de abacaxi ornamental.

Material e Métodos

Como material vegetal foi utilizado um híbrido de abacaxi ornamental FRF-1392 (*Ananas comosus* var. *erectifolius*) x FRF-32 (*A. comosus* var. *bracteatus*) (Figura 1A), desenvolvido pelo programa de melhoramento genético da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, Bahia.

Os explantes utilizados foram provenientes de brotos do primeiro subcultivo e inoculados em frascos de 250 mL contendo meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) suplementado com 3% de sacarose, 0,2% de Phytigel® e pH ajustado em 5,8 antes da autoclavagem. Os cultivos foram mantidos em sala de crescimento, sob condições de temperatura de 27 ± 1 °C, densidade de fluxo de fótons de $22 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 horas.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 4, dois estados físicos de meio, (líquido e gelificado), e quatro meios de cultura [M01 - MS (controle); M02 - MS + 2,68 μM de ANA; M03 - MS + 2,22 μM de BAP; M04 - MS + 2,68 μM de ANA + 2,22 μM de BAP], totalizando oito tratamentos. Cada tratamento constituiu-se de 12 repetições distribuídas em dois frascos com seis explantes cada. As culturas estabelecidas em meio líquido foram mantidas sob agitação a 120 rpm.

Aos 45 e 90 dias de cultivo em sala de crescimento, avaliaram-se o número médio de brotos por explante, altura da parte aérea (cm) e número de raízes. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SAS (SAS INSTITUTE, 2000).

Resultados e Discussão

Na Tabela 1 podem ser observados os resultados do desdobramento das interações referentes aos 45 e 90 dias de cultivo em todas as variáveis estudadas.

Os melhores resultados, no que se refere ao número de brotos, tanto aos 45, quanto aos 90 dias de cultivo, foram obtidos com os meios M03 e M04 em estado líquido (Tabela 1 e Figura 1B), deixando evidente a importância da adição da citocinina para a produção de brotações laterais, mesmo em meio gelificado a adição de citocinina M04, foi superior aos demais meios (Figura 1C). Por outro lado, os menores valores para a indução de brotações foram registrados em meio gelificado com 0,16 brotos/explante aos 45 dias e 0,58 brotos/explante aos 90 dias de cultivo nos meios M01 e M02, respectivamente. Outro aspecto que vale destacar é a superioridade dos resultados obtidos com o meio líquido, quando comparados com o meio sólido, para todas as variáveis, como pode ser observado na Tabela 1. As vantagens de se utilizar meio líquido em lugar de meio gelificado já vêm sendo relatadas para a micropropagação do abacaxizeiro, principalmente, devido à sua maior homogeneidade, velocidade de difusão e absorção para os tecidos (COSTA & ZAFFARI, 2005).

Os meios nutritivos sem BAP foram considerados ineficientes para a multiplicação do abacaxizeiro ornamental, pela formação de baixo número de brotações por explante nos dois períodos de avaliação, ainda que as plantas produzidas tenham alongado e enraizado bem. Esse resultado é de certa forma esperado visto que os melhores meios de alongamento e enraizamento não têm adição de citocinina (PASQUAL *et al.*, 2008).

No presente trabalho, a adição de BAP foi fundamental para a indução satisfatória de brotações in vitro dos híbridos micropropagados. As citocininas têm ação em diversos processos de desenvolvimento da planta, inclusive divisão celular e diferenciação de culturas (REDIG *et al.*, 1996), respostas morfogênicas (CENTENO *et al.*, 1996) e desenvolvimento de órgãos (AUER & COHEN, 1993).

As variáveis, altura da parte aérea e número de raízes são importantes para dimensionar o desenvolvimento das plantas produzidas. As plantas que melhor desenvolveram a parte aérea foram

oriundas dos meios M01 (MS) e M02 (MS + 2,68 μ M de ANA) com altura de 5,27 cm e 8,66 cm aos 45 dias e 90 dias, respectivamente (Tabela 1 e Figura 1D).

Ainda que a adição de auxinas em baixas concentrações favoreça o desenvolvimento de biomassa em bromeliáceas, como registrado por vários autores (PIERIK et al., 1984; SANTOS et al., 2008) o uso do meio MS sem qualquer regulador vem sendo utilizado, principalmente nas fases de alongamento e enraizamento de brotações in vitro de abacaxi (SOUZA et al., 2005).

O enraizamento in vitro de abacaxizeiro em meio MS sem regulador de crescimento foi utilizado por Kiss et al. (1995), e é considerada uma prática desejável na automação da micropropagação, implicando na redução de custos com regulador. Em escala comercial essa redução pode ser significativa no preço final da muda produzida.

Conclusões

A presença de BAP foi fundamental para a indução de elevado número de brotações in vitro. O meio de cultura MS líquido suplementado com 2,68 μ M de ANA + 2,22 μ M de BAP é o mais indicado para a micropropagação de híbridos de abacaxi ornamental.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de Mestrado, e ao Banco do Nordeste (BNB) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pelo suporte financeiro.

Referências

- ARAÚJO, R. F.; SIQUEIRA, D. L.; CECON, P. R. Multiplicação *in vitro* do abacaxizeiro ‘Smooth Cayene’ utilizando benzilaminopurina (BAP) e ácido naftalenoacético (ANA). *Revista Ceres*, Viçosa, v.55, n.5, p. 455-460, 2008.
- AUER, C. A.; COHEN, J. D. Identification of a benzyladenine disaccharide conjugate produced during shoot organogenesis in *Petunia* leaf explants. *Plant Physiology*, Rockville, v.102, p.541-545, 1993.
- BOMFIM, G. V.; CARVALHO, A. C. P. P.; BEZERRA, F. C.; AZEVEDO, B. M.; VIANA, T. V. A.; OLIVEIRA, K. M. A. S. Aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental em diferentes volumes de substrato. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, Campinas, v.12, n.2, p. 121-128, 2007.
- CENTENO, M. L.; RODRÍGUEZ, A.; FEITO, I.; FERNÁNDEZ, B. Relationship between endogenous auxin and cytokinin levels and the morphogenic responses in *Actinidia deliciosa* tissue cultures. *Plant Cell Reports*, Heidelberg, v.16, p.58-62, 1996.
- COSTA, T.; ZAFFARI, G. R. Micropropagação de *Ananas bracteatus* (Schultz) var. *striatus* Hort. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, Campinas, v.11, p.109-113, 2005.
- KISS, E.; KISS, J.; GYULAI, G.; HESZKY, L. E. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. *HortScience*, Alexandria, v.30, n.1, p.127-129, 1995.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- PASQUAL, M.; SANTOS, F. C.; FIGUEIREDO, M. A.; JUNQUEIRA, K. P.; REZENDE, J. C.; FERREIRA, E. A. Micropropagação do abacaxizeiro ornamental. *Horticultura Brasileira*, Campinas, v.26, n.1, p.45-49, 2008.
- REDIG, P.; SHAUL, O.; INZÉ, D.; VAN MONTAGU, M.; VAN ONCKELEN, H. Levels of endogenous cytokinins, indole-3-acetic acid and abscisic acid during cell cycle of synchronized tobacco BY-2 cells. *FEBS Letters*, v.391, p.175-180, 1996.
- REINHARDT, D. H. R. C.; CUNHA, G. A. P. Métodos de propagação. In: CUNHA, G.A.P.; CABRAL, J.R.S.; SOUZA, L.F. da S. *O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia*. Brasília: Embrapa-SPI, p.105-138. 1999.

PIERIK, R. L. M.; STEEGMANS, H. H. M.; HENDRIKS, J. The influence of naphthaleneacetic acid on the growth of *in vitro* cultivated seedling of Bromeliaceae. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v.24, p.193-199, 1984.

SANTOS, M. D. M.; RIBEIRO, D. G.; TORRES, A. C. Brotações adventícias de abacaxizeiro ornamental sob o efeito de benzilaminopurina, ácido naftalenoacético e períodos de subcultivo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.43, n.9, p.1115-1120, 2008.

SAS INSTITUTE. *SAS user's guide: statistic: version 6.12*. Cary: SAS Institute, 2000. 846p.

SOUZA, F. V. D.; CABRAL, J. R. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; CASTELLAN, M. S.; RITZINGER, R.; PASSOS, O. S. Pesquisas em Andamento com Fruteiras Ornamentais. In: FRUTAL 2005 & 12^a International Week of Fruit Crop, Floriculture and Agroindustry, 2005, Fortaleza. *Anais do Frutal 2005 & 12^a International Week of Fruit Crop*, Floriculture and Agroindustry. Fortaleza: Frutal 2005, 2005.

SOUZA, F. V. D.; CABRAL, J. R. S.; SOUZA, E. H.; SILVA, M. J.; SANTOS, O. S. N.; FERREIRA, F. R.; Evaluation of F1 hybrids between *Ananas omosus* var. *ananassoides* and *Ananas comosus* var. *erectifolius*. *Acta Horticulturae*, João Pessoa, v. 822, p. 79-84, 2009.

Tabela 1. Número médio de brotos, altura da parte aérea (cm) e número de raízes do híbrido FRF-1392 (*Ananas comosus* var. *erectifolius*) x FRF-32 (*A. comosus* var. *bracteatus*) aos 45 e 90 dias de cultivo *in vitro* em diferentes tratamentos.

	45 dias		90 dias	
	Líquido	Gelificado	Líquido	Gelificado
Número médio de brotos				
M01	0,75Ca	0,16Bb	1,25Ba	0,91Bb
M02	2,18Ba	0,33Bb	2,45Ba	0,58Bb
M03	5,16Aa	3,58Ab	8,58Aa	4,91Ab
M04	7,76Aa	4,41Ab	11,16Aa	5,91Ab
Altura da parte aérea (cm)				
M01	5,27Aa	3,52Ab	8,66Aa	5,45Ab
M02	4,54Aa	2,81ABb	6,77Ba	4,85ABb
M03	4,26ABa	2,11Bb	6,56Ba	3,65Bb
M04	3,27Ba	2,49Abb	5,37Ba	4,14ABb
Número de raízes				
M01	3,91Aa	2,58Ab	7,16Aa	4,33Ab
M02	2,36Ba	2,50Aa	3,27Ba	4,25Aa
M03	0,50Ca	0,00Bb	1,41Ca	0,16Bb
M04	0,25Ca	0,25Ba	0,50Ca	0,83Ba

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, dentro de um mesmo fator, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$).

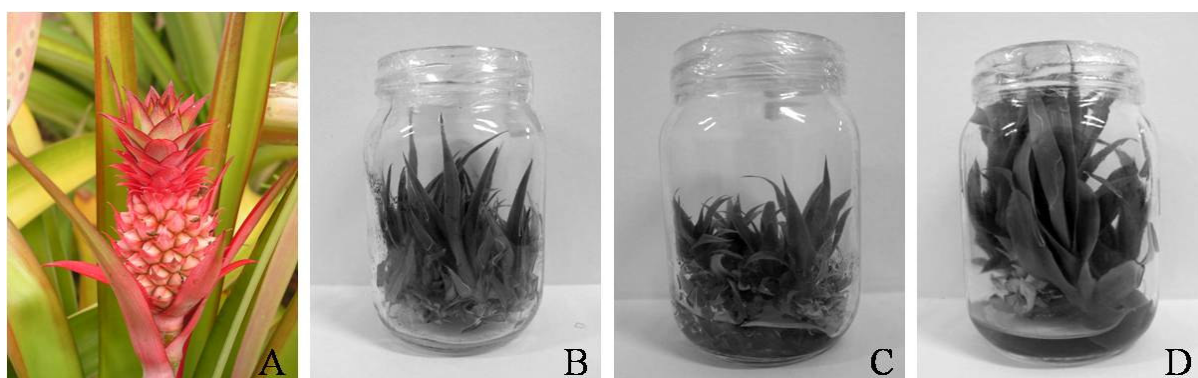


Figura 1. Híbrido FRF-1392 (*Ananas comosus* var. *erectifolius*) x FRF-32 (*A. comosus* var. *bracteatus*) (A); Aspecto das plantas em meio M04 (MS + 2,68 μ M de ANA + 2,22 μ M de BAP) líquido (B); M04 gelificado (C); M01 (MS – Controle) líquido (D).