



**Conservação *in vitro* através do crescimento lento de *Ananas lucidus* Mill.
(curauá)**

***In vitro* conservation through slow growth of *Ananas lucidus* Mill. (curauá)**

DOI: 10.55905/revconv.16n.5-052

Recebimento dos originais: 25/04/2023

Aceitação para publicação: 30/05/2023

Tássia Alana Alves Ferreira

Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia
Instituição: Universidade Federal do Pará
Endereço: Belém – PA, Brasil
E-mail: tassia.alana@gmail.com

Maria Sintia Monteiro da Costa

Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia
Instituição: Universidade Federal do Pará
Endereço: Belém – PA, Brasil
E-mail: sintiamonteiro@hotmail.com

Ana Caroline Batista da Silva

Graduada em Engenharia Agrônômica
Instituição: Universidade Federal Rural da Amazônia
Endereço: Belém – PA, Brasil
E-mail: anacarolinebatista79@gmail.com

Alex Santos Guedes

Graduando em Biotecnologia
Instituição: Universidade Federal do Pará
Endereço: Belém – PA, Brasil
E-mail: alex.guedes@icb.ufpa.br

Ana Paula Ribeiro Medeiros

Doutora em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares
Instituição: Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Sustentabilidade
Endereço: Belém – PA, Brasil
E-mail: paula.amedeiros@hotmail.com

Anderson da Silva Costa

Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia
Instituição: Embrapa Amazônia Oriental
Endereço: Belém – PA, Brasil
E-mail: anderson.costa@embrapa.br



Simone Rodrigues de Miranda

Doutora em Biologia Molecular

Instituição: Embrapa Amazônia Oriental

Endereço: Belém – PA, Brasil

E-mail: simone.rodrigues@embrapa.br

Osmar Alves Lameira

Doutor em Fitotecnia, Biotecnologia de Plantas

Instituição: Embrapa Amazônia Oriental

Endereço: Belém – PA, Brasil

E-mail: osmar.lameira@embrapa.br

RESUMO

A flora amazônica possui uma grande variedade de espécies com potencial uso presente ou futuro. Dentre diversas espécies, o *Ananas lucidus* Mill. (curauá), família das Bromeliáceas, é uma planta fibrosa amazônica. Os indígenas utilizavam as folhas do curauá como fonte de fibras para a confecção de cordas, redes e cestos. Entretanto, o desmatamento da floresta, resulta na erosão genética de variantes genéticas do curauá, sendo necessário adotar estratégias de conservação desse material genético. O objetivo do presente trabalho foi desenvolver um protocolo de conservação *in vitro* para o curauá, visando o crescimento lento. Os explantes de curauá foram inoculados em meio MS em duas salas distintas. Sala 1: temperatura de $18 \pm 1^\circ\text{C}$, três diferentes irradiâncias de luz LED branca: 35 , 45 e $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Sala 2: temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, irradiância de luz fluorescente branca fria: $25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Na temperatura de $18 \pm 1^\circ\text{C}$, a sobrevivência foi acima de 70% durante os 480 dias avaliados. Na temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, a irradiância de $25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ obteve porcentagem de sobrevivência de 100% até o 6º mês (180 dias). Na avaliação da altura, na primeira avaliação, as irradiâncias de 35 , 45 e $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, a $18 \pm 1^\circ\text{C}$, a altura média das plântulas foi de 1,38; 1,40 e 1,75 cm, respectivamente. Não houve diferença estatística significativa entre as diferentes irradiâncias. Nas avaliações seguintes, a altura média aumenta, mas a indiferença estatística permanece. Na irradiância de $25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, a altura média das plântulas foi de 3,76 cm, média acima das irradiâncias da sala a $18 \pm 1^\circ\text{C}$. Em relação ao número de brotações, em todas as avaliações, as irradiâncias de 35 , 45 e $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ não apresentaram diferença estatística significativa. Conclui-se que diferentes irradiâncias não alteram o crescimento, mas uma menor temperatura induziu o crescimento lento no curauá, sendo uma estratégia eficaz para aumentar os intervalos de subcultivo.

Palavras-chave: fibras naturais, micropropagação, recursos genéticos vegetais, germoplasma.

ABSTRACT

The Amazonian flora has a wide variety of species with potential present or future use. Among several species, the *Ananas lucidus* Mill. (curauá), family of Bromeliaceae, is an Amazonian fibrous plant. The natives used curauá leaves as a source of fiber to make ropes, hammocks and baskets. However, deforestation of the forest results in the genetic erosion of genetic variants of the curauá, making it necessary to adopt conservation strategies for this genetic material. The objective of the present work was to develop an conservation *in vitro* protocol for curauá, aiming at slow growth. The curauá explants were inoculated in MS medium in two different rooms. Room 1: temperature $18 \pm 1^\circ\text{C}$, three different white LED light irradiances: 35 , 45 and 75



$\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Room 2: temperature $25 \pm 1^\circ\text{C}$, cold white fluorescent light irradiance: $25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. At a temperature of $18 \pm 1^\circ\text{C}$, survival was above 70% during the 480 days evaluated. At a temperature of $25 \pm 1^\circ\text{C}$, irradiance of $25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ obtained a survival percentage of 100% up to the 6th month (180 days). In the evaluation of the height, in the first evaluation, the irradiances of 35, 45 and $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, at $18 \pm 1^\circ\text{C}$, the average height of the seedlings was 1.38; 1.40 and 1.75 cm, respectively. There was no statistically significant difference between the different irradiances. In the following evaluations, the average height increases, but the statistical indifference remains. In the irradiance of $25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, at $25 \pm 1^\circ\text{C}$, the average height of the seedlings was 3.76 cm, average above the irradiances of the room at $18 \pm 1^\circ\text{C}$. Regarding the number of shoots, in all evaluations, the irradiances of 35, 45 and $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ did not show statistically significant difference. It is concluded that different irradiances do not alter growth, but a lower temperature induced slow growth in curauá, being an effective strategy to increase subculture intervals.

Keywords: natural fibers, micropropagation, plant genetic resources, germplasm.

1 INTRODUÇÃO

As plantas amazônicas possuem diferentes propriedades (RAMOS; SOUZA, 2021). O *Ananas lucidus* Mill., conhecido como curauá (Figura 1), possui uma folhagem que é fonte de fibras. O curauá pertence a família das Bromeliáceas, é uma planta fibrosa amazônica (LAMEIRA *et al.*, 2020). Desde o período Pré-colombiano, os índios da Amazônia utilizavam suas folhas como fonte de fibras para a confecção de cordas, redes e cestos (GONÇAL VES *et al.*, 2018). As fibras do curauá possuem resistência mecânica superior se comparadas ao sisal, juta e linho (BEHRENS, 1999). Além disso, fibras naturais quando comparadas a fibras sintéticas, são oriundas de fontes renováveis e são biodegradáveis (SATYANARAYANA; GUIMARÃES; WYPYCH, 2007), além de ser uma fonte de renda para as famílias produtoras.



Figura 1: Plantas de curauá pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Amazônia Oriental, Belém-Pará, Brasil.



Fonte: Osmar Alves Lameira (2023).

O desmatamento da floresta amazônica, em regiões de ocorrência natural do curauá, resulta na erosão genética de suas variantes genéticas. Assim, adotar estratégias de conservação do curauá e suas variantes genéticas é essencial para a manutenção da variabilidade genética dessa espécie que tem valor econômico atual e potencial (ALVES; AZEVEDO, 2018). A micropropagação é uma estratégia importante para a conservação de germoplasma *in vitro*, envolvendo metodologias de crescimento lento e subcultivos em maiores intervalos de tempo (MANSUR; PACHECO; VIEIRA, 2009). A intensidade de luz (ALMEIDA; MUNDSTOCK, 2001) e a temperatura (SÁNCHEZ-CHIANG; JIMÉNEZ, 2010) são fatores determinantes no sucesso da conservação *in vitro* de espécies vegetais. A combinação desses fatores (luz e temperatura) podem aumentar o sucesso da conservação *in vitro*, através da redução do metabolismo das plantas, sem perda da viabilidade (SILVA et al., 2016).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar se a temperatura e a luminosidade (irradiância), podem ser usados como estratégias de conservação *in vitro* (crescimento lento) para o curauá, visando a diminuição de subcultivos.

2 METODOLOGIA

2.1 ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi realizado no Laboratório de Biotecnologia e Recursos Genéticos (LBRG), da Embrapa Amazônia Oriental, localizada em Belém, Pará. Os explantes (gemmas) utilizados



neste estudo foram obtidos de plantas micropropagadas em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), pertencentes ao LBRG.

2.2 MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CULTURA

Os explantes de curauá, medindo aproximadamente 2 cm, foram inoculados em frascos de vidro com capacidade para 250 mL, contendo 30 mL de meio de cultura MS. Os meios foram suplementados com sacarose ($30,0 \text{ g.L}^{-1}$), benzilaminopurina (BAP) ($3,0 \text{ mg.L}^{-1}$), o pH foi ajustado a $5,7 \pm 0,1$ e em seguida gelificados com Phytigel™ ($3,0 \text{ g.L}^{-1}$). Os frascos contendo os meios de cultura foram autoclavados a 120°C por 15 minutos.

Na sala de conservação, temperatura de $18 \pm 1^\circ\text{C}$, os frascos foram mantidos sob as fontes de luz: lâmpada LED branca. Irradiância de $35 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (9 W), irradiância de $45 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (12 W) e irradiância de $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (15 W), durante um fotoperíodo de 12 horas/dia.

Esse experimento foi comparado com as condições do controle (testemunha), usado no laboratório para a produção de mudas: temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, os frascos foram mantidos sob a fonte de luz: lâmpada tubular fluorescente branca fria Empalux®. No tratamento de irradiância de $25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, durante um fotoperíodo de 14 horas/dia.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), com 4 repetições por irradiância, sendo cada repetição composta por 3 explantes.

2.3 INDICADORES NA CONSERVAÇÃO *IN VITRO*

Foram avaliados durante 480 dias (16 meses), mensalmente, indicadores quantitativos e qualitativos como contaminação (fungo ou bactéria), altura da planta, número de brotações, sobrevivência. A altura da planta ocorreu por medição direta aproximada com régua graduada, ocorrendo sem que houvesse a remoção da plântula de dentro do frasco.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A diferença da altura das plântulas foi calculada com a utilização do *software BioEstat 5.0* (AYRES *et al.*, 2007). Para verificar a normalidade dos dados, foi usado o teste Kolmogorov-Smirnov, o nível de significância foi determinado pelo teste paramétrico ANOVA (Tukey). O valor do nível de significância foi de 5%.



3 RESULTADOS

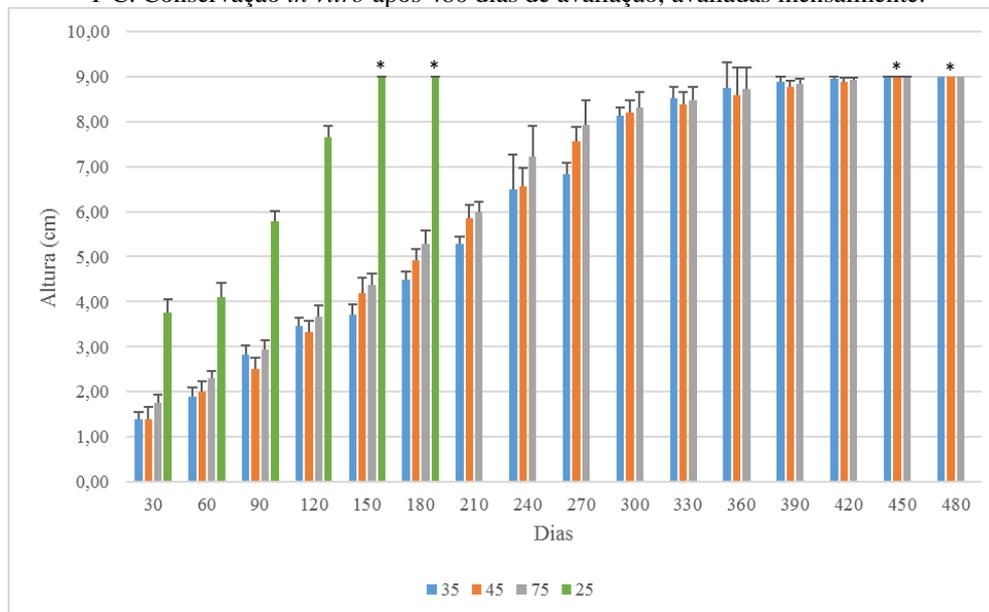
Na sala de conservação, temperatura de $18 \pm 1^\circ\text{C}$, as irradiâncias de 35, 45 e $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ obtiveram percentagem de sobrevivência acima de 70% nos 470 dias de avaliação. Na sala de multiplicação, temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, o a irradiância de $25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ obteve percentagem de sobrevivência de 100% até o 6º mês (180 dias).

Na avaliação da altura, na primeira avaliação, as irradiâncias de 35, 45 e $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, alocados na sala de conservação a $18 \pm 1^\circ\text{C}$, a altura média das plântulas foi de 1,38; 1,40 e 1,75 cm, respectivamente. Não houve diferença estatística significativa entre as diferentes irradiâncias.

Nas avaliações seguintes, a altura média das irradiâncias aumenta, mas a indiferença estatística permanece entre as irradiâncias de 35, 45 e $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Figura 2). O limite de 9 cm, altura do frasco, é atingido no 14º mês (450 dias) de conservação *in vitro*. Na sala de multiplicação, temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, a irradiância de $25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ obteve alturas médias acima das irradiâncias de 35, 45 e $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em todas as avaliações. A altura máxima de 9 cm foi atingida no 5º mês (150 dias) (Figura 2).



Figura 2: Altura média das plântulas de *Ananas lucidus*. Irradiância de 25 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Irradiância de 35 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em $18 \pm 1^\circ\text{C}$. Irradiância de 45 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em $18 \pm 1^\circ\text{C}$. Irradiância de 75 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em $18 \pm 1^\circ\text{C}$. Conservação *in vitro* após 480 dias de avaliação, avaliadas mensalmente.



Fonte: Autor (2023).
*Limite de altura de 9 cm.

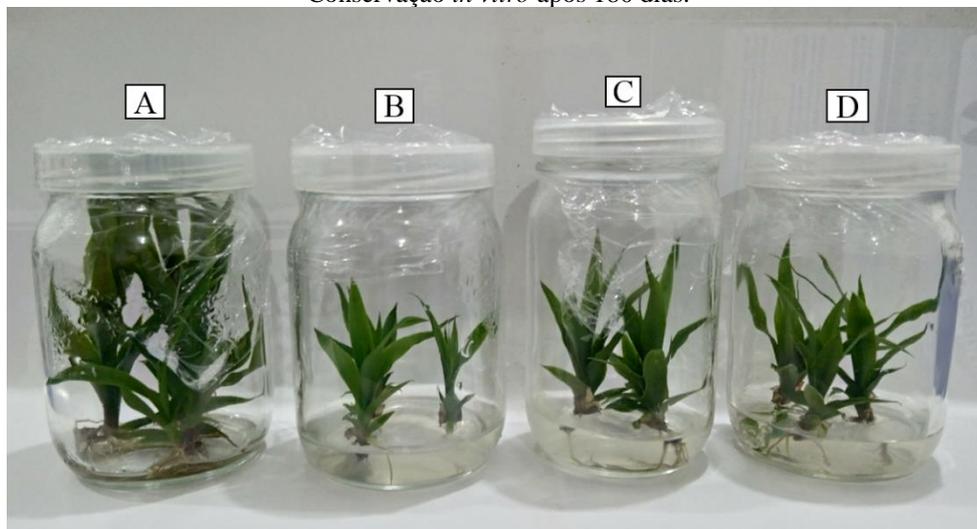
Na avaliação do número de brotações, em todas as avaliações, as irradiâncias de 35, 45 e 75 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ não apresentaram diferença estatística significativa.

A indiferença estatística entre as irradiâncias de 35, 45 e 75 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Figuras 3B, 3C, 3D), alocados na sala de conservação a $18 \pm 1^\circ\text{C}$, sugere que a luz, através de diferentes irradiâncias, não alterou de forma significativa o crescimento das plântulas *in vitro*. Enquanto que a temperatura foi determinante na diminuição do crescimento apical das plântulas de curauá.

A análise estatística somente foi realizada entre as irradiâncias, alocadas na sala de conservação a $18 \pm 1^\circ\text{C}$, porque a irradiância de 25 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, foi alocada em sala com temperatura e irradiância diferentes das analisadas nas irradiâncias de 35, 45 e 75 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Assim, a comparação estatística seria questionável.



Figura 3: *Ananas lucidus in vitro*. A) Irradiância de $25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em $25 \pm 1^\circ\text{C}$. B) Irradiância de $35 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em $18 \pm 1^\circ\text{C}$. C) Irradiância de $45 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em $18 \pm 1^\circ\text{C}$. D) Irradiância de $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em $18 \pm 1^\circ\text{C}$. Conservação *in vitro* após 180 dias.



Fonte: Autor (2023).

4 DISCUSSÃO

A conservação *in vitro* através do crescimento lento é uma abordagem que diminui o crescimento das plântulas. Como resultado, ocorre o prolongamento entre as subculturas, que resulta na redução de custos, pois ocorre economia de espaço, mão de obra e reagentes. Além disso, ocorre a diminuição de contaminações no manuseio e risco de instabilidade genética (BENELLI et al., 2022).

A conservação *in vitro* pode ser aplicada a período curto ou médio. Existem espécies que, naturalmente, crescem lentamente *in vitro*. Essas espécies são conservadas em período médio. A jabuticabeira é conservada *in vitro* por aproximadamente 2 anos, sem necessidade de subcultivo. Entretanto, na maioria das espécies, o crescimento lento é obtido, com a manipulação de fatores como a redução da temperatura, uso de reguladores de crescimento, redução de nutrientes no meio de cultura, diminuição ou eliminação completa da luz, entre outros fatores (COSTA; SPEHAR; SERENO, 2012).

Silva e colaboradores (2016) conservaram *in vitro* diferentes acessos de *Ananas comosus* (abacaxi) através do crescimento lento, utilizando redução na disponibilidade de nutrientes e temperatura de $21 \pm 1^\circ\text{C}$. Após 10 anos, os acessos de abacaxi ainda tinham potencial propagativo. É possível que o sucesso na conservação sob crescimento lento do abacaxi assim como o curauá, se deve ao fato de que essas duas espécies são fibrosas. Logo, possuem maior resistência mecânica se comparada com outras espécies como as herbáceas.



No cultivo vegetal *in vitro*, o intervalo entre os subcultivos depende da taxa de crescimento de uma cultura: a 25°C, geralmente, a subcultivo é necessário a cada 4-6 semanas (GEORGE; HALL; KLERK, 2008). Na conservação *in vitro* do curauá, em 480 dias (120 semanas), não foi necessário a realização do subcultivo. Logo, a diminuição do crescimento *in vitro*, sugere que a temperatura é um fator eficaz na diminuição do metabolismo do curauá. A redução da temperatura é o método mais abordado na conservação *in vitro* de plantas (COSTA; SPEHAR; SERENO, 2012).

Desenvolver estratégias de conservação *in vitro* eficientes permitem combater a erosão genética de espécies, visto que o melhoramento genético de plantas é baseado na obtenção de novos genótipos que apresentam maior produtividade ou tolerância a condições ecológicas adversas (SOUZA *et al.*, 2009). A conservação *in vitro* é técnica vantajosa em relação à conservação de plantas em BAGs, pois ocupa menos espaço, requer menos recursos e oferece maior segurança contra doenças, pragas e variações somaclonais (ARBELOA *et al.*, 2017)

5 CONCLUSÕES

- Para a conservação *in vitro*, visando o crescimento lento, o fator temperatura é eficiente na diminuição do crescimento das plântulas de curauá.
- Para a conservação *in vitro*, visando o crescimento lento, o fator irradiância não demonstrou alterar de forma significativa o metabolismo das plântulas de curauá.
- Na conservação *in vitro* do curauá, o prolongamento entre os subcultivos foi de pelo menos 480 dias (120 semanas).

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas (FAPESPA), da Embrapa Amazônia Oriental e da Universidade Federal do Pará (UFPA).



REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. L.; MUNDSTOCK, C. M. O afolhamento da aveia afetado pela qualidade de luz em plantas sob competição. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 393-400, 2001.
- ALVES, A. A. C.; AZEVEDO, V. C. R. Embrapa network for brazilian plant genetic resources conservation. *Biopreservation and Biobanking*, v. 16, n. 5, p. 350–360, 2018.
- ARBELOA, A. et al. In vitro conservation of fruit trees by slow growth storage. *Acta Horticulturae*, v. 1155, p. 101–106, 2017.
- AYRES, M. et al. *BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências Bio-médicas*. 5ª edição. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, 2007, p. 364
- BEHRENS, D. Curauá-faser-eine Pflansenfaser als Konstruktionswerkstoff?, Verlag Dr. Köster, Berlin, 1999, p.159-178.
- BENELLI, C. et al. In vitro Conservation through Slow Growth Storage Technique of Fruit Species: An Overview of the Last 10 Years. *Plants*, v. 11, n. 23, p. 1–18, 2022.
- COSTA, A. M.; SPEHAR, C. R.; SERENO, J. R. B. Conservação de recursos genéticos no Brasil. 1ª edição ed. Brasília, DF: Embrapa, 2012, p. 628
- DA SILVA, R. L. et al. Viability and genetic stability of pineapple germplasm after 10 years of in vitro conservation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 127, n. 1, p. 123–133, 2016.
- GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; DE KLERK, G. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Volume 1. 3rd Edition. The Background. Springer, 2008.
- GONÇALVES, F. A. DE C. et al. Fibras vegetais: Aspectos gerais, aproveitamento, inovação tecnológica e uso em compósitos. *Espacios*, v. 39, n. 6, 2018.
- LAMEIRA, O. A., CORDEIRO, I. M. C. C., PIRES, H. C. G. Avaliação dos descritores morfoagronômico e morfoanatomia da lâmina foliar de *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth, Rutaceae, *Ananas comosus* var. *erectifolius* (LB Smith) Coppens & F. Leal, Bromeliaceae e *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes, Rubiaceae. 1 ed. Curitiba: Appris, 2020. p. 177
- MANSUR, E.; PACHECO, G.; VIEIRA, M. L. C. Conservação in vitro de germoplasma. Cap. 9. In: BORÉM, A.; LOPES, M. T. G.; CLEMENT, C. R. (editores). *Domesticação e melhoramento: espécies amazônicas*. Editor Suprema. Viçosa, MG, 2009.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, v. 15, n. 3, p. 473–497, 1962.
- RAMOS, L. M. P.; SOUZA, G. O. DE. Uma revisão integrativa sobre o uso de plantas aromáticas encontradas na Amazônia na promoção da fitoterapia. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 14, p. 1–9, 2021.



SÁNCHEZ-CHIANG, N.; JIMÉNEZ, V. M. Técnicas de conservación in vitro para el establecimiento de bancos de germoplasma en cultivos tropicales. *Agronomía Mesoamericana*, v. 21, n. 1, p. 193-205, 2010.

SOUZA, A. S et al. Preservação de Germoplasma Vegetal, com Ênfase na Conservação in Vitro de Variedades de Mandioca. *Circular Técnica 90*, p. 1-24, 2009.

SATYANARAYANA, K. G., GUIMARÃES, J. L., WYPYCH, F. Studies on lignocellulosic fibers of Brazil. Part I: Source, production, morphology, properties and applications. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, v. 38, n. 7, p. 1694-1709, 2007.