

INFLUÊNCIA DO ÁGAR E AMIDO DE MANDIOCA COMO SOLIDIFICANTES DO MEIO NO ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DO ABACAXIZEIRO

Maria Aparecida Alves Pereira; Jonny Everson Scherwinski Pereira²; Frederico Henrique da Silva Costa³; Tissiane Maria Silva Maciel⁴.

Introdução

A cultura do abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill) ocupa lugar de destaque entre as fruteiras tropicais mais cultivadas no Brasil, representando excelente fonte de renda tanto pela comercialização do fruto *in natura* como pela sua industrialização. Além da sua importância econômica, essa cultura caracteriza-se por ser uma atividade que absorve mão-de-obra no meio rural, e desta forma, contribui para a geração de emprego e renda (Teixeira et al., 2001).

O método de propagação convencional do abacaxizeiro é feito basicamente por meio de mudas do tipo filhote, filhote-rebentão ou rebentão, que são originárias de brotações laterais da planta. A coroa também pode ser utilizada. Porém, é pouco usada porque acompanha o fruto no processo de comercialização (Reinhardt & Cunha, 1999). No entanto, tais processos de multiplicação são lentos, requerem intensa mão-de-obra, despende muito tempo, produzem um pequeno número de mudas e geram materiais de qualidade sanitária duvidosa (Reinhardt, 2000).

O problema de pequena disponibilidade de mudas de qualidade genética e fitossanitária constitui um dos fatores limitantes à cultura do abacaxizeiro. Logo, a produção de mudas de abacaxi por meio de cultura de tecidos constitui uma alternativa de produção em escala comercial, além de apresentar alto vigor, uniformidade e requerer menor espaço físico para multiplicação (Teixeira et al., 2001).

Apesar de já ser bastante utilizada para inúmeras espécies de plantas e para diversos fins, o uso comercial da micropropagação e de seus produtos é ainda limitado, especialmente pelo elevado custo dos reagentes e equipamentos utilizados e pela relativa baixa eficiência no desenvolvimento e multiplicação de algumas espécies. Por isso, pesquisas vêm sendo realizadas com o objetivo de otimizar e desonerar os custos da técnica (Guerra et al., 1999; Pereira & Fortes, 2003).

O ágar é um dos constituintes mais caros e de difícil substituição na micropropagação de plantas por ser usado como solidificante dos meios de cultura. Alguns estudos apresentaram bons resultados com o uso de amido de milho ou de mandioca em substituição ao ágar para algumas culturas, principalmente na fase de enraizamento (Fortes et al., 1994; Ferri & Nachtigall, 1996).

Entre os polissacarídeos, o amido é abundantemente encontrado na natureza, sendo de fácil obtenção e de baixo custo (Ferri et al., 1998). Aliado a isto, o Acre tem na cultura da mandioca (*Manihot esculenta*) uma de suas principais culturas, fato que facilitaria a obtenção deste produto em quantidade e qualidade.

O trabalho objetivou avaliar o uso do ágar e sua substituição parcial e total pelo amido de mandioca (fécula) na composição do meio MS para estabelecimento *in vitro* do abacaxizeiro, cultivares Rio Branco e Quinari.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Acre, Rio Branco, AC. O material vegetal utilizado foi obtido de plantas matrizes das cultivares Rio Branco e Quinari,

coletadas da coleção da Embrapa Acre.

Após a coleta dos talos e remoção das folhas, as gemas axilares foram extraídas e submetidas a um processo de assepsia que consistiu da imersão em álcool 70% por um minuto, hipoclorito de sódio (50% da solução comercial) por quinze minutos e três lavagens em água destilada e esterilizada.

O estabelecimento *in vitro* dos explantes foi realizado em meio de cultura de estabelecimento do abacaxi (MEA), constituído pelos sais e vitaminas de MS (Murashige & Skoog, 1962), 2,0 mg.L⁻¹ de benzilaminopurina, 0,25 mg.L⁻¹ de ácido naftalenoacético, 100 mg.L⁻¹ de mio-inositol e 30 g.L⁻¹ de sacarose. Ao MEA foi avaliado o ágar e amido de mandioca (fécula) como solidificantes, combinados ou não. Os tratamentos foram assim constituídos: T1: MEA + 5 g.L⁻¹ de ágar; T2: MEA + 2,5 g.L⁻¹ de ágar + 60 g.L⁻¹ de amido; T3: MEA + 60 g.L⁻¹ de amido e T4: MEA + 2,5 g.L⁻¹ de ágar + 30 g.L⁻¹ de amido.

Os explantes foram dispostos em frascos de 250 mL com 30 mL de meio de cultura. Após a inoculação dos explantes, o cultivo se desenvolveu por 60 dias sob temperatura de 25±2°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 25 µmol.m⁻².s⁻¹.

O experimento seguiu esquema fatorial 2x4, com duas cultivares e quatro combinações de ágar e amido, totalizando oito tratamentos. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com quatro repetições por tratamento e cada parcela formada por cinco explantes (gema axilar).

Aos 60 dias foram avaliados os seguintes parâmetros: percentagem de gemas desenvolvidas, altura das brotações (cm) e número de folhas desenvolvidas. Para melhor caracterizar a influência dos tratamentos sobre o cultivo, atribuíram-se notas de 1 a 4 para o desenvolvimento das gemas, sendo: 1 - gemas não desenvolvidas; 2 - pouco desenvolvidas; 3 - mediamente desenvolvidas; 4 - bem desenvolvidas (Figura 1).



Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Duncan (p=5%). Dados expressos em percentagem (x) foram transformados segundo $\sqrt{x/100}$ e os obtidos por contagem (x), transformados segundo $\sqrt{x+0,5}$.

Figura 1. Aspecto de gemas axilares de abacaxi em razão do agente solidificante do meio de cultura, após 60 dias de cultivo: 1 - gemas não desenvolvidas; 2 - pouco desenvolvidas; 3 - mediamente desenvolvidas; 4 - bem desenvolvidas. Embrapa Acre, 2004.

Resultados e Discussão

Na Tabela 1 são apresentados os resultados para percentual de gemas desenvolvidas em razão do meio de cultura de estabelecimento utilizado. De maneira geral, a porcentagem de desenvolvimento das gemas da cultivar Rio Branco foi significativamente superior quando estas foram cultivadas em meios

suplementados com amido, combinado ou não com ágar. Os meios M2, M3 e M4 que receberam amido na sua constituição apresentaram 94%, 85% e 90% de gemas desenvolvidas, respectivamente, valores significativamente superiores aos obtidos no meio M1, solidificado apenas com ágar, no qual a taxa de desenvolvimento das gemas alcançou 34,7% (Tabela 1).

Para a cultivar Quinari, o meio M3, suplementado apenas com amido de mandioca como solidificante, foi o que possibilitou a maior porcentagem de gemas desenvolvidas (62,6%), apesar de não ter sido observado diferenças significativas deste meio em relação ao meio M1 (38,7%), no qual utilizou-se apenas ágar como agente solidificante. Estes resultados estão de acordo com os obtidos previamente com as cultivares Rio Branco e Senador Guimard para as quais observou-se que a suplementação do meio de cultura com amido também proporcionou resultados significativamente superiores em relação ao meio solidificado com ágar, especialmente para altura e número de brotações secundárias formadas (dados não publicados).

Quando se avaliou a resposta de desenvolvimento entre as cultivares, observou-se que a cultivar Rio Branco apresentou resultados significativamente superiores à Quinari para os meios M2 e M4. Para os meios M1 e M3 não foram observadas diferenças entre as cultivares. Na média, a cultivar Rio Branco apresentou 76,1% das gemas desenvolvidas, valor significativamente superior ao obtido com a cultivar Quinari cujo desenvolvimento médio das gemas foi de 28,1%, independentemente do meio utilizado (Tabela 1).

Tabela 1. Porcentagem de gemas axilares de abacaxi desenvolvidas, cvs. Rio Branco e Quinari, em razão do agente solidificante do meio de cultura, após 60 dias de cultivo¹. Embrapa Acre, 2004.

Cultivares	Meio de Cultura ²				Média Cvs.
	M1	M2	M3	M4	
Rio Branco	34,7aB	94,0aA	85,3aA	90,6aA	76,1a
Quinari	38,7aAB	1,7bC	62,6aA	11,9bBC	28,7b
Média (meio de cultura)	36,7	47,8	73,9	51,2	

¹Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, diferem entre si pelo teste Duncan a 5% de probabilidade. ²M1: Meio de Estabelecimento do Abacaxi (MEA: MS+1,0mg.L⁻¹ de BAP+0,2mg.L⁻¹ de ANA) + 5g.L⁻¹ de ágar; M2: MEA + 2,5 g.L⁻¹ de ágar + 60 g.L⁻¹ de amido (fécula de mandioca); M3: MEA + 60 g.L⁻¹ de amido (fécula de mandioca); M4: MEA + 2,5 g.L⁻¹ de ágar + 30 g.L⁻¹ de amido (fécula de mandioca). C.V. 38,5%

Apesar dos tratamentos terem influenciado no desenvolvimento das gemas axilares de abacaxizeiro, para altura de brotações, número de folhas e aspecto geral das brotações regeneradas, não foram observadas diferenças significativas quanto ao meio de cultura utilizado, embora para a cultivar Rio Branco os valores destas variáveis tenham sido mais altos para os explantes desenvolvidos no meio M3 (solidificado somente com amido). Diferenças estatísticas só foram verificadas entre as cultivares testadas, independentemente do meio de cultura. Assim como para desenvolvimento de gemas, a cultivar Rio Branco apresentou resultados significativamente superiores à cultivar Quinari para todas as variáveis analisadas (Tabela 2), sugerindo a necessidade de se testar a constituição de novos meios e ajustar protocolos para a multiplicação *in vitro* da Quinari.

Tabela 2. Altura (cm), número de folhas e aspecto geral de brotações de abacaxi, Cvs. Rio Branco (Rio Bco) e Quinari, em razão do agente solidificante do meio de cultura, após 60 dias de cultivo¹. Embrapa Acre, 2004.

Meios ²	Altura (cm)			Nº de folhas			Aspecto Geral		
	Rio Bco	Quinari	Média Meio	Rio Bco	Quinari	Média Meio	Rio Bco	Quinari	Média Meio
M1	0,97	0,56	0,76a	7,5	5,8	6,65a	3,0	2,3	2,65a
M2	0,75	0,41	0,58a	8,3	4,1	6,2a	2,7	2,0	2,35a
M3	1,07	0,41	0,74a	9,2	5,2	7,2a	3,4	2,1	2,75a
M4	0,69	0,4	0,54a	7,9	5,6	6,75a	2,9	2,0	2,45a
Média Cv.	0,87A	0,44B		8,20A	5,2B		3,0A	2,1B	

¹Médias seguidas de letras distintas, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, dentro de cada variável avaliada diferem entre si pelo teste Duncan a 5% de probabilidade. ² M1: Meio de Estabelecimento do Abacaxi (MEA: MS+1,0mg.L⁻¹ de BAP+0,2mg.L⁻¹ de ANA) + 5g.L⁻¹ de ágar; M2: MEA + 2,5 g.L⁻¹ de ágar + 60 g.L⁻¹ de amido (fécula de mandioca); M3: MEA + 60 g.L⁻¹ de amido (fécula de mandioca); M4: MEA + 2,5 g.L⁻¹ de ágar + 30 g.L⁻¹ de amido (fécula de mandioca). C.V. 31,0%, 11,3% e 9,4%, respectivamente.

Conclusões

- Meios de cultura suplementados total ou parcialmente com amido de mandioca (fécula) como solidificante proporcionam resultados significativas superiores ao ágar no desenvolvimento inicial de gemas axilares de abacaxi, cultivar Rio Branco;
- O amido de mandioca (fécula) pode ser utilizado isoladamente como solidificante do meio de cultura no estabelecimento de gemas de abacaxi, cv. Quinari, em substituição ao ágar;
- A cultivar de abacaxi Rio Branco apresenta respostas de desenvolvimento *in vitro* (desenvolvimento de gemas, altura de brotação, número de folhas e aspecto) significativamente superiores à cultivar Quinari.

Referências Bibliográficas

- FERRI, V.C.; NACHITIGALL, G.R. Influência da sacarose e do ágar na cultura *in vitro* do clone de pereira Decaisne-6. In: **Congresso Latinoamericano de Horticultura**, 8, Associação Latinoamericana de Horticultura, Montevideo. p. 6, 1996.
- FERRI, V.C.; CENTELLAS, A.Q.; HELBIG, V.E.; FORTES, G.R. de L. Uso de ágar, amido e ácido indolbutírico no enraizamento *in vitro* do porta enxerto de macieira MM 111. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 4, p. 561-565, 1998.
- FORTES, G.R. de L.; CONCEIÇÃO, A.M.; ZANOL, G. Uso do amido comercial como meio solidificante para enraizamento "in vitro" de morangueiro (*Fragaria x ananassa*). In: **Congresso Brasileiro de Fruticultura**, 13, Associação Brasileira de Fruticultura, Salvador. p. 1113-1114, 1994.
- GUERRA, M.P.; DAL VESCO, L.L.; PESCADOR, R.; SCHUELTER, A.R.; NODARI, R.O. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.9, p.1557-1563, 1999.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-479, 1962.
- PEREIRA, J. E. S.; FORTES, G. R. L. Protocolo para a produção de material propagativo de batata em meio líquido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.9, p.1035-1043, 2003.
- REINHARDT, D.H.R.C.; CUNHA, G.A.P. da. Métodos de propagação. In: CUNHA, J.R.S.; SOUZA, L.F. da S., (Ed.). **O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. p. 105-138.
- REINHARDT, D.H.R.C. Manejo e produção de mudas. In: SOUZA, A.S.; CABRAL, J.R.S. **Abacaxi - produção: aspectos técnicos**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura; Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. 77p. (Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. Frutas do Brasil, 7).
- TEIXEIRA, J.B.; CRUZ, A.R.R.; FERREIRA, F.R.; CABRAL, J.R.S. **Produção de mudas de abacaxi de alta qualidade através da micropropagação**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 26p. (Documentos, 70).