

ISSN 1808-9909
Volume 2, Número 2, 2006

PLANT CELL CULTURE & MICROPROPAGATION



Cultura de Células & Micropropagação de Plantas

**Publicação Científica da Associação Brasileira
de Cultura de Tecidos de Plantas**

Plant Cell Cult. Micropropag., Lavras, MG, v. 2, n. 2, p. 53-106, 2006

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

PROLIFERAÇÃO *IN VITRO* DE BROTO DE CURAUÁ UTILIZANDO DIFERENTES VOLUMES DE MEIO DE CULTURA

IN VITRO SHOOT PROLIFERATION OF *Ananas erectifolius* USING DIFFERENT VOLUMES OF CULTURE MEDIUM

FLÁVIA DIONÍSIO PEREIRA¹, JOSÉ EDUARDO BRASIL PEREIRA PINTO²,
HELEN CRISTINA DE ARRUDA RODRIGUES³, LUCIANA DOMICIANO SILVA ROSADO³,
LUIZ ALBERTO BEIJO⁴, OSMAR ALVES LAMEIRA⁵

¹Doutoranda em Agronomia – Universidade Estadual de Feira de Santana/UEFS – Horto Florestal – 44055-000 – Feira de Santana, BA – flavia1808@hotmail.com

²Doutor em Fisiologia Vegetal – Departamento de Agricultura/DAG – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Caixa Postal 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – jeduardo@ufla.br

³Graduanda em Agronomia – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Caixa Postal 3037 – 37200-000 – Lavras, MG.

⁴Doutorado em Agronomia – Universidade Federal de Alfenas/UNIFAL – Departamento de Ciências Exatas – Rua Gabriel Monteiro da Silva, n.º 714 – Centro – 37130-000 – Alfenas, MG – luizbeijo@yahoo.com.br

⁵Doutor em Agronomia – EMBRAPA – Amazônia Oriental – Trav. Dr. Enéas Pinheiro s/n – Bairro Marco – 66095-100 – Belém, PA – osmar@cpatu.embrapa.br

RESUMO

Curauá [*Ananas erectifolius* L.B.Sm – Bromeliaceae] é uma espécie com grande potencial de uso de suas fibras como revestimento na indústria automobilística. Além disso, o pó do sumo do curauá tem sido utilizado no tratamento de cicatrização de lesões cutâneas. Neste trabalho avaliaram-se diferentes volumes de meio MS. Os volumes utilizados foram de 10, 15, 20, 25 e 30 mL. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) e cada tratamento continha 19 repetições. Aos 30 dias, avaliaram-se o número e o tamanho de brotações. Segundo a análise de variância, houve efeito linear do volume de meio na produção de brotos de curauá. À medida em que se aumenta o volume do meio, aumenta o número de brotos. Não houve diferença significativa nos comprimentos dos brotos.

Termos para indexação: *Ananas erectifolius*, fibras vegetais, micropropagação.

ABSTRACT

Ananas erectifolius L.B.Sm – Bromeliaceae is a species that presents fibers with great potential to be used as revetment for the automobile industry. Besides, the powder obtained from its juice has been used in the treatment of skin lesions cicatrisation. In this work, the effect of different volumes (10, 15, 20, 25 and 30 mL) of MS medium during the *in vitro* culture of axillary buds was evaluated. A completely randomized design (CDR) was used; with each treatment containing 19 replicates. After 30 days of inoculation, shoot number and size were evaluated. The analysis of variance showed a linear effect of the culture medium volume and shoot proliferation. Higher shoot

number was observed with the increase of medium volume. No significant difference was observed on shoot length.

Index terms: *Ananas erectifolius*, vegetable fiber, micropropagation.

A produção de fibras vegetais ocupa um papel relevante na economia agrícola mundial, mesmo com a intensa produção de fibras sintéticas. Matérias-primas de origens renováveis, recicláveis e biodegradáveis são uma das alternativas para a produção de manufaturados ecologicamente corretos, em consequência do acúmulo nos descartes de materiais não biodegradáveis, os quais tendem a aumentar com o crescimento populacional nos centros urbanos. A substituição de materiais derivados do petróleo na produção de compostos elastoméricos por matéria-prima renovável vai ao encontro desses ideais (ROCHA et al., 2003).

As fibras sintéticas destacam-se pela elevada resistência, baixa densidade e elevada produção. Entretanto, as fibras animais e vegetais são as de maior importância, principalmente para atender aos apelos

(Recebido em 31 de agosto de 2006 e aprovado em 19 de janeiro de 2007)

ecológicos e pelo número de plantas e animais produtores de fibras (SCHREIBER, 1998).

As plantas produtoras de fibras utilizáveis foram quantificadas por vários autores e em diferentes épocas, tendo sido enumeradas 2.000 mil plantas fibrosas e o seu total estimado em 2.300, destacando-se as florestas tropicais que encerram recursos inesgotáveis em potencial (MEDINA, 1959).

O curauá [*Ananas erectifolius* L.B.Sm – Bromeliaceae], utilizado principalmente na fabricação de cordas, sacos e utensílios domésticos, surge como sucedâneo para o aproveitamento de fibras. O curauá é uma bromeliácea distribuída nos Estados do Pará, Acre, Mato grosso, Goiás e Amazonas e é cultivada, principalmente, por pequenos produtores da região do Lago Grande de Curuai, no município de Santarém, PA. Estudos recentes têm demonstrado o grande potencial do uso das fibras dessa planta como revestimento na indústria automobilística, devido à sua resistência, maciez e peso reduzido. O grande problema é que não há suprimento suficiente de matéria-prima para atender à indústria automobilística, pois o curauá é fiel às suas origens amazônicas e só se desenvolve em clima quente e úmido, criando um problema para a aquisição de mudas fora desta região que, por tal motivo, é escassa no mercado (SILVA, 2004).

A micropropagação utilizando técnicas de cultura de tecido tem sido um valioso instrumento na propagação de diversos tipos de plantas. Embora este processo envolva diferentes etapas, depois de definido um protocolo de micropropagação, seja qual for a espécie, este pode ser otimizado, no intuito de se obter plântulas de alta qualidade e com baixo valor de produção. O tipo e tamanho de frasco e a quantidade de meio são variáveis que têm recebido pouca atenção, embora afetem diretamente a área superficial da interface meio de cultura-atmosfera, o volume de ar sobre o meio de cultura e a sua profundidade. Tais fatores também afetam a composição da fase gasosa do frasco e, conseqüentemente, o crescimento e desenvolvimento das culturas (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

Rodrigues et al (2005) verificaram maior proliferação de brotos de *Cattleya persivaliana* Hort. em frascos contendo 50 mL de meio, quando comparados com aqueles de 25, 75, e 100 mL. Nicoloso & Erig (2002), trabalhando com *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen, verificaram que 10 mL de meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) proporcionaram o melhor crescimento das plântulas em biomassa quando cultivadas em tubos de 20 cm de altura x 2 cm diâmetro, em comparação com os de 25 cm de altura x 2 cm, 15 cm de altura x 2 cm. Carvalho et al. (1995), estudando a influência de fatores físicos no desenvolvimento e crescimento *in vitro* de batata-doce (*Ipomoea batatas* L. Poir), verificaram que 10 mL de meio de cultura por frasco com explantes proporcionaram maior formação de gemas em relação aos volumes de 20 e 30 mL.

Sendo assim, objetivou-se, neste trabalho, avaliar o volume de meio apropriado para a propagação *in vitro* de brotações de curauá.

As brotações utilizadas como fonte de explante foram fornecidas pela EMBRAPA/CPATU situada em Belém do Pará. Gemas axilares de curauá foram inoculadas em meio MS completo, suplementado com 2,0 mg/L de BAP (6-Benzilaminopurina). Após 30 dias estas se desenvolveram e as brotações obtidas foram transferidas para o meio MS sem regulador de crescimento por 30 dias.

Após este período, quatro explantes foram desfolhados completamente, ficando apenas porções basais com aproximadamente 1cm de comprimento que foram inoculadas em meio de cultura básico MS sem regulador de crescimento, em frasco de 12 cm de altura por 5 cm de diâmetro (volume interno = 300 mL), com volumes de 10, 15, 20, 25, 30 mL. Os explantes foram mantidos em sala de crescimento a uma temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas sob uma Irradiância de fótons de $25\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC). Cada tratamento continha 19 repetições

(um frasco por repetição). Aos 30 dias avaliaram-se o número e o comprimento das brotações. O programa utilizado para análise dos dados foi o *software statistica* (SISVAR), tendo sido submetidas à análise de variância, com aplicação do teste F a 5% de probabilidade, analisando-se as médias por regressão polinomial.

O efeito linear foi o mais adequado para explicar a evolução da taxa média de regeneração do curauá. À medida que o volume do meio de cultura aumenta, existe tendência de aumento do número de brotos. Com 25 mL de meio produziu-se maior número de brotos por frasco (25,57) e com 10 mL de meio produziu-se menor número de brotos (12,26). O tratamento com 15 mL de meio produziu 17,65 brotos, o com 20 mL, 17,50 e o com 30 mL, 22,42 (Figura 1). O volume maior de meio disponibiliza mais nutrientes e diminui também a competição entre as plântulas, o que explica a tendência em se obter um maior número de brotos à medida que se aumenta a quantidade do meio de cultura. Em todos os tratamentos as brotações obtidas foram vigorosas, com a coloração verde-escura característica das plantas matrizes. As brotações tinham também rigidez, outra característica da espécie, o que é devido à presença das fibras nas folhas. Observou-se maior concentração de raízes nas brotações maiores e não

foi observada a presença de calos em nenhum dos tratamentos (Figura 2).

Resultados semelhantes foram obtidos por Reis, Lameira, Reis (2004), trabalhando com curauá utilizando volumes de 5, 7,5, 10 e 15 mL do meio líquido MS, suplementados com 2,5 mg.L⁻¹ de BAP (6-benzilaminopurina), os melhores resultados sendo com os tratamentos que continham 10 e 15ml, produzindo, em média, 1,21 e 1,54 brotos/explante, respectivamente.

Da mesma forma, Reis et al.(2003), trabalhando com ipeca (*Psychotria ipecacuanha* Stokes) em meio MS acrescido de 1,5 mg. L⁻¹de BAP nos volumes de 10, 20, 30 e 40 mL, obtiveram melhor resultado com os volumes de 30 e 40 mL (7 e 8 brotos/frasco, respectivamente).

Quanto ao comprimento dos brotos, não houve diferença significativa. Os brotos tiveram um crescimento médio de 2,28 cm, sendo que no tratamento com 10 mL de meio foi 2,57 cm; com 15 mL, 2,22 cm; com 20 mL, 2,24 cm; com 25 mL, 2,24 cm e o tratamento com 30 mL, 2,15 cm. Embora não se tenham realizado estudos mais aprofundados, uma das hipóteses sugeridas para explicar tais resultados, possivelmente, está relacionada a fatores nutricionais do explante. Segundo Cappelades et al. (1991) e Pereira et al., (2001), porções basais são mais robustas, apresentando maior quantidade de reservas acumuladas em seus tecidos, o que poderia levar à utilização dessas reservas pelas brotações regeneradas para sustentar seu crescimento. Esta seria uma das causas da uniformidade apresentada no tamanho das brotações em todos os tratamentos. Resultados iguais foram obtidos em estudos feitos por Rodrigues et al. (2005), quando avaliaram comprimento médio de duas espécies de orquídeas mantidas em meio de cultura cujos volumes testados eram de 25, 50, 75 e 100 mL. Portanto, verifica-se que é muito importante selecionar material com bom estado fisiológico e tamanho homogêneo, para se obter melhores resultados na proliferação das brotações e/ou na morfogênese.

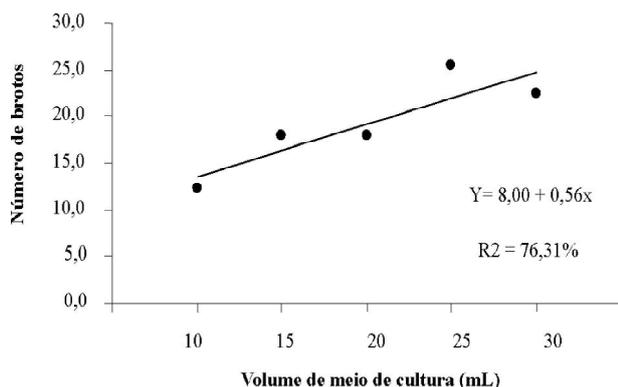


FIGURA 1 – Número médio de brotos por frasco de curauá (*Ananas erectifolius*) cultivados em diferentes volumes de meio MS completo. 10, 15, 20, 25 e 30.

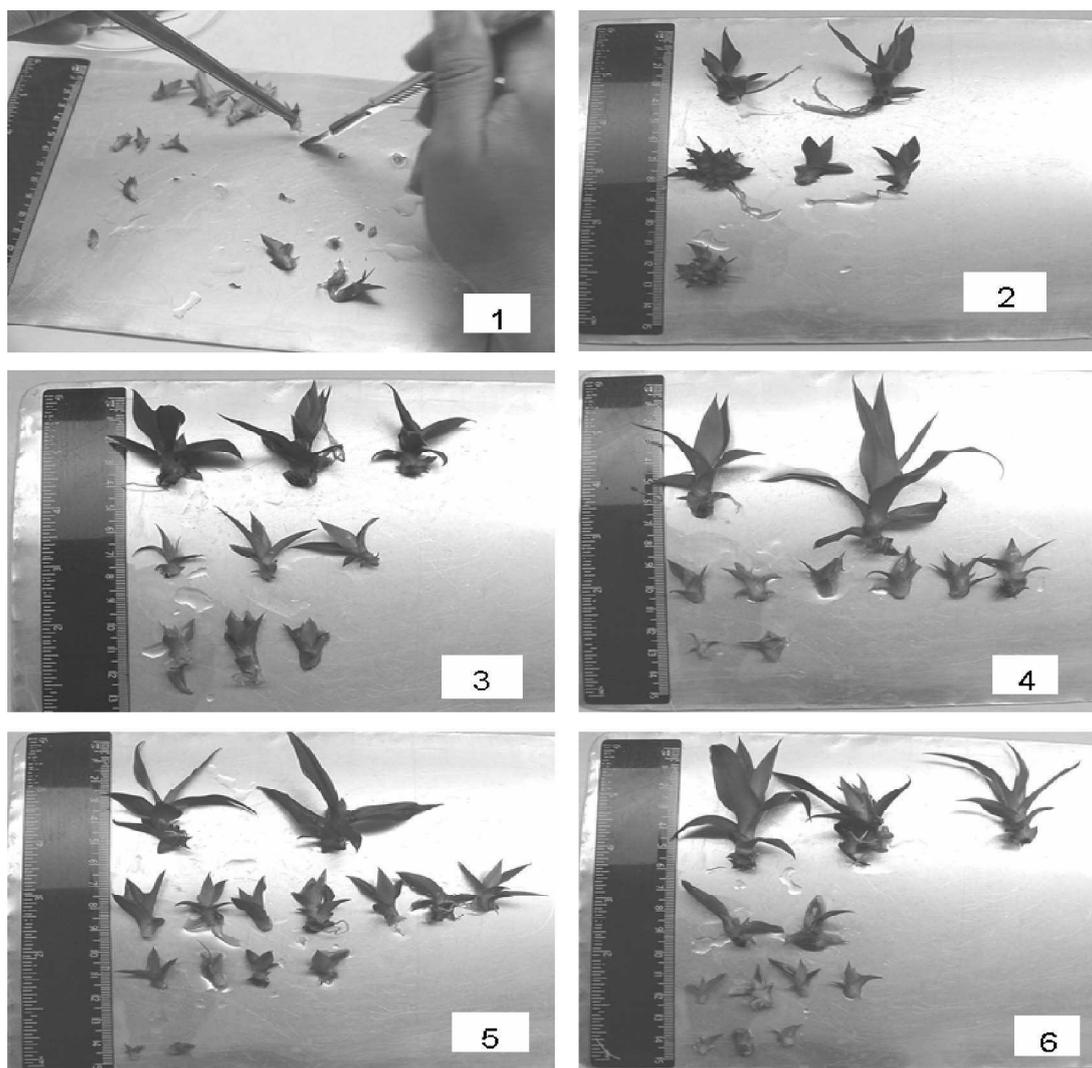


FIGURA 2 – Brotações de curauá (*Ananas erectifolius*) produzidas *in vitro* em diferentes volumes de meio MS. 1- Repicagem dos brotos; 2- 10 mL de meio MS; 3- 15 mL de meio MS; 4- 20 mL de meio MS; 5- 25 mL de meio MS; 6- 30 mL de meio MS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, R.; FAVARETTO, N.; PINTO, J. E. B. P. Influência de fatores físicos no desenvolvimento e crescimento *in vitro* de batata-doce (*Ipomea batatas* (L.) Peir. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 19, n. 2, p. 158-164, abr./jun. 1995.

CAPPELADES, M.; LEMEUR, R.; DEBERGH, P. Effects of sucrose on starch accumulation and rate of photosynthesis in *Rosa* cultured *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 25, n. 1, p. 21-26, Apr. 1991.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. p. 183-260.

MEDINA, J. C. **Plantas fibrosas da flora mundial**. Campinas: Instituto agrônomo, 1959. 913 p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-479, 1962.

NICOLOSO, F. T.; ERIG, A. C. Efeito do tipo de segmento nodal e tamanho do recipiente no crescimento de plantas de *Pfaffia glomerata in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, p. 1499-1506, dez. 2002. Edição especial.

PEREIRA, F. D.; BRAGA, M. F.; SÁ, M. E. L.; ALCINO, O. G.; COLENGHI, I. C. Influência de BAP e NAA na multiplicação de abacaxi cv Perolera a partir de brotos estiolados *in vitro*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 17, n. 2, p. 49-60, Dec. 2001.

REIS, É. S.; PINTO, J. E. B. P.; CORRÊA, R. M.; PEREIRA, F. D.; BERTOLUCCI, S. K. V. Influência dos meios MS e WPM associados a diferentes concentrações de Benzilaminopurina na multiplicação de ipeca (*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 1., 2003, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2003. p. 273.

REIS, J. N. R.; LAMEIRA, O. M.; REIS, L. R. S. ¹**Aprimoramento de protocolos de propagação *in vitro* de**

curauá. Disponível: <<http://www.biologo.com.br>>. Acesso em: ago. 2004.

ROCHA, E. C.; GHELER JÚNIOR, J. **Aproveitamento de resíduos gerados na aglomeração de fibras de coco com Látex natural**. Matéria Técnica. Disponível em: <<http://www.biologo.com.br>>. Acesso em: jun. 2003.

RODRIGUES, J. D.; ARAÚJO, A. G.; ASSIS, F. A. A.; CAVALLARI, L. L.; PASQUAL, M. Crescimento *in vitro* de plântulas de orquídeas: quantidade de meio de cultura e número de explantes. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFLA – CICESAL, 18., 2005, Lavras, MG. **Anais...** Lavras: UFLA, 2005. 1CD-ROM.

SILVA, C. **País pesquisa mais fibras naturais para carros**. Disponível em: <http://www.sebrae_sc.com.br/novos_destaques/opportunidade/mostra_matéria.asp?cd_noticia=8356>. Acesso em: out. 2004.

SCHREIBER, V. (Org.). **Vias de desenvolvimento sustentável**: as dimensões do desafio. Belém: UFBA/NUMA/POEMA/IDESP, 1998. 495 p. (POEMA, 6).