

Cultivo in vitro de segmentos nodais de variedades silvestres de abacaxi.

Santos, Marta Taluana¹; Souza, Fernanda Vidigal Duarte²; Ledo, Carlos Alberto da Silva³

¹Mestranda da Pós-Graduação em Ciências Agrárias (UFRB), CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Fone (75) 3621-2002, email: taluanar@bol.com.br; ²Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Caixa Postal 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Fone (75) 3621-8094, email: fernanda@cnpmf.embrapa.br; ³Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Fone (75) 3621-8061, email: ledo@cnpmf.embrapa.br.

INTRODUÇÃO

A propagação do abacaxizeiro é feita vegetativamente, podendo-se utilizar diferentes partes da planta: coroa, filhote, rebentão ou filhote-rebentão. No entanto, as brotações laterais da planta são mais utilizadas, já que a coroa acompanha o fruto no momento da comercialização.

Nesse tipo de propagação, no entanto, destacam-se a baixa taxa de multiplicação, intenso uso de mão-de-obra e o fato de ser lento. Esta reduzida capacidade na formação de mudas se constitui num problema para os programas de melhoramento genético, em função da grande demanda de plantas para os ensaios regionais de desempenho e, posteriormente, para o lançamento da nova variedade no mercado.

Estratégias para superar a baixa produção de mudas do abacaxizeiro já foram desenvolvidas e dentre elas, destaca-se a micropropagação por gemas axilares, no âmbito da cultura de tecidos de plantas. A produção de mudas em laboratório por meio da micropropagação vem sendo uma estratégia realizada com êxito, ainda que ajustes sejam necessários a depender das variedades a serem multiplicadas (Barboza, 1999; Guerra et al., 1999).

Os explantes usualmente utilizados para a micropropagação do abacaxizeiro são gemas laterais ou axilares, oriundas preferencialmente, de mudas do tipo filhote ou então de filhote-rebentão (Guerra et al., 1999; Soneji et al., 2002). A fonte do explante é sem dúvida, um dos fatores mais importantes, tanto para a obtenção de boas taxas de multiplicação, assim como na manutenção da estabilidade genética, evitando a ocorrência de variação somaclonal (Smith et al., 2002). Segundo Kiss et al., (1995) um método para produção de mudas de abacaxi *in vitro*, usando segmentos nodais estiolados podem regenerar até 80.000 plantas no período de um ano através de uma planta primária, com a vantagem de evitar lesões na zona de regeneração e dessa forma minimizar os riscos de variações genéticas.

As variedades silvestres de abacaxi não respondem com eficiência aos protocolos de multiplicação *in vitro*, desenvolvidos para as cultivares elite, necessitando de estratégias próprias para sua propagação. Dessa forma o uso de segmentos nodais estiolados pode ser uma alternativa para a obtenção de melhores resultados, com taxas de multiplicação melhores (Silveira et al.; 2006).

Este trabalho tem como objetivo avaliar a formação de segmentos nodais por meio do estiolamento das plantas, para uso na multiplicação *in vitro* de diferentes genótipos da variedade botânica *Ananas comosus* var. *ananassoides*.

MATERIAL E MÉTODOS

Esse trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecido da **Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**, utilizando-se dez genótipos de *Ananas comosus* var. *ananassoides* oriundos do Banco ativo de Germoplasma de abacaxi.

Como explante de partida utilizou-se plantas regeneradas *in vitro* no meio MS (Murashige e Skoog 1962) a partir de gemas axilares (Silveira et al, 2006) que foram reduzidas a um tamanho de aproximadamente 1 cm, após serem retiradas todas as folhas, deixando-se apenas o talo, a fim de tornar homogêneo o material de partida. Para cada genótipo utilizou-se 14 plantas que foram colocadas em tubos de ensaio contendo meio de cultura MS, acrescido de 30 g.L⁻¹ de sacarose, 0,1 mg/L⁻¹ de ANA e 0,2 mg/L⁻¹ de BAP, solidificado com 7 g.L⁻¹ de ágar e pH ajustado em 5,8. Os explantes foram incubados em sala de crescimento no escuro com temperatura controlada (27 ± 1°C).

Realizou-se uma avaliação após 72 horas de inoculação para verificação de contaminações fúngicas e/ou bacterianas. Após 90 dias de incubação avaliou-se o comprimento da haste principal (cm) com uma régua graduada, número de hastes, número de segmentos nodais formados por haste e formação de agregados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram registradas taxas de contaminação por fungos de 4,3% a 64,3% nos genótipos 203, 205, 206, 207 e 465, sendo que a maior incidência foi no genótipo 207. A contaminação fúngica se dá principalmente pelo manuseio inadequado dos explantes, ou por condições sanitárias do material de partida no campo, dificultando o procedimento de desinfestação. No caso desse trabalho, não foi realizado nenhum tipo de tratamento anti fúngico, o que pode ter contribuído para esse resultado. A contaminação por bactéria ocorreu nos acessos 205, 207 e 772, sendo que neste caso a maior incidência foi no genótipo 772 com uma taxa de 50% (Figura 1). Essa contaminação foi provavelmente, causada por bactérias endofíticas, de ocorrência muito comum em materiais silvestres. Alguns trabalhos já realizados indicam que a utilização de antibióticos no cultivo *in vitro*, é interessante para o controle de contaminações bacterianas endógenas, no entanto, seu uso pode causar sérios problemas já que podem vir a causar possível toxidez ao tecido vegetal. Por outro lado os genótipos 25, 232, 233 e 472 não apresentaram nenhum tipo de contaminação.

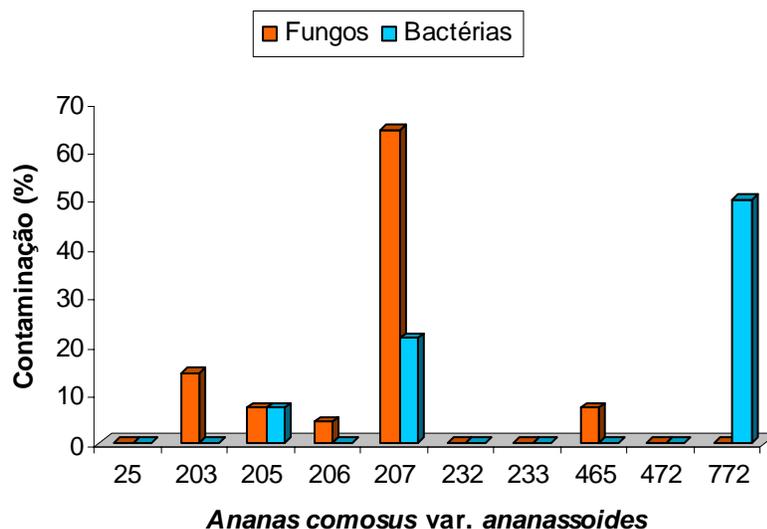


Figura 1. Frequência de plantas contaminadas por bactérias ou fungos de diferentes genótipos de *Ananas comosus* var. *ananassoides* após 72 horas de inoculação.

No que se refere às variáveis estudadas, na Tabela 1 pode-se observar que houve diferentes respostas para os dez genótipos utilizados em cada variável. O genótipo 203 foi o que obteve as maiores médias para o comprimento da haste principal (7,90), número de haste (2,14) e número de segmentos nodais formados por haste (6,50) evidenciando boa capacidade para a formação desse tipo de explante a ser usado posteriormente para a micropropagação. Nesse acesso também observou-se a formação de agregados, o que já pode ser uma possível indicação de bom potencial de multiplicação na fase posterior do trabalho. O genótipo 772 obteve também um elevado crescimento da haste principal, equiparando-se ao genótipo 203, sendo que o número de segmentos nodais formados foi a metade da obtida pelo acesso 203 mostrando que não existe uma correspondência direta, nesse caso, entre o tamanho da haste e a formação desses segmentos. Esse resultado vai de encontro ao que foi registrado por Souza et al (2007), onde os resultados obtidos com o estiolamento de um híbrido de *Ananas comosus* var. *comosus* mostraram uma relação direta das duas variáveis. Essas diferenças podem ser devido às diferenças genéticas existente entre as duas variedades botânicas. Os genótipos 472 e 233 foram os que obtiveram as médias mais baixas nas três variáveis analisadas. Esses resultados comprovam que há uma variação na resposta morfogenética dos diferentes genótipos, principalmente no que se refere ao comprimento da haste e à formação dos segmentos nodais, foco principal desse trabalho. Essa inferência só poderá ser confirmada após as avaliações da micropropagação desses genótipos.

Tabela 1. Média e desvio padrão do comprimento da haste principal (CHP), número de haste (NH) e número de segmentos nodais formados (SN) dos genótipos de *Ananas comosus* var. *ananassoides* após 90 dias de incubação em meio MS suplementado com 0,1 mg/L⁻¹ de ANA e 0,2 mg/L⁻¹ de BAP.

Acesso	CHP (cm)	NH	SN
25	4,28 ± 2,66 b	0,93 ± 0,27 b	3,00 ± 2,11 b
203	7,90 ± 4,25 a	2,14 ± 1,31 a	6,50 ± 3,90 a
205	6,15 ± 2,59 a	0,93 ± 0,27 b	5,00 ± 2,41 a
206	3,19 ± 2,86 b	0,57 ± 0,51 c	1,50 ± 1,74 c
207	5,37 ± 3,28 a	0,86 ± 0,36 b	4,50 ± 2,68 a
232	2,90 ± 3,17 b	0,64 ± 0,63 c	1,92 ± 1,97 c
233	1,47 ± 2,80 b	0,29 ± 0,47 c	0,50 ± 0,94 c
465	3,46 ± 3,57 b	0,57 ± 0,51 c	3,36 ± 3,60 b
472	1,71 ± 2,30 b	0,55 ± 0,52 c	1,00 ± 1,79 c
772	7,04 ± 3,30 a	0,85 ± 0,36 b	3,00 ± 2,04 b
CV (%)	71,90	74,52	81,22

Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

A Tabela 1 mostra as diferenças significativas ($P < 0,05$) para as variáveis comprimento da haste principal, número de haste e número de segmentos nodais formados, demonstrando o comportamento variável entre os genótipos. Para a variável comprimento da haste principal (CHP) houve a formação de dois grupos, sendo que não houve diferença estatística para os acessos 203, 205, 207 e 772 presentes no grupo de maior CHP. Para a variável número de haste (NH) houve a formação de três grupos, com o acesso 203 presente no grupo de maior NH e estatisticamente superior aos demais acessos. Com relação a variável número de segmentos nodais (SN) houve a formação de 3 grupos, com os acessos 203, 205 e 207 pertencendo ao grupo de maiores valores de SN e estatisticamente superiores aos demais acessos.

CONCLUSÃO

Os diferentes genótipos responderam de forma distinta ao meio de cultura e às condições estabelecidas no trabalho.

Entre os 10 genótipos avaliados de *Ananas comosus* var. *ananassoides* o 203, 205 e 207 foram os que melhores corresponderam ao tratamento para estiolamento e formação de segmentos nodais em meio de cultura MS suplementado com $0,1 \text{ mg/L}^{-1}$ de ANA e $0,2 \text{ mg/L}^{-1}$ de BAP.

AGRADECIMENTOS¹

LITERATURA CITADA

BARBOZA, S.B.S.C. *Comparação de protocolos para micropropagação do abacaxizeiro [Ananas, comosus (L.) Merrill]*. Brasília: Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 76p. Dissertação de Mestrado. 1999.

GUERRA, M.P.; DAL VESCO, L.L.; PESCADOR, R.; SHUELTER, AR.; NODARI, R.O. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para micropropagação do Abacaxizeiro. **Pesq. Agrop. Bras.** Brasília v.34, n.9. p.1557-1563, set. 1999.

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.

SILVEIRA, D.G.; SOUZA, F.V.D.; CUNHA, E.; SOUZA, A.S.; Propagação In vitro de variedades de abacaxi silvestre de valor ornamental. IN: XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura. Cabo Frio. Frutas do Brasil: saúde para o mundo. **Anais...** Cabo Frio. v.1, p.367. 2006.

SOUZA, F.V.D.; CANTO, A.M.E.; SOUZA, A. da S.; COSTA, M.A.P. LEDO, C.A.S. Efeito de reguladores de crescimento na obtenção In vitro de segmentos nodais de um novo híbrido de

¹ A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, a Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical e a CAPES, que contribuíram de forma direta e indiretamente para execução desse trabalho.

abacaxi. In: 4º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. São Lourenço. **Anais....** São Lourenço. 2007.

SONEJI, J.R.; RAO, P.S.; MHATRE, M. Somaclonal variation in micropropagated dormant axillary buds of pineapple (*Ananas comosus* L., Merr.). *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, v. 77, n.1, p. 28-32, Jan. 2002.

SMITH, M. K.; KO, H. L.; HAMILL, S. D.; SANEWSKI, G. M. Pineapple transformation: managing somaclonal variation. **Acta Horticulturae**, Leuven, n.575, p.69-74, 2002

Palavras-chave: Produção de mudas, micropropagação, cultura de tecido, *Ananas comosus* var. *ananassoides*.