

## Variação somaclonal em mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental, *Ananas bracteatus* Schultes var. *striatus* (Bromeliaceae)

PAULO HERCÍLIO VIEGAS RODRIGUES<sup>(1)</sup>; MARIA DE FÁTIMA BATISTA DUTRA<sup>(2)</sup>; OTÁVIO AUGUSTO FARIA<sup>(3)</sup>  
E ANAMARIALINER PEREIRALIMA<sup>(4)</sup>

### RESUMO

Com objetivo de avaliar a ocorrência de variação somaclonal em *A. bracteatus* var. *striatus*, foi realizado um ensaio em que foram estabelecidas *in vitro* gemas de hastas caulinares de mudas do tipo filhote, submetidas a sete subcultivos e quantificadas, em porcentagem, as médias dos diferentes tipos de mudas. Como resultado, foram constatados três tipos de variantes somaclonais assim classificados e quantificados: *A. bracteatus* Verde (80,13 %), *A. bracteatus* Albino (15,93 %) e *A. bracteatus* Variegado (3,94 %). Coletadas ao acaso, vinte mudas de cada tipo de variante somaclonal foram mantidas *ex vitro* por 160 dias, mantendo suas características variantes.

**Palavras chave:** abacaxi ornamental, cultura de tecido, *ex vitro*.

### ABSTRACT

#### Somaclonal variation in micropropagated plants of ornamental pineapple plant *Ananas bracteatus* Schultes var. *striatus*.

This research evaluated the occurrence of somaclonal variation in *A. bracteatus* cv. *striatus* and its *ex vitro* development. Buds from stems were inoculated *in vitro* and submitted to seven subcultures and the media of the different kinds of plantlets were quantified in percentage. The results showed three kinds of somaclonal variants: *A. bracteatus* Verde (80.13 %), *A. bracteatus* Albino (15.93 %) e *A. bracteatus* Variegado (3.94%). Collected randomly, twenty plants of each kind of somaclonal variants were maintained *ex vitro* for 160 days, keeping their variant characteristics.

**Key words:** ornamental ananas, tissue culture, *ex vitro*

### 1. INTRODUÇÃO

O agronegócio de flores tropicais tem se destacado como importante fonte de divisas em alguns países como Colômbia, Costa Rica, Honduras, Jamaica, Estados Unidos (Hawaii e Flórida), Porto Rico, Suriname e Venezuela (CASTRO & GRAZIANO, 1997). No Brasil, Estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina, Pernambuco, além de Amazonas, Ceará e Alagoas estão realizando plantios comerciais de plantas ornamentais tropicais (CASTRO, 1995).

Entre as tropicais, o abacaxi ornamental destaca-se pela sua beleza exótica, rusticidade, diversidade e durabilidade pós-colheita. O Estado do Ceará, um dos pioneiros na floricultura tropical, conta com produtores de *A. lucidus*, *A. namus*, *A. fritzmulleri* e *A. bracteatus*, que participam da exportação para os mercados da Holanda, Estados Unidos, Alemanha e Inglaterra, com faturamento de US\$ 413.000,00 no ano de 2004 (Baima<sup>5</sup>).

Na família Bromeliaceae, a espécie *A. comosus*, do gênero *Ananas*, é a representante em inúmeros trabalhos com cultura de tecidos vegetais. Ensaio pioneiro de PANNETIER & LANAUD (1976), avaliaram a possibilidade

de produzir mudas sadias e em grande quantidade de *A. comosus*, empregando cultura de tecidos.

A introdução do termo variação somaclonal por LARKIN & SCOWCROFT (1981), como sendo a variabilidade genética gerada durante o processo *in vitro*, foi estudado em ensaios com diferentes culturas (DE KLERK et al., 1990; ARENE et al., 1993; SANTOS & RODRIGUES, 2004). Plantas cultivadas *in vitro* frequentemente estão associadas a alterações cromossômicas, podendo ocorrer deleção ou duplicação das seqüências de determinados genes, originando variantes somaclonais com características indesejáveis e muitas vezes herdáveis (VENTURA et al., 1994).

Metilação no DNA ou outras alterações na cromatina celular podem mudar o fenótipo das plantas regeneradas por meio da cultura de tecidos vegetais, não sendo, contudo, transmitida para seus descendentes, denominadas epigenéticas. Mesmo assim, as plantas com variações epigenéticas são classificadas como variantes somaclonais (BOUMAN & DE KLERK, 1997).

Na cultura do abacaxi, a ocorrência de variantes somaclonais foi constatada por SONEJI et al. (2002) e GOTTARDI et al. (2002), que avaliaram mudas

<sup>(1)</sup>\*UFRN/PPGGBM/BioCampo - Alameda das Mansões, 1178 - Candelária - 59067-010 - Natal (RN) - Brasil. E-mail: phrviegas@hotmail.com

<sup>(2)</sup>BioCampo - Alameda das Mansões, 1178 - Candelária - 59067-010 - Natal (RN) - Brasil. (mfbdutra@hotmail.com)

<sup>(3)</sup>Aluno de Graduação em Agronomia, USP/ESALQ - 13418-900 - Piracicaba (SP) - Brasil.

<sup>(4)</sup>USP/ESALQ - Depto. Produção Vegetal - 13418-900 - Piracicaba (SP) - Brasil. (amplima@esalq.usp.br)

<sup>(5)</sup>BAIMA, S. Sistema de informação gerencial agrícola - SIGA. Secretaria da Agricultura e Pecuária do Ceará - SEAGRI. Comunicação pessoal, 2005.

micropropagadas de *A.comosus* *in vitro* e *ex vitro*. O emprego de técnicas moleculares foi utilizado para quantificar em *A.comosus*, variantes somaclonais em mudas micropropagadas a partir dos métodos estacionário e de imersão temporária (FEUSER et al.; 2003). A aplicação de RAPD e Izoenzimas nessa avaliação constatou maior taxa de variação somaclonal no método estacionário com 3,9 % de plantas variantes.

Dada a escassez de informações sobre a cultura de tecidos de abacaxis ornamentais, este trabalho teve como objetivo avaliar a ocorrência de variantes somaclonais *in vitro* de *A. bracteatus* var. *striatus* e a permanência dessas características durante o desenvolvimento *ex vitro*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado com mudas do tipo filhote de *Ananas bracteatus* var. *Striatus*, extraídas de matrizes estabelecidas em vaso e mantidas em viveiro. Após a retirada das folhas, as hastes caulinares foram lavadas em água corrente por quinze minutos seguindo-se a desinfestação por imersão em recipientes fechados contendo solução de hipoclorito de sódio comercial (30 % v/v, 2,5 % NaOCl) e 0,1 % de Tween 80 durante 10 minutos, para em seguida serem lavadas por três vezes com água deionizada esterilizada. As gemas foram retiradas assepticamente em câmara de fluxo laminar e inoculadas em tubos de ensaio de 150 x 25 mm contendo 15 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) semi-sólido com 2,0 g L<sup>-1</sup> de phytigel, acrescido de vitaminas de Morel (MOREL & WETMORE, 1951), 30,0 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 0,44 µM de 6-benziladenina (6-BA) e pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem. As culturas foram mantidas em sala de incubação equipada com luzes fluorescentes GE de 40W, proporcionando intensidade luminosa de 50 µmoles.m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>, temperatura de 25±2°C e fotoperíodo de 16 horas.

As gemas estabelecidas foram subcultivadas a intervalos de 45 dias, em frascos de 200 mL contendo 40 mL de meio de cultura MS líquido, com metade da concentração de sais, acrescido de vitaminas de Morel, 30,0 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 2,2 µM de 6-BA, 1,1 µM de ácido naftaleno acético (ANA) e pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, para indução de brotações nas mesmas condições de temperatura e fotoperíodo citados anteriormente.

A avaliação dos explantes ocorreu após sete subcultivos das cinco gemas estabelecidas, na qual foram quantificadas e observadas características morfológicas variantes de coloração de folhas, presença ou ausência de espinhos e alongação das hastes caulinares das 735 plântulas produzidas. Os resultados foram avaliados pela porcentagem das médias obtidas.

Amostras ao acaso do material avaliado, totalizando 20 plântulas para cada variante somaclonal observado, em estágio de 2,0 a 3,0 cm, foram transferidas para caixas plásticas contendo substrato estéril AMAFIBRA (misto). As mudas foram mantidas por vinte e um dias em casa de vegetação, com tela de sombreamento de 50 % e umidade relativa de 80 %, com o emprego de nebulizadores. Terminada a aclimatização, as mudas foram transferidas para vasos plásticos de cinco litros, contendo o mesmo substrato,

permanecendo por 160 dias em viveiro com tela de sombreamento de 50 %, adubação e irrigação controladas, para a avaliação da manutenção das características morfológicas variantes observadas.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As gemas micropropagadas de *Ananas bracteatus* var. *striatus* têm três tipos de variantes somaclonais demonstrados na figura 1.

A planta matriz caracterizada por folhas com faixas marginais longitudinais brancas, coloração verde-intensa e espinhos laterais, pode ser observada na figura 2A. O tipo *A. bracteatus* Verde, caracterizado pela coloração verde das folhas e ausência das estrias laterais, representou o maior grupo de mudas entre os observados com 80,13 % do total avaliado (figura 2B). O *A. bracteatus* Albino, caracterizado pela ausência de clorofila e coloração esbranquiçada em todas as folhas, representou 15,93 % das mudas avaliadas (figura 2C). No tipo *A. bracteatus* Variiegado, que representou 3,94 % do total avaliado, foi constatada a presença de estrias variegadas longitudinais na região central da folha ou apenas uma faixa verde, podendo localizar-se em uma ou nas duas laterais da folha. Foi incluída nesse tipo a muda que tivesse pelo menos uma folha com as características acima citadas (figura 2D).

A manutenção das características de coloração de *A. bracteatus* deixou de ser observada a partir do terceiro subcultivo, com o aparecimento predominante dos variantes dos tipos Verde e Albino. Ao final dos sete subcultivos a totalidade das plantas obtidas era de variantes somaclonais. A alta taxa de variação somaclonal ou a completa descaracterização fenotípica obtida nas 735 mudas do presente trabalho, contrasta com os ensaios com *A.comosus* de FEUSER et al. (2003), SONEJI et al. (2002) e GOTTARDI et al. (2002), que relataram reduzidas taxas de variação somaclonal.

A ocorrência de plantas com características diferentes da planta original foi relatado por SONEJI et al. (2002), que encontraram inúmeros tipos de variantes somaclonais para *A.comosus*, entre eles os tipos Albino e Variiegado, mas em pequenas porcentagens, prevalecendo em sua maioria às características morfológicas de *A.comosus*. Entre os tipos observados em *A.comosus*, a alongação da haste caulinar e a ausência de espinhos foram representativas, o que não ocorreu no presente trabalho.

A manutenção das características variantes *ex vitro* é necessária para distinguir uma variação epigenética de um variante somaclonal com características herdáveis. Os resultados obtidos no desenvolvimento em vaso para *A. bracteatus* Verde e em *A. bracteatus* Variiegado, após 160 dias em viveiro, demonstraram a manutenção das características variantes até aquela fase de desenvolvimento (figura 2E e 2F). Em *A. bracteatus* Albino a ausência de clorofila nas folhas contribuiu para a ocorrência de necrose nas folhas e conseqüente perda total desse material, durante e após a aclimatização.

No ensaio de campo de SONEJI et al. (2002), com as mudas micropropagadas de *A.comosus*, os diferentes tipos de variantes encontrados mantiveram suas características variantes como ausência de espinhos,

variegações e albinismo, características que não demonstraram importância agrônômica. No presente ensaio, apesar do tempo reduzido de avaliação em vaso, os variantes somaclonais de *A. bracteatus* Verde e Variegado, atraíram o interesse de produtores de plantas ornamentais e paisagistas, pelo potencial de mercado na ornamentação.

Segundo GOTTARDI et al. (2002), trabalhando com *A. comosus* cultivar *Smooth Cayenne*, concluíram que a técnica de propagação *in vitro*, para algumas variedades na cultura do abacaxi, precisa ser mais bem-estudada, principalmente em relação à quantidade de mudas produzidas, o número de subcultivos para produção dessas mudas, estabelecimento das culturas *in vitro*, porcentagem de falhas no campo e avaliação fenotípica das plantas.

No cultivo *in vitro* de abacaxis ornamentais, as conclusões acima citadas, podem ser consideradas uma vez que, no presente trabalho a planta original de *A. bracteatus* var. *striatus*, após ser subcultivada sete vezes, não manifestou a característica de coloração típica, tanto *in vitro* como após 160 dias de desenvolvimento *ex vitro*. Diferentemente dos abacaxis comestíveis, os ornamentais podem beneficiar-se dos possíveis variantes somaclonais obtidos durante o processo *in vitro*, já que a alteração morfológica de coloração no *A. bracteatus* Verde e em *A. bracteatus* Variegado, seriam considerados novos produtos a serem lançados no mercado de plantas ornamentais (BOUMAN & DE KLERK, 1997).

Mesmo não comprovando que tipo de variação somaclonal ocorreu no presente ensaio, se variabilidade herdável ou epigenética, a aceitação de novos produtos pelo mercado de ornamentação pode favorecer comercialmente os laboratórios de cultura de tecido vegetal privados.

#### AGRADECIMENTOS

A BioCampo Ltda, ao CNPq (Projeto RHAÉ – inovação) e ao Prof. Dr. Paulo Sérgio Lúcio Marinho, CB/UFRN, na elaboração das imagens.

#### REFERÊNCIAS

ARENE, L.; PELLEGRINO, C.; GUDIN, S. A comparison of the somaclonal variation level of *Rosa hybrida* L. cv *Meirutral* plants regenerated from callus and direct induction from different vegetative and embryonic tissues. **Euphytica**, v.71, p.83-90, 1993.

BOUMAN, H.; DE KLERK, G.J. Somaclonal variation. In:

GENEVE, R.L.; PREECE, J.E.; MERKLE, S.A. **Biotechnology of Ornamental Plants**. Wallingford: CAB International, p.165-183, 1997.

CASTRO, C.E.F. **Helicônias para exportação**: aspectos técnicos da produção. Brasília: EMBRAPA; MAARA; FRUPEX, 1995, 44p.

CASTRO, C.E.F.; GRAZIANO, T.T. Espécies do gênero *Heliconia* (Heliconiaceae) no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.3, p.15-28, 1997.

DE KLERK, G.; BRUGGE, J.; BOUMAN, H. An assay to measure the extent of somaclonal variation in micropropagated plants of *Begonia x hiemalis*. **Acta Botanica Neerlandica**, v. 39, p.145-151, 1990.

FEUSER, S.; MELER, K.; DAQUINTA, M.; GUERRA, M.P.; NODARI, R.O. Genotypic fidelity of micropropagated pineapple (*Ananas comosus*) plantlets assessed by isozyme and RAPD markers. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.72, p. 221-227, 2003.

GOTTARDI, M. V. C.; LEMOS, E. G. M.; RUGGIERO, C. Avaliação por RAPD de plantas de abacaxizeiro cultivar *smooth cayenne* derivadas do seccionamento do talo e cultura de tecidos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Campinas, v. 24, n.1, p. 1-5, 2002.

MOREL, G.; WETMORE, R.H. Tissue culture of monocotyledons. **American Journal of Botany**, v.38, p.138-140, 1951.

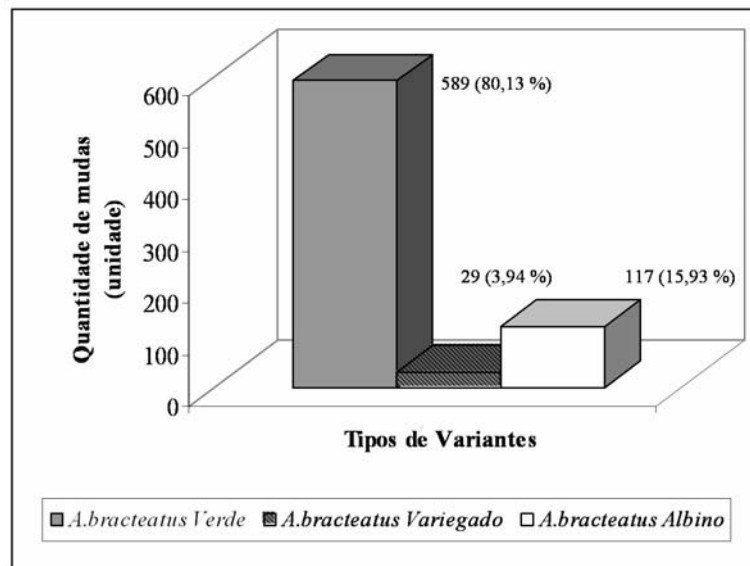
MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.

PANNETIER, C.; LANAUD, C. Divers aspects de l'utilisation possible des cultures in vitro pour la on vegetative de (*Ananas comosus* (L) Merr) Variete Cayenne lisse. **Fruits**, v.31, n.12, p.739-750, 1976.

SANTOS, C.C.C.; RODRIGUES, P.H.V. Ocorrência de variação somaclonal em mudas de bananeira micropropagadas da cultivar *Pacovan* (*Musa* spp., grupo AAB). **Revista Bragantia**, Campinas, v. 63, p.201-205, 2004.

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

VENTURA, J.A.; ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G.M. Propagação por biotecnologia: micropropagação "in vitro" do abacaxizeiro. In: RUGGIERO, C. **Controle integrado da fusariose do abacaxizeiro**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.43-51.



**Figura 1.** Média dos variantes somaclonais de *A. bracteatus* var *Striatus* dos tipos Verde, Variegado e Albino, obtidos após sete subcultivos em meio de cultivo MS líquido.



**Figura 2.** Abacaxi ornamental *Ananas bracteatus* var *striatus*, cultivo *in vitro* e avaliação em viveiro. (A) Planta de origem, (B) plântula variante somaclonal Verde, (C) plântula variante somaclonal Albino, (D) plântula variante somaclonal Variegado, (E) planta variante somaclonal Verde, (F) planta variante somaclonal Variegado. Barras: B, C e D = 0,5 cm, E e F = 10,0 cm.