

Estimativa da taxa de multiplicação de brotos em secções caulinares de uma nova cultivar de abacaxi, no primeiro ciclo de estiolamento e proliferação de gemas *in vitro*.

Santos, Micaele da Costa¹; Barboza, Sarah Brandão Santa Cruz²; Viegas, Pedro Roberto Almeida³; Copati, Luiz Augusto Souza⁴; Ledo, Ana da Silva⁵; Leite, Nadjma Souza¹; Souza, Roberto Rodrigues de³

¹Bolsista do Deagro/Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE, fone (79)32191144, e-mail: micacostal@hotmail.com; nadjmasouza@hotmail.com ²Pesq Deagro/Embrapa Tabuleiros Costeiros, CP 44, CEP 49025-040, Aracaju, SE, fone (79)40091362, e-mail: sarah@cpatc.embrapa.com.br; ³Prof. UFS, fone (79)32126929, e-mail:pviegas@ufs.br; rrsouza@ufs.br; ⁴e-mail: luizcopati@uol.com.br, fone (61)33831832; ⁵Pesq da Embrapa Tabuleiros Costeiros, e-mail: analedo@cpatc.embrapa.br

INTRODUÇÃO

O abacaxi Imperial é uma cultivar nova que apresenta resistência a fusariose, principal doença da cultura, tendo evidenciado bom desempenho agrônômico em três ciclos de produção. É resultante do cruzamento do abacaxi Perolera com o Smooth Cayenne (Cabral & Matos, 2005).

Na propagação clonal *in vitro* a proliferação de gemas axilares e formação de gemas adventícias na base do explante ocorrem simultaneamente e são desejáveis desde que a formação de calo seja mínima. A utilização de secções nodais estioladas para micropropagação e conservação da estabilidade genética foi demonstrada para algumas culturas (Kiss, et al., 1995). O método tem a vantagem de evitar lesões na zona de regeneração, impedindo a formação de calo e com isso é possível que proporcione menores taxas de variabilidade que outros protocolos mais convencionais. A técnica é uma alternativa para a produção rápida de mudas de novas cultivares.

Pesquisas relacionadas a métodos de propagação que possibilitem a multiplicação rápida com menores taxas de variabilidade genética são de grande importância para a produção de mudas de novos materiais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de diferentes fitorreguladores na indução de gemas e na taxa de multiplicação de brotos em secções nodais estioladas, para a propagação clonal de uma nova cultivar de abacaxi.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa/CPATC, em Aracaju, SE. Em condições assépticas segmentos nodais estiolados *in vitro* da cultivar Imperial, após serem retiradas as raízes e o meristema apical, foram colocados em meio de cultura MS, gelificado com 7 mg.L⁻¹ de agar, pH a 5,8 e autoclavado por 15 minutos a 120°C. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25 ± 2°C.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com oito tratamentos (sem fitorregulador; benzilaminopurina (BAP) 1,0 mg.L⁻¹; BAP 2,0 mg.L⁻¹; BAP 1,0 mg.L⁻¹ + ácido naftaleno acético (ANA) 0,93 mg.L⁻¹; BAP a 2,0 mg.L⁻¹ + ANA 1,86 mg.L⁻¹; cinetina (CIN) 5,4 mg.L⁻¹; CIN 7,5 mg.L⁻¹ e CIN a 9,7 mg.L⁻¹) e sete repetições, com três brotos estiolados por repetição.

Aos 30 e 60 dias após inoculação foi avaliado o número de nós que apresentavam proliferação gemas. Após a última avaliação, todo material foi transferido para meio MS sem regulador de crescimento para alongamento dos brotos, mantendo-se a informação do tratamento onde ocorreu proliferação de gemas. Aos 50 dias procedeu-se a avaliação da taxa de multiplicação por nó e por secção estiolada, no primeiro ciclo de cultivo (estiolamento, proliferação e alongamento de brotos em secções nodais - seis meses).

Tomando por base o número de brotos obtidos em cada tratamento, no final do primeiro ciclo, foi calculado o número teórico de mudas que seriam produzidas por explante inicial (broto desenvolvido de gema axilar) e por muda do tipo filhote. Em cada muda filhote foram retiradas, em média, 13 gemas axilares.

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em cada segmento nodal estiolado, o número de nós que proliferaram gemas variou dentro e entre tratamentos, aos 30 e 60 dias após inoculação (Tabela 1). Gemas axilares podem não apresentar a mesma razão de multiplicação *in vitro*; enquanto algumas gemas apresentam maior e mais rápido potencial de multiplicação, outras têm potencial de multiplicação mais lento (Grattapaglia & Machado, 1998). A dificuldade em quebrar a dominância apical dos brotos estiolados para indução de gemas foi observada por Moreira et al. (2003) que propõem a individualização de cada nó.

Tabela 1 – Efeito de diferentes tratamentos na proliferação de gemas em segmentos nodais estiolados de abacaxi Imperial, aos 30 e 60 dias após inoculação ⁽¹⁾

Tratamentos para Proliferação de Gemas	Número de nós com proliferação de gemas	
	Aos 30 dias	Aos 60 dias
Sem fitorregulador	1,0 d	1,7 c
BAP 1 mg.L ⁻¹	2,1 bc	2,8 bc
BAP 2 mg.L ⁻¹	2,6 ab	3,0 b
BAP 1 mg.L ⁻¹ + ANA 0,93 mg.L ⁻¹	2,6 ab	3,0 b
BAP 2 mg.L ⁻¹ + ANA 1,86 mg.L ⁻¹	3,2 a	4,0 a
CIN 5,4 mg.L ⁻¹	1,0 d	1,1 d
CIN 7,5 mg.L ⁻¹	1,7 c	1,9 c
CIN 9,7 mg.L ⁻¹	1,7 c	2,1 c
CV	27	20

⁽¹⁾Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

O uso de BAP isolado ou combinado com ANA foi eficiente para indução e proliferação de gemas, independente da concentração utilizada. A cinetina foi pouco efetiva obtendo-se, aos 60 dias, resultados estatisticamente iguais aqueles observados em meio de cultura sem fitorregulador (Tabela 1). As taxas de multiplicação por nó e por segmento estiolado foram superiores quando se adicionou BAP isolado ou combinado com ANA (Tabela 2).

Tabela 2 – Taxa de multiplicação média, de abacaxi Imperial, por nó (TMN) e por segmento nodal estiolado (TMS) em diferentes tratamentos para no primeiro ciclo de cultivo.

Tratamentos para Proliferação de Gemas	Taxa de multiplicação	
	TMN	TMS
Sem fitorregulador	0,4 de	2,5 de
BAP 1 mg.L ⁻¹	1,3 cd	8,2 cd
BAP 2 mg.L ⁻¹	1,7 c	10,9 c
BAP 1 mg.L ⁻¹ + ANA 0,93 mg.L ⁻¹	4,1 b	23,0 b
BAP 2 mg.L ⁻¹ + ANA 1,86 mg.L ⁻¹	6,9 a	34,0 a
CIN 5,4 mg.L ⁻¹	0,3 e	1,4 e
CIN 7,5 mg.L ⁻¹	0,4 de	2,2 de
CIN 9,7 mg.L ⁻¹	0,4 de	2,2 de
CV	36	35

⁽¹⁾Média seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

Quando se aumentou as concentrações de BAP e ANA ocorreu a formação de massas de gemas por nó, o que indica a formação de gemas adventícias (Kiss et. al., 1995), proporcionando um incremento nas taxas de multiplicação. Em presença de CIN as taxas de multiplicação por nó e por segmento caulinar estiolado foram bastante reduzidas, não justificando sua utilização para multiplicação da variedade Imperial, nas concentrações utilizadas.

Barboza et. al. (2005) submeteram dois genótipos de abacaxi, a cultivar Smooth Cayenne e o híbrido PE x SC-52, a diferentes combinações de fitorreguladores para multiplicação *in vitro*, utilizando o método de micropropagação convencional e obtiveram variação nas taxas de multiplicação dos genótipos em um mesmo tratamento, sugerindo diferenças genóticas na resposta à indução morfogenética *in vitro*. A interação entre genótipo e concentração de fitorreguladores presentes no meio de cultura foi observada neste trabalho, obtendo-se ao final do primeiro e segundo ciclo de cultivo (aos 6 e 12 meses, respectivamente) maior número de brotos quando se utilizou BAP 2 mg.L⁻¹ + ANA 1,86 mg.L⁻¹ (Tabelas 2 e 3).

Tabela 3 – Brotos que seriam produzidos por gema axilar inicialmente inoculada e por muda do tipo filhote, em cada tratamento, tomando como base a taxa de multiplicação por segmento nodal estiolado.

Tratamentos para Proliferação de Gemas	Rendimento em Brotos	
	Gema Axilar	Muda Filhote
	Aos seis meses (primeiro ciclo)	
Sem fitorregulador	5	65
BAP 1 mg.L ⁻¹	16	208
BAP 2 mg.L ⁻¹	22	283
BAP 1 mg.L ⁻¹ + ANA 0,93 mg.L ⁻¹	46	598
BAP 2 mg.L ⁻¹ + ANA 1,86 mg.L ⁻¹	68	884
CIN 5,4 mg.L ⁻¹	3	36
CIN 7,5 mg.L ⁻¹	4	57
CIN 9,7 mg.L ⁻¹	4	57
	Aos doze meses (segundo ciclo)	
Sem fitorregulador	12	162
BAP 1 mg.L ⁻¹	134	1.748
BAP 2 mg.L ⁻¹	237	3.089
BAP 1 mg.L ⁻¹ + ANA 0,93 mg.L ⁻¹	1.058	13.754
BAP 2 mg.L ⁻¹ + ANA 1,86 mg.L ⁻¹	2.312	30.056
CIN 5,4 mg.L ⁻¹	4	51
CIN 7,5 mg.L ⁻¹	10	126
CIN 9,7 mg.L ⁻¹	10	126

A utilização de ANA 0,93 mg.L⁻¹ combinado com BAP 1 mg.L⁻¹ dobrou a taxa de multiplicação e conseqüentemente o número de brotos que seriam obtidos em presença apenas BAP 2 mg.L⁻¹ (Tabelas 2 e 3). A elevação da concentração de ANA para 1,86 mg.L⁻¹ e de BAP para 2 mg.L⁻¹ proporcionou um incremento de aproximadamente 68% em relação aos valores obtidos em menor concentração desses fitorreguladores. Na multiplicação *in vitro* de *Cattleya x mesquitae* pelo método de estiolamento de segmentos caulinares, Ramos & Carneiro (2007) relatam um aumento de 75% na produção de novos explantes em meio suplementado com BAP 0,5 mg.L⁻¹ comparativamente aquele em ausência de fitorreguladores.

Estes resultados indicam que segmentos nodais estiolados *in vitro* quando cultivados em presença de diferentes concentrações e reguladores de crescimento apresentam diferentes potenciais de proliferação de gemas e desenvolvimento de brotos. Aplicando-se as taxas de

multiplicação obtidas nos diferentes tratamentos no primeiro ciclo de estiolamento, proliferação de gemas e alongamento de brotos, em mais um ciclo de cultivo, verifica-se que do total de brotos produzidos em todos os tratamentos 61 % foram provenientes do meio suplementado com ANA 1,83 mg.L⁻¹ + BAP 2 mg.L⁻¹ (Tabela 3).

Para a produção de mudas *in vitro* em escala comercial os acréscimos obtidos na taxa de multiplicação e no rendimento em brotos são fatores de grande importância para uma tomada de decisão quanto ao tipo e concentração de citocinina a ser utilizada.

CONCLUSÕES

A taxa de proliferação de gemas por nó e por segmento nodal estiolado *in vitro* de abacaxi Imperial varia em presença de diferentes tipos e concentrações de reguladores de crescimento. Em meio de cultura MS suplementado com ANA 1,83 mg.L⁻¹ + BAP 2 mg.L⁻¹ obtém-se maior taxa de multiplicação por nó e por segmento estiolado e conseqüentemente maior rendimento em brotos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOZA, S. B. S. C.; CALDAS, L. S.; SOUZA, L. A. C. Micropropagação do abacaxizeiro híbrido PExSC-52 e da cv. Smooth Cayenne. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n.8, p. 725-733, ago. 2004.
- CABRAL, J. R. S.; MATOS, A. P. Imperial, nova cultivar de abacaxi. **Comunicado Técnico**, 4p. Cruz das Almas, dez. 2005.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C. ; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**, Brasília, EMBRAPA-SPI, EMBRAPA-CNPQ, 1998, v.1, p. 183-260.
- MOREIRA, M. A.; PASQUAL, M. ; CARVALHO, J. G. de; FRÁGUAS, C. B. Estiolamento na micropropagação do abacaxizeiro cv. Pérola. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n.5, p. 1002-1006, set./out., 2003.
- KISS, J.; HESZKY, L. E. ; KISS, E. ; GYULAI, G. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. **HortScience**, Alexandria, v. 30, n.1, p. 127-129, 1995.
- RAMOS, T. V.; CARNEIRO, I. F. Multiplicação *in vitro* de *Cattleya x mesquitae* pelo método de estiolamento de segmentos caulinares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, n.1, p. 10-15, mar., 2007.

PALAVRAS-CHAVE

Ananas comosus; proliferação de gemas; reguladores de crescimento; cultivo *in vitro*.