

**PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DO CURAUÁ [*Ananas
erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae]
A PARTIR DE BROTOS ESTIOLADOS E
CARACTERES ANATÔMICOS DE FOLHAS**

FLÁVIA DIONÍSIO PEREIRA

2006

FLÁVIA DIONÍSIO PEREIRA

**PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DO CURAUÁ [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) –
Bromeliaceae] A PARTIR DE BROTOS ESTIOLADOS E CARACTERES
ANATÔMICOS DE FOLHAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, área de concentração
Fitotecnia, para a obtenção do título de "Doutor".

Orientador

Ph.D. José Eduardo Brasil P. Pinto

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2006

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Pereira, Flávia Dionísio

Propagação *in vitro* do curauá [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae]
a partir de brotos estiolados e caracteres anatômicos de folhas / Flávia Dionísio
Pereira. -- Lavras : UFLA, 2006.

78 p. : il.

Orientador: José Eduardo Brasil P. Pinto.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Curauá. 2. *Ananás erectifolius*. 3. Propagação *in vitro*. 4. Brotos estiolados. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-635.93422

FLÁVIA DIONÍSIO PEREIRA

**PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DO CURAUÁ [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) –
Bromeliaceae] A PARTIR DE BROTOS ESTIOLADOS E CARACTERES
ANATÔMICOS DE FOLHAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, área de concentração
Fitotecnia, para a obtenção do título de "Doutor".

APROVADA em 11 de agosto de 2006

Prof. Dr. José Magno Queiroz Luz	UFU
Prof. Dr. Fabiano Guimarães Silva	CEFET- RV
Prof. Dr. Daniel Melo de Castro	UFLA
Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães	UFLA

Prof. Ph.D. José Eduardo Brasil Pereira Pinto
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

A minha mãe, Eva Dionísio Pereira,

OFEREÇO

Ao meu pai, José Maria Pereira,

DEDICO

Bendita seja a dor que me trouxe a noção do equilíbrio.

(André Luiz)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela dádiva de uma vida feliz e cheia de realizações.

Ao meu amado pai, do qual estou separada temporariamente, mas consoladora é a certeza de que não há entre nós mais do que um véu material que o oculta à minha visão. Obrigada pelo exemplo de vida deixado, por ter me dado à vida, por me facilitar às oportunidades, por sempre me mostrar que, independente do que aconteça, dias melhores virão. Te amo eternamente!

A minha mãe, Eva, às irmãs Fabiana, Fernanda, Danielle e ao meu irmão Júnior, que me ensinaram o sentido do verdadeiro amor. Juntos aprendemos sobreviver à dor da separação.

Ao meu grande amigo, mestre e orientador, José Eduardo Brasil Pereira Pinto, que me dedicou sua atenção e dispôs seu tempo sempre que necessário e a quem devo a oportunidade do aprimoramento de meus conhecimentos científicos. Sua dedicação é a de um pai.

Aos professores José Magno Queiroz Luz, Fabiano Guimarães Silva, Daniel Melo de Castro e Renato Mendes Guimarães, pelas sugestões apresentadas na defesa de tese.

Ao professor Moacir Pasqual e a professora Édila Vilela de Resende Von Pinho, pelo agradável convívio.

Às minhas companheiras de pesquisa Helen Cristina de Arruda Rodrigues e Luciana Domiciano Silva Rosado que, com sua valiosa ajuda, se fizeram prontas para mais uma descoberta científica.

Ao professor Luiz Alberto Beijo, pela ajuda científica.

À professora Hilda Bruzzi, pela amizade e pelo apoio técnico.

Aos colegas de curso Ricardo, Paulo Otávio, Cida e Gilda.

Aos amigos Evaldo Arantes de Souza, Luiz Gonzaga do Carmo e Vantuil Antônio Rodrigues, pela amizade e pela contribuição para a realização deste trabalho.

Aos companheiros do Laboratório de Cultura de Tecidos, Priscila, Rose, Renake, Louise, Suzan, Jorge e Érika, que sempre estiveram ao meu lado.

Aos funcionários do Departamento de Agricultura.

Aos meus amigos de bons e maus momentos, Renata, Kênia, Lucrécio, Paulo e José Luiz. Vocês se tornaram meus irmãos e irmãs. Muito obrigada por tudo! Sem a amizade de vocês teria sido tudo muito mais difícil. Vocês adoçaram a minha vida. Amo-os demais.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1- ARTIGO I	1
Proliferação <i>in vitro</i> de brotos de curauá utilizando diferentes	
volumes de meio.....	1
RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	2
Introdução.....	3
Material e métodos.....	5
Resultados e discussão.....	5
Referências bibliográficas.....	10
2- ARTIGO II.....	12
Constituição física do meio de cultivo na produção <i>in vitro</i> de	
mudas de curauá obtidas de brotos estiolados.....	12
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
Introdução.....	14
Material e métodos.....	16
Resultados e discussão.....	17
Referências bibliográficas.....	23
3- ARTIGO III.....	25
Multiplicação <i>in vitro</i> de curauá por meio de brotos estiolados,	
em função do tamanho e do número de explante por frasco.....	25
RESUMO.....	25
ABSTRACT.....	26
Introdução.....	27
Material e métodos.....	28
Resultados e discussão.....	29
Referências bibliográficas.....	37

4- ARTIGO IV.....	40
Propagação <i>in vitro</i> de brotos estiolados de curauá utilizando	
ANA, GA₃ e KIN.....	40
RESUMO.....	40
ABSTRACT.....	41
Introdução.....	42
Material e métodos.....	44
Resultados e discussão.....	46
Referências bibliográficas.....	58
5- ARTIGO V.....	61
Caracteres anatômicos de fibras foliares de plântulas de curauá	
propagadas <i>in vitro</i>.....	61
RESUMO.....	61
ABSTRACT.....	62
Introdução.....	63
Material e métodos.....	65
Resultados e discussão.....	67
Referências bibliográficas.....	76

RESUMO

PEREIRA, Flávia Dionísio. **Propagação *in vitro* do curauá [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] a partir de brotos estiolados e caracteres anatômicos de folhas.** 2006. 78 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

O curauá [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] é uma espécie, que desponta como sucedânea na fabricação de cordas, sacos e utensílios domésticos. Recentes estudos garantem o grande potencial dessa planta na indústria automobilística, devido a sua resistência, maciez e peso reduzido. A crescente demanda de fibras da planta por grupos empresariais o torna uma espécie estratégica, criando perspectivas socioambientais do seu uso. O grande problema é que não há suprimento suficiente de matéria-prima para atender a indústria automobilística. O curauá é fiel às suas origens amazônicas e só se desenvolve em clima quente e úmido, criando um problema na aquisição de mudas. Neste trabalho foram aplicadas técnicas *in vitro* constatando adoção do método de estiolamento e sua atuação na célula. Não existem relatos, na literatura, sobre estudos de tais aspectos nesta espécie. Os resultados indicam que explantes de curauá cultivados em meio MS adicionado de ANA, GA₃ e KIN regeneram brotos estiolados. Ápices, segmentos nodais e parte basal de brotos estiolados regeneram plântulas de curauá. Bases de brotos estiolados podem ser utilizadas mais de uma vez no processo de multiplicação. Não houve influência significativa no tamanho de explante utilizado para obterem-se os brotos estiolados e a cultura apresentou excelente adaptabilidade para o cultivo em meio líquido. Os resultados realizados em estudos anatômicos demonstram que os volumes do clorênquima e do parênquima aquífero apresentam-se visualmente maiores em plântulas obtidas pelo método de estiolamento e que plântulas produzidas *in vitro* pelo método convencional produzem mais feixes de fibras e com diâmetro maior do que aquelas obtidas pelo método de estiolamento.

Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

ABSTRACT

PEREIRA, Flávia Dionísio. **In vitro propagation of curauá [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] from shoot elongation.** 2006. 78 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.

Curauá [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] it is species that is rising as a substitute for the making of ropes, bags and home utensils. Recent studies guarantee its great potential in the car industry, due to its strength, softness and reduced weight. The increasing needs for this plant fibers by business groups makes this a strategic specie creating social environment worries about its use. The great problem is there is not enough raw material to supply the car industry. Because curauá is very faithful to its amazonic origin and develops only under a warm and humid weather conditions, making these a problem for scions acquisition. In this study, *in vitro* techniques were used adopting the elongation method and its action at the cell. The results indicate that curauá's explants cultured in MS medium supplied with NAA, GA₃ and KIN regenerate shoots elongation. Apical, nodal segments and basal parts from shoots elongation can be used more than once in multiplication process. There was no significative influence in the explant size to obtain the shoots elongation and the culture showed and excellent suitability growing in a liquid medium. The anatomical studies results demonstrate that chlorenchyma and parenchyma aquiferus volume are larger in explants from elongation method and that explants from *in vitro* conventional method give more fibers bundle with larger with large diameter than those from elongation method.

Major Professor: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

1 ARTIGO I

PROLIFERAÇÃO *IN VITRO* DE BROTONS DE CURAUÁ UTILIZANDO DIFERENTES VOLUMES DE MEIO

Flávia Dionísio Pereira¹; José Eduardo Brasil P. Pinto²; Helen Cristina de Arruda Rodrigues³; Luciana Domiciano Silva Rosado³; Luiz Alberto Beijo⁴. Osmar Alves Lameira⁵. ¹Doutoranda, DAG, UFLA; ²Orientador, DAG, UFLA; ³DAG, UFLA; ⁴DEX, UFLA; ⁵EMBRAPA, CPATU. Financiado pelo CNPq. C.P. 3037; Lavras, MG, Brasil. E-mail: flaviad@ufla.br.

Preparado de acordo com as normas da revista: Plant Cell Culture & Micropropagation

Curauá [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] é uma espécie com grande potencial do 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 30mL. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) e cada tratamento continha 19 repetições. Aos 30 dias, avaliaram-se o número e o comprimento 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.

Palavras-chave: *Ananas erectifolius*, fibras vegetais, micropropagação.

Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

ABSTRACT

Medium volume in the shoot proliferation of curauá *in vitro*

Flávia Dionísio Pereira¹; José Eduardo Brasil P. Pinto²; Helen Cristina de Arruda Rodrigues³; Luciana Domiciano Silva Rosado³; Luiz Alberto Beijo⁴. Osmar Alves Lameira⁵. ¹Doutoranda, DAG, UFLA; ²Orientador, DAG, UFLA; ³DAG, UFLA; ⁴DEX, UFLA; ⁵EMBRAPA, CPATU. Financiado pelo CNPq. C.P. 3037; Lavras, MG, Brasil. E-mail: flaviad@ufla.br.

Curauá [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] it is species with great potencial to fibre production. Beside, curauá's powder has been utilized in treatment that promotes wounding healing (cicatrizacion). In This work were evaluate different volumes of MS medium. It were utilized different volumes 10, 15, 20, 25 and 30mL. The completely randomized desingn (CDR) was used; each treatment containig 19 replicates. The 30 days were evaluate the shoot number and size. In the analysis of variance showed linear result of medium volume in the Curaua shoot proliferation. This mean that increasing the medium volume the shoot proliferation enhancement. The was not significative difference in shoot size.

Keywords: *Ananas erectifolius*; Vegetable fiber, micropropagation.

Major Professor: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

INTRODUÇÃO

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, baixas densidades e elevada produção. Entretanto, as fibras animais e vegetais são as de maior importância, principalmente para atender aos apelos 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 profundidade desse. 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* em frascos contendo 50mL de meio, quando comparados com aqueles de 25, 75, e 100mL. Nicoloso & Erig (2002), trabalhando com *Pfaffia glomerata*, verificaram que 10mL de meio MS (Murashige & Skoog, 1962) proporcionaram o melhor crescimento das plântulas em biomassa quando cultivadas em tubos de 20cm de altura x 2cm diâmetro, em comparação com os de 25cm de altura x 2cm, 15cm de altura x 2cm. Carvalho et al. (1995), estudando a influência de fatores físicos no desenvolvimento e crescimento *in vitro* de batata-doce (*Ipomoea batatas*), verificaram que 10mL de meio de cultura por frasco com explantes proporcionaram maior formação de gemas em relação aos volumes de 20 e 30mL.

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

MATERIAL E MÉTODOS

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 2,0mg/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 12cm de altura por 5cm de diâmetro (volume interno = 300mL), com volumes de 10; 15; 20; 25; 30mL. Os explantes foram mantidos em sala de crescimento a uma temperatura de $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ e um fotoperíodo de 16 horas luz sob uma intensidade luminosa de $25\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

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 estatística (SISVAR), tendo sido realizados à análise de variância, com aplicação do teste F a 5% de probabilidade e as médias, analisadas por regressão polinomial..

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito linear foi o mais adequado para explicar a evolução da taxa média de regeneração do curauá. À medida que aumenta o volume do meio de cultura, existe tendência de aumento do número de brotos. Com 25mL de meio produziu-se maior número de brotos por frasco 25,57 e com 10mL de meio

produziu-se menor número de brotos 12,26. O tratamento com 15mL de meio produziu 17,65 brotos, o com 20mL, 17,50 e o com 30mL, 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 à 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), também trabalhando com curauá em volumes de 5; 7,5; 10 e 15mL do meio líquido MS, suplementados com $2,5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de BAP (6-benzilaminopurina), obtiveram melhores resultados 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*) em meio MS acrescido de $1,5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de BAP nos volumes de 10, 20, 30 e 40mL, obtiveram melhor resultado com os volumes de 30 e 40mL (7 e 8 brotos/frasco, respectivamente).

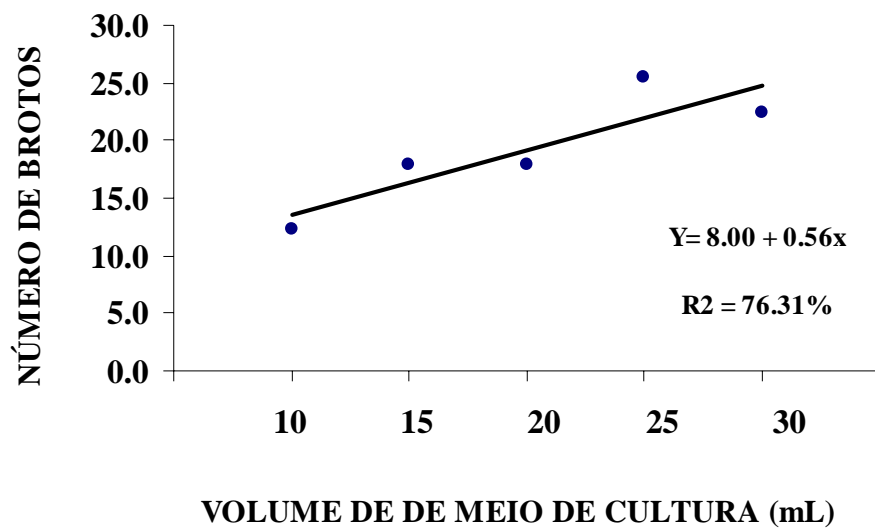


FIGURA 1- Número médio de brotos por frasco de curauá (*Ananas erectifolius*) cultivados em diferentes volumes de meio MS completo. 10, 15, 20, 25 e 30mL. Lavras, MG, 2006.

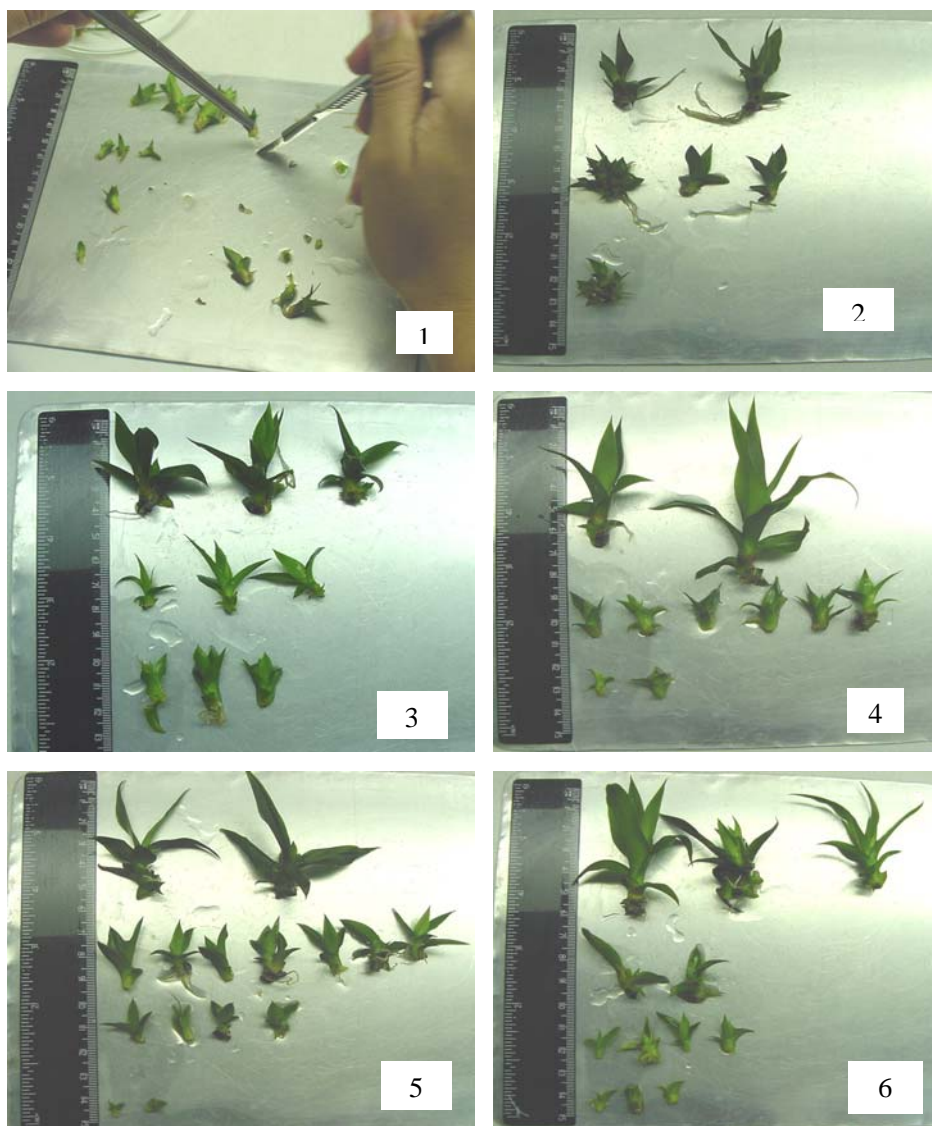


FIGURA 2- Brotações de curauá (*Ananas erectifolius*) produzidas *in vitro* em diferentes volumes de meio MS. 1- Repicagem dos brotos, 2- 10mL de meio MS, 3- 15mL de meio MS, 4- 20mL de meio MS, 5- 25mL de meio MS e 6- 30mL de meio MS. Lavras, MG, 2006.

Quanto ao comprimento dos brotos, não houve diferença significativa. Os brotos tiveram um crescimento médio de 2,28cm, sendo que o tratamento com 10mL de meio cresceu 2,57cm; com 15mL, 2,22cm; com 20mL, 2,24cm; o com 25mL, 2,24cm e o tratamento com 30mL, 2,15cm. 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 engrossadas, apresentando maior quantidade de reservas acumuladas em seus tecidos, o que poderia levar as brotações regeneradas a se utilizarem dessas reservas para sustentar seu crescimento. Esta é 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 cujos volumes testados eram de 25, 50, 75 e 100mL. 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 ou na morfogênese.

CONCLUSÕES

- O volume do meio de cultura influencia a multiplicação de brotos de curauá.
- Os volumes mais eficientes para a proliferação de brotos de curauá são 25 a 30mL do meio de cultura MS.
- Não há diferenças no comprimento médio dos brotos, nos diferentes volumes de meio.

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, 1995.

CAPPELADES, M.; LEMEURE, 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 biossays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, 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, **Anais...** 2003. p. 273.

REIS, J.N.R.; LAMEIRA, O.M.; REIS, L.R.S. **Aprimoramento de protocolos de propagação *in vitro* de curauá.** Disponível: <<http://www.biologo.com.br>> Palavra chave: Volume de meio. 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: 45CBO, 15CBFPO, 2CBCTP, 2005, Fortaleza. **Anais...** Horticultura Brasileira, v.2, p. 616, ago. 2005. Suplemento.

SILVA, C. **País pesquisa mais fibras naturais para carros.** Disponível em: <http://www.sebrae_sc.com.br/novos_destaquos/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).

2 ARTIGO II

CONSTITUIÇÃO FÍSICA DO MEIO DE CULTIVO NA PRODUÇÃO *IN VITRO* DE MUDAS DE CURAUÁ OBTIDAS DE BROTO ESTIOLADOS

Flávia Dionísio Pereira¹; José Eduardo Brasil P. Pinto²; Helen Cristina de Arruda Rodrigues³; Luciana Domiciano Silva Rosado³; Luiz Alberto Beijo⁴; Osmar Alves Lameira⁵. ¹Doutoranda, DAG, UFLA; ²Orientador, DAG, UFLA; ³DAG, UFLA; ⁴DEX, UFLA; ⁵EMBRAPA, CPATU. Financiado pelo CNPq. C.P. 3037; Lavras, MG, Brasil. E-mail: flaviad@ufla.br.

Preparado de acordo com as normas da revista: Plant Cell Tissue Culture

[*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] é uma planta versátil originária da Amazônia Brasileira, conhecida popularmente por curauá. As suas folhas produzem fibras de alta qualidade, com um grande potencial de aplicação na indústria automobilística como revestimento interno de automóveis, ônibus, caminhões e construção civil. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da consistência do meio de cultivo na obtenção de mudas de curauá. No tratamento 1, os segmentos nodais dos brotos estirolados ficaram no meio líquido sem agitação; no tratamento 2, ficaram sob agitação contínua a 85rpm (24 horas) e, no tratamento 3, o meio foi solidificado com ágar a 0,6%. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) e cada tratamento continha 10 repetições. Aos 90 dias avaliaram-se; o número, o comprimento e a biomassa fresca e seca das plântulas. De acordo com a análise de variância e o teste de Scott Knott, houve diferença significativa entre os tratamentos. O T1 produziu maior número médio plântulas 9,0, o T2 6,2 e o T3 4,4. O comprimento médio de plântulas foi de 4,5cm em T2, 2,7cm em T1 e 1,8cm em T3. Na variável biomassa fresca, o T1 foi mais eficiente, com 3,48mg, seguido pelos tratamentos T2 e T3, com 2,70 e 0,57mg, respectivamente. Para a variável biomassa seca, o T2 produziu 0,28mg, o T1 0,15mg e o T3 0,06mg.

Palavras-chave: *Ananas erectifolius*, fibras vegetais, propagação *in vitro*.

Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

ABSTRACT

CULTURE MEDIUM PHYSICAL CONSTITUENTS IN THE CURAUÁ'S SCIONS PRODUCTION FROM ELONGATION SHOOTS

Flávia Dionísio Pereira¹; José Eduardo Brasil P. Pinto²; Helen Cristina de Arruda Rodrigues³; Luciana Domiciano Silva Rosado³; Luiz Alberto Beijo⁴; Osmar Alves Lameira⁵. ¹Doutoranda, DAG, UFLA; ²Orientador, DAG, UFLA; ³DAG, UFLA; ⁴DEX, UFLA; ⁵EMBRAPA, CPATU. Financiado pelo CNPq. C.P. 3037; Lavras, MG, Brasil. E-mail: flaviad@ufla.br.

[*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] is one versatile plant from Brazilian Amazon region, popularly known as curauá. From curauá's leaves, high quality fibres are produced with great applicability potential in the car manufacture for inner cars covering, buses, trucks and buildingwork. This study had the purpose to evaluate the influence of culture medium consistency in the curauá's scions production. In treatment 1 nodal segments from elongation shoots were in a liquid medium without shaking, in treatment 2, they were under constant shaking 85rpm (24 hours) and in treatment 3 semisolid (agar 0.6%) medium. The completely randomized design; and each treatment had 10 replications. Number, size and fresh and dry plantlet biomass, were evaluated 90 days later. Accordingly to the analysis of variance and Scott-Knott test, there was no significant difference between treatments. T1 produced higher average plantlet number 9.0, T2 6.2 and T3 4.4. For the average size plantlet T2 grew 4.5cm, T1 2.7cm and T3 1.8cm. For fresh biomass T1 was more efficient with 3.48mg followed by T2 and T3 treatments with 2.70 and 0.57mg, respectively. For dry biomass T2 produced 0.28mg, T1 0.15mg and 0.06mg.

Key words: *Ananas erectifolius*, Vegetable fibers, *in vitro* propagation.

Major Professor: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

INTRODUÇÃO

O curauá [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] é uma planta cujas folhas produzem fibras lignocelulósicas, de utilização múltipla e diversificada, incluindo as mais diferentes atividades e fins. Espécie nativa e rústica, é uma bromeliácea ainda pouco conhecida e estudada. A planta é característica da Amazônia paraense, cresce até em solo arenoso e pouco fértil chegando a atingir entre um metro e um metro e meio de altura. Cada planta produz entre 12 e 15 folhas, das quais são extraídos cerca de 2 quilos de fibra (Ramalho, 2005).

Além do emprego das fibras para a confecção de utensílios domésticos e objetos de decoração, o curauá apresenta uma série de vantagens que já estão viabilizando a sua aplicação em várias indústrias do ramo automobilístico e da construção civil. 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 (Ramalho, 2005; Silva, 2004).

A crescente demanda de fibras do curauá por grupos empresariais, o torna uma espécie estratégica, criando perspectivas socioambientais quanto ao seu uso. Segundo Ramalho (2005), o aproveitamento de 100% do curauá despertou o interesse de produtores nacionais e até do exterior. Mudanças foram plantadas no vale da Ribeira, no interior paulista e também em solos japoneses, sul-africanos e até da Malásia, mas sem sucesso, porque a planta não resiste a baixas temperaturas. 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. Este é um dos grandes problemas da cultura, ou seja não há suprimento suficiente de matéria-prima para atender à indústria automobilística (Silva, 2004).

A propagação vegetativa utilizando técnicas de cultura de tecido tem sido um valioso instrumento na propagação clonal rápida de diversos tipos de plantas, entre elas o curauá. A crescente adoção do método de estiolamento como técnica vegetativa necessita ser adaptada às necessidades das espécies e cultivares, pois estas diferem geneticamente entre si, podendo apresentar resultados diferentes sob as mesmas condições de cultivo. Outro fator a ser considerado é o estado físico dos meios de cultura. Segundo Souza et al. (1999), a iniciação da cultura de bromélias ocorre mais facilmente quando se utiliza meio de cultura líquido. Tavares et al. (2003), trabalhando com *Aechmea blanchetiana*, uma bromélia nativa da mata atlântica, verificaram que o crescimento da espécie apresenta diferentes respostas quanto à presença ou à ausência de ágar no meio MS (Murashige & Skoog, 1962) e que estas plantas cultivadas em meio líquido apresentam melhores respostas quando comparadas ao meio sólido.

Embora economicamente interessante, a utilização do meio líquido apresenta, freqüentemente, plantas com aspecto hiper-hídrico, provavelmente devido a maior absorção de nutrientes e reguladores de crescimento do meio, não apenas através da base cortada do explante, mas de toda sua superfície (Grattapaglia & Machado, 1990; Snir & Erez, 1980).

Por se tratar de uma espécie de grande interesse industrial, carente de informações científicas e técnicas adequadas de cultivo, fazem-se necessários estudos sobre a propagação da espécie.

Neste sentido o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da consistência do meio de cultivo na obtenção de mudas de curauá provenientes de brotos estiolados.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtiveram-se os explantes primários, utilizando-se plântulas préestabelecidas *in vitro* de curauá que estavam inoculados em meio MS sem regulador de crescimento. Selecionaram-se as plântulas e os brotos obtidos destas foram desfolhados completamente. Estes brotos foram cultivados em meio MS sólido, com 50mL de meio suplementado com 1,86mg/L de ANA (Ácido naftaleno acético). Mantidos em sala de crescimento, os explantes foram incubados a $26\pm 1^{\circ}\text{C}$, no escuro. Após 40 dias, removeram-se a parte aérea e o sistema radicular dos brotos estiolados. Quatro explantes foram inoculados horizontalmente em frasco de 9,5cm de altura por 5,5cm de diâmetro (volume interno = 250mL), sob condições assépticas, em 15mL de meio MS líquido sem regulador de crescimento. Cada segmento continha duas gemas axilares. No tratamento 1 (T1), os segmentos nodais dos brotos estiolados ficaram sem agitação; no tratamento 2 (T2), ficaram sob agitação contínua a 85rpm em mesa agitadora orbital e, no tratamento 3 (T3), o meio foi solidificado com ágar a 6mg/L. Mantidos em sala de crescimento, os explantes foram incubados a $26\pm 1^{\circ}\text{C}$, em fotoperíodo de 16 horas de luz sob uma intensidade luminosa de $25\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) e cada tratamento continha 10 repetições, cada qual constituída por um frasco. Aos 90 dias avaliaram-se; o número, o comprimento e a biomassa fresca e seca das plântulas. Para a avaliação da biomassa fresca e seca, as plântulas de curauá foram pesadas em balança analítica e, posteriormente, secas em estufa $\pm 70^{\circ}\text{C}$ até atingir o peso estável. O programa utilizado para análise dos dados foi o software estatística (SISVAR), tendo sido realizado à análise de variância, com aplicação do teste F a 5% e as médias, analisadas pelo teste de Scott Knott a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se constatar com a exposição à luz que em todos os tratamentos utilizado promoveram, de forma gradativa, a regeneração das gemas axilares dos segmentos nodais estiolados em plântulas. Todos os segmentos nodais utilizados regeneram-se em plântulas bem formadas, vigorosas, com a coloração verde-escura característica das plantas matrizes (Figura 1). Eram rígidas ao serem excisadas, devido à presença das fibras nas folhas que tinham a coloração branca e era possível de serem vistas a olho nu. Por meio de observações visuais se constatou a ausência de plântulas com alterações morfológicas e a existência de poucas raízes. Embora os sistemas caulinar e radicular tendam a um equilíbrio, em bromélia, o crescimento do sistema caulinar é muito superior. Segundo alguns autores (Peres & Kerbauy, 2000; Peres et al., 1997), muitas bromélias possuem estruturas caulinares capazes de absorver sais, fato que pode ter garantido a boa formação das plântulas, mesmo com um número baixo de raízes. Não foi observado o crescimento em forma de massagema (clusters) e nem a presença de calos em nenhum dos tratamentos.

O tratamento em meio líquido sem agitação produziu maior número médio plântulas, 9,0, o com agitação contínua 6,2 e o meio sólido 4,4 (Figura 2). Para o comprimento médio de plântulas, o tratamento com agitação contínua foi o que produziu plântulas maiores 4,5cm, o sem agitação 2,7cm e o meio sólido 1,8cm (Figura 3). Para a variável biomassa fresca, o tratamento sem agitação, com 3,48mg e o com agitação contínua, com 2,70mg, foram mais eficientes que o tratamento com meio sólido que obteve 0,57mg (Figura 4). Na variável biomassa seca, o tratamento com agitação contínua produziu 0,28mg, o sem agitação contínua, 0,15mg e o no meio sólido, 0,06mg sendo todos distintos entre si (Figura 5).

É provável que o ágar, como agente solidificante tenha interferido nos processos de absorção e de translocação de íons e de água. Além disso, segundo Ziv (1995), o maior contato dos explantes e raízes com meio faz com que a taxa de assimilação de nutrientes pelo material vegetal em cultivo seja favorecida no meio líquido. Acredita-se que, por isso, as culturas desenvolvidas em meio líquido foram mais favorecidas em todas as variáveis estudadas (Figuras 2,3,4 e 5).

Neste sentido, Alvard, et al. (1993) e Grattapaglia & Machado (1998) relatam que geralmente, cultivos em meio líquido requerem um suporte ou agitação. Por tal razão, é provável que a agitação do meio líquido ocorrida no T2 tenha fornecido melhor condição de aeração necessária para a respiração do explante, controlando com maior eficiência as condições do ambiente *in vitro*, proporcionando, assim, maior crescimento do explante e maiores valores da biomassa seca.

Observou-se que, no sistema sem agitação T1, a multiplicação do material vegetal foi superior aos demais tratamentos (Figura 2). Portanto, mesmo que os resultados tenham apresentado diferenças significativas, novos trabalhos deverão ser realizados para comprovar a necessidade de se manter ou não os explantes sob contínua agitação isto porque, a otimização da propagação em meio sem agitação proporcionaria redução dos custos na produção.

No entanto, Pereira & Fontes (2003), trabalhando com as cultivares de batata Baroneza, Eliza e Pérola, obtiveram resultados opostos. Segundo os autores, houve ganho na eficiência de multiplicação quando se utilizou meio líquido sob agitação constante, embora os resultados do sistema sem agitação também tenham sido bons. Obtiveram, no sistema sem agitação, altura média de 5,5; 5,3 e 5,2cm e taxa de multiplicação de 6,4; 5,4 e 5,2, respectivamente. No sistema com agitação, os resultados foram: 7,0; 6,5 e 6,3cm e taxa de multiplicação de 8,5; 7,5 e 8,0, respectivamente. Da mesma forma,

independentemente da consistência do meio sólido ou líquido, Souza et al.(1999), trabalhando com a regeneração de brotos de repolho, não obteve diferença significativa. O meio sólido apresentou a média de 3,2 brotos, enquanto o meio líquido 2,6 brotos. Já Guera et al. (1993), trabalhando com genótipos de abacaxizeiro, obtiveram melhores resultados com meio MS líquido adicionado de 2,7 μ M de ANA e 4,4 μ M de BAP. O meio proporcionou uma taxa média de 19,7 brotos/explante.

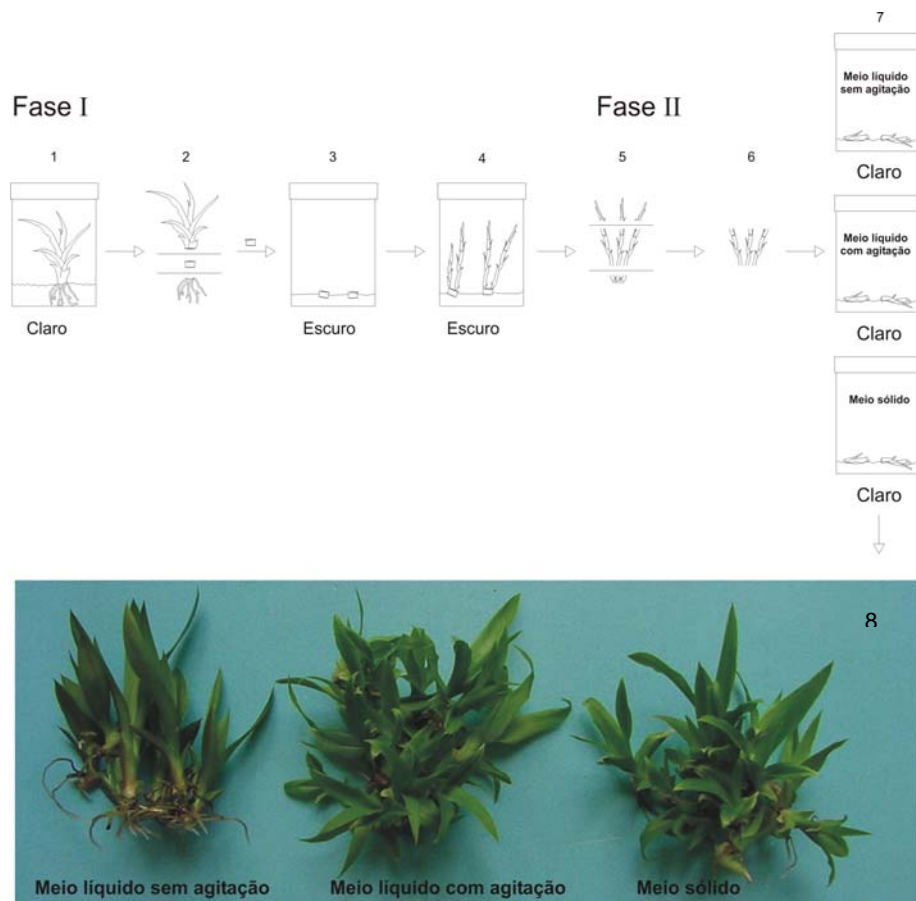
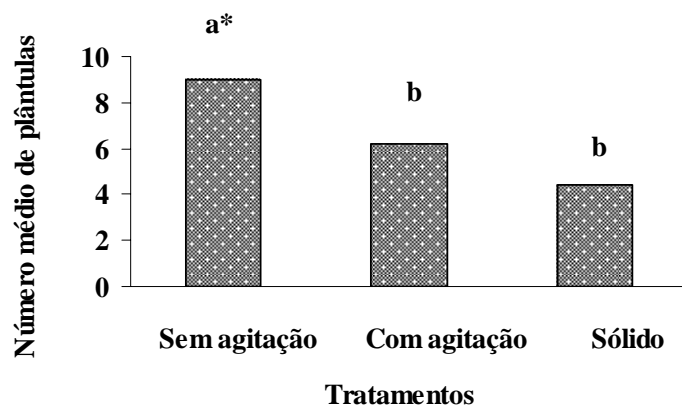
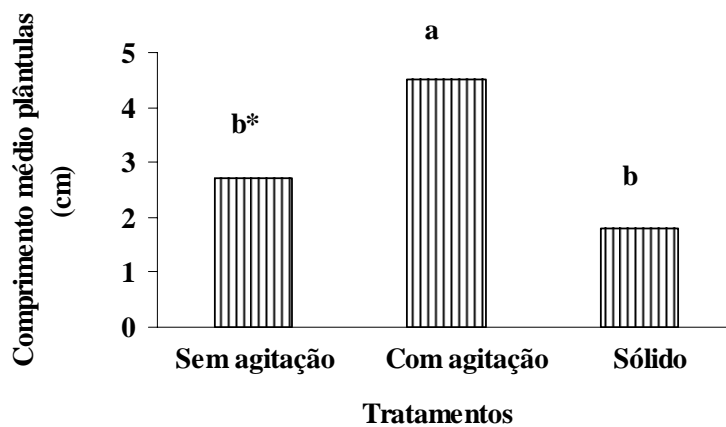


Figura 1- Processo de micropropagação de curauá a partir de brotos estiolados. 1- Fase I- Plântulas estabelecidas *in vitro*. 2- Excisão de plântulas. 3- Inoculação em meio MS+1,86mg/L ANA. 4- Brotos estiolados. 5- Fase II- Excisão de brotos estiolados. 6- Segmento nodal 7- Inoculação dos segmentos nodais nos tratamentos. 8- Propagação de plântulas obtidas de brotos estiolados. Lavras, MG, 2006.



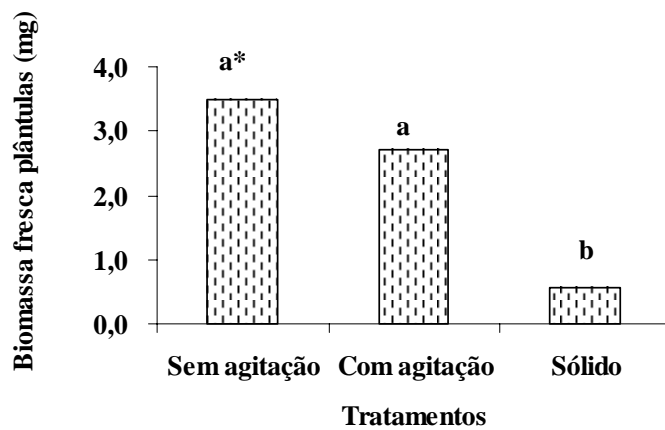
*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott.

FIGURA 2- Número médio de plântulas de curauá submetidas aos tratamentos. Meio líquido sem agitação, Meio líquido com agitação e Meio sólido. Lavras, MG, 2006.



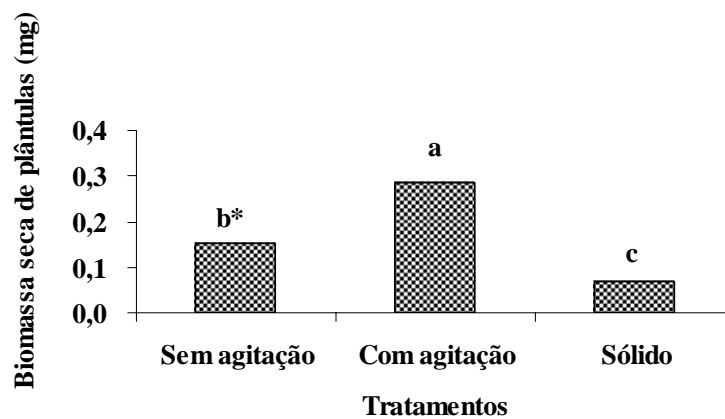
*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott.

FIGURA 3- Comprimento médio de plântulas de curauá. Meio líquido sem agitação, Meio líquido com agitação e Meio sólido. Lavras, MG, 2006.



*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott.

Figura 4- Biomassa fresca de plântulas de curauá. Meio líquido sem agitação, Meio líquido com agitação e Meio sólido. Lavras, MG, 2006.



*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott.

Figura 5- Biomassa seca de plântulas de curauá. Meio líquido sem agitação, Meio líquido com agitação e Meio sólido. Lavras, MG, 2006.

CONCLUSÕES

A cultura do curauá possui excelente adaptabilidade para cultivo em meio líquido.

Há ganho em eficiência na multiplicação do material vegetativo de curauá quando se utiliza meio de cultura líquido sem agitação.

Os melhores resultados para tamanho e biomassa seca do material vegetativo de curauá foram obtidos em meio líquido com agitação contínua.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARD, D.; COTE, F.; TEISSON, C. Comparison of methods of liquid medium cultures for banana micropropagation: effect of temporary immersion of explants. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 32, n. 1, p. 55-60, Jan. 1993.

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-CNPH, 1998. p. 183-260.

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, set. 1999.

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

PEREIRA, J. E.S.; FORTES, G.R.L. Protocolo para produção de material propagativo de batata em meio líquido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 9, p. 1035-1043, set. 2003.

PERES, L.E.P.; KERBAUY, G.B. Controle hormonal de desenvolvimento das raízes. **Universa**, Brasília, v.8, p.181-196, 2000.

PERES, L.E.P.; MERCIER, H.; KERBAUY, G.B.; ZAFFARI, G.R. Níveis endógenos de AIA, citocininas e ABA em uma orquídea acaule e uma bromélia sem raiz, determinado por HPLC e ELISA. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 9, n. 3, p.169-176, dez. 1997.

RAMALHO, E. **A folha amazônica que virou arte**. Disponível em: <http://www.rfi.fr/actubr/articles/068/article_124.asp>. Acesso em: ago. 2005.

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

SNIR, I. EREZ, A. *In vitro* propagation of Malling Merton apple rootstocks. **HortScience**, Alexandria, v. 15, n. 5, p.597-598, Aug. 1980.

SOUZA, C. M.; PINTO, J. E. B. P.; RODRIGUES, B. M.; MORAIS, A.R.; ARRIGONI-BLANK, M.F. Influência dos fatores físicos na regeneração de brotos em repolho. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.23, n.4, p.830-835, out./dez. 1999.

TAVARES, A.R.; AGUIAR, F.F.A.; KANASHIRO, S.; STANCATO, G.C.; GALVANESE, M.S.; SAKAGAWA, S.; LANDGREN, G.; MATHIAS, R.S.; CASTILHO, C.C. Micropropagação de *Aechmea blanchetiana* (Baker) L.B. Smith, bromeliaceae nativa da mata atlântica com potencial ornamental. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 1., 2003, **Anais...** 2003. p. 350.

ZIV, M. The control of bioreactor environment for plant propagation in liquid culture. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 393, p. 25-38, 1995.

3 ARTIGO III

MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE CURAUÁ POR MEIO DE BROTO ESTIOLADOS, EM FUNÇÃO DO TAMANHO E DO NÚMERO DO EXPLANTE POR FRASCO

Flávia Dionísio Pereira¹; José Eduardo Brasil P. Pinto²; Luciana Domiciano Silva Rosado³; Helen Cristina de Arruda Rodrigues³; Luiz Alberto Beijo⁴; Osmar Alves Lameira⁵. ¹Doutoranda, DAG, UFLA; ²Orientador, DAG, UFLA; ³DAG, UFLA; ⁴DEX, UFLA; ⁵EMBRAPA, CPATU. Financiado pelo CNPq. C.P. 3037; Lavras, MG, Brasil. E-mail: flaviad@ufla.br.

Preparado de acordo com as normas da revista: *Scientia Horticulturae*

O curauá [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] é uma espécie que produz fibras naturais com grande potencial de aplicação. Suas fibras podem ser utilizadas para a fabricação de papel, na produção de componentes para bancos e revestimento de automóveis, e também para confecção de cordas e barbantes. Além disso, o pó de curauá tem sido utilizado na medicina popular para a cicatrização de lesões cutâneas. O objetivo deste trabalho foi viabilizar o tamanho do explante utilizado para a multiplicação *in vitro* de curauá, por meio de brotos estiolados. No experimento I, avaliaram-se os tamanhos dos explantes na indução de brotos estiolados. Os explantes foram obtidos de plântulas com 1,0 a 2,5cm (T1), 3,0 a 4,5cm (T2) e 5,0 a 6,5cm (T3). O meio de cultivo foi o MS sólido, suplementado com ANA. Aos 40 dias, avaliaram-se o número e o comprimento médio dos brotos estiolados. Segundo a análise de variância e o teste de Scott Knott, não houve diferença significativa para número e comprimento médio dos brotos. O (T2) produziu maior número médio de brotos, 3,5, seguido pelo (T3), com 3,1 e pelo (T1), com 2,6. Quanto ao comprimento médio de brotos, o (T2) cresceu 7,6cm, o (T3) 6,5cm e o (T1) 4,9cm. No experimento II, os brotos estiolados foram colocados horizontalmente em frascos utilizando 4,0 brotos no (T1), 6,0 (T2) e 8,0 (T3). O meio de cultivo foi o MS líquido, sob agitação de 85rpm. Aos 90 dias, avaliaram-se; o número e o comprimento médio das plântulas obtidas. Segundo a análise de variância e o teste de Scott Knott, houve diferença significativa para número médio de brotações. O (T3) e o (T2) produziram maior número médio plântulas, 15,1 e 13,1, respectivamente. Não houve diferença significativa para o comprimento de plântulas com média de 4,03cm.

Palavras-chaves: produção de mudas; *Ananas erectifolius*; micropropagação.

Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

ABSTRACT

IN VITRO MULTIPLICATION OF CURAUÁ BY SHOOT ELONGATION IN FUNCTION OF ITS EXPLANT SIZE AND NUMBER PER GLASS

Flávia Dionísio Pereira¹; José Eduardo Brasil P. Pinto²; Luciana Domiciano Silva Rosado³; Helen Cristina de Arruda Rodrigues³; Luiz Alberto Beijo⁴; Osmar Alves Lameira⁵. ¹Doutoranda, DAG, UFLA; ²Orientador, DAG, UFLA; ³DAG, UFLA; ⁴DEX, UFLA; ⁵EMBRAPA, CPATU. Financiado pelo CNPq. C.P. 3037; Lavras, MG, Brasil. E-mail: flaviad@ufla.br.

[*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] it is species that gives natural fibers with high applicability potential. Its fibers can be used for paper manufacture, car seat compounds and inner cars covering, and also in making rope and string. In addition, curauá's powder has been also used in popular medicine as cutaneous lesions healing. The aim of this study was to make viable the explant size used for curauá in vitro multiplication, by shoots elongation. In the experiment I, explants size in shoots elongation induction, were obtained. The explants were from 1.0 to 2.5cm plantlet (T1), 3.0 to 4.5cm (T2) and 5.0 to 6.5cm (T3). The culture medium was a hard MS semi solid supplemented with NAA. Number and average size of shoots elongation, were evaluated 40 days later. Accordingly to the analysis of variance and scott knott test, there was no significative difference for the number and shoots average size. (T2) produced higher average shoots number, 3.5, followed by (T3), with 3.1 and by (T1), with 2.6. In relation to shoots average, size (T2) grew 7.6cm, (T3) 6.5cm and (T1) 4.9cm. In experiment II, shoots elongation were placed horizontally using 4.0 shoots per glass (T1), 6.0 (T2) and 8.0 (T3). The culture medium was MS liquid, under 85rpm shaking. It were evaluated 90 days latter, the number and was obtained plantlet average size. By the analysis of variance and Scott knott test, there was significative difference for the shoots average number. (T3) and (T2) produced higher average plantlet number, 15.1 and 13.1, respectively. There was no significative difference for the plantlet size with 4.03cm average.

Key words: Scions production; *Ananas erectifolius*; micropropagation.

Major Professor: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

INTRODUÇÃO

A utilização de tecnologias que possibilitem o uso de produtos que provoquem menos impacto ambiental tem sido uma necessidade para minimizar os problemas ambientais no mundo. Em busca de uma solução para esse problema, vários segmentos da sociedade estão trabalhando para garantir a preservação ambiental e proporcionar melhor padrão de vida à sociedade, como um todo (Bueno, 1996).

Dessa forma, existe a necessidade de desenvolver e adequar tecnologias e produtos que sejam ecologicamente aceitáveis. O uso de matérias-primas de fontes renováveis vem sendo objeto de diversos estudos e pesquisas, devido ao seu potencial na substituição de derivados petroquímicos. Nesse contexto, o curauá apresenta uma série de vantagens que já estão viabilizando a sua aplicação em várias indústrias do ramo automobilístico e da construção civil (Paiva et al., 1999; Monthé & Araújo, 2004).

O curauá [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] é uma planta cujas folhas produzem fibras ligno-celulósicas. Trata-se de uma bromeliácea ainda pouco conhecida e estudada, originária da Amazônia, cultivada principalmente por pequenos produtores da região do Lago Grande de Curuai, no município de Santarém, PA. Suas fibras podem ser utilizadas para a fabricação de papel, na produção de componentes para bancos e revestimento de automóveis, e também para a confecção de cordas e barbantes. Além disso, o pó de curauá tem sido utilizado na medicina popular para a cicatrização de lesões cutâneas (Ledo, 1967; Monthé & Araújo, 2004; Souza et al., 2004).

O curauá tem se mostrado 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. Este é um dos grandes

problemas da cultura, ou seja não há suprimento suficiente de matéria-prima para atender o mercado (Silva, 2004).

Nos últimos anos, a cultura de tecidos tornou-se um importante procedimento, tanto para a ciência como em aplicações tecnológicas. Numerosas espécies de plantas são cultivadas *in vitro*, com diferentes objetivos, como propagação, produção de metabólitos secundários, transformação genética, estudos fisiológicos e conservação de germoplasma.

A adoção do método de estiolamento como técnica vegetativa é uma prática relativamente nova e o seu uso para a micropropagação, mantendo-se a estabilidade genética, foi demonstrado em: batata (Heszky & Nagy, 1987), alfafa (Dudits et al., 1991), fumo (Maliga et al., 1975), gengibre (Arimura, 1997) e abacaxi (Kiss et al., 1995; Sá et al., 2000; Pereira et al., 2001). Este procedimento é interessante para a propagação em massa do curauá, no entanto, a técnica necessita ser adaptada às necessidades das espécies e cultivares, pois estas possuem características genéticas próprias que as fazem responder diferentemente. Nesse sentido, objetivou-se, com este trabalho avaliar o tamanho e número do explante utilizado para a multiplicação *in vitro* de curauá, por meio de brotos estiolados.

MATERIAL E MÉTODOS

No experimento I, o meio de cultura básico foi o MS (Murashige & Skoog, 1962) sólido 6mg/L ágar, com 50mL de meio suplementado com 1,86mg/L de ANA. O pH foi ajustado para $5,7 \pm 0,1$ antes da autoclavagem. Utilizaram-se plântulas de curauá preestabelecidas *in vitro* que estavam inoculados em meio MS sem regulador de crescimento com os seguintes tamanhos: 1,0 a 2,5cm (T1), 3,0 a 4,5cm (T2) e 5,0 a 6,5cm (T3). Os brotos

obtidos destas plântulas foram desfolhados completamente e inoculados cada um em um frasco de 12cm de altura e 5cm de diâmetro (volume interno = 300mL). Os frascos foram mantidos em sala de crescimento a uma temperatura de $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ e no escuro. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com 10 repetições por tratamento, cada qual constituída por um frasco. Aos 40 dias avaliaram-se o número e o comprimento médio dos brotos estiolados.

No experimento II, removeram-se a parte apical e o sistema radicular dos brotos estiolados obtidos no experimento I que foram colocados horizontalmente em frascos de 9,5cm de altura por 5,5cm de diâmetro (volume interno = 250mL), sob condições assépticas, em 15mL de meio MS líquido, sob agitação de 85rpm em mesa agitadora orbital. O número de brotos estiolados inoculados por frasco que se constituíram nos tratamentos foram 4,0 (T1); 6,0 (T2) e 8,0 (T3). Os explantes foram mantidos em sala de crescimento, à temperatura de $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas luz sob uma intensidade luminosa de $25\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC). Cada tratamento continha 10 repetições constituídas por um frasco contendo 2 gemas axilares por brotos. Aos 90 dias avaliaram-se; o número e o comprimento médio das plântulas obtidas.

Os dados dos dois experimentos foram submetidos à análise de variância com aplicação do teste F a 5%, e as médias, analisadas pelo teste de Scott Knott a 5%. O programa utilizado para análise dos dados foi o software estatística (SISVAR).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas avaliações feitas no experimento I, verificou-se que, em todos os diferentes tamanhos de brotações iniciais, os explantes utilizados regeneraram-se

em brotos alongados, de coloração branca, com folhas pequenas, rudimentares e finas. Verificou-se também o alongamento acentuadamente dos entrenós, separando os nós que, normalmente, em presença de luz, permanecem próximos uns dos outros. As novas brotações surgiram a partir da base do explante e ou dos nós, as quais também se apresentavam estiolados (Figuras 1).

Não houve diferença significativa para número e tamanho médio dos brotos. O explante com 3,0 a 4,5cm (T2) produziu maior número médio de brotos, com 3,5, seguido pelo tamanho de 5,0 a 6,5cm (T3), com 3,1 e pelo tamanho 1,0 a 2,5cm (T1), com 2,6 brotos. Embora não tenha ocorrido diferença estatística entre os tratamentos, o tamanho do explante determina suas possibilidades de sobrevivência, assim como a capacidade de crescimento. Uma hipótese sugerida 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 engrossadas, apresentando maior quantidade de reservas acumuladas em seus tecidos, o que poderia levar as brotações regeneradas a se utilizarem dessas reservas para sustentar seu crescimento inicial. Além disso, o tamanho no qual as porções basais foram excisadas para serem inoculadas possibilitou que os explantes contivessem reservas suficientes para serem disponibilizadas, o que pode ter levado à uniformidade apresentada pelas brotações em todos os tratamentos.

Silva et al. (2005) a fim de maximizar a regeneração de plantas de laranja Pêra, avaliaram tamanhos de segmentos de epicótilo que foram de 0,25; 0,5 ou 1cm. Eles observaram que se destacaram aqueles de 0,5 e 1cm, com 97,4% e 97%, respectivamente, de explantes responsivos, que diferiram, estatisticamente, dos segmentos de 0,25cm (85,5%). No entanto, Reis et al.(2003), estudando a correlação entre tamanho de segmentos internodais na multiplicação de *Psychotria ipecacuanha*, verificaram que explantes com 1,0 e

1,5cm apresentaram maiores números de brotos (5 a 6 brotos) quando comparados com o de 0,5cm.

O comprimento do broto é uma variável de grande importância no método de estiolamento de plantas, pois ela está diretamente relacionada com o número de nós que serão regenerados em novas plântulas quando expostas à luz. Verificou-se que os brotos obtidos possuíam um número grande de entrenós que, conseqüentemente, apresentavam um grande número de gemas axilares. O tamanho médio de brotos com explante inicial de 3,0 a 4,5cm (T2) foi de 7,6cm, o de 5,0 a 6,5cm (T3), 6,5cm e o com 1,0 a 2,5cm (T1), 4,9cm, que não diferiram estatisticamente entre si.

Os trabalhos avaliando comprimento de brotos divergem quanto aos resultados. Praxedes et al. (2001), trabalhando com o estiolamento de abacaxizeiro cv. Pérola obtidos a partir de plântulas com altura de 6 a 8cm, testaram o tamanho dos brotos estiolados em meio MS adicionado de ANA e AIA. Eles verificaram que o estiolamento desta variedade não necessita de aplicação exógena de ANA e AIA. Os maiores valores médios encontrados por eles foram de 2,61, 2,44, 2,43, 2,28. Já Ramos & Carneiro (2005), trabalhando com brotos estiolados do híbrido de *Cattleya X mesquiae*, não obtiveram diferenças significativas quanto ao comprimento dos mesmos, quando utilizaram segmentos caulinares basais de 10mm em meio MS suplementado com ANA 0; 0,1 e 2,0mg/L e BAP 0, 0,5 e 2,0mg/L. Os valores médios encontrados com ANA foram de 1,9; 1,7; 2,0cm e com BAP 1,9; 1,7 e 1,5cm.

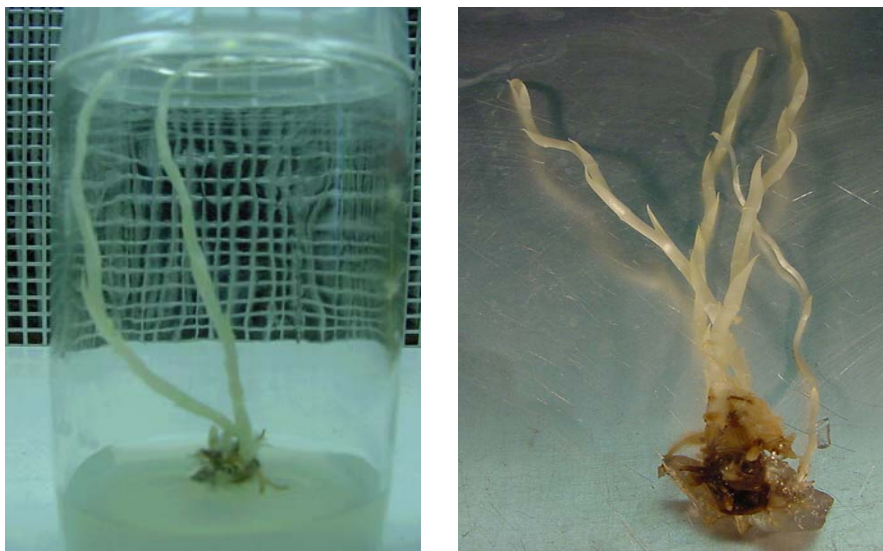


FIGURA 1- Broto estiolado de curauá com explante inicial de 1,0 a 2,5cm (T1).
Lavras, MG, 2006.

No experimento II, pôde-se constatar que houve diferença significativa para número de explantes inoculados por frasco, para a obtenção do número médio de plântulas. O frasco inoculado com 8 (T3) e com 6 explantes (T2) produziu maior número médio de plântulas, 15,1 e 13,1, respectivamente. O frasco inoculado com 4 explantes (T1) produziu 5,6 plântulas (Figura 2).

A exposição à luz promoveu de forma gradativa a regeneração das gemas axilares dos brotos estiolados em plântulas. As plântulas regeneradas eram bem formadas e vigorosas. Ao serem excisadas as folhas eram rígidas, evidenciando a presença de fibras. Era possível ver as fibras a olho nu, com coloração branca. Não foi observada a indução de massagema (clusters) e nem a presença de calos. Por meio de observações visuais das brotações, pôde-se observar que não houve nenhuma planta com alterações morfológicas (Figura 3). Os aspectos morfológicos encontrados neste trabalho comprovam os achados de Ramirez (1984) e Rao et al. (1981), que afirmam que o método de estiolamento

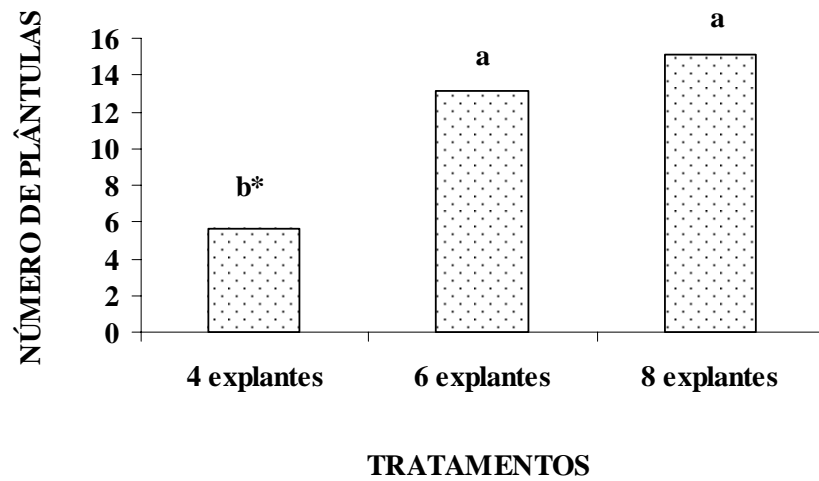
tem a vantagem de evitar danos na região de regeneração e impedir a formação de calos, sendo aceitável que ele proporcione menores taxas de variabilidade somaclonal que os protocolos mais convencionais de micropropagação. Outro fato relevante é que se conseguiu regenerar um número satisfatório de plântulas em meio MS sem a adição de regulador de crescimento, proporcionando, assim, uma redução dos custos de produção dessas mudas micropropagadas.

No entanto, Barboza & Caldas (2001), trabalhando com abacaxizeiro híbrido PE X SC-52, utilizaram sete brotos estiolados/repetição em meio MS sem regulador de crescimento, com BAP a 2mg/L, ANA a 1,86mg/L + BAP a 2mg/L e CIN a 5mg/L. O BAP promoveu maior número de plântulas regeneradas por broto, com média de 10,4 plântulas por broto estiolado. O meio sem regulador de crescimento regenerou 2,9 plântulas, o meio com CIN, 7,1 e o meio com BAP e ANA, 8,2. Já Braga et al.(2003), utilizando o método tradicional de multiplicação por meio de gemas axilares, avaliaram os efeitos do número de explantes, do meio de cultura e do fotoperíodo na multiplicação de abacaxi ornamental (*Ananas bracteatus*). Estes autores obtiveram as taxas médias de multiplicação registradas para quatro, cinco e seis explantes/frasco, de 3,35; 3,26 e 3,28, respectivamente e, nos fotoperíodos testados foram obtidos 3,27 brotos (12horas) e 3,32 brotos (16 horas).

Além da taxa de multiplicação, a determinação do comprimento constitui um indicador do crescimento do vegetal. Verificou-se que não houve diferença significativa para o comprimento médio de plântulas. O frasco inoculado com 4 explantes (T1) cresceu 4,4cm, o frasco com 6 explantes (T2) 3,9cm e o frasco com 8 explantes (T3) 3,8cm. Arimura (1997), estudando o alongamento de plântulas obtidas de brotos estiolados de gengibre (*Zingiber officinale*), obteve o comprimento máximo na dosagem de 2,63 μ M de ANA, o qual foi de 1,62cm. O autor utilizou um broto contendo de 1 a 4 gemas por frasco e cada frasco tinha 9cm de diâmetro. Pereira et al. (2001) trabalhando

com abacaxi cv. Perolera, obtiveram melhores resultados quanto ao tamanho de plântulas em meio MS com 2 μ M BAP+1 μ M NAA, 21,3 plântulas com altura entre 1 a 5cm e 7,0 plântulas com altura de 5 a 10cm. Os autores utilizaram três segmentos nodais estiolados contendo 3 a 4 gemas por frascos de 12cm de altura e 5cm de diâmetro. Outro fato destacado pelos autores é que as plântulas obtidas em meio ausente de regulador de crescimento eram maiores, mais bem formadas e havia a formação de raízes, embora o número de plântulas formadas por gema fosse menor.

Definir um protocolo no qual se tenha o tamanho ideal do explante, livres de agentes contaminantes e que consigam estabelecer e crescer depois de isolados é um grande desafio. A variabilidade de genótipos e as diferenças fisiológicas entre os tecidos e demais fatores dificultam a eficiência do processo. Portanto, de acordo com as condições testadas, conclui-se que explantes de curauá com 1 a 6,5cm são capazes de regenerar e produzir brotos estiolados *in vitro* livres de contaminação e que a utilização de oito explantes por frasco, na etapa de regeneração das gemas dos brotos estiolados, não compromete o comprimento e a taxa de multiplicação de plântulas.



*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott.

FIGURA 2- Número médio de plântulas de curauá produzidas a partir de brotos estiolados inoculados no meio MS. Frasco inoculado com 4 explantes, Frasco inoculado com 6 explantes e Frasco inoculado com 8 explantes. Lavras, MG, 2006.

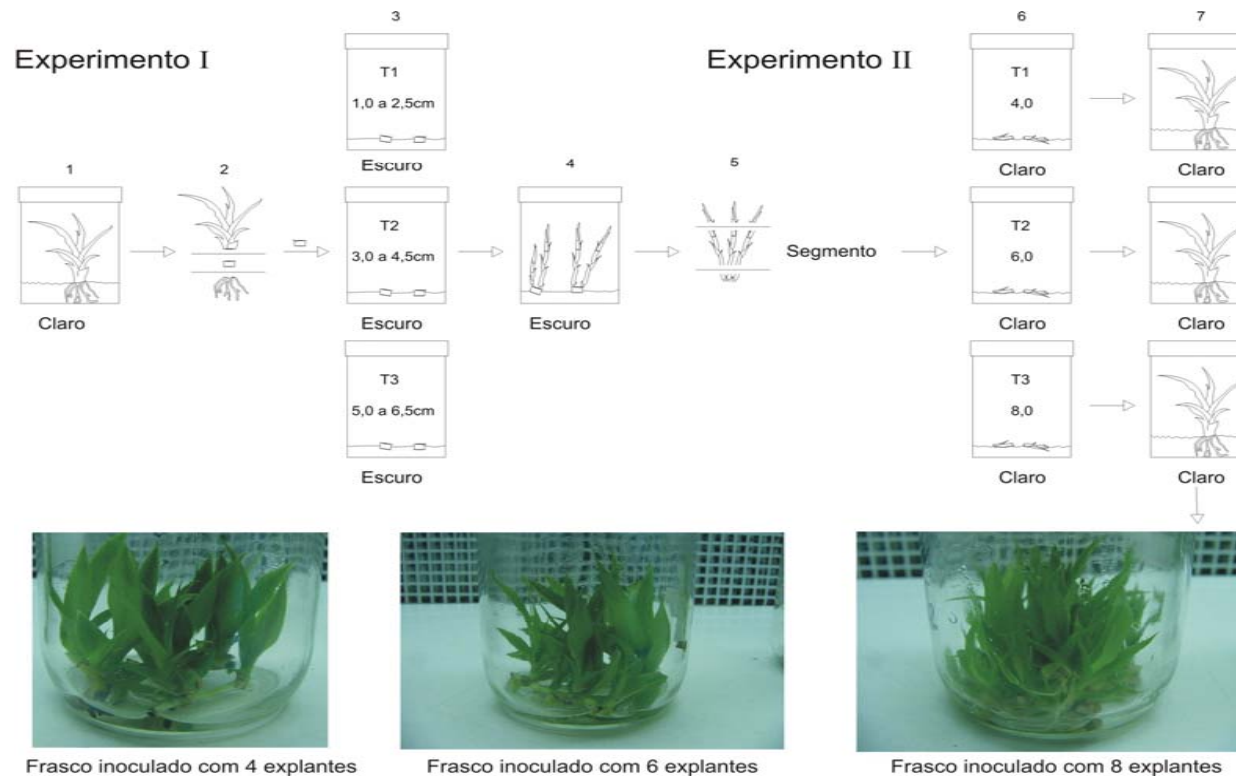


FIGURA 3. Micropropagação de curauá a partir de brotos estiolados. 1- Experimento I- Plântulas estabelecidas *in vitro*. 2- Excisão de plântulas. 3-Inoculação dos explantes nos tratamentos. 4- Brotos estiolados. 5- Experimento II- Excisão de brotos estiolados. 6- Inoculação dos segmentos nodais nos tratamentos. 7- Propagação de plântulas obtidas de brotos estiolados. Lavras, MG, 2006.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARIMURA, C.T. **Propagação *in vitro* de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) por meio de segmentos nodais estiolados**. 1997. 59 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

BARBOSA, S.B.S.C.; CALDAS, L.S. Estiolamento e regeneração na multiplicação *in vitro* do abacaxi híbrido PexSC-52. Disponível em: <<http://www.sct.embrapa.br/pab>>. Acesso em: mar. 2001.

BRAGA, E.P.; MORAIS, J.P.S.; CARVALHO, A.C.P.P.; SANTOS, M.R.A. Avaliação dos efeitos do número de explantes do meio de cultura e do fotoperíodo na multiplicação *in vitro* de abacaxi ornamental (*Ananás bracteatus*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 1., 3002, **Anais...** 2003. p. 312.

BUENO, J. Rumo à certificação verde. **Revista Oficial da ABNT. ISSO-1400**, Brasília, p.16-24, 1996.

CAPPELADES, M.; LEMEURE, 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.

DUDITS, D.; BORGRE, L.; GYORGYEY, L. Embryo development from somatic plants cells *in vitro*: molecular and cellular basis. **Journal of Cells Science**, Cambridge, v.99, n. 3, p. 473-482, July 1991.

HESZKY, L.E.; NAGY, M. *In vitro* conservation of potato germplasm in Hungary. In: BARBOSA, S.B.S.C.; CALDAS, L.S. **Estiolamento e regeneração na multiplicação *in vitro* do abacaxi híbrido Pe x SC-52**. Disponível em: <<http://www.sct.embrapa.br/pab>>. Acesso em: mar. 2001.

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, Feb. 1995.

LEDO, I.A.M. **O cultivo do curauá no lago grande da franca**. Banco de crédito da Amazônia, 1967. 23 p. (Boletim técnico).

MALIGA, P.; BREZNOVITS, A.S.; MÁRTON, L.; JOÓ, F. Non-Mendelian streptomycin-resistant tobacco mutant with altered chloroplasts and mitochondria. **Nature**, London, v. 225, n. 5507, p.401-405, 1975.

MOTHÉ, C.G.; ARAUJO, C.R. Caracterização Térmica e Mecânica de Compósitos de Poliuretano com fibras de curauá. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v.14, n. 4, p.274-278, out./dez. 2004.

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.

PAIVA, J.M.F.; TRINDADE, W.G.; FROLLINI, E. Compósitos de Matriz Termofixa Fenólica Reforçada com Fibras Vegetais. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v. 9, n. 4, p. 170-176, out./dez. 1999.

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**, Uberlandia, v.17, n. 2, p. 49-60, Dec. 2001.

PRAXEDES, S.C.; SILVA JÚNIOR, A.F.; FIGUEIREDO, F.L.; FIGUEIREDO, M.L.; CÂMARA, F.A.A.; OLIVEIRA, O.F. Estiolamento *in vitro* do abacaxizeiro pérola em presença de ANA e AIA. **Caatinga**, Mossoró- RN, v.14, n.1/2, p. 13-15, dez. 2001.

RAMIREZ, A.L. Reproduction of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) by tissue culture. **Cultivos Tropicales**, Habana, v.63, p.681-697, 1984.

RAMOS, T.V.; CARNEIRO, I. F. Multiplicação *in vitro* de *Cattleya x mesquiae* pelo método de estiolamento de segmentos caulinares. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFG-CONPEEX, 2.; SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 3., 2005, Goiânia. **Anais eletrônicos...** Goiânia: UFG, 2005. 1CD-ROM.

RAO, N.K.S.; SWAMY, R.D.; CHACO,E.K. Differentiation of plantlets in hybrid embryo callus of pineapple. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.15, n. 3, p. 235-238, 1981.

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, **Anais...** 2003. p. 273.

SÁ, M.E.L.; BRAGA, M.F.; PEREIRA, F.D.; MUSTAFÁ, P.C.; ALVES, A.P.; Propagação in vitro de abacaxi (*Ananas comosus*) por meio de segmentos estiolados. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 16., 2000, Fortaleza, CE. **Anais...** Fortaleza: EMBRAPA Agroindústria Tropical/SBP, 2000. P. 21.

SILVA, R.P.; COSTA, M.A.P.; SOUZA, A.S.; ALMEIDA, W.A.B. Regeneração de plantas de laranja 'Pêra' via organogênese *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.12, p.1153-1159, dez. 2005.

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

SOUZA, H. C. A.; BARBOSA; W. L. R.; Vieira, J.M. **Revista Científica da UFPA**, v. 4, abr. 2004. Disponível em: <<http://www.ufpa.br/revistaic>>. Acesso em: 2006.

4 ARTIGO IV

PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE BROTOS ESTIOLADOS DE CURAUÁ UTILIZANDO ANA, GA₃ E KIN

Flávia Dionísio Pereira¹; José Eduardo Brasil P. Pinto²; Luciana Domiciano Silva Rosado³; Helen Cristina de Arruda Rodrigues³; Luiz Alberto Beijo⁴; Osmar Alves Lameira⁵. ¹Doutoranda, DAG, UFLA; ²Orientador, DAG, UFLA; ³DAG, UFLA; ⁴DEX, UFLA; ⁵EMBRAPA, CPATU. Financiado pelo CNPq. C.P. 3037; Lavras, MG, Brasil. E-mail: flaviad@ufla.br.

Preparado de acordo com as normas da revista: In Vitro

O curauá [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] é uma espécie que desponta como sucedâneo na fabricação de cordas, sacos e utensílios domésticos. O objetivo deste trabalho foi obter a organogênese em brotos estiolados de curauá. Na fase I, avaliou-se a influência de ANA, cinetina (KIN) e GA₃ na indução de brotos estiolados. O meio de cultivo utilizado foi o MS. O T1 continha 2,0mg/L de ANA; T2, 1,0mg/L de ANA+ 1,0mg/L de GA₃; T3, 1,0mg/L de ANA+ 1,0mg/L de GA₃+ 0,5mg/L de KIN e o T4, 2,0mg/L de ANA+ 0,5mg/L de KIN. Aos 40 dias, avaliaram-se o número e o comprimento de brotos estiolados. Não houve diferença significativa para número de brotações induzidas. No comprimento de brotações houve diferença significativa. T1 cresceu 8,54cm; o T2, 8,10cm; o T3, 6,38cm e o T4, 6,13cm. Na fase II, avaliou-se a indução de plântulas nos brotos estiolados. Os brotos estiolados da fase I foram divididos em parte apical, mediana e basal. Os explantes individualizados foram cultivados separadamente em meio MS sem regulador de crescimento. No ápice não houve diferenças significativas para número e comprimento de plântulas. Já na parte mediana, o número de plântulas foi de 3,9 para os explantes decorrentes do T2 da fase I e 3,6 do T3. Os tratamentos cujos explantes foram provenientes do T1 e do T4 induziram 2,8 e 2,6 plântulas, respectivamente. Quanto ao comprimento das plântulas, não houve diferenças significativas. Na parte basal, também não ocorreram diferenças significativas.

Palavras- chave: *Ananas erectifolius*, brotos estiolados, propagação *in vitro*.

Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

ABSTRACT

IN VITRO PROPAGATION OF SHOOTS ELONGATION CURAUÁ USING NAA, GA₃ AND KIN

Flávia Dionísio Pereira¹; José Eduardo Brasil P. Pinto²; Luciana Domiciano Silva Rosado³, Helen Cristina de Arruda Rodrigues³; Luiz Alberto Beijo⁴; Osmar Alves Lameira⁵. ¹Doutoranda, DAG, UFLA; ²Orientador, DAG, UFLA; ³DAG, UFLA; ⁴DEX, UFLA; ⁵EMBRAPA, CPATU. Financiado pelo CNPq. C.P. 3037; Lavras, MG, Brasil. E-mail: flaviad@ufla.br.

Curauá [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] it is species, that has been used in the making of ropes, bags and domestic utensils. The purpose of this study is to obtain shoots elongations organogenesis. In the phase I NAA; kinetine and GA₃ influence in elogation shoots induction, was evaluated. The culture medium used was MS, T1 has 2.0mg/L NAA; T2, 1.0mg/L NAA+ 1.0mg/L GA₃; T3, 1.0mg/L NAA+ 1.0mg/L GA₃+ 0.5mg/L KIN and T4, 2.0mg/L NAA+ 0.5mg/L KIN. After 40 days were evaluated: the number and lenght of the elongated shoots. There was no significative difference for the number of induced shoots. In the shoots lenght there was significative difference, T1 grew 8.54cm; T2, 8.10; T3, 6.38cm and T4 6.13cm. In phase II, it was evaluated the plantlet induction in those elongation shoots. The elongation shoots in phase I were divided in: apical, middle and basal parts. Those explants were culturedseparately in MS medium without any growth regulator. In the apical part there was no significative difference for the number and lenght of the plantlet. But for the middle part, plantlet was 3.9 for the explants from T2 from phase I and 3.6 from T3. The treatments in which explants from T1 and T2 induced 2.8 and 2.6 plantlet, respectively. There was no significative difference in the plantlet size, neither in the basal part occurred significative difference.

Key words: *Ananas erectifolius*, elogation shoots, *in vitro* propagation.

Major Professor: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

INTRODUÇÃO

As plantas produtoras de fibras são citadas como um dos grupos vegetais mais importantes para o homem, depois das plantas alimentícias e medicinais. O mercado de fibras naturais, no Brasil, representa cerca de 1 milhão de empregos em áreas economicamente deprimidas. O surgimento de novos materiais ecológicos cria uma perspectiva de melhoria da qualidade de vida dos pequenos produtores que ocupam estas áreas (Ramalho, 2005; Rocha & Gheler Júnior, 2003).

O curauá [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] é uma planta cujas folhas produzem fibras lignocelulósicas, de utilização múltipla e diversificada, incluindo as mais diferentes atividades e fins. Espécie nativa e rústica, é uma bromeliácea ainda pouco conhecida e estudada. A planta é característica da Amazônia paraense, cresce até em solo arenoso e pouco fértil chegando a atingir entre um metro e um metro e meio de altura. Cada planta produz entre 12 e 15 folhas, das quais são extraídos cerca de 2 quilos de fibra (Ramalho, 2005).

Além do emprego das fibras para a confecção de utensílios domésticos e objetos de decoração, o curauá apresenta uma série de vantagens que já estão viabilizando a sua aplicação na indústria automobilística e na construção civil. Estudos recentes têm destacado o grande potencial dessa planta como revestimento interno de automóveis 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 (Ledo, 1967; Silva, 2004).

O estiolamento consiste no desenvolvimento da planta sem luz, o que faz com que não haja formação de clorofila; o caule fica alongado e fino, as folhas permanecem pequenas e rudimentares, os entrenós alongam-se e a coloração será esbranquiçada ou amarelada. As principais vantagens em se trabalhar com plantas estioladas é que, além dos entrenós alongarem-se acentuadamente, facilitando o desenvolvimento de gemas axilares, a taxa de replicação e ou movimentação viral não acompanha o alongamento do ápice. Assim, esse explante tem maior possibilidade de estar livre de agentes contaminantes (Guiaeducar, 2002).

Kiss et al. (1995) desenvolveram este método para a cultura do abacaxi o qual consiste na alongação dos internódios pela utilização de reguladores de crescimento e posterior regeneração de plântulas, pelos cortes nodais. No escuro, os internódios da planta se alongam, separando os nós que, normalmente, em presença de luz, permanecem próximos uns aos outros. Para fins de propagação, a separação dos nós facilita o desenvolvimento de gemas axilares e a manipulação de plântulas regeneradas.

A crescente adoção do método de estiolamento tem sido limitada pelo hábito de crescimento das plantas e pela baixa taxa de multiplicação, no entanto o uso de segmentos nodais estiolados para a micropropagação, mantendo-se a estabilidade genética, foi demonstrada em: batata (Heszky & Nagy, 1987); alfafa (Dudits et al., 1991), fumo (Maliga et al., 1975), gengibre (Arimura, 1997) e abacaxi (Kiss et al., 1995; Pereira et al., 2001; Sá et al., 2000).

O objetivo deste trabalho foi obter a organogênese em brotos estiolados de curauá utilizando reguladores de crescimento.

MATERIAL E MÉTODOS

Na fase I, avaliou-se a influência de ANA (ácido naftaleno acético), KIN (cinetina) e GA₃ (ácido giberélico) na indução de brotos estiolados. Como fonte de explantes, foram utilizadas plântulas preestabelecidas *in vitro* de curauá que estavam inoculadas em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) sem regulador de crescimento. Os brotos obtidos destas plântulas foram desfolhados completamente e inoculados em 40mL de meio MS solidificado com 6mg/L de ágar, suplementado com 2,0mg/L de ANA no T1, 1,0mg/L de ANA+1,0mg/L de GA₃ no T2, 1,0mg/L de ANA+1,0mg/L GA₃+5mg/L KIN no T3 e 2,0mg/L ANA+0,5mg/L KIN no T4. Quatro explantes foram inoculados em frascos de 12cm de altura e 5cm de diâmetro (volume interno = 300mL), sob condições assépticas, com 15mL de volume de meio e incubados no escuro. O pH foi ajustado para 5,7±0,1 antes da autoclavagem. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), constituído de quatro tratamentos com dez repetições (quatro explante/repetição) e duas parcelas. Aos 40 dias, avaliaram-se; o número e o comprimento de brotos estiolados.

Na fase II, avaliou-se a indução de plântulas nos brotos estiolados. Os tratamentos foram os mesmos utilizados na fase I para cada um dos explantes estudados na fase II. Utilizaram-se os brotos estiolados como fonte de explante, que foram divididos em parte apical, mediana (segmento nodal) e basal. Os explantes individualizados foram cultivados separadamente em meio MS sem regulador de crescimento, em frascos de 9,5cm de altura por 5,5cm de diâmetro (volume interno = 250mL).

Em ambas as fases o programa utilizado para análise dos dados foi o software estatística (SISVAR), tendo sido realizado à análise de variância, com

aplicação do teste F a 5% e as médias, analisadas pelo teste de Scott Knott a 5%.

Cultivo dos ápices

Os ápices individualizados foram cultivados em 15mL de meio MS líquido sob agitação de 85rpm em mesa agitadora orbital. Aos 30 dias avaliaram-se; o número e o comprimento médio das plântulas obtidas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), constituído de quatro tratamentos com duas repetições contendo 10 ápices cada.

Cultivo dos segmentos nodais (mediana)

Quatro segmentos nodais contendo duas gemas axilares foram colocados horizontalmente em 15mL de meio MS líquido sob agitação de 85rpm, em mesa agitadora orbital. Aos 30 dias, avaliaram-se; o número e o comprimento médio das plântulas obtidas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), constituído de quatro tratamento com dez repetições (quatro explante/repetição) e duas parcelas.

Cultivo da parte basal

A parte basal do broto estiolado foi inoculada novamente porém em 15mL de meio MS sólido. Estas foram mantidas no escuro durante 30 dias. Avaliaram-se, após este período, o número e o comprimento dos brotos estiolados. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), constituído de quatro tratamento com quatro repetições (quatro explante/repetição).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

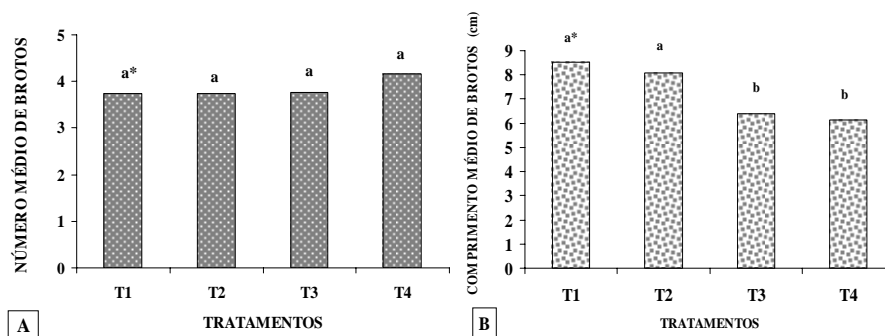
Na fase I, verificou-se, pela análise de variância e o teste de Scott Knott, que não houve diferença significativa para número médio dos brotos estiolados nos diferentes meios suplementados com regulador de crescimento. O tratamento suplementado com ANA produziu 3,73 brotos; o suplementado com ANA e GA₃, 3,73; o suplementado com ANA, GA₃ e KIN, 3,76 e o suplementado com ANA e KIN, 4,10 brotos. Para a variável comprimento médio de brotos, houve diferença significativa nos diferentes tratamentos. Naqueles em que utilizaram-se ANA e ANA e GA₃ os tamanhos foram de 8,54 e 8,10cm, respectivamente, diferenciando-se dos tratamentos que utilizaram ANA, GA₃ e KIN e ANA e KIN, que obtiveram tamanhos de 6,38 e 6,13cm, respectivamente (Figura 1).

Em todos os tratamentos da fase I, os explantes regeneraram-se em brotos alongados, com coloração branca, folhas estioladas largas e grandes. Verificou-se que partes dos brotos estiolados, como a base e as pontas das folhas, permaneceram esverdeadas. Os brotos obtidos possuíam um número reduzido de entrenós, o que, conseqüentemente, diminui o número de gemas axilares. Os entrenós eram longos e sem a presença de raízes (Figura 2 e 10-4).

Resultado semelhante foi verificado por Chu (1978, citado por Sigma, 1991). Após 30 dias alguns segmentos se mantinham esverdeados na região nodal, e brancos, ao longo do segmento.

Também Barboza & Caldas (2001), trabalhando com abacaxizeiro híbrido PE X SC-52, obtiveram, no tratamento com ANA, 1,86mg/L 1,5 broto estiolado por explante com 5,5cm de altura, enquanto os tratamentos com AIA 1,75mg/L e sem regulador de crescimento formaram 1,4 e 1,5 brotos, respectivamente, com 4,8cm de altura.

Por outro lado, Praxedes et al.(2001), trabalhando com o estiolamento de abacaxizeiro cv. Pérola em meio MS adicionado ou não de 5, 10, 15 μ M ANA e AIA, verificaram que o estiolamento desta variedade não necessita de aplicação exógena de ANA e AIA. O tratamento sem regulador de crescimento não apresentou diferença estatística quando comparado com os demais tratamentos. Os maiores valores de brotos estiolados encontrados por eles foram de 2,61; 2,44; 2,43; 2,28.



*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott.

FIGURA 1- (A) Número e (B) Comprimento médio de brotos estiolados de curauá obtidos em diferentes concentrações de reguladores de crescimento. T1 (2,0mg/L ANA), T2 (1,0mg/L ANA, 1,0mg/L GA₃), T3 (1,0mg/L ANA, 1,0mg/L GA₃, 0,5mg/L KIN) e T4 (2,0mg/L ANA, 0,5mg/L KIN). Lavras, MG, 2006.



FIGURA 2- Brotos estiolados de curauá obtidos em diferentes concentrações de reguladores de crescimento. T1 (2,0mg/L ANA); T2 (1,0mg/L ANA, 1,0mg/L GA₃); T3 (1,0mg/L ANA, 1,0mg/L GA₃, 0,5mg/L KIN) e T4 (2,0mg/L ANA, 0,5mg/L KIN). Lavras, MG, 2006.

Utilizando diferentes partes dos brotos estiolados (fase II), constatou-se que fatores como a exposição à luz, induziram o desenvolvimento das gemas axilares. As plântulas regeneradas tanto dos ápices como dos segmentos nodais (mediana), eram bem formadas, vigorosas e possuíam pouca indução de raízes. Ao serem excisadas, as folhas eram rígidas, evidenciando a presença de fibras que podiam ser vistas a olho nu e eram brancas. Não foi observado o crescimento em forma de massagema (clusters) e nem a presença de calos em nenhum dos tratamentos. Por meio de observações visuais pode observar que não ocorreu a presença de nenhuma planta com alterações morfológicas (Figura 10-7).

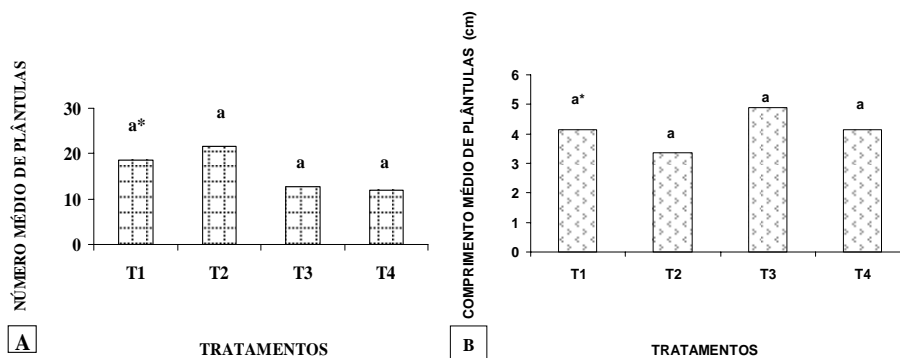
Cultivo dos ápices

A retirada dos ápices é feita para que se possa quebrar a dominância apical. Normalmente, os ápices são descartados. Este ensaio foi realizado para se testar a possibilidade de se obter plântulas provenientes deste tipo de explante, tendo, assim, o aproveitamento de todas as partes dos brotos estiolados.

Nem todos os ápices dos brotos estiolados puderam ser utilizados por estarem danificados (escurecidos).

Não houve diferença significativa para número e comprimento médio de plântulas. Todos os ápices estiolados regeneraram em plântulas. O tratamento no qual os ápices eram decorrentes do tratamento suplementado com ANA na fase I produziu 18,50 plântulas; o tratamento decorrente do tratamento suplementado com ANA e GA₃, 21,50; o do tratamento com ANA, GA₃ e KIN 12,66 e o decorrente do tratamento suplementado com ANA e KIN, 12,00 plântulas. Para a variável comprimento médio de brotos, os ápices decorrentes do tratamento suplementado com ANA cresceram 4,13cm, o suplementado com ANA e GA₃ 3,36cm, o suplementado com ANA, GA₃ e KIN 4,90cm e o suplementado com ANA e KIN 4,14cm (Figura 4; 10-7).

Embora não se tenham utilizado reguladores de crescimento nesta fase, nota-se existir correlação dos reguladores utilizados na fase I. Considerando que os reguladores de crescimento têm funções diferenciadas no explante e mesmo dentro de cada grupo, ainda há diferenças nas respostas morfológicas, nota-se o efeito satisfatório nos resultados obtidos com os explantes decorrentes do tratamento no qual se utilizou auxina (ANA) sozinha e no sinergismo com a giberelina (GA₃). Quando foi adicionado o grupo das citocininas, neste caso uma cinetina, com um efeito mais de crescimento do que indução de brotações, notou-se uma queda no número de plântulas mas um aumento no comprimento destas.

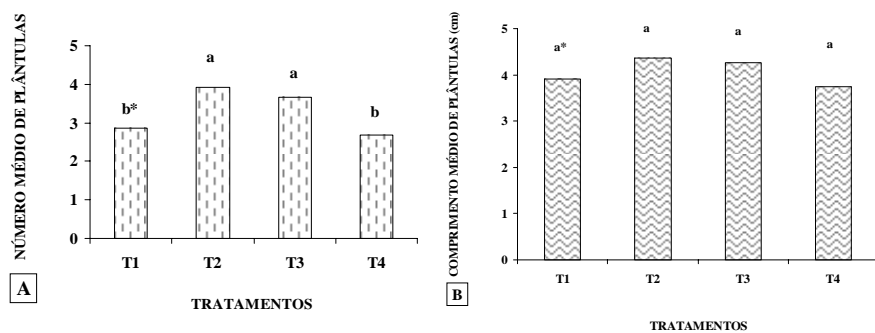


*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott.

FIGURA 4- (A) Número e (B) Comprimento médio de plântulas de curauá provenientes de ápices estiolados. T1 (2,0mg/L ANA), T2 (1,0mg/L ANA, 1,0mg/L GA₃), T3 (1,0mg/L ANA, 1,0mg/L GA₃, 0,5mg/L KIN) e T4 (2,0mg/L ANA, 0,5mg/L KIN). Lavras, MG, 2006.

Cultivo dos segmentos nodais (mediana)

Houve diferença significativa quando avaliado o número de brotos. Observou-se que todos os segmentos nodais estiolados induziram o crescimento de plântulas. Houve uma maior indução das gemas axilares quando os explantes foram obtidos com os explantes decorrentes dos tratamentos cujos meios foram suplementados com ANA e GA₃ e com ANA, GA₃ e KIN, na fase I. Obteve-se número médio de brotos de 3,91 e 3,66, respectivamente. Entretanto, quando o meio foi suplementado com ANA e com ANA e KIN, houve uma menor indução do número de plântulas, com 2,85 e 2,69, respectivamente. Quanto ao comprimento das plântulas, não houve diferenças significativas. O maior comprimento médio foi obtido com os explantes decorrentes do tratamento suplementado com ANA e GA₃, na fase I, 4,36cm, seguido pelo tratamento suplementado com ANA, GA₃ e KIN, 4,26cm, pelo tratamento obtido com ANA 3,91cm e pelo tratamento com ANA, GA₃ e KIN 3,74cm (Figuras 5 e 6)



*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott.

FIGURA 5- (A) Número e (B) Comprimento médio de plântulas de curauá obtidas de segmentos nodais estiolados. T1 (2,0mg/L ANA), T2 (1,0mg/L ANA, 1,0mg/L GA₃), T3 (1,0mg/L ANA, 1,0mg/L GA₃, 0,5mg/L KIN) e T4 (2,0mg/L ANA, 0,5mg/L KIN). Lavras, MG, 2006.



FIGURA 6- Plântulas provenientes de segmentos nodais estiolados de curauá. T1 (2,0mg/L ANA), T2 (1,0mg/L ANA, 1,0mg/L GA₃), T3 (1,0mg/L ANA, 1,0mg/L GA₃, 0,5mg/L KIN) e T4 (2,0mg/L ANA, 0,5mg/L KIN). Lavras, MG, 2006.

Acredita-se que, como os explantes utilizados foram cultivados em meio de cultura suplementados com regulador de crescimento, as concentrações endógenas dos explantes ajudaram na diferenciação das gemas axilares em plântulas. Contudo, a capacidade de os explantes sobreviverem, desenvolverem-se e multiplicarem-se é conseqüência de vários fatores, como o genético, o estado fisiológico, as concentrações endógenas de hormônios nos explantes e as condições ambientais do cultivo *in vitro*. Além disso, o uso de um meio de cultura apropriado para cada fase do cultivo é condição básica, devendo este meio proporcionar os nutrientes necessários ao metabolismo das células vegetais em cultivo para o crescimento e a diferenciação dos tecidos (Pereira & Fontes 2003; Kozay et al., 1997).

Embora economicamente interessante, a não utilização de reguladores de crescimento necessita de ensaios específicos imprescindíveis para induzir a resposta esperada. Segundo Pinto & Pasqual (1990), certos tecidos sintetizam as quantidades de reguladores que necessitam, enquanto outros são totalmente dependentes da adição exógena. Argollo & Shepherd (1997) também comprovaram isso por meio de seus estudos, quando, utilizando ápices caulinares de *Artemisia annua*, conseguiram a obtenção de um grande número de plantas bem desenvolvidas em meio MS básico.

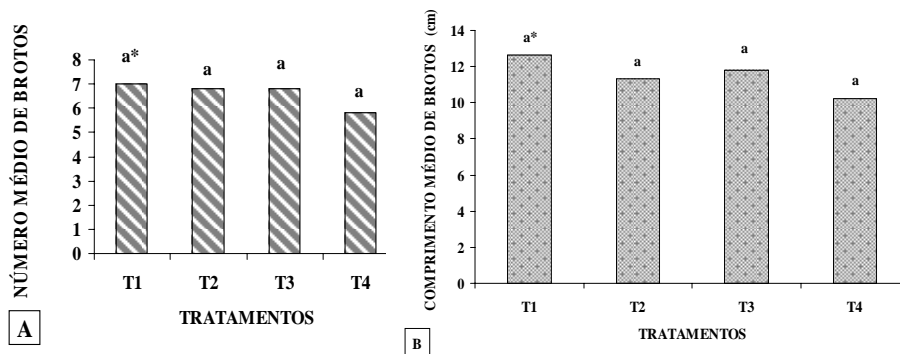
Saleh & Shepherd (1997) obtiveram resultados semelhantes ao induzirem o desenvolvimento de plântulas de *Clusia nemorosa*; ocorreu o mesmo em estudos com plântulas de *Ipomoea batatas*, nas quais se obteve a melhor resposta no crescimento e no desenvolvimento das mesmas, quando se utilizava o meio MS sem regulador de crescimento (Martins, 1997).

Cultivo da parte basal

Não houve diferença significativa para número e comprimento médio de brotos estiolados. Todas as bases reutilizadas regeneraram novamente em brotos estiolados. Assim como os ápices, as bases dos brotos estiolados são descartadas. A possibilidade de reaproveitá-las aumenta a capacidade de se ter um número maior de plântulas provenientes de um mesmo explante, sem ter que fazer um novo estabelecimento. Embora não tenha sido detectada diferença significativa entre os tratamentos, verificou-se que os brotos estiolados nesta fase possuíam um número grande de entrenós que, conseqüentemente, apresentavam um grande número de gemas axilares. Eram alongados, com coloração branca e folhas pequenas (Figura 7). O tratamento decorrente do meio suplementado com ANA na fase I produziu 7,00 brotos estiolados; o decorrente do meio suplementado com ANA e GA₃, 6,83; o decorrente do meio suplementado com ANA, GA₃ e KIN, 6,80 e o decorrente do meio suplementado com ANA e KIN, 5,80 (Figura 8 e 10-7). Para a variável comprimento médio de brotos, o tratamento decorrente do meio suplementado com ANA cresceu 12,65cm, o decorrente do meio suplementado com ANA e GA₃, 11,34cm, o decorrente do meio suplementado com ANA, GA₃ e KIN, 11,79cm e o decorrente do meio suplementado com ANA e KIN, 10,21cm (Figuras 8 e 10-7).



FIGURA 7- Brotos estiolados de curauá provenientes da base. T1 (ANA), T2 (ANA, GA₃), T3 (ANA, GA₃, KIN) e T4 (ANA, KIN). Lavras, MG, 2006.



*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott.

FIGURA 8- (A) Número e (B) Comprimento médio de brotos estiolados de curauá provenientes da base. T1 (ANA), T2 (ANA, GA₃), T3 (ANA, GA₃, KIN) e T4 (ANA, KIN). Lavras, MG, 2006.

Os brotos estiolados desta fase foram excisados separando o ápice, segmento e base que foram utilizados como fonte de explante. Cultivados separadamente em meio MS sem regulador de crescimento, verificou-se que todos os explantes regeneraram em plântulas (Figura 9 e 10-8).

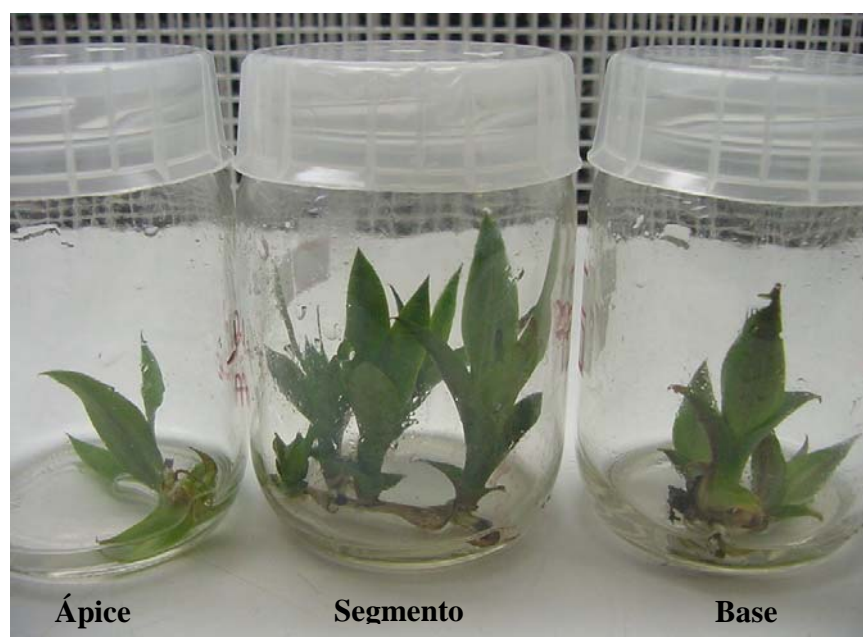


FIGURA 9- Plântulas provenientes de segmentos nodais estiolados obtidas do cultivo de base de curauá. Lavras, MG, 2006.

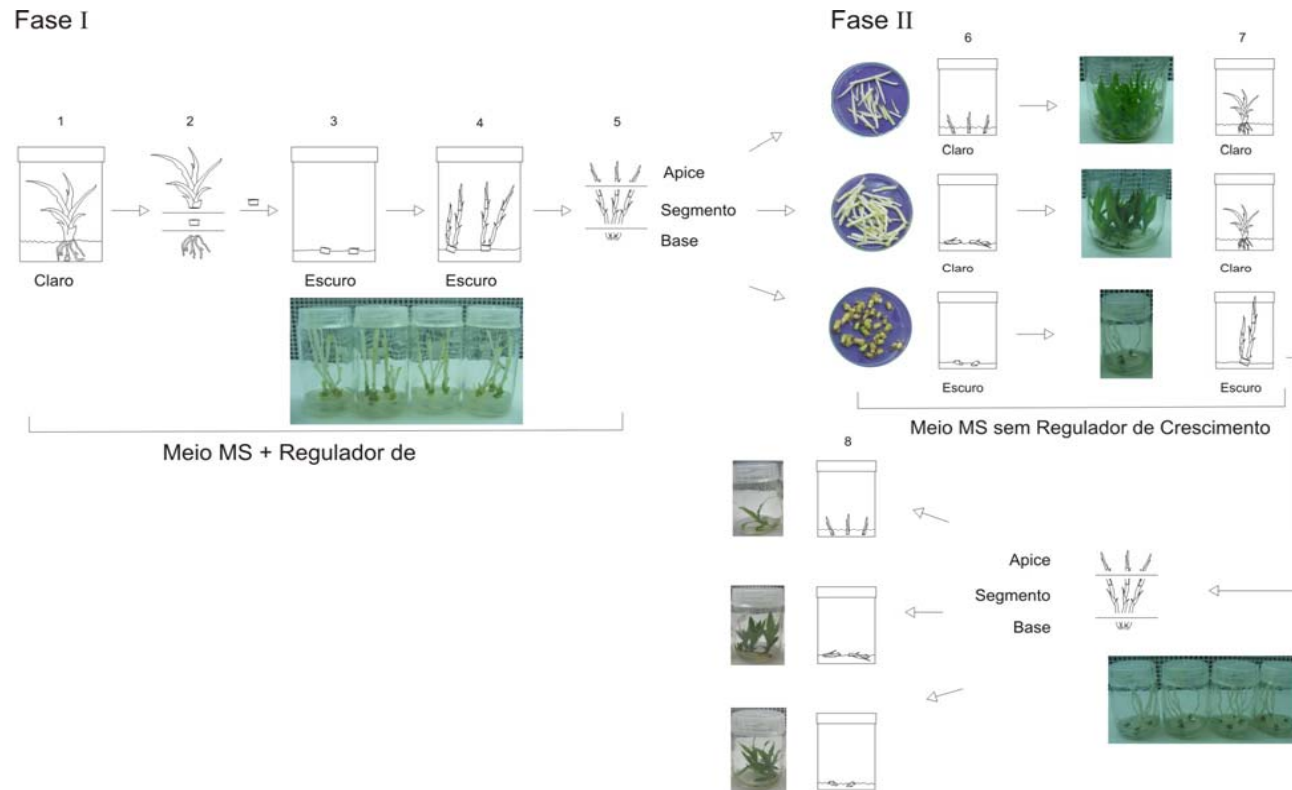


FIGURA 10. Processo de micropropagação de curauá a partir de brotos estiolados. 1- Plântulas estabelecidas *in vitro*. 2- Segmentação de plântulas. 3- Fase I. 4- Brotos estiolados. 5- Excisão de brotos estiolados (ápice, segmento nodal e parte basal). 6- Fase II. 7- Plântulas e brotos estiolados. 8- Propagação de explantes estiolados. Lavras, MG, 2006.

CONCLUSÕES

Explantes de curauá cultivados em meio MS adicionado de ANA, GA₃, KIN regeneram brotos estiolados.

Bases de brotos estiolados podem ser utilizadas mais de uma vez no processo de multiplicação.

Ápices, segmentos nodais e parte basal de brotos estiolados regeneram plântulas de curauá.

No meio MS sem regulador de crescimento, regeneram-se plântulas a partir de brotos estiolados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao estudante José Fábio Camolesi, pela colaboração na confecção das figuras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARGOLLO, D.M.; SHEPHERD, S.L.K., Cultura de ápices meristemáticos caulinares de *Artemisia annua*. In: **JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS**, 3., 1997, São Paulo. Resumos.

ARIMURA, C.T. **Propagação *in vitro* de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) por meio de segmentos nodais estiolados**. 1997. 59f. Viçosa: UFV, Tese mestrado.

BARBOSA, S.B.S.C.; CALDAS, L.S. Estiolamento e regeneração na multiplicação *in vitro* do abacaxi híbrido PexSC-52. Disponível em: <<http://ww.sct.embrapa.br/pab>>. Acesso em: março de 2001.

DUDITS, D.; BORGRE, L.; GYORGYEY, L. Embryo developmet from somatic plants cells *in vitro*: molecular and cellular basis. **Journal of Cells Sciences**. Cambridge, Grã-Betanha, v.1, p. 473-482, 1991.

GUIA EDUCAR. Hormônios e fotomorfogênese. Disponível em: <<http://www.guiaeducar.com.br/materias/biologia/hormonio.htm>>. Acesso em: junho de 2002.

HESZKY, L.E.; NAGY, M. *In vitro* conservation of potato germplasm in Hungary. In: BARBOSA, S.B.S.C.; CALDAS, L.S. Estiolamento e regeneração na multiplicação *in vitro* do abacaxi híbrido Pe x SC-52. Disponível em: <<http://ww.sct.embrapa.br/pab>>. Acesso em: março de 2001.

KISS, E.; KISS, J.; GYULAI, G. HESZKY, L.E. A novel method for rapid microproagation of pineapple. **HortScience**, Virginia, v. 30, n.1, p. 127-129. 1995.

KOZAY, T.; KUBOTA, C.; JEONG, B.R. Environmental control for the large-scale production of plants through *in vitro* techniques. **Plant cell, tissue and organ culture**, Dordrecht, v. 51, p.49-56, 1997.

LEDO, I.A.M. **O cultivo do curauá no lago grande da franca**. Boletim técnico. Banco de crédito da Amazônia. 23p. 1967.

MALIGA, P.; BREZNOVITS, A.S.; MÁRTON, L.; JOÓ, F. Non-Mendelian streptomycin-resistant tobacco mutant with altered chloplasts and mitochondria. **Nature**, London, n. 225, p.401-405, 1975.

MARTINS, M. **Utilização de anticorpos para caracterização da síntese de esporamina em diferentes tecidos de *Ipomoea batatas* obtidos de plantas cultivadas in vivo e in vitro**. Lavras: UFLA, 1997. 71p. (Dissertação-Mestrado em Fisiologia Vegetal).

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, 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**, v.17, number 2, Dec. 2001.

PEREIRA, J. E.S.; FORTES, G.R.L. Protocolo para produção de material propagativo de batata em meio líquido. **Pesquisa. agropecuária. brasileira.**, Brasília, v. 38, n. 9, p. 1035-1043, set. 2003.

PINTO, J.E.B.P.;PASQUAL, M. **Introdução a Cultura de Tecidos**, LAVRAS: ESAL. 1990. 73p. (Apostila).

PRAXEDES, S.C.; SILVA JÚNIOR, A.F.; FIGUEIREDO, F.L., FIGUEIREDO, M.L., CÂMARA, F.A.A., OLIVEIRA, O.F. Estiolamento *in vitro* do abacaxizeiro pérola em presença de ANA e AIA. **Caatinga**, Mossoró- RN, 14 (1/2): 13-15 p, dez, 2001.

RAMALHO, E. **A folha amazônica que virou arte** . Disponível: <[http:// www.rfi.fr/actubr/articles/068/article_124.asp](http://www.rfi.fr/actubr/articles/068/article_124.asp)> Acesso em: agosto 2005.

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>> Palavra chave: Planta produtora de fibra. Acesso em: junho de 2003.

SÁ, M.E.L.; BRAGA, M.F.; PEREIRA, F.D.; MUSTAFÁ, P.C., ALVES, A.P.; Propagação *in vitro* de abacaxi (*Ananas comosus*) por meio de segmentos

estiolados. Congresso Brasileiro de Fruticultura. 16, 2000, Fortaleza, CE, **ANAIS...**Fortaleza: EMBRAPA Agroindústria Tropical/ SBP, 2000. p 21.

SALEH, E.O.L.; SHEPHERD, S.L.K. Estudos de germinação *in vitro* e ex vitro de *Clusia nemorosa* (Guttiferae). **JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS, 3** , 1997, São Paulo, Resumos, Campinas: CPQBA – UNICAMP, 1997, p.67.

SIGMA. (Cell culture reagents); 1991.[St. Louis, MO], 1991.p.146.

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

5 ARTIGO V
CARACTERES ANATÔMICOS DE FIBRAS FOLIARES DE
PLÂNTULAS DE CURAUÁ PROPAGADAS *IN VITRO*

Flávia Dionísio Pereira¹; José Eduardo Brasil P. Pinto²; Luciana Domiciano Silva Rosado³; Daniel Melo de Castro⁴; Helen Cristina de Arruda Rodrigues³; Luiz Alberto Beijo⁵; Osmar Alves Lameira⁶. ¹Doutoranda, DAG, UFLA; ²Orientador, DAG, UFLA; ³DAG, UFLA; ⁴DBI, UFLA; ⁵DEX, UFLA; ⁶EMBRAPA, CPATU. Financiado pelo CNPq. C.P. 3037; Lavras, MG, Brasil. E-mail: flaviad@ufla.br.

Preparado de acordo com as normas da revista: Acta Scientiarum

O curauá [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] é uma espécie com grande potencial de utilização na indústria automobilística, devido à sua resistência, maciez e peso reduzido. O objetivo deste trabalho foi comparar fibras presentes em plântulas de curauá cultivadas *in vitro*, advindas ou não do estiolamento, bem como contribuir para a descrição anatômica das folhas. Foram comparadas plântulas de curauá produzidas *in vitro*, pelo método convencional (T1) e pelo método de estiolamento (T2). Nos cortes transversais, os feixes de fibras associadas e não às nervuras foram contados e tiveram os diâmetros medidos. O número e o diâmetro dos feixes de fibras associadas ou não às nervuras foram superiores no (T1). Este tratamento produziu 23,7 fibras não associadas às nervuras, enquanto que o (T2) produziu 14,3, e nas fibras associadas às nervuras, o (T1) produziu 14,6 e o (T2) produziu 11,3. No diâmetro das fibras associadas às nervuras em (T1) obteve-se 61,61µm e em (T2), 53,17µm. Para o diâmetro das fibras não associadas às nervuras, não houve diferença significativa: em (T1) obteve-se 35,89µm e em (T2) de 34,29µm. Quanto às características anatômicas, as maiores diferenças visuais foi constatado no volume do clorênquima e do parênquima aquíífero, que foram maiores no (T2). Portanto, plântulas de curauá cultivadas *in vitro* obtidas de brotos não estiolados possuem a tendência de produzir mais fibras.

Palavras chaves: *Ananas erectifolius*, anatomia foliar, brotos estiolados.

Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

ABSTRACT

ANATOMICAL CHARACTERES OF CURAUÁ LEAVES FIBERS FROM PLANTLETS *IN VITRO* PROPAGATION

Flávia Dionísio Pereira¹; José Eduardo Brasil P. Pinto²; Luciana Domiciano Silva Rosado³; Daniel Melo de Castro⁴, Helen Cristina de Arruda Rodrigues³; Luiz Alberto Beijo⁵; Osmar Alves Lameira⁵. ¹Doutoranda, DAG, UFLA; ²Orientador, DAG, UFLA; ³DAG, UFLA; ⁴DEX, UFLA; ⁵EMBRAPA, CPATU. Financiado pelo CNPq. C.P. 3037; Lavras, MG, Brasil. E-mail: flaviad@ufla.br.

Curauá [*Ananas erectifolius* (L.B.Sm) – Bromeliaceae] it is species that has been rising with great potencial in the car manufacture, due to its resistency, softness and reduced weight. The purpose of this study was to verify the presence of fibers in curauá plantlet cultured *in vitro* from or not from elongation as well as to contribute for anatomical leaves description. Curauá plantlet produced *in vitro* were compared, by the conventional method (T1) and by the elongation method (T2). In the transversal cuts, fibers bundle related or not to the nervure, were counted and fibers bundle diameters measured. The number and fibers bundle diameter related or not to vein were superior in (T1) that produced 23,7 fibers not related to vein while in (T2) produced 14.3. The related fibers to vein (T1) produced 14.6 and (T2) 11.3. As for fibers diameter related to vein (T1) obtained 61.61 μ m and (T2) 53.17 μ m. For the fibers diameter not related to vein, there was no significative difference (T1) obtained 35.89 μ m and (T2) 34.29 μ m. For anatomical characteristics, higher visual differences are in the chlorenchyma volume and in the aquiferus parenchyma that were higher in (T2). Therefore, curauá's plantlet cultured *in vitro* from elongation shoots tend to produce more fibers.

Key words: *Ananas erectifolius*, leaf anatomy; elongation shoots.

Major Professor: José Eduardo Brasil Pereira Pinto.

INTRODUÇÃO

O mercado de fibras naturais no Brasil representa cerca de 1 milhão de empregos em áreas economicamente deprimidas. O surgimento de novos materiais ecológicos cria uma perspectiva de melhoria da qualidade de vida dos pequenos produtores que ocupam estas áreas. O curauá (*Ananas erectifolius*) é uma bromeliaceae que desponta como sucedâneo na fabricação de cordas, sacos e utensílios domésticos. Recentes, estudos garantem o seu grande potencial de utilização na indústria automobilística, devido à sua resistência, maciez e peso reduzido. A espécie é nativa e rústica, ainda pouco conhecida e estudada. A planta é característica da Amazônia paraense, cresce até em solo arenoso e pouco fértil chegando a atingir entre um metro e um metro e meio de altura. Cada planta produz entre 12 e 15 folhas, das quais são extraídos cerca de 2 quilos de fibra (Ramalho, 2005; Rocha & Gheler Júnior, 2003).

A crescente demanda de fibras do curauá por grupos empresariais o torna uma espécie estratégica, criando perspectivas socioambientais do seu uso. O grande problema é que não há suprimento suficiente de matéria-prima para atender à indústria automobilística, que pretende substituir a fibra de vidro pelo curauá na fabricação de peças como pára-choque, painel e friso de carros de passeio e de transporte (Ramalho, 2005; Silva, 2004).

Pouco se sabe sobre a anatomia de órgãos vegetativos de plântulas micropropagadas, como são afetadas pelas condições ambientais de cultivo ou como a anatomia de plantas transplantadas é modificada durante a aclimatização antes de serem levadas para ambientes de campo. Frequentemente, estes tipos de plântulas são afetadas por excessiva presença de fatores do meio de cultura que conduzem à degeneração metabólica e morfológica. A propagação em massa depende da suplementação de carboidratos como fonte de energia para o

estabelecimento dos explantes, bem como para os estádios sucessivos de multiplicação. No entanto, o ambiente *in vitro* afeta a morfogênese dos explantes levando, algumas vezes, a conseqüências negativas para o crescimento e ao desenvolvimento das culturas, comprometendo, assim, a obtenção de taxas de estabelecimento e de multiplicação satisfatórias (Campostrini & Otoni 1996; Ziv, 1986).

A anatomia interna e a ultra-estrutura das plantas regeneradas *in vitro* são, geralmente, diferentes daquelas crescidas em casa de vegetação ou em campo (Wetzstein & Sommer, 1981). Comparativamente às plantas desenvolvidas *in vivo*, em geral, apresentam-se pouco lignificadas, com células de paredes pouco espessadas, com abundância de espaços intercelulares, sistema vascular pouco desenvolvido e reduzida quantidade de tecidos de sustentação (esclerênquima e colênquima) (Donnelly et al., 1985), sujeitos a desordens morfológicas e fisiológicas (Kozai et al., 1995; Ziv, 1986).

Estudos histológicos demonstram que a excessiva perda de água, que contribui para a dessecação das mudas após transferência, tem sido atribuída a diversas anormalidades induzidas pelas condições *in vitro*, como pobre formação de cera epicuticular, aliada à alteração na composição química das ceras, com o aumento na proporção de componentes hidrofóbicos; deficiência no mecanismo de fechamento estomático; aumento na freqüência de estômatos; localização mais superficial dos estômatos na epiderme da folha e reduzida diferenciação do mesofilo das folhas com alta proporção de espaços intercelulares (Campostrini & Otoni 1996; Kozai et al., 1995).

Gavilanes (1981) relata que pesquisas de anatomia foliar podem conduzir a soluções para problemas relacionados com a multiplicação, melhoramento e cultura dos vegetais. Plantas que eventualmente possam vir a apresentar interesses econômicos carecem de pesquisas dessa natureza, como é o caso do curauá.

O objetivo deste trabalho foi comparar as fibras existentes em plântulas de curauá cultivadas *in vitro* por dois métodos de propagação, bem como contribuir com a descrição anatômica de seus tecidos, fornecendo subsídios para o melhor conhecimento da anatomia da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi feito por meio de dois tratamentos. No tratamento 1 (T1), plântulas de curauá foram produzidas *in vitro* pelo método convencional de micropropagação; no tratamento 2 (T2), as plântulas foram obtidas pelo método de estiolamento *in vitro*.

Tratamento (1): Método convencional de micropropagação

As plântulas produzidas por este método foram obtidas de gemas axilares provenientes de plantas matrizes. As gemas axilares foram excisadas e inoculadas em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) líquido sem regulador de crescimento. As plântulas foram repicadas no mesmo meio de estabelecimento e permaneceram por 60 dias incubadas a $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ em fotoperíodo de 16 horas de luz sob intensidade luminosa de $25\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Quando as plântulas atingiram comprimento médio de aproximadamente 10cm, foram retiradas para as análises anatômicas.

Tratamento (2): Método de estiolamento

Utilizaram-se plântulas de curauá preestabelecidas *in vitro* que estavam inoculadas em meio MS sem regulador de crescimento. Selecionaram-se as

plântulas e os brotos obtidos destas foram desfolhados completamente. Estes brotos foram cultivados em meio MS sólido, com 50mL de meio suplementado com 1,86mg/L de ANA. Mantidos em sala de crescimento os explantes foram incubados a $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ no escuro. Após 40 dias, removeram-se o ápice e o sistema radicular dos brotos estiolados, que foram colocados horizontalmente em frascos com meio MS líquido sob agitação de 85rpm em mesa agitadora orbital. Os brotos estiolados foram incubados a $26\pm 1^{\circ}\text{C}$, em fotoperíodo de 16 horas luz sob intensidade luminosa de $25\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Aos 60 dias, as plântulas já estavam bem formadas e, assim que atingiram comprimento médio de aproximadamente 10cm, foram também retiradas para as análises anatômicas.

Estudos anatômicos: Cortes transversais

Foram retiradas amostras da porção mediana do limbo de folhas maduras provenientes dos tratamentos descritos anteriormente. As folhas de curauá foram então, colocadas para fixação em F.A.A (50%) durante 120 horas (5 dias) sendo posteriormente conservadas em álcool etílico 70%. Em seguida, retirou-se um segmento da folha, incluindo nervura mediana e um dos lados do limbo foliar. Esse segmento foi incluído em historesina (Leica Historesina, Embedding Kit). Os cortes transversais com espessura de $12\mu\text{m}$, foram realizados em micrótomo rotativo automático (Leica 2045, Multicut) e distendidos em lâminas de vidro.

Coloração

As lâminas contendo os cortes de curauá foram coradas com azul de toluidina por 15 segundos. O excesso do corante foi retirado com água, sendo, depois, utilizado Permunt para montar as lâminas permanentes.

Determinação das variáveis

Nos cortes transversais foram realizadas as contagens dos feixes de fibras em toda a extensão da folha, sendo contados os feixes de fibras associadas às nervuras (FAN) e fibras não associadas às nervuras (FNAN).

Foi também medido o diâmetro das (FAN) e das (FNAN), tomando-se como base os sete primeiros feixes ao lado da nervura mediana.

As medições foram realizadas utilizando-se ocular micrometrada aferida com lâmina micrometrada, em cinco cortes por repetição, sendo utilizados dois tratamentos com quatro repetições. Os valores foram submetidos à análise de variância e ao teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade. Todas as medições e contagens, assim como o registro fotográfico das lâminas, foi realizado em fotomicroscópio Olympus modelo BX-60.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto à viabilidade de multiplicação das plântulas *in vitro*, os tratamentos utilizados produziram plântulas bem formadas, vigorosas, com a coloração verde-escura característica das plantas matrizes. Eram rígidas ao serem excisadas, devido à presença das fibras nas folhas que tinham a coloração branca, podendo-se observá-las a olho nu.

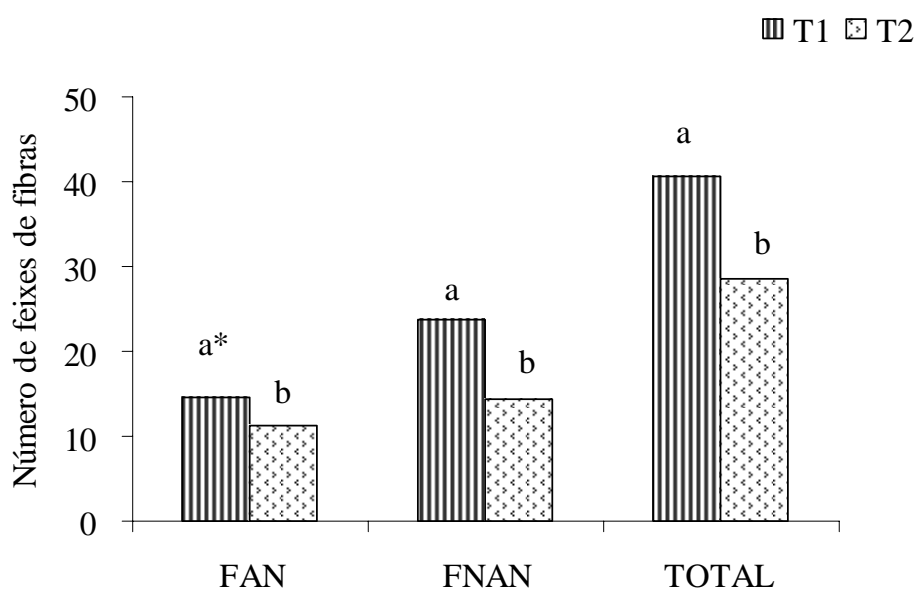
Houve diferença significativa nos feixes de fibras associadas às nervuras e não associadas às nervuras. O tratamento no qual as plântulas foram obtidas pelo método convencional foi superior nas duas variáveis estudadas, o que era previsto, tendo em vista que, no processo de estiolamento, a regeneração das gemas axilares dos brotos estiolados em plântulas é mais demorada e ocorre gradativamente, à medida em que é exposta à luz. O tratamento convencional produziu 23,7 feixes de fibras não associadas às nervuras e o tratamento no qual foi adotado o método de estiolamento produziu 14,3. Para a variável fibras associadas às nervuras, o método convencional produziu 14,6 feixes de fibras e o método de estiolamento produziu 11,3 (Figura 1).

Quanto ao diâmetro dos feixes de fibras associadas às nervuras também ocorreu diferença significativa e, assim como para a variável número de feixes de fibras o T1, que utilizou o método convencional, foi superior ao T2, que utilizou o método de estiolamento. O diâmetro obtido em T1 foi de 61,61 μ m e em T2 de 53,17 μ m. Já para o diâmetro dos feixes de fibras não associadas às nervuras não houve diferença significativa; em T1 obteve-se 35,89 μ m e em T2, 34,29 μ m (Figura 2).

Quando verificado os valores totais dos números de feixes de fibras e o diâmetro delas verificou-se que houve diferenças significativas. O método convencional, T1, foi superior ao método de estiolamento, T2, nas duas variáveis. O número total de feixes de fibras no T1 foi de 40,72 e no T2 de 28,50. Quanto ao diâmetro total o T1 obteve 171,66 μ m e o T2 139,71 μ m (Figura 1 e 2).

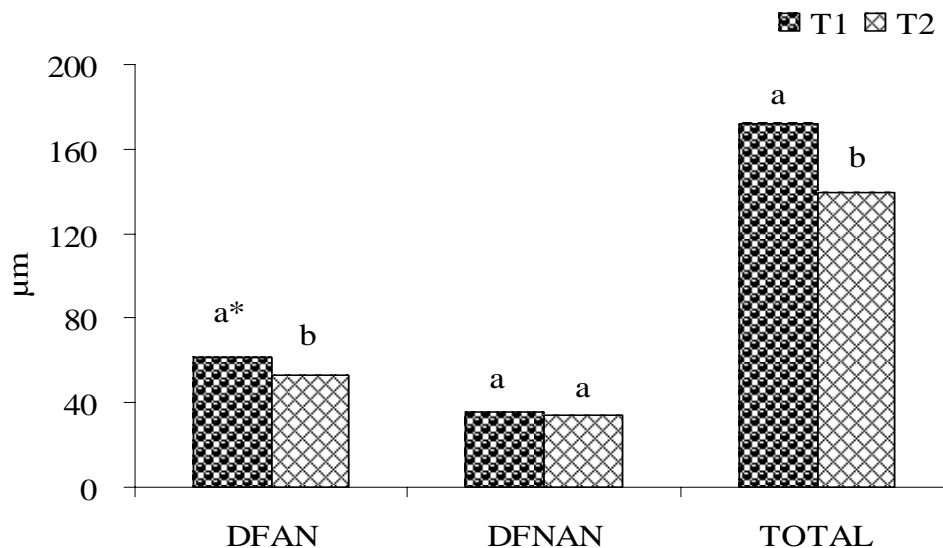
Conforme os resultados obtidos, o estiolamento causa redução nos feixes de fibras das mudas produzidas, tanto no número quanto no diâmetro dos feixes. Entretanto, não se pode afirmar que esta redução irá determinar também a redução das fibras nas plantas terminadas, sendo necessário que se realizem estudos semelhantes em plantas produtivas, no campo. Isto porque a capacidade

de recuperação de plantas produzidas *in vitro* na fase de aclimatização e no campo é grande e é observada em diversas espécie, como, por exemplo, *Lychnophora pinaster* (Souza, 2003), *Fragaria x ananassa* (Calvete et al, 2005), *Brosimum gaudichaudii* (Fideles, 1998) e *Tridax procumbens* (Cerqueira, 1999).



*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott.

FIGURA 1- Número médio de fibras associadas às nervuras (FAN), não associadas às nervuras (FNAN) e número total de fibras (TOTAL). T1. Plântulas obtidas pelo método convencional e T2. Plântulas obtidas pelo método de estiolamento. Lavras, MG, 2006.



*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott.

FIGURA 2- Diâmetro médio de fibras associadas às nervuras (FAN), não associadas às nervuras (FNAN) e número total de fibras (TOTAL). T1. Plântulas obtidas pelo método convencional e T2. Plântulas obtidas pelo método de estiolamento. Lavras, MG, 2006.

Quanto às características anatômicas, tanto no tratamento que utilizou o método convencional (T1) como no que utilizou o método de estiolamento (T2) pôde-se constatar que todas as folhas estudadas são revestidas por epiderme unisseriada. Observa-se cutícula relativamente espessa. O mesofilo é homogêneo, com células isodiamétricas a ovaladas. (Figuras 3.1-2).

As folhas são hipostomáticas e os estômatos se fecham um pouco acima do nível das células epidérmicas. Esta última característica se deve, provavelmente, ao ambiente de cultivo das plântulas, *in vitro*, no qual existe água em abundância (Figura 3.3-4).

Abaixo da epiderme, nas duas superfícies foliares, observa-se a ocorrência de uma provável hipoderme, mais desenvolvida na face adaxial, e constituída por uma camada de células bastante distintas. Abaixo da hipoderme, na face adaxial, nota-se a presença de parênquima aquífero, formado por uma a duas camadas de células grandes, com paredes delgadas (Figura 3. 5-6). Nota-se, ainda, nas células desse tecido, que as paredes possuem algumas deformações que ocorrem, provavelmente, devido à pouca resistência mecânica dessas paredes, uma vez que plântulas originadas de cultivo *in vitro* possuem, geralmente, células com paredes mais delgadas. Alia-se a este o fato das células que compõem esse tecido serem grandes e com paredes muito extensas o que, por si, já causa certa redução na resistência mecânica de tecidos parênquimas aquíferos (Figura 4).

Este resultado está de acordo com o obtido por Tomlinson (1969) quando estudou outros representantes da família. Segundo este autor, este tecido, mais desenvolvido na face adaxial, é constituído por várias camadas celulares; dependendo da forma e do grau de espessamento parietal, ele pode ser reconhecido como um tecido mecânico ou armazenador de água (aquífero). Aoyama & Sajo (2003), estudando espécies de bromélias, também observaram semelhante ocorrência, a qual denominaram de hipoderme aquífera em *Ronnbergia brasiliensis* e *Ronnbergia neoregeloides*.

Embora seja necessário estudo mais aprofundado, acredita-se que, em curauá, o tecido parenquimático abaixo da hipoderme na superfície adaxial seja armazenador de água. Estudos ontogênicos são necessários para que se saiba se o tecido descrito pode ser denominado de hipoderme aquífera.

O mesofilo é formado por parênquima clorofiliano do tipo homogêneo. As células apresentam diâmetro variável. Ao se realizar uma análise visual, parece que, nas plântulas não estioladas, as células do clorênquima são menos volumosas quando comparadas com as células das plantas estioladas (Figura 4).

7-8). Embora não tenha sido feito testes histoquímicos, verifica-se presença de conteúdo celular, possivelmente cloroplastídeos, situados em ambos os tratamentos, sendo visivelmente maior a presença destes no tratamento 1 (Figura 4.7-8).

Pôde ser observado que as nervuras têm um arranjo colateral e há grupos de fibras formando feixes, sendo comum aos dois tipos de fibras, associadas ou não às nervuras, a ocorrência de calotas de células envolvendo-as. As fibras não associadas às nervuras apresentavam-se dispersas no mesofilo, mas próximas à superfície abaxial e adaxial (Figura 4. 7-8). As fibras das nervuras são mais abundantes, principalmente próximas ao floema (Figura 4. 7-8).

Analisando-se os caracteres foliares estudados, nota-se que as estruturas desenvolvidas em plântulas de curauá no método convencional e no método de estiolado apresentam organizações anatômicas semelhantes (Figuras 3 e 4). Visualmente, as maiores diferenças estão no volume do clorênquima e do parênquima aquíífero, que são maiores no método de estiolamento (Tabela 1). Provavelmente, este pode ter sido um mecanismo de defesa encontrado para que as plantas submetidas ao método de estiolamento pudessem desenvolver melhor nas condições impostas, que eram mais severas que as do método convencional. Faz-se necessário, porém, o desenvolvimento de estudos complementares, necessários para comprovar tal hipótese.

TABELA 1. Aspectos anatômicos observados em cortes transversais de folhas de curauá (*Ananás erectifolius*). T1. plântulas propagadas pelo método convencional e T2. plântulas propagadas pelo método de estiolamento. Lavras, MG, 2006.

Estruturas anatômicas	T1	T2
Aspecto visual volume do Parênquima	+	++
Aspecto visual volume do clorênquima	+	++
Número de fibras FNAN*	++	+
Número de fibras FAN**	++	+
Diâmetro FNAN	++	++
Diâmetro FAFN	++	+

* feixes de fibras não associadas às nervuras.

** feixes de fibras associadas às nervuras.

+grau de desenvolvimento.

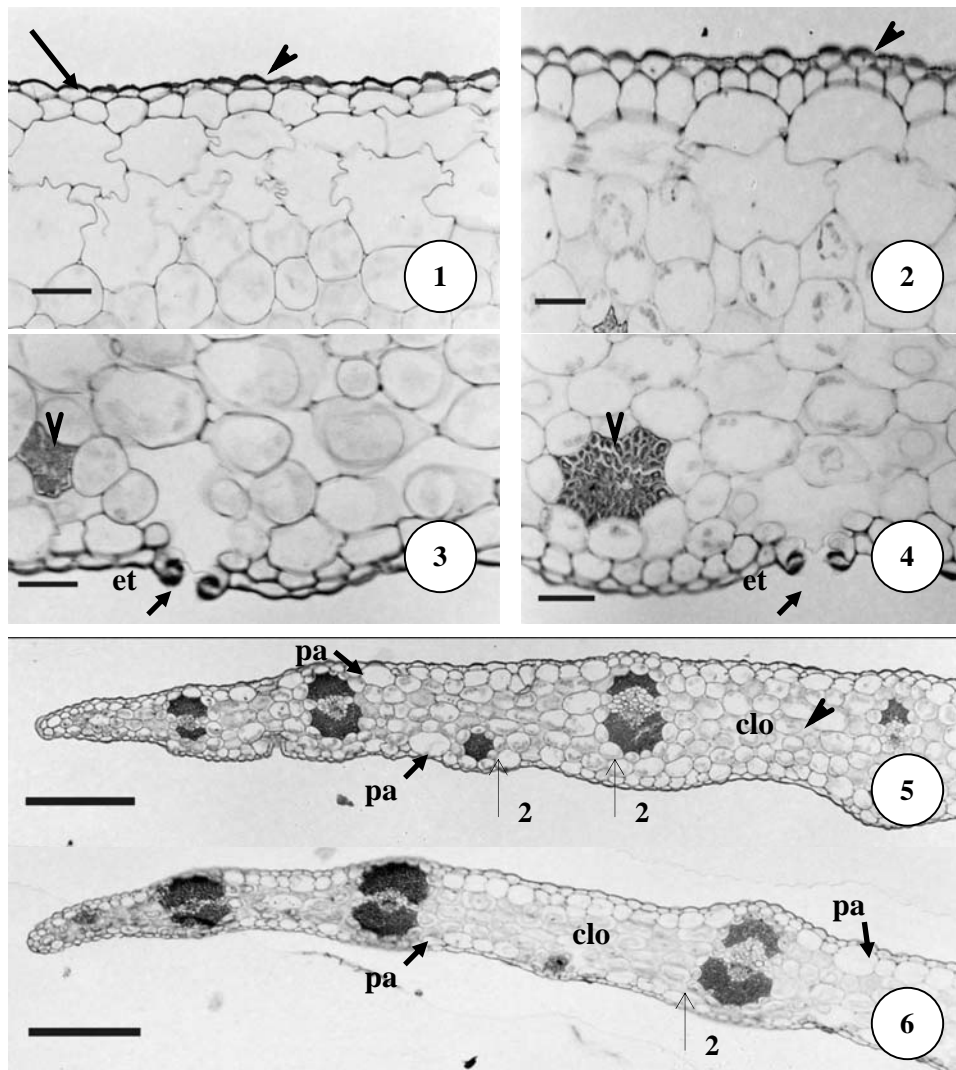


FIGURA 3- Secções transversais. 1. *Ananás erectifolius*: superfície adaxial da epiderme (seta), mostrando cutícula (cabeça de seta) (T2). 2. (T1). 3. Estômatos (et) localizados abaixo do nível das demais células epidérmicas com câmara subestomática e agrupamentos de fibras (cabeças de seta) (T2). 4. (T1). 5. Parênquima aquífero (pa) (seta), calotas de células com paredes espessadas adjacentes ao xilema e ao floema e aos grupos de fibras (setas 2), clorênquima (col) situado entre as hipodermes (cabeça de seta) (T2). 6. (T1). Barra= 10μm. Lavras, MG, 2006.

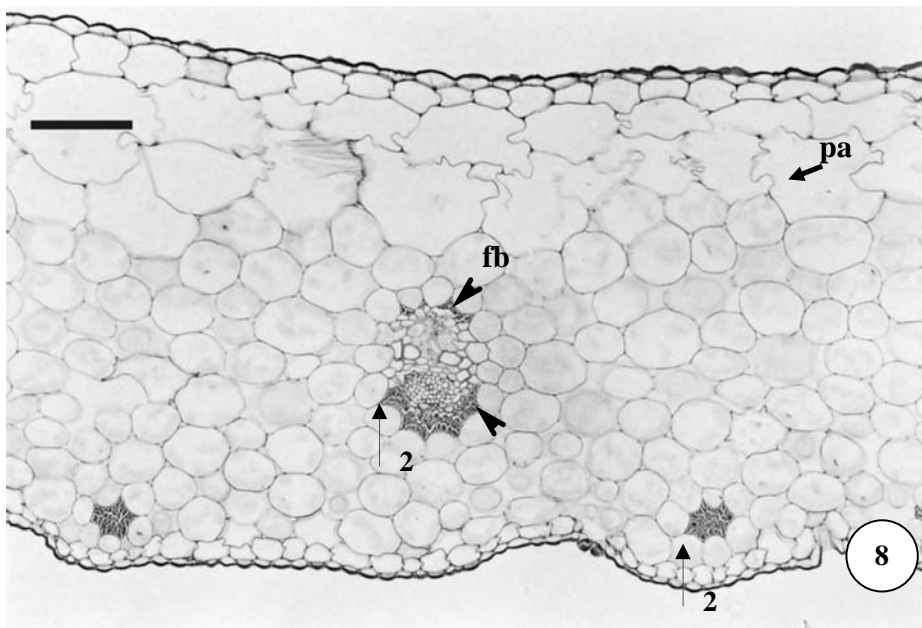
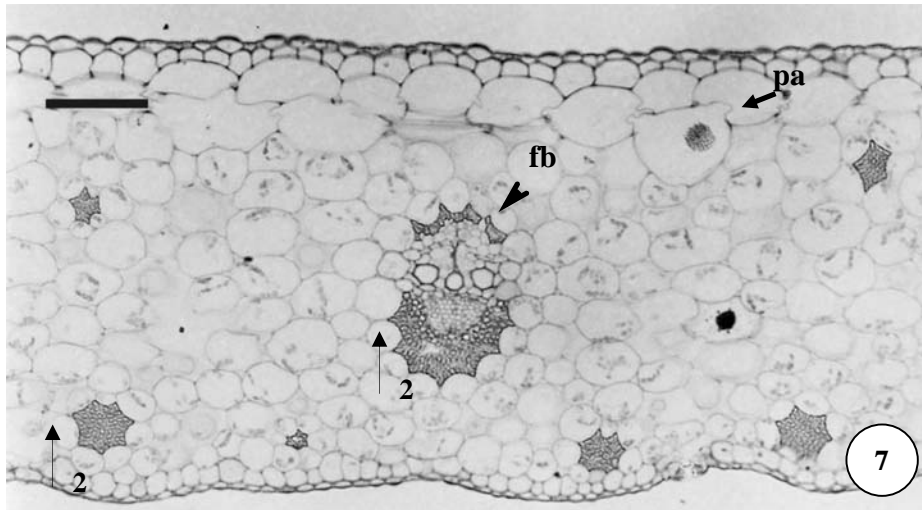


FIGURA 4- Secções transversais. 7. *Ananás erectifolius*: Hipoderme aquífera bastante desenvolvida (ha) (seta), tecido fotossintetizante, grupos de fibras (fb), calotas de células com paredes espessadas adjacentes ao xilema e ao floema e aos grupos de fibras (setas 2) (T2). 8. (T1). Barra= 10 μ m. Lavras, MG, 2006.

CONCLUSÕES

Plântulas produzidas *in vitro* pelo método convencional produzem mais feixes de fibras e com diâmetro maior do que aquelas obtidas pelo método de estiolamento.

Os volumes do clorênquima e do parênquima aquíífero apresentam-se visualmente maiores em plântulas obtidas pelo método de estiolamento.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos estudantes Lucas Amaral de Melo e José Fábio Camolesi, pela colaboração na confecção das fotomicrografias, e à professora Renata Maria Strozi Alves Meira, da Universidade Federal de Viçosa, pela colaboração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOYAMA, E. M.; SAJO, M. G. Estrutura foliar de *Aechmea* Ruiz & Pav. subgênero *Lamprococcus* (Beer) Baker e espécies relacionadas (Bromeliaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, Rio de Janeiro, v.26, n.4, p.461-473, out./dez. 2003.

CALVETE, E.O.; AZEVEDO, M.; BORDIGNON, M.H.; SUZIN, M. **Análises anatômicas e da biomassa em plantas de morangueiro cultivadas *in vitro* e *ex vitro***. Disponível: <[http:// www.scielo.br/](http://www.scielo.br/)>. Acesso em: abr. 2005.

CAMPOSTRINI, E.; OTONI, W.C. **Aclimação de plantas: Abordagens recentes**. Disponível em:

<<http://www.cnph.embrapa.br/laborato/biocel/abctp25.htm>>. Acesso em: abr. 2006.

CERQUEIRA, E. S. **Propagação e calogênese *in vitro* em erva-de-touro (*Tridax procumbens* L.), uma planta medicinal.** 1999. 81 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

DONNELLY, D.J.; VIDAVER, W.E.; LEE, K.Y. The anatomy of tissue cultured raspberry prior to and after transfer to soil. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, Dordrecht, v.4, n. 1, p.43-50, 1985.

FIDELIS, I. **Micropropagação de *Brosimum gaudichaudii* Tréc. (Mamacadela), uma espécie medicinal.** 1998. 109 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GAVILANES, M.L. **Anatomia e nervação foliar de espécies nativas do gênero *Gomphera* L. (Amaranthaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil.** 1981. 146 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

KOZAI, T.; KITAYA, Y. Environmental control for large scale production of *in vitro* plantlets. In: TERZI, M.; CELLA, R.; FALAVIGNA, A. (Ed.). **Current issues in plant molecular and cellular biology.** London: Kluwer Academic Publishers, 1995. p. 659-667.

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.

RAMALHO, E. **A folha amazônica que virou arte.** Disponível em: <http://www.rfi.fr/actubr/articles/068/article_124.asp>. Acesso em: ago. 2005.

ROCHA, E. C.; GHELIER 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.

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

SOUZA, A.V. **Propagação *in vitro* e aspectos anatômicos de arnica** (*Lychnophora pinaster*). 2003. 127 p. Dissertação (Mestrado Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

TOMLINSON, P.S. **Anatomy of the Monocotyledons**. III Commelinales – Zingiberales. Oxford: Oxford University Press, 1969.

WETZSTEIN, H.Y.; SOMMER, H.E.; BROWN, C.L.; VINES, H.M. Anatomical changes in tissue cultured sweet gum leaves during hardening off period. **HortScience**, Alexandria, v. 16, n. 3, p. 290, June 1981.

ZIV, M. The control of bioreactor environment for plant propagation in liquid culture. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 393, p. 25-38, 1986.