

**MEIO DE CULTURA E LUZ NA
MICROPROPAGAÇÃO DO ABACAXIZEIRO
GOMO DE MEL**

FERNANDA CARVALHO COSTA

2009

FERNANDA CARVALHO COSTA

**MEIO DE CULTURA E LUZ NA MICROPROPAGAÇÃO DO
ABACAXIZEIRO GOMO DE MEL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador
Prof. Moacir Pasqual

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2009

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

Costa, Fernanda Carvalho.

Meio de cultura e luz na micropropagação do abacaxizeiro
Gomo de Mel / Fernanda Carvalho Costa. – Lavras: UFLA, 2009.
67 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.
Orientador: Moacir Pasqual.
Bibliografia.

1. *Ananas comosus*. 2. Estiolamento. 3. Qualidade de luz. 4.
Propagação. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.53

FERNANDA CARVALHO COSTA

**MEIO DE CULTURA E LUZ NA MICROPROPAGAÇÃO DO
ABACAXIZEIRO GOMO DE MEL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 31 de julho de 2009

Ângelo Albérico Alvarenga EPAMIG

Leila Aparecia Salles Pio FAPEMIG

Aparecida Gomes de Araujo UFLA

Prof. Moacir Pasqual
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

**A minha mãe, M^a Elismar, ao meu pai, José Clarete, ao meu irmão,
Marcus Vinícius, aos meus avós, e a minha melhor amiga Dui, por todo
apoio.**

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus por se fazer presente na minha vida, iluminando meus passos, dando força e coragem para a busca da minha realização profissional, na superação e conquista dos meus sonhos.

Ao meu orientador, hoje amigo: Prof Moacir Pasqual, pelas horas de convívio, troca de experiência, paciência, pelo auxílio na realização deste trabalho.

Aos meus pais José Clarete e Maria Elismar, pela educação, carinho e amor transmitidos por eles, em todos estes anos da minha trajetória profissional e pessoal.

Ao meu irmão Marcus Vinícius pelo companheirismo, sendo exemplo de garra, determinação.

Aos meus avós Maciel e D. Maria (in memoriam), Walter e Lourdes por serem para mim exemplo de conduta, paciência, superação, bondade e amor, mostrando que os anos só aprimoram as virtudes do ser humano.

À minha melhor amiga Dui, por ser uma irmã para mim, não apenas de tantas horas, mas de todas as horas. Obrigada pelo apoio, auxílio, palavras de incentivo, por vibrar junto comigo, por pedir aos céus por mim.

Agradeço, de modo especial, à pesquisadora e amiga Aparecida Gomes de Araújo, pelo aprendizado, troca de experiência, paciência e muito carinho.

Ao amigo, grande pesquisador e educador Rafael Pio, pela atenção, ensinamentos, troca de experiência e ajuda.

Aos meus eternos amigos do Ministério Universidades Renovadas, por compartilhar comigo, sonhar, rezar junto e acreditar sempre na civilização do amor.

À Néia e Fran pela ajuda incondicional, pelo companheirismo, amizade e por transmitir tamanha alegria.

Aos funcionários do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais Claret e Vantuil, por toda colaboração e amizade.

Aos estagiários e colegas da pós Filipe, Dalíhíá, Joyce, Gustavo, Rose, Karine, Thaís e Gabriel por toda ajuda.

À secretária Marli, por sempre se mostrar disponível em ajudar.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa.

À Universidade Federal de Lavras - UFLA, e a todo Departamento de Agricultura, por tornar possível a realização deste trabalho.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para o bom andamento e êxito da pesquisa.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	i
GENERAL ABSTRACT	ii
CAPÍTULO 1.....	1
1 Introdução geral	1
2 Referencial teórico.....	4
2.1 Aspectos gerais da cultura e mercado.....	4
2.1.1 Cultivar Gomo de Mel	6
2.1.2 Comercialização do Gomo-de-mel	7
2.2 Micropropagação	8
2.2.1 Estiolamento	9
2.2.2 Qualidade de luz	10
2.2.3 Reguladores de crescimento	12
2.2.4 Sacarose no meio de cultura	13
2.2.5 Estado físico do meio de cultura.....	14
3 Referências bibliográficas.....	15
CAPÍTULO 2: BAP e GA ₃ no estiolamento <i>in vitro</i> de abacaxizeiro ‘Gomo de Mel.....	20
1 Resumo	20
2 Abstract.....	21
3 Introdução	22
4 Material e métodos.....	24
5 Resultados e discussão.....	25
6 Conclusão.....	32
7 REferências bibliográficas	33
CAPÍTULO 3: Sacarose e qualidade de luz na propagação <i>in vitro</i> de abacaxizeiro ‘Gomo de mel’	35
1 Resumo	35
2 Abstract.....	36
3 Introdução	37
4 Material e métodos.....	39
5 Resultados e discussão.....	41
6 Conclusão.....	48
7 Referências bibliográficas.....	49
CAPÍTULO 4: Crescimento <i>in vitro</i> de gemas axilares de abacaxizeiro ‘Gomo de mel’ em diferentes concentrações de BAP e constituição física do meio de cultivo	52
1 Resumo	52
2 Abstract.....	53
3 Introdução	54

4 Material e métodos.....	56
5 Resultados e discussão.....	58
6 Conclusão.....	64
7 Referências bibliográficas.....	65

RESUMO GERAL

COSTA, Fernanda Carvalho. **Meio de cultura e luz na micropropagação do abacaxizeiro Gomo de Mel**. 2009. 67 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*

O abacaxi, pertencente à família das bromeliáceas, é oriundo da América do Sul e cultivado em qualquer região quente. Tem grande aceitação em todo o mundo, tanto natural quanto industrializado. O Brasil é o 2º maior produtor mundial da fruta, produzindo diversas variedades para suprir tanto o mercado interno quanto externo. O Instituto Agrônomo de Campinas – IAC lançou, em 1999, uma variedade de abacaxi originária da China que ficou conhecida por ‘Gomo-de-mel’, proveniente de cruzamento natural, apresentando características bastante interessantes para o consumidor. Devido à pouca informação sobre esta variedade e à baixa disponibilidade de mudas para o produtor, o presente trabalho teve por objetivo, através da técnica de cultura de tecidos vegetais, buscar uma maior produção de mudas do abacaxizeiro ‘Gomo-de mel’, testando diferentes dosagens de fitorreguladores, sacarose, qualidade de luz e constituição física do meio. Foram realizados três experimentos: 1) produção de mudas pelo método de estiolamento em diferentes concentrações de BAP (0; 0,25; 0,5 e 1,0 mg.L-1) e GA3 (0; 0,5; 1,0 e 2,0 mg.L-1); 2) qualidade de luz (branca, vermelha, azul) e concentração de sacarose (0; 10,0; 20,0; 30,0 g) e 3) constituição física do meio (sólido, líquido, líquido com agitação) e concentração de BAP (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg.L-1). Os melhores resultados foram obtidos com a adição entre 1,0 – 1,5 mg L-1 de BAP, onde há uma maior obtenção de brotos. Para um melhor crescimento da parte aérea recomenda-se 2,0 mg L-1 de GA3, a sacarose máxima, 30g L-1, adicionada ao meio permite um melhor desenvolvimento do explante, além do crescimento in vitro da planta sob luz branca. A micropropagação de abacaxizeiro em meio líquido com agitação constante produz mudas saudáveis e vigorosas para a fase de aclimatização.

* Comitê Orientador: Moacir Pasqual – UFLA (Orientador) e Aparecida Gomes de Araujo – UFLA.

GENERAL ABSTRACT

COSTA, Fernanda Carvalho. **Culture media and light on the micropropagation of pineapple Gomo de Mel**. 2009. 67 p. Dissertation (Master in Crop Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras*.

The pineapple, belonging to the family of bromeliads, is native of South America and cultivated in any hot region. It has wide acceptance throughout the world, both natural and industrialized. Brazil is the 2nd largest producer of fruit, producing several varieties to meet both the internal and external. The Agronomy Institute of Campinas - IAC launched in 1999, a variety of pineapple from China that became known as 'Gomo de mel', from natural breeding, showing very interesting features for the consumer. Due to limited information on the variety and the low availability of seedlings for the producer, this work aimed at using the technique of plant tissue culture, get a higher production of seedlings of the pineapple 'Gomo de mel' by testing different doses of growth regulators, sucrose, light quality and physical composition of the medium. Three experiments were conducted: 1) production of seedlings by the method of shading in different concentrations of BAP (0, 0.25, 0.5 and 1.0 mg.L⁻¹) and GA3 (0, 0.5, 1, 0 and 2.0 mg.L⁻¹), 2) quality of light (white, red, blue) and concentration of sucrose (0, 10.0, 20.0, 30.0 g) and 3) the constitution medium (solid, liquid, liquid with agitation) and concentration of BAP (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg.L⁻¹). The best results were obtained with the addition of 1.0 - 1.5 mg L⁻¹ BAP, with the greatest achievement of brotos. Para better shoot growth is recommended 2.0 mg L⁻¹ GA3 the maximum sucrose, 30g L⁻¹, added to the medium allows a better development of the explant, as well as in vitro growth of the plant under white light. Micropropagation of pineapple in liquid medium with constant agitation produces healthy, vigorous seedlings for the acclimatization phase.

* Guidance Committee: Moacir Pasqual – UFLA (Major Professor) and Aparecida Gomes Araújo – UFLA.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

O abacaxizeiro é uma monocotiledônea, da família *Bromeliaceae*. É uma frutífera tropical que se adapta melhor em altitudes de até 100 m, onde apresenta o ciclo menor, maior produção e melhor qualidade da fruta (Silva & Sanábio, 1996). A temperatura ideal para o cultivo está entre 21°C a 31°C. É uma planta exigente em luz, desenvolvendo-se bem em locais com insolação ótima de 2.500 a 3.000 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e com 6,8 a 8,2 horas de luz solar por dia (Cunha, 1999).

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de abacaxi (1,62 milhão de toneladas, em 45.000 hectares plantados), somente suplantado pela Tailândia, com 1,98 milhões de toneladas.

O abacaxi Gomo-de-mel ou abacaxi-de-gomo foi introduzido da China em 1991, juntamente com outros tipos de materiais genéticos, provavelmente resultante de cruzamento natural, foi incorporado, no mesmo ano, ao banco de germoplasma de abacaxizeiros do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e lançado no mercado como uma nova variedade em 1999. Reúne um elevado °Brix (doçura), de baixa a moderada acidez, consistência tenra, succulência e coloração atraente (amarelo-ouro), ao contrário dos cultivares atualmente disponíveis para o consumo *in natura* (Pérola e Smooth Cayenne).

A fusariose é a doença que mais atinge a cultura do abacaxi, recentemente foi lançada a variedade Vitória, resistente ao fungo. Já a cultivar gomo de mel é suscetível a fusariose, como a maioria dos cultivares em distribuição comercial, mas com moderada resistência a nematóides, e também, boa "vida-de-prateleira" quando maduro (até 12 dias, em condições ambientes),

maior do que a dos cultivares tradicionais, talvez em virtude de sua maior resistência ao transporte (Instituto Agronômico de Campinas - IAC, 2008).

A micropropagação é um método de propagação vegetativa amplamente estudado nas mais diversas espécies vegetais, sendo a modalidade, dentro da cultura de tecidos, que mais tem difundido e encontrado aplicações práticas comprovadas. No caso do abacaxizeiro, tal técnica está sendo utilizada comercialmente visando à produção de novas cultivares e o aumento na quantidade de mudas (Albuquerque, 1998).

A proliferação de gemas axilares é, geralmente, preferida na micropropagação. É comum ocorrer simultaneamente a proliferação de gemas axilares e a formação de gemas adventícias na base do explante. Gemas adventícias são desejáveis, desde que a formação do calo seja mínima ou nula. Kiss et al. (1995) desenvolveram um método para produção de mudas de abacaxi *in vitro*, usando segmentos nodais estiolados. Segundo estes autores, 80.000 plantas podem ser regeneradas no período de um ano através de uma planta primária, com a vantagem de evitar lesões na zona de regeneração, impedindo a formação de calo.

Embora haja o desejo de aumento na quantidade de mudas, há uma preocupação quanto à diminuição dos gastos com as plantas cultivadas *in vitro*, devido principalmente ao elevado custo com energia elétrica em sala de crescimento e outros componentes do meio de cultura.

Os meios nutritivos utilizados para as culturas fornecem as substâncias essenciais para o desenvolvimento dos tecidos e controlam, em grande parte, o padrão do desenvolvimento *in vitro* (Torres et al., 1998), sendo bastante variáveis em função da espécie vegetal e da origem do explante.

A utilização de auxina e citocinina em protocolos de estabelecimento e de multiplicação de abacaxizeiro é citada por vários autores (Dewald et al., 1988; Fitchet, 1990; Guerra et al., 1999). Estes autores usaram o meio MS

(Murashige & Skoog, 1962) para estabelecimento das culturas. Por exemplo, no sistema convencional de cultura de tecidos são utilizados altos níveis de sacarose no meio de cultura, o que pode influenciar o enraizamento e o estabelecimento de brotações *in vitro* (Wainwright & Scarce, 1989). Entretanto, uma baixa concentração aumenta a capacidade fotossintética, além de melhorar a sobrevivência das plantas (Langford & Wainwright, 1987).

Outro fator a ser considerado é a luz, fundamental para o desenvolvimento de plântulas cultivadas *in vitro*. A luz influencia em aspectos anatômicos e fisiológicos, interferindo na qualidade das plântulas durante o processo de aclimatização (Kagawua et al., 1992). Além de reguladores de crescimento, a luz também pode influenciar na taxa de multiplicação. Os componentes comprimento de onda e densidade de fluxo luminoso podem ter efeitos positivos ou negativos no cultivo *in vitro*. Sendo assim, é possível manipular o ambiente de luz em busca de melhores formas de cultivo. A qualidade espectral da luz também pode ser manipulada para a obtenção de melhores resultados. Algumas características na morfogênese de plantas em diferentes espectros poderiam ser potencializadas, podendo até substituir algumas fontes externas de reguladores adicionadas ao meio (Braga, 2006).

Diante do exposto, seja em relação à importância da cultura do abacaxi, ou alguns aspectos a serem considerados na micropropagação, o presente trabalho teve como objetivo a produção de um maior número de mudas com menor custo de abacaxizeiro Gomo de mel.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais da cultura e mercado

O abacaxi (*Ananas comosus*) é uma frutífera tropical, originalmente cultivada em terras recém desmatadas sendo, por isso, considerada uma planta rústica além de apresentar características morfológicas, anatômicas e fisiológicas que lhe permitem sobreviver em condições ambientais adversas. A produção econômica do abacaxizeiro, entretanto, requer tratos culturais cuidadosos e freqüentes (Cunha, 1999).

É uma planta monocotiledônea, herbácea da família *Bromeliaceae*, cujo gênero mais importante é o *Ananas* e outras espécies que são utilizadas para produção de fibras ou ornamentação. As cultivares mais plantadas no mundo são classificadas nos grupos Cayenne, Spanish, Queen, Pernambuco e Pérola, de acordo com um conjunto de características comuns, tais como porte da planta, número de filhotes e rebentões, comprimento da folha, presença de espinhos na folha, cor das folhas, peso e forma dos frutos, formas dos frutinhos e sabor dos frutos (Py et al., 1984).

O fruto é composto, do tipo sorose, formando de 100 a 200 frutinhos simples do tipo baga, inseridos sobre uma haste central, em disposição espiralada e intimamente soldados entre si. No ápice existe um tufo de folhas denominado coroa. A casca é formada pela união de brácteas e sépalas das flores que dão origem aos frutinhos (Medina, 1987).

A cultura pode suportar períodos mais secos, devido à disposição de suas folhas em forma de canaleta, que podem captar e armazenar água em seu interior (Silva & Sanábio, 1996). No entanto, maiores rendimentos e frutos de qualidade são obtidos quando ela é bem suprida de água. Chuvas de 1.200 a 1.500 mm anuais, bem distribuídas, são adequadas para a cultura. Em regiões

que apresentam períodos secos prolongados, a prática de irrigação torna-se, muitas vezes, indispensável (Cunha, 1999).

As raízes atingem pouca profundidade no solo, onde 97% do sistema radicular de uma planta, de doze meses da cultivar Pérola, encontra-se na faixa de 0 a 20 cm (Inforzato et al., 1968). O sistema radicular é sensível ao encharcamento, podendo apodrecer as raízes das plantas. A cultura desenvolve-se melhor em solos de textura média e bem drenados.

A fusariose, doença causada pelo fungo *Fusarium subglutinans* f. sp. *Ananas*, é um dos principais fatores limitantes à cultura do abacaxizeiro, apesar de ocorrer no Brasil desde 1962 (Kimati & Tokeshi, 1964). Segundo Sampaio (1997), a doença provoca perdas em todo o país, estimadas de 30% a 40%, chegando, em algumas regiões, a índices superiores a 80%. Além das perdas em frutos, que apresentam má aparência devido às lesões, a doença pode afetar até 40% do material propagativo e 15% a 20% das plantas antes de atingirem a frutificação.

A Tailândia é o maior produtor mundial da fruta, com 1,9 milhão de toneladas. O Brasil está em segundo lugar, com produção de 1,4 milhão de toneladas, seguido pela Indonésia. Outros países, como as Filipinas, Costa Rica, China e Índia merecem destaque, apresentando um aumento da área plantada (Food Agricultural Organization - FAO, 2009).

No Brasil, o abacaxizeiro é cultivado em quase todos os estados, e 81% da produção nacional concentra-se nos estados de Minas Gerais (19,90%), Paraíba (19,40%), Pará (17,50%), Bahia (8,3%), São Paulo (6,60%), Goiás (3,60%), Tocantins (2,90%) e Espírito Santo (2,80%) (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2008).

Minas Gerais destaca-se por ser o maior exportador da fruta no país, e em termos de rentabilidade, o abacaxi vem apresentando resultados extremamente positivos. De acordo com dados da Embrapa Mandioca e

Fruticultura, um hectare de abacaxi gera aproximadamente 47 toneladas, que rendem um montante de R\$ 8,8 mil a R\$ 22,6 mil, dependendo da qualidade do produto e do canal de vendas. Calcula-se que as frutas destinadas para o mercado externo garantem receita de 50% superior ao preço praticado no mercado interno.

A produtividade brasileira é considerada baixa, 25 a 30 t/ha, quando comparada com a de outros países que apresentam produtividade de 50 a 60 t/ha. Isso ocorre devido a fatores como problemas fitossanitários, práticas culturais inadequadas e organização incipiente dos produtores.

2.1.1 Cultivar Gomo de Mel

O cultivar Gomo de Mel ou abacaxi-de-gomo foi introduzido da China em 1991, provavelmente resultante de um cruzamento natural, incorporado no mesmo ano ao banco de germoplasma de abacaxizeiros do Instituto Agrônomo de Campinas/SP (Figura 1).



FIGURA 1 Cultivar 'Gomo-de-mel'. Lavras, 2009.

Justifica-se o nome devido ao fato dos frutinhos serem soldados menos fortemente entre si, ao contrário do que ocorre em outros cultivares, podendo serem facilmente destacáveis no fruto maduro.

Os frutos desta cultivar são pequenos, de formato quase cilíndrico, com casca de espessura média, apresentando coloração amarelo-ouro quando maduro. Os frutinhos são grandes e salientes, o que provavelmente confere maior resistência ao transporte. A polpa apresenta coloração amarelo-ouro, suculenta, textura macia e com cilindro central de tamanho médio (2,9 cm). A porcentagem de sólidos solúveis (°Brix) é muito elevada e praticamente semelhante na base, meio e ápice do fruto. Apresenta baixa acidez titulável e teor de vitamina C semelhante ao do 'Smooth Cayenne' e menor do que o do 'Pérola'.

Apresenta um número elevado de folhas (40), compridas, largas e espinhosas em toda a extensão do bordo da lâmina foliar, e de coloração verde-escura. O ciclo total, do plantio à maturação de frutos, é de 19,5 meses (IAC, 2008).

Este cultivar, como outros presentes no mercado, apresenta suscetibilidade a fusariose (*Fusarium subglutinans*), mas apresenta moderada resistência aos nematóides. Possui uma boa “vida-de-prateleira”, podendo durar até 12 dias depois de maduro, quando comparado com as cultivares tradicionais, talvez pela maior resistência ao transporte.

O Gomo-de-mel é especialmente recomendado para mesa e as técnicas de plantio, manutenção e colheita de frutos, idênticas às utilizadas para as demais cultivares disponíveis.

2.1.2 Comercialização do Gomo-de-mel

Embora as características do abacaxi gomo-de-mel sejam bastante atraentes, ainda não houve incentivo em relação a sua produção. A falta de pesquisa e a indisponibilidade de mudas no mercado são hoje o maior entrave

para sua produção e comercialização. Estudos devem ser realizados principalmente para a obtenção de um produto maior, já que, em relação às espécies cultivadas atualmente, o fruto do abacaxi gomo-de-mel apresenta características menores, como tamanho do próprio fruto e tamanho da coroa, comparadas aos cultivares Smooth Cayenne e Pérola, disponíveis hoje no mercado (Oliveira, 2007).

No interior do estado de São Paulo, na região de Rio Claro, alguns produtores têm investido na produção do abacaxi gomo-de-mel, como implantação do consórcio de culturas. O fruto está sendo plantado entre as fileiras de plantas de seringueira. Para alguns produtores, o negócio se tornou altamente rentável.

No final do ano de 2009, o produto estava sendo comercializado entre R\$ 2,50 a R\$ 3,00 a unidade, valor superior se comparado aos outros cultivares, o que satisfaz ainda mais o produtor, pois o custo de produção não ultrapassa o valor de R\$ 0,70. A produção tem destino certo: 10% da mercadoria vai para o mercado regional, a maior parte do que é produzido vai para a capital, mesmo assim sendo insuficiente para manter todo o mercado nacional (Central de Abastecimento de Minas Gerais - CEASA, 2009).

2.2 Micropropagação

A micropropagação é um método de propagação vegetativa amplamente estudado nas mais diversas espécies vegetais, sendo a modalidade dentro da cultura de tecidos que mais tem difundido e encontrado aplicações práticas comprovadas. No caso do abacaxizeiro, tal técnica está sendo utilizada comercialmente visando à produção de novas cultivares e o aumento na quantidade de mudas (Albuquerque, 1998). Sita et al. (1974) obtiveram formação de plantas a partir de gemas apicais de mudas de abacaxi, cultivadas *in vitro*.

Para iniciar o cultivo *in vitro* e para o posterior crescimento e desenvolvimento das plantas, são utilizados reguladores vegetais, principalmente citocininas e auxinas. O meio de cultura mais utilizado para a micropropagação do abacaxi é o MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com reguladores vegetais.

A utilização da micropropagação em âmbito comercial já é uma realidade, pois não só garante a produção de mudas em grande escala, como assegura a fitossanidade e qualidade genética da mesma. Isso garante ao produtor uma maior produtividade, lucratividade e redução no uso de agroquímicos.

Considerando ainda que a fusariose é a doença mais importante do abacaxizeiro e se propaga basicamente por mudas contaminadas, pela técnica do cultivo *in vitro* todas as possibilidades de multiplicação deste fungo se tornam quase que inexistentes através das mudas sadias produzidas em laboratório.

2.2.1 Estiolamento

O estiolamento é o desenvolvimento de brotos, ramos ou partes destes em ausência de luz, o que causa o crescimento, geralmente alongado e com coloração amarela ou branca devido à ausência de clorofila (Hartmann & Kester, 1990).

A micropropagação do abacaxizeiro é normalmente mais demorada que outras espécies, neste sentido, estudos realizados por Kiss et al. (1995) propuseram um método de propagação rápida do abacaxi baseado na formação de segmentos nodais a partir do estiolamento de plantas *in vitro*. Segundo este autor, esta técnica permite a regeneração de um grande número de plantas com menos riscos de variação somaclonal.

A técnica do estiolamento tem efeito tanto morfológico quanto fisiológico na planta. Os efeitos morfológicos incluem coloração branca, alongamento dos internódios e aumento da suculência, proporcionando

decréscimo na barreira mecânica dos tecidos do caule devido à menor lignificação e espessura das paredes celulares (Maynard & Bassuk, 1996). O estiolamento atrasa a lignificação da parede celular, e essa redução das propriedades mecânicas dos tecidos é responsável pela facilidade de enraizamento provocada nas brotações estioladas (Biasi, 1996).

Os efeitos fisiológicos incluem o metabolismo e transporte de auxina, alterações na sensibilidade dos tecidos à auxina e alterações no conteúdo de compostos fenólicos. Acredita-se que a luz diminui a eficiência do ácido indolacético (AIA) sem mudar o seu conteúdo. No caso de enraizamento de estacas, estas, quando bem iluminadas, requerem um maior acúmulo de auxina para estimularem a iniciação radicular (Maynard & Bassuk, 1988). O estiolamento pode favorecer o enraizamento, porque a degradação do AIA é maior na presença de luz (Kawase, 1965).

2.2.2 Qualidade de luz

O fator luz é fundamental para o desenvolvimento de plântulas cultivadas *in vitro*. A luz influencia em aspectos anatômicos e fisiológicos, interferindo na qualidade das plântulas durante o processo de aclimatização. Além de reguladores de crescimento, a luz também pode influenciar na taxa de multiplicação. Comprimento de onda e densidade de fluxo luminoso podem ter efeitos positivos ou negativos no cultivo *in vitro*. Sendo assim, é possível manipular o ambiente de luz em busca de melhores formas de cultivo. A qualidade espectral da luz também pode ser manipulada para a obtenção de melhores resultados. Algumas características na morfogênese de plantas em diferentes espectros poderiam ser potencializadas, podendo até substituir algumas fontes externas de reguladores adicionadas ao meio (Frankhauser & Chory, 1997).

Sabe-se que o fator luz é capaz de influenciar intensamente a fotossíntese, a concentração de clorofila e a ultra-estrutural de cloroplastos. Em avaliações de cultivos de *Liquidam bar styraciflua*, a baixa capacidade fotossintética não representa um fator limitante para a aclimatização de plântulas e para o crescimento dos materiais transplantados (Lee et al., 1985). Sendo assim, as dificuldades de sobrevivência das plântulas transplantadas são, provavelmente, relacionadas com as adaptações relativas às relações hídricas, uma vez que essas plântulas apresentam um desenvolvimento cuticular reduzido e mesofilo com grandes espaços intercelulares e também divergentes configurações de estômatos, com reduzida funcionalidade (Wetzstein & Sommer, 1983).

A qualidade espectral afeta estruturalmente a anatomia das folhas, parecendo exercer maiores efeitos durante a expansão foliar, exibindo alto grau de plasticidade tanto anatômico como fisiológico para mudanças na qualidade espectral da luz (Sims & Pearcy, 1992; Saebo et al., 1995; Schubeger et al., 1997).

Já são bem estudados os efeitos das alterações espectrais da luz sobre processos, com germinação, inibição de alongamento do hipocótilo, expansão dos cotilédones e das folhas, enverdecimento e biossíntese de pigmentos, alongamento do caule e indução ao florescimento (Saitou et al., 2004; Taiz & Zeiger, 2004; Tsegay et al., 2005).

A dependência das plantas à luz é um processo complexo que envolve a ação combinada de fotorreceptores que controlam estágios variados no desenvolvimento (Shahak, 2008). São conhecidas três classes de fotorreceptores consideradas principais: criptocromos e fototropinas, que absorvem luz nas regiões do azul e ultravioleta e os fitocromos, que absorvem luz nas regiões do vermelho e vermelho distante (Saitou et al., 2004; Niemi et al., 2005). Os mecanismos pelos quais tais fotorreceptores regulam as respostas são, ainda, desconhecidos na sua maioria.

2.2.3 Reguladores de crescimento

A composição e concentração de hormônios no meio são fatores determinantes no crescimento e no padrão de desenvolvimento na maioria dos sistemas de cultura de tecidos. Conforme Torres et al. (1998), o acréscimo de reguladores de crescimento ao meio nutritivo é utilizado para suprir possíveis deficiências endógenas e melhorar as características de cultivo *in vitro*.

Utiliza-se muito no meio nutritivo a junção de duas classes ou grupos destes hormônios, as auxinas e citocininas, ambos atuam juntos na cultura de tecidos vegetais promovendo a divisão celular.

As principais auxinas utilizadas são o ácido indolbutírico (AIB), o ácido naftaleno acético (ANA) e o ácido indol acético (AIA), estimulando a síntese ou desinibindo a ação de enzimas que atuam sobre as microfibrilas da parede celular, resultando em aumento de plasticidade da membrana (Weaver, 1976).

O BAP (6-benzilaminopurina), uma citocinina sintética, é adicionado ao meio de cultura para melhorar a micropropagação, com aumento de número de gemas, folhas e brotos, e para induzir um acréscimo na produção de massa fresca e qualidade de plantas cultivadas. O ANA, adicionado ao meio, tende a inibir o crescimento normal da parte aérea, porém, se empregado associado com o BAP, favorece ainda mais a qualidade das plantas micropropagadas (Torres et al., 1998).

As giberelinas, outra classe de hormônio, tendem a alongar as brotações durante a multiplicação *in vitro* e variam conforme a interação existente com outros reguladores de crescimento, dependendo da espécie propagada *in vitro* (George, 1996). Estudos relatam a necessidade do GA₃ para o alongamento das brotações de *Rollinia mucosa*. Gomes (1999) observou que a utilização de GA₃ em concentrações que variam de 1 a 6 mg.L⁻¹ favorece o crescimento e o desenvolvimento *in vitro* de brotações de moreira (*Morus nigra*).

2.2.4 Sacarose no meio de cultura

Células, tecidos e órgãos cultivados *in vitro* são heterotróficos e dependem de uma fonte externa de carbono. Os carboidratos fornecem energia e esqueleto de carbono necessário à síntese de polissacarídeos, aminoácidos e proteínas. Na cultura de tecidos, a fonte mais comum de carboidrato utilizada é a sacarose, que pode ser total ou parcialmente hidrolisado em glicose e frutose, essenciais aos processos metabólicos dos vegetais. Dentre as características que conferem importância à utilização da sacarose como principal fonte de carbono, destacam-se: sua alta solubilidade e a rápida metabolização, uma vez que os produtos de sua hidrólise serão utilizados na via glicolítica ou na rota das pentose-fosfato ou, ainda, serão armazenadas nos vacúolos como amido (Pasqual, 2001).

A concentração de sacarose no meio tem efeito sobre a multiplicação e o crescimento da espécie micropropagada, utilizando-se comercialmente 2% a 4% (peso por volume). Abaixo dessa faixa, as plântulas podem apresentar clorose; acima dela, pode-se acarretar problemas, devido ao excessivo potencial osmótico do meio (Grattapaglia & Machado, 1998). George (1993) observa que a presença de sacarose no meio de cultura inibe a formação de clorofila e, conseqüentemente, a fotossíntese, prejudicando o crescimento autotrófico. Alguns autores demonstraram que o cultivo de plantas em meio com concentrações de sacarose entre 20 a 30 g.L⁻¹ propiciaram acúmulo de açúcares solúveis na folha, sob a forma de grãos de amido no cloroplastídeo, o que pode levar à inibição da síntese de rubisco e clorofila, reduzindo as taxas de fotossintéticas (Jackson, 1999).

Debergh (1988) afirma que a redução, ou até mesmo a eliminação da sacarose do meio de enraizamento devem ser utilizadas com a finalidade de facilitar a passagem das plantas para o estágio autotrófico no transplântio para a fase de aclimatização.

2.2.5 Estado físico do meio de cultura

Os meios nutritivos são formados por múltiplos componentes, sendo bastante variáveis em função da espécie vegetal e da origem do explante. Esses meios são constituídos de componentes essenciais e opcionais. Os essenciais compreendem a água, os sais inorgânicos, a fonte de carbono e energia, vitaminas e substâncias reguladoras de crescimento. Entre os componentes adicionais estão incluídos os aminoácidos e amidas, ácidos orgânicos e substâncias naturais complexa.

A constituição física do meio pode ser sólida ou líquida. No caso do abacaxi, vários protocolos de estabelecimento *in vitro* da cultura ressaltam um melhor resultado quando utilizado o meio líquido, conforme verificado por Guerra et al. (1999).

Trabalhos com outras espécies também verificaram a eficiência do meio líquido. 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 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 hiperhídrico, provavelmente devido à maior absorção de nutrientes e reguladores de crescimento do meio, não apenas através da base cortada do explante, mas de toda sua superfície (Snir & Erez, 1980; Grattapaglia & Machado, 1990).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, C. C. **Estudos de cultivares de abacaxizeiro (*Ananás comosus* L. Merr.) propagadas in vitro quanto à resistência a fusariose.** 1998. 85 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Rural de Pernambuco, Recife.
- BIASI, L. A. **Avaliação do desenvolvimento inicial de porta-enxerto e de mudas de videira obtidos através de diferentes métodos de propagação.** 1996. 177 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- BRAGA, F. T. **Ambiente de cultivo na propagação in vitro de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* TZVELEV cv. Rage): características anatômicas e fisiológicas.** 2006. 119 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- CENTRAL DE ABASTECIMENTO DE MINAS GERAIS. **Preço mais comum nos estados.** Disponível em:
<http://minas.ceasa.mg.gov.br/internet_nova/precosEstados/precosEstados.php>
. Acesso em: 3 mar. 2009.
- CUNHA, G. A. P. Aspectos agroclimáticos. In: CUNHA, G. A. P.; CABRAL, J. R. S.; SOUZA, L. F. da S. **O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia.** Brasília: EMBRAPA, 1999. p. 53-66.
- DEBERGH, P. C. Control of *in vitro* plant propagation. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BIOTECNOLOGIA DE PLANTAS, 1., 1988, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: CEBTEC-FEALQ-USP, 1988. p. 351-358.
- DEWALD, M. G.; MOORE, G. A.; SHERMAN, W. B.; EVANS, M. H. Production of pineapple plants *in vitro*. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 7, n. 7, p. 535-538, Dec. 1988.
- FITCHET, M. Clonal propagation of queen and smooth cayenne pineapples. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 275, n. 94, p. 261-266, July 1990.
- FOOD AGRICULTURAL ORGANIZATION. **Production crops.** Disponível em: <<http://apps.fao.org/lim500/nphwrap.pl>>. Acesso em: 25 jan. 2009.

FRANKHAUSER, C.; CHORY, J. Light control of plant development. **Annual Review Cellular Development and Biology**, Palo Alto, v. 13, p. 203-229, 1997.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**: part 1, the technology. 2. ed. Edington: Exegetics, 1996. 574 p.

GOMES, G. A. C. **Propagação *in vitro* de Moreira (*Maclura tinctoria*)**. 1999. 91 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPq, 1990. p. 99-170.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, 1998. v. 1, 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.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E. **Propagation de plantas**: princípios y practicas. México: Continental, 1990. 760 p.

INFORZATO, R.; GIACOMELLI, E. J.; ROCHELLE, L. A. Sistema radicular do abacaxizeiro aos 4, 8, 12 meses, plantado no início da estação seca em solo latossolo vermelho escuro-orto. **Bragantia**, Campinas, v. 27, n. 11, p. 135-141, mar. 1968.

INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS. **Centro avançado de pesquisa tecnológica do agronegócio das frutas**. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/UniPesquisa/Fruta/Destaque/Gomo_de_Mel.asp>. Acesso em: 10 fev. 2008

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção agrícola**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 10 dez. 2008.

JACKSON, S. D. Multiple signaling pathways control tuber induction in potato. **Plant Physiology**, Rockville, v. 119, n. 85, p. 1-8, Dec. 1999.

- KAGAWUA, T. S.; ISHIGURO, S.; TABATA, S.; OKADA, K. *Arabidopsis* NPL1: a phototropin homologue controlling the chloroplast high-light avoidance response. **Science**, Washington, v. 291, n. 5511, p. 2128-2141, Mar. 1992.
- KAWASE, M. Etiolation and rooting in cuttings. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 18, n. 63, p. 1066-1076, Jan. 1965.
- KIMATI, H.; TOKESHI, H. Nota sobre a ocorrência de *Fusarium* sp. causando resinose em abacaxi. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 39, n. 3, p. 131-133, set. 1964.
- KISS, E.; KISS, J.; GYULAI, G.; HESZKY, L. E. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. **HortScience**, Amsterdam, v. 30, n. 253, p. 127-129, Feb. 1995.
- LANGFORD, P. J.; WAINWRIGHT, M. Effects of sucrose concentration on the photosynthesis ability of rose shoots *in vitro*. **Annals of Botany**, London, v. 60, n. 6, p. 633-640, June 1987.
- LEE, N.; WEZSTEIN, Y.; SOMMER, H. E. Effects of quantum flux density on photosynthesis and chloroplast ultrastructure in tissue-cultured plantlets and seedlings of *Liquidambar styraciflua* L. reports improved acclimatization and field survival. **Plant Physiology**, Rockville, v. 78, n. 3, p. 637-641, Mar. 1985.
- MAYNARD, B. K.; BASSUK, N. L. Etiolation and banding effects on adventitious root formation. In: DAVIS, T. R. **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Koogan, 1988. v. 2, p. 29-46.
- MAYNARD, B. K.; BASSUK, N. L. Effects of stock plant etiolation, shading, banding, and shoot development on histology and cutting propagation of *Carpinus betulus* L. *fastigiata*. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 121, n. 5, p. 853-860, Sept. 1996.
- MEDINA, J. C. Abacaxi: cultura. In: INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Frutas tropicais 2: abacaxi**. Campinas, 1987. p. 1-132.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, May 1962.

NIEMI, K.; JULKUNEN-TIITTO, R.; TEGELBERG, R.; HAGGMAN, H. Light sources with different spectra affect root and mycorrhiza formation in Scot pine *in vitro*. **Tree Physiology**, Victoria, v. 25, n. 1, p. 123-128, Jan. 2005.

OLIVEIRA, S. L. de. Apresentação. In: CUNHA, G. A. P.; CABRAL, J. R. S.; SOUZA, L. F. da S. **O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia**. Brasília: EMBRAPA, 2007. p. 15.

PASQUAL, M. **Meios de cultura**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 74 p.

PY, C.; LACOUÉUILLE, J. J.; TEISSON, C. **L'ananas, sa culture, ses produits**. Paris: Maisonneuve et ACCT, 1984. 562 p.

SAEBO, A.; KREKLING, T.; APPELGREN, M. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of birch plantlets *in vitro*. **Plan Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 41, n. 2, p. 177-185, May 1995.

SAITOU, T.; HASHIDUME, A.; TOKUTOMI, S.; KAMADA, H. Reduction of phytochrome level and light-induced formation of adventitious shoots by introduction of antisense genes for phytochrome A in horseradish hairy roots. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Netherlands, v. 76, n. 1, p. 45-51, Jan. 2004.

SAMPAIO, A. C. A importância do roguing na cultura do abacaxizeiro. **Informativo SBF**, Brasília, v. 16, n. 1, p. 14, 1997.

SCHUERGER, A. C.; BROWN, C.; STRYJEWSKI, E. C. Anatomical features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) growth under red light emitting diodes supplemented with blue or far-red light. **Annals of Botany**, London, v. 79, n. 3, p. 273-282, Mar. 1997.

SILVA, C. R. de R. e; SANÁBIO, D. **Cultura do abacaxizeiro informações básicas**. Lavras: UFLA, 1996. 91 p. (Boletim Técnico, 9).

SIMS, D. A.; PEARCY, R. W. Response of leaf anatomy and photosynthetic capacity in *Alocasia macrorrhiza* (Araceae) to a transfer from low to high light. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 79, n. 4, p. 449-455, Apr. 1992.

SITA, G. L.; SINGH, R.; IYER, C. P. A. Plantlets through shoot-tip cultures in pineapple. **Current Science**, Columbus, v. 43, n. 22, p. 724-725, Nov. 1974.

SHAHAK, Y. **Colored shade nets a new ago-technology**: current research in ornamental. Disponível em: <<http://www.polysack.com>>. Acesso em: 29 nov. 2008.

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

SOUZA, J. S.; CARDOSO, C. E. L.; TORRES FILHO, P. Situação da cultura no mundo e no Brasil e importância econômica. In: CUNHA, G. A. P.; CABRAL, J. R. S.; SOUZA, L. F. S. **O abacaxizeiro**: cultivo, agroindústria e economia. Brasília: EMBRAPA, 1999. p. 403-428.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 484 p.

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, Goiânia. **Anais...** Goiânia: UFG, 2003. p. 350.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. v. 1, 509 p.

TSEGAY, B. A.; OLSEN, J. E.; JUNTILLA, O. Effect of red and far-red light on inhibition of hypocotyls elongation in ecotypes of *Betula pendula* Roth. **American Journal of Biotechnology**, New York, v. 4, n. 1, p. 50-56, 2005. Disponível em: <<http://www.academicjournals.org/AJB>>. Acesso em: 24 jan. 2009.

WAINWRIGHT, H.; SCRACE, J. Influence of *in vitro* preconditioning with carbohydrates during the rooting of microcuttings on *in vitro* establishment. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 38, n. 3/4, p. 261-267, Mar. 1989.

WEAVER, R. J. **Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura**. México: Trillas, 1976. 622 p.

WETZSTEIN, H. Y.; SOMMER, H. E. Scanning electron microscopy of *in vitro* cultured *Liquidambar styraciflua* plantlets during acclimatization. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 108, n. 3, p. 475-780, May 1983.

CAPÍTULO 2

BAP e GA₃ no estiolamento *in vitro* de abacaxizeiro ‘Gomo de Mel

1 RESUMO

O abacaxizeiro é uma monocotiledônea da família *Bromeliaceae*, uma frutífera tropical. O Brasil é o segundo maior produtor mundial da fruta. A cultivar Gomo de Mel apresenta consistência tenra, suculência e coloração amarelo ouro atraente, apresentando gomos que se destacam manualmente. Seu cultivo *in vitro* visa à produção de mudas em escala comercial. Objetivou-se avaliar diferentes concentrações dos reguladores de crescimento BAP e GA₃ no estiolamento *in vitro* de abacaxizeiro ‘Gomo de Mel’. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x4 com quatro repetições. Testaram-se 4 concentrações de BAP (0; 0,25; 0,5 e 1,0 mg.L⁻¹) e GA₃ (0; 0,5; 1,0 e 2,0 mg.L⁻¹) acrescidos ao meio MS, sendo os explantes mantidos em sala de crescimento no escuro para estiolamento. Após 45 dias, foram avaliados número de folhas, número de raízes, número de brotos, comprimento da parte aérea e biomassa seca. Para as características avaliadas, a ausência de BAP favoreceu os melhores resultados, exceto para número de brotos e massa seca. O comprimento de parte aérea foi favorecido pela adição de GA₃.

Palavras-chaves: Bromeliaceae, reguladores de crescimento, micropropagação.

2 ABSTRACT

The pineapple is a monocot family Bromeliaceae, a tropical fruit. Brazil is the second largest producer of fruit. Cultivar Gomo Mel has to tenderness, juiciness and attractive yellow gold, with buds that stand out manually. Cultivation in vitro will produce seedlings in a commercial scale. Aimed to evaluate the effect of growth regulators BAP and GA₃ in shading in vitro pineapple 'Gomo de mel'. The experiment was conducted in a completely randomized in a 4x4 factorial with four replications. Were tested 4 concentrations of BAP (0, 0.25, 0.5 and 1.0 mg.L⁻¹) and GA₃ (0, 0.5, 1.0 and 2.0 mg.L⁻¹) plus the MS medium, and the explants maintained in a growth chamber in the dark for etiolation. After 45 days, were evaluated number of leaves, number of roots, number of shoots, shoot length and dry biomass. For measured characteristics, the absence of BAP promoted the best results, except for number of shoots and dry. The length of the shoot was favored by the addition of GA₃.

Kew words: Bromeliaceae, growth regulators, micropropagation.

3 INTRODUÇÃO

O abacaxizeiro 'Gomo-de-mel' ou abacaxi-de-gomo foi introduzido da China em 1991, juntamente com outros materiais genéticos, resultante de cruzamento natural. Foi incorporado no mesmo ano ao banco de germoplasma de abacaxizeiros do Instituto Agronômico, em Campinas (IAC). Apresenta um elevado °Brix (doçura), de baixa a moderada acidez, consistência tenra, suculência e coloração atraente (amarelo-ouro), ao contrário dos cultivares atualmente disponíveis para o consumo *in natura* ('Pérola' e 'Smooth Cayenne'). É suscetível à fusariose, como algumas cultivares comerciais, mas apresenta moderada resistência a nematóides e também uma boa "vida-de-prateleira" quando maduro (até 12 dias, em condições ambientes), maior que as cultivares tradicionais, talvez em virtude de sua resistência ao transporte.

A micropropagação é um método de propagação vegetativa amplamente estudada nas mais diversas espécies vegetais, sendo a modalidade dentro da cultura de tecidos que mais tem difundido e encontrado aplicações práticas comprovadas. No caso do abacaxizeiro, tal técnica está sendo utilizada comercialmente visando à produção de novas cultivares e o aumento na quantidade de mudas (Albuquerque, 1998).

A proliferação de gemas axilares é, geralmente, preferida na micropropagação. É comum ocorrer simultaneamente a proliferação de gemas axilares e a formação de gemas adventícias na base do explante. Gemas adventícias são desejáveis, desde que a formação do calo seja mínima ou nula. Nesta condição, os dois fenômenos dificilmente podem ser separados, pois ambos se devem à ação da citocinina do meio de cultura sobre todo o tecido (Grattapaglia & Machado, 1998). Kiss et al. (1995) e desenvolveram um método para produção de mudas de abacaxi *in vitro*, usando segmentos nodais estiolados. Segundo estes autores, 80.000 plantas podem ser regeneradas no

período de um ano através de uma planta primária, com a vantagem de evitar lesões na zona de regeneração, impedindo a formação de calo. Com isso, é possível que o método proporcione baixos níveis de variabilidade fenotípica. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes concentrações dos reguladores de crescimento BAP e GA₃ no estiolamento *in vitro*, do abacaxi ‘Gomo de Mel’.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Agricultura da UFPA, Lavras, MG. Utilizaram-se explantes de plantas de abacaxizeiro 'Gomo-de-mel', já estabelecidas *in vitro*. Os explantes foram inoculados em meio de cultivo MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com 30 g.L⁻¹ de sacarose, 5 g.L⁻¹ de ágar, 0,1 mg.L⁻¹ de ácido naftaleno acético (ANA) e adicionado de 6-benzilaminopurina BAP (0; 0,25; 0,5 e 1,0 mg.L⁻¹) combinada com ácido giberélico GA₃ (0; 0,5; 1,0 e 2,0 mg.L⁻¹). O pH foi ajustado para 5,8±0,1 antes da autoclavagem, a 121°C e 1,5 atm, por 20 minutos. As gemas de abacaxi foram inoculadas em frascos com capacidade para 300 mL de meio cada.

Após a adição de 20 mL de meio em cada frasco, os mesmos foram vedados com tampas plásticas translúcidas e filme plástico e, em seguida, transferidos para sala de crescimento no escuro para efeito do estiolamento. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), constando de dezesseis tratamentos com quatro repetições, cada repetição representada por um frasco contendo quatro explantes cada um, em esquema fatorial 4x4.

Após 45 dias, foram avaliados número de folhas (NF), número de raízes (NR), número de brotos (NB), comprimento da parte aérea (CPA) e massa seca de plantas (MS). Os dados avaliados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa estatístico Sisvar, feito em seguida à análise de regressão.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação significativa entre os fatores estudados, exceto para número de brotos (NB). A variável número de folhas (NF) não apresentou significância para ambos os fatores. O comprimento de parte aérea (CPA) e massa seca de plantas (MS) apresentaram significância dos fatores estudados isoladamente, enquanto que a variável número de raiz (NR) apresentou significância apenas para o fator BAP.

Através do desdobramento da interação, constatou-se que houve significância apenas entre o fator BAP e a concentração de 1,0 mg. L⁻¹ de GA₃, para a variável número de brotos. Através do gráfico, verifica-se que há maior número médio de brotações do abacaxizeiro ‘Gomo de Mel’ estiolados *in vitro*, com a adição de 1,0 mg. L⁻¹ de GA₃ e 1,0 mg. L⁻¹ de BAP, o qual proporciona a obtenção média de aproximadamente 4 brotações (Figura 1).

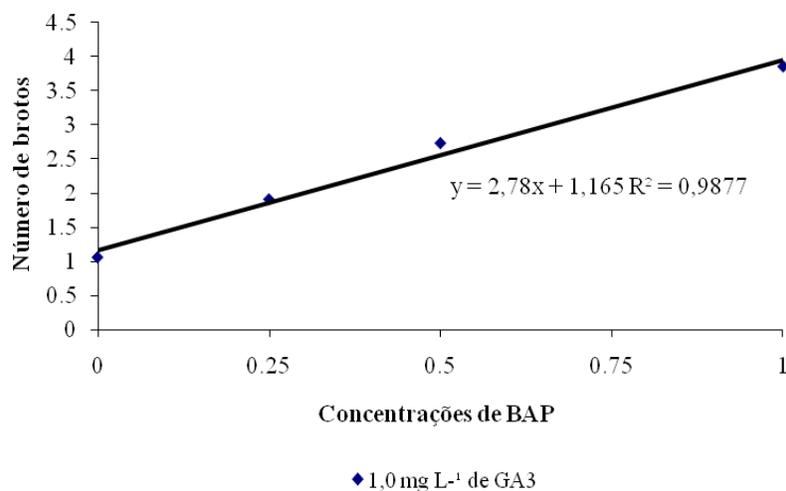


FIGURA 1 Número médio de brotações de plântulas de abacaxizeiro ‘Gomo de Mel’ estiolados *in vitro* com diferentes concentrações de BAP e GA₃.

Madeira et al. (2005), trabalhando com mandioquinha-salsa, observou que à medida que se elevou a concentração de BAP, ocorreu formação de plantas com menor altura, porém com maior número de brotações. No entanto, no presente trabalho, o acréscimo de GA₃ favoreceu o crescimento dos explantes. Resultado semelhante foi observado por Santos et al. (2007), onde aos 60 dias de cultivo *in vitro* o número médio de brotações (4,0) foi obtido em meio MS acrescido de 0,86 mg.L⁻¹ de BAP.

De acordo com Roca & Mroginski (1991), o BAP é uma das citocininas mais utilizadas na indução de brotos. Entretanto, a concentração recomendada varia consideravelmente entre os diferentes laboratórios que trabalham com micropropagação de abacaxizeiro.

Para o número médio de raízes houve efeito somente para o fator BAP, embora a ausência desse fitorregulador propiciou maior emissão de raízes (2,78) (Figura 2).

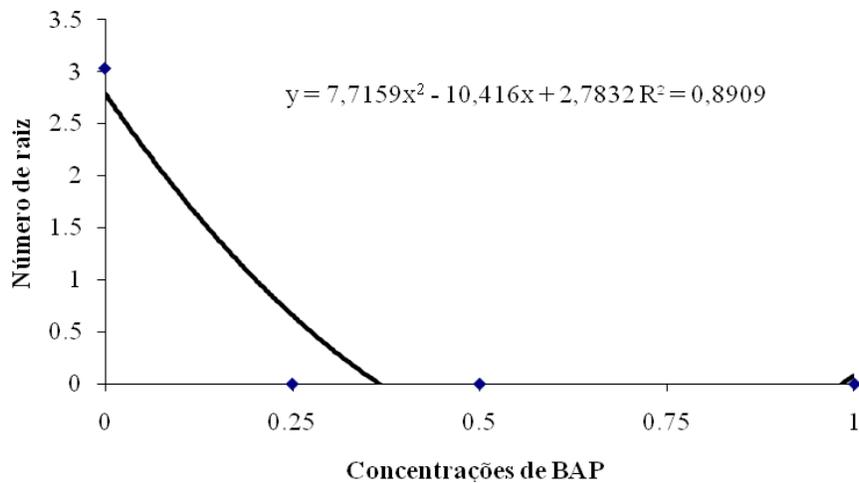


FIGURA 2 Número médio de raízes de brotações de abacaxizeiro ‘Gomo de Mel’ estioladas *in vitro* com diferentes concentrações de BAP.

Segundo Assis & Teixeira (1998), as giberelinas têm demonstrado ação inibitória no enraizamento por interferir na atividade de auxinas e inibir a divisão celular, associada com a fase de iniciação radicular. Debergh & Maene (1981) afirmam que da mesma forma que ocorre no enraizamento convencional muitas espécies enraízam facilmente *in vitro* e frequentemente produzem raízes sem nenhum tratamento específico.



FIGURA 3 Brotações de abacaxizeiro ‘Gomo de Mel’ *in vitro*, na ausência e presença de fitorreguladores, evidenciando o aparecimento e ausência de raízes.

A ausência de BAP promoveu maior comprimento da parte aérea (6,81 cm) (Figura 4). Já para o fitorregulador GA₃, a concentração de 2 mg. L⁻¹ favoreceu o maior comprimento da parte aérea, obtendo-se 4,64 cm (Figura 5).

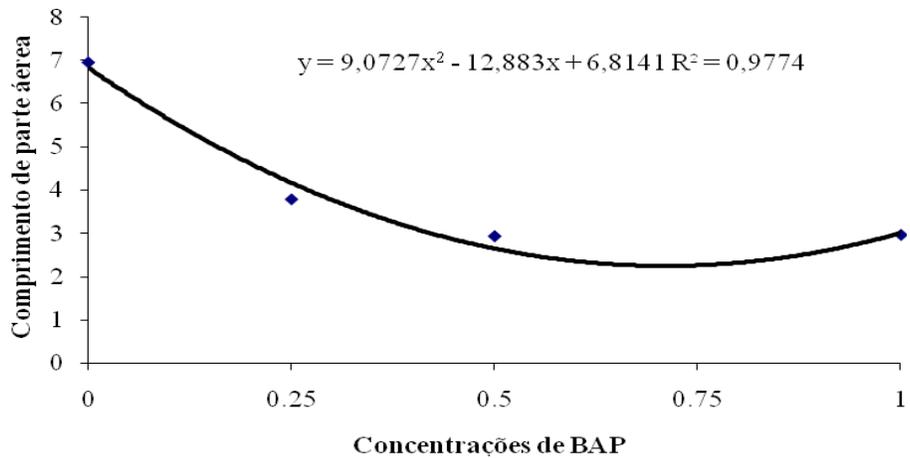


FIGURA 4 Comprimento médio da parte aérea de brotações de abacaxizeiro 'Gomo de Mel' estiolados *in vitro* com diferentes concentrações de BAP.

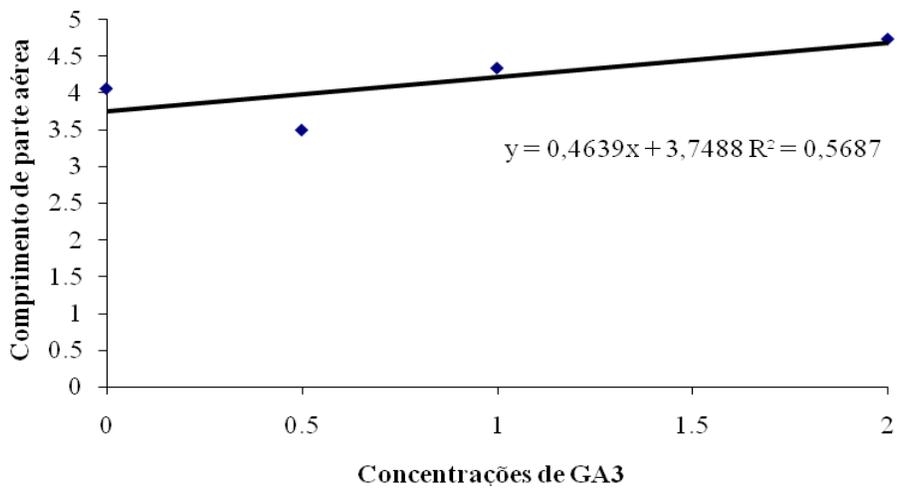


FIGURA 5 Comprimento médio da parte aérea de plântulas de abacaxizeiro 'Gomo de Mel' estioladas *in vitro* com diferentes concentrações de GA₃.

Madeira et al. (2005) também registraram que a ausência de BAP proporciona melhor formação de plantas estioladas de mandioquinha salsa. O acréscimo de GA₃ permite que os brotos sejam separados com maior facilidade, devido ao estiolamento. Medeiros et al. (2001), em trabalhos com abacaxizeiro, mostraram que a utilização de BAP na dosagem 2,0 mg.L⁻¹ no meio de cultura favoreceu a multiplicação, entretanto, os brotos apresentaram pouco alongamento da parte aérea, comprometendo assim sua individualização.

O comprimento de parte aérea é importante para o sucesso da próxima fase da micropropagação, a aclimatização, pois a plântula bem desenvolvida terá mais êxito e maior facilidade para adaptação em casa de vegetação. Figueiredo et al. (2001) relatam a necessidade do GA₃ para o alongamento das brotações de *Rollinia mucosa*. Gomes (1999) observou que a utilização de GA₃ em concentrações que variam de 1 a 6 mg.L⁻¹ favorece o crescimento e o desenvolvimento *in vitro* de brotações de moreira.

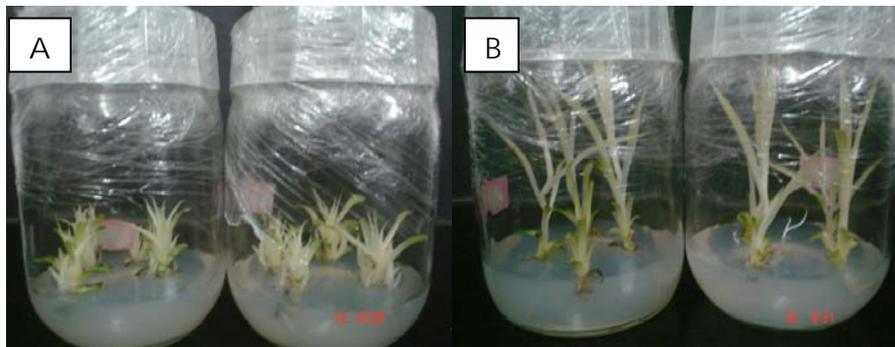


FIGURA 6 Plântulas de abacaxizeiro ‘Gomo de Mel’ estioladas *in vitro*, mostrando um número maior de brotações em meio acrescido de BAP (A), comparado com um número reduzido de brotos estiolados em meio com adição de GA₃ (B).

Tanto a concentração de 1 mg L⁻¹ BAP promoveu maior acúmulo de massa seca (0,0324g) (Figura 7), quanto a ausência do fitorregulador Ga₃ (0,0307 g) (Figura 8).

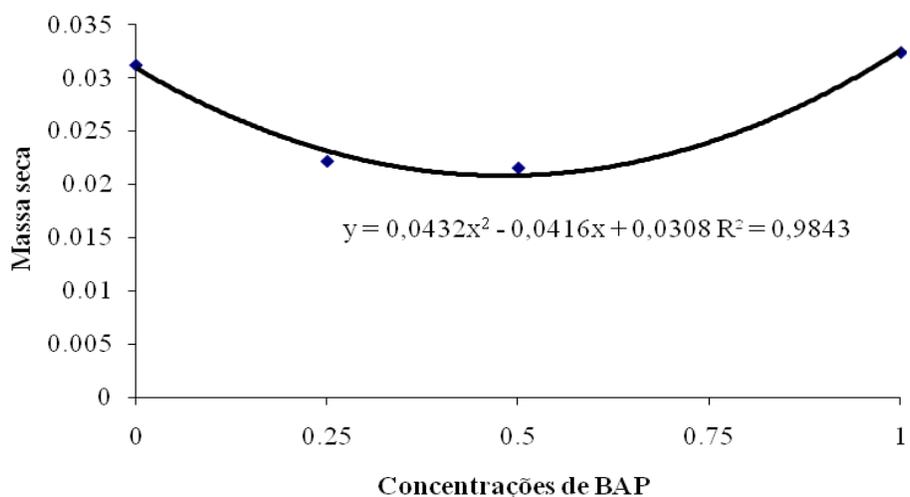


FIGURA 7 Massa seca de brotações de abacaxizeiro ‘Gomo de Mel’ estiolados *in vitro* em meio contendo diferentes concentrações de BAP.

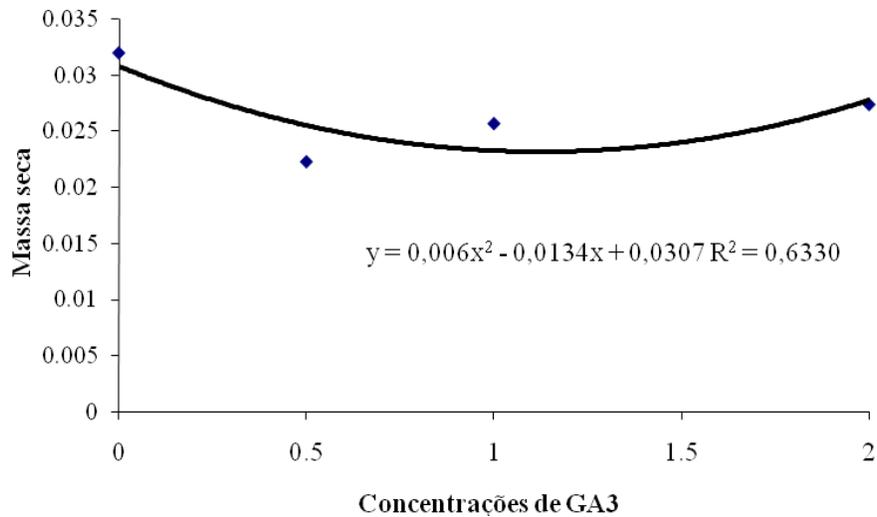


FIGURA 8 Massa seca de brotações de abacaxizeiro ‘Gomo de Mel’ estioladas *in vitro* em diferentes concentrações de GA₃.

Fráguas et al. (2004), ao trabalhar com figueira (*Ficus carioca*), testando os efeitos de GA₃ teve resultado semelhante, obtendo maior peso na ausência do fitorregulador. No presente trabalho, à medida em que se aumentou a dosagem do regulador houve um decréscimo quanto ao acúmulo de massa do explante. Já a maior concentração de BAP (1,0 mg.L⁻¹) proporcionou um maior acúmulo de matéria seca, acredita-se por este estimular um maior número de brotações.

Para que se obtenha sucesso no processo de micropropagação, existe a necessidade de se ajustar, para cada espécie e ou cultivar, as melhores condições de cultivo (Zimmerman, 1981), ou seja, as concentrações mais apropriadas de reguladores de crescimento e o ambiente no qual serão mantidos os explantes.

6 CONCLUSÃO

Para as características avaliadas conclui-se que a ausência de BAP favoreceu os melhores resultados, exceto para números de brotos e peso da massa seca. O melhor resultado para multiplicação dos brotos foi realizado com acréscimo de $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP. O comprimento de parte aérea foi favorecido pela adição de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de GA_3 .

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, C. C. **Estudos de cultivares de abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merr.) propagadas in vitro quanto à resistência a fusariose.** 1998. 85 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Rural de Pernambuco, Recife.
- ASSIS, T. F.; TEIXEIRA, S. L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: EMBRAPA-CNPq, 1998. v. 1, p. 261-297.
- DEBERGH, P. C.; MAENE, L. J. A scheme for the commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 14, n. 55, p. 335-345, Apr. 1981.
- FIGUEIREDO, S. F. L.; ALBARELLO, N.; VIANA, V. R. C. Micropropagation of *Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill. **In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant**, Wallingford, v. 37, n. 4, p. 471-475, Dec. 2001.
- FRÁGUAS, C. B.; PASQUAL, M.; PEREIRA, A. R. Multiplicação *in vitro* de *Ficus carica* L.: efeito de cinetina e do ácido giberélico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 1, p. 49-55, jan./fev. 2004.
- GOMES, G. A. C. **Propagação in vitro de Moreira (*Maclura tinctoria*).** 1999. 91 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, 1998. v. 1, p. 183-260.
- KISS, E.; KISS, J.; GYULAI, G.; HESZKY, L. E. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. **HortScience**, Alexandria, v. 30, n. 253, p. 127-129, Feb. 1995.
- MADEIRA, N. R.; TEIXEIRA, J. B.; ARIMURA, C. T.; JUNQUEIRA, C. S. Influência da concentração de BAP e AG3 no desenvolvimento *in vitro* de mandioquinha-salsa. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 982-985, out./dez. 2005.

MEDEIROS, D. N.; MACÊDO, C. E. C.; ALLOUFA, M. A. I. Efeito do NaCl sobre a multiplicação *in vitro* de abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merrill). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 23, n. 1, p. 1-5, jan. 2001.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, May 1962.

ROCA, W. M.; MROGINSKI, L. A. **Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones**. Colômbia: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1991. 66 p.

SANTOS, M. C.; BARBOZA, S. B. S. C.; COPATI, L. A.; LÉDO, A. S. Efeito de diferentes auxinas e de giberelina na indução de brotos estiolados *in vitro* de abacaxi Imperial para propagação clonal por segmentos nodais. In: CONGRESSO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 13., 2007, Goiânia. **Anais...** Goiânia: UFG, 2007. 1 CD-ROM.

ZIMMERMAN, R. H. Micropropagation of fruit plants. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 120, n. 61, p. 217-222, Dec. 1981.

CAPÍTULO 3

Sacarose e qualidade de luz na propagação *in vitro* de abacaxizeiro ‘Gomo de mel’

1 RESUMO

A cultivar de abacaxi ‘Gomo de Mel’ foi lançada no mercado pelo Instituto Agrônomo de Campinas. Comercialmente é uma variedade interessante, já que os gomos se destacam manualmente. Há poucas mudas desta variedade disponível no mercado. Na tentativa de aumentar a sobrevivência do material produzido *in vitro* durante o período inicial de aclimatização, o presente trabalho teve por objetivo testar diferentes dosagens de sacarose no meio e diferentes qualidades de luz na propagação *in vitro* do abacaxizeiro. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x3 com dez repetições. Ao meio MS foram acrescidas 4 concentrações de sacarose (0; 10; 20 e 30 g.L⁻¹), sendo os explantes mantidos em sala de crescimento, sob diferentes malhas coloridas, possibilitando o tratamento com luz branca, luz azul e vermelha. Após 60 dias, foram avaliados números de brotos, comprimento da parte aérea e biomassa seca. Para as características avaliadas, o acréscimo de 30 g.L⁻¹ de sacarose favoreceu os melhores resultados, juntamente com o crescimento dos explantes sob irradiação de luz branca.

Palavras-chaves: Bromeliaceae, malhas fotoconversoras, carboidrato.

2 ABSTRACT

Pineapple cultivar 'Gomo de mel' was launched in the Agronomic Institute of Campinas. Commercially it is an interesting variety, as the buds stand out manually. A few seedlings of this variety available. In an attempt to increase the survival of the material produced in vitro during the initial period of acclimatization, the present study was to test different concentrations of sucrose in the medium and different qualities of light in vitro propagation of pineapple. The experiment was conducted in a completely randomized in a factorial 4x3 with ten repetitions. When MS medium were added 4 sucrose concentrations (0, 10, 20 and 30 gL⁻¹), and the explants maintained in a growth chamber under different colored nets, allowing treatment with white light, blue and red light. After 60 days, were evaluated numbers of shoots, shoot length and dry biomass. For the characteristics evaluated, the addition of 30 gL⁻¹ sucrose favored the best results, along with the growth of the explants under irradiation of white light.

Kew words: Bromeliaceae, shading nets, carbohydrate.

3 INTRODUÇÃO

Originário da América Latina, mais precisamente do Brasil e Paraguai, o abacaxi (*Ananas comosus*) pertence à família das bromeliáceas. De acordo com a FAO (2009), o Brasil é o segundo maior produtor de abacaxi em nível mundial, contribuindo com 9,4% em relação ao total produzido. No cenário nacional, os principais estados produtores de abacaxi são Paraíba, Minas Gerais, Pará, São Paulo e Tocantins.

As variedades encontradas hoje no mercado nacional são o abacaxi Pérola e Smooth Cayenne, sendo consumidas em maior escala. A variedade ‘Gomo-de-mel’ foi introduzida no mercado pelo Instituto Agrônomo de Campinas, apresentando características interessantes como atrativo para o consumidor, como elevado °brix, baixa acidez, além dos frutinhos serem destacados em forma de gomos. Mas existe uma grande escassez de mudas desta variedade para o produtor, por isso, ocorre falta deste produto no mercado.

Para Praxedes et al. (2001), a área cultivada com abacaxizeiro no Brasil tem aumentado pouco ao longo dos anos, devido principalmente à pequena oferta de mudas de boa qualidade. Conforme Cunha & Reinhardt (2004), além da escassez de mudas de boa qualidade, o vigor e a sanidade são fatores que afetam o bom desenvolvimento inicial das plantas possibilitando a ocorrência de pragas e doenças.

Uma saída para estas dificuldades é a utilização da técnica do cultivo *in vitro*, obtendo não só um grande número de mudas, como mudas de boa qualidade.

Para que a planta cultivada *in vitro* seja introduzida no campo, ela passa por um processo de aclimatização, para melhor adaptação e sobrevivência da mesma. Estudos são realizados ainda em sala de crescimento para que, ao transferi-la para casa de vegetação, a planta possa realizar de maneira eficiente

fotossíntese, respiração e que suas raízes sejam funcionais (Cunha & Reinhardt, 2004).

Deste modo, dois fatores estão diretamente relacionados ao bom desenvolvimento da plântula *in vitro*, a sacarose e a qualidade da luz.

O excesso de sacarose pode ser prejudicial, pois inibe a síntese de clorofila e, portanto, reduz a capacidade fotossintética das culturas, mesmo sendo essencial ao crescimento (Yamada & Sato, 1978). Foi observado aumento na taxa de fotossíntese, em subculturas sucessivas, quando a concentração de sacarose foi reduzida de 20 ou 40 g L⁻¹ para 10 g L⁻¹ (Pasqual, 2001). Embora o açúcar não seja o componente de maior custo no preparo do meio de cultura, a redução da sua concentração pode ser economicamente favorável, especialmente devido a uma menor propensão de crescimento de fungos e bactérias (Prakash et al., 2004).

Em relação à luz, estudos têm demonstrado que a qualidade da luz pode alterar a concentração de carboidrato e hormônios dentro da planta (Almeida & Mundstock, 2001; Erig & Schuch, 2005). A qualidade da luz utilizada nas salas de crescimento é de suma importância na morfogênese *in vitro*, afirma Magalhães Júnior & Peters (1991). Para o desenvolvimento *in vitro* de brotos de ameixeira (*Prunus sp.*), Muleo et al. (2001) demonstraram que, enquanto a luz azul aumentou o número de brotos axilares produzidos a partir do meristema apical, a luz vermelha estimulou a dominância apical.

Portanto, diante da necessidade da produção de mudas saudáveis e bem desenvolvidas do abacaxi ‘Gomo-de-mel’, para que não ocorra perda do material produzido em laboratório ao levá-lo para casa de vegetação, o presente trabalho teve por objetivo testar diferentes dosagens de sacarose no meio e diferentes qualidades de luz na propagação *in vitro* do abacaxizeiro.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Agricultura da UFPA, Belém, PA. Utilizaram-se explantes de plantas de abacaxi 'Gomo-de-mel', já estabelecidas *in vitro*. Os explantes foram inoculados em meio de cultivo MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com 5 g.L⁻¹ de ágar, 2 mg.L⁻¹ de 6-benzilaminopurina BAP, acrescido de sacarose nas dosagens (0; 10; 20 e 30 g.L⁻¹). O pH foi ajustado para 5,8±0,1 antes da autoclavagem, a 121°C e 1,5 atm, por 20 minutos. As gemas de abacaxi foram inoculadas em frascos, os quais foram vedados com tampas plásticas translúcidas e filme plástico e, em seguida, transferidos para sala de crescimento (SC) sob diferentes condições de incubação (sala de crescimento com sombrite de malha azul, SCA; sala de crescimento com sombrite de malha vermelha, SCV e sala de crescimento com luz branca, SCB). O material foi colocado diretamente sobre as estantes em sala de crescimento sob malhas fotoconversoras. As malhas coloridas utilizadas foram fornecidas pela empresa Polysack Plastic Industries®. Utilizou-se a malha ChromatiNet Vermelha 50%, que reduz ondas azuis, verdes e amarelas e acrescenta ondas na faixa espectral do vermelho e vermelho-distante. Outro tratamento foi com a malha ChromatiNet Azul 50%, que reduz ondas na faixa do vermelho e vermelho distante e acrescenta ondas azuis. No tratamento controle, os frascos foram mantidos em sala de crescimento, com fotoperíodo de 16 horas de luz branca, temperatura de 25±2°C. Foram colocadas placas de isopor entre os diferentes tratamentos, quanto à qualidade de luz, para que não houvesse interferência em relação à luz incidente nos frascos, comprometendo assim os tratamentos.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), constando de doze tratamentos com dez repetições cada uma, representada por um frasco contendo quatro explantes, em esquema fatorial 4x3.

Após 60 dias, foram avaliados número de brotos (NB), comprimento da parte aérea (CPA) e massa seca (MS). Os dados avaliados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa estatístico Sisvar, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



FIGURA 1 Ambientes de cultivo dos frascos em sala de crescimento convencional, com o uso de diferentes malhas coloridas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação significativa entre os fatores estudados apenas para a variável massa seca (MS). O número de brotos (NB) apresentou significância para o fator sacarose. O comprimento de parte aérea (CPA) apresentou significância dos fatores estudados isoladamente.

O maior número de brotos foi obtido com a concentração máxima de sacarose, em média 6,0 brotos por explante (Figura 2). A sacarose é a única fonte de carboidrato *in vitro* responsável pela realização da fotossíntese. Dignart (2006) obteve resultados similares para número de folhas, número de brotações e comprimento de parte aérea, em *Cattleya walkeriana*, testando as concentrações de 15 e 30 g L⁻¹ de sacarose. O mesmo autor afirma que concentrações mais apropriadas de sacarose devem ser adicionadas ao meio de cultivo de acordo com a espécie, ambiente no qual serão mantidos os frascos e com o estágio da micropropagação. Manter os níveis de sacarose em torno de 2-3% na fase que antecede a aclimatização é recomendável, pois, desse modo, a planta acumularia reservas de energia para sobreviver melhor ao ambiente (Wainwright & Scrace, 1989; Capellades et al., 1990). Dimassi-Theriou & Bosabalidis (1996), trabalhando com kiwi (*Actinia deliciosa*) cultivado em meio WPM, com e sem sacarose, não observaram diferenças nas taxas fotossintéticas e afirmaram que a redução deste carboidrato no meio de cultivo pode ser aplicado neste caso. No entanto, quando a sacarose é omitida do meio, as brotações são prejudicadas, conforme comprovado por Braga et al. (2009) trabalhando com crisântemo.

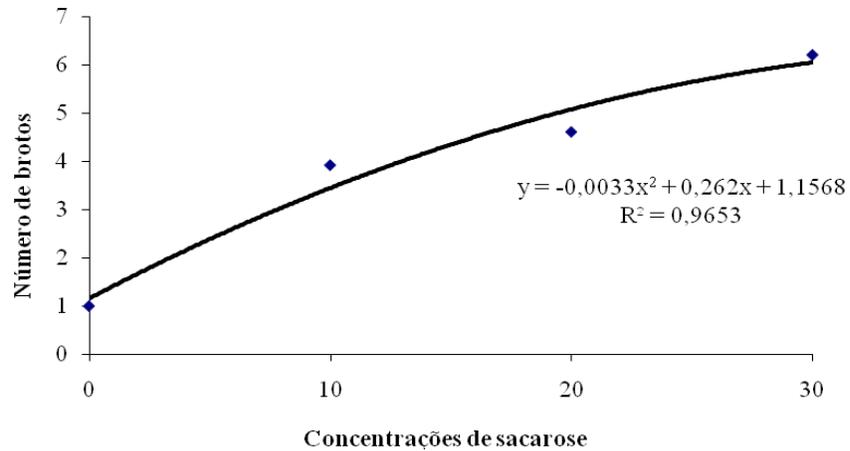


FIGURA 2 Número médio de brotos em abacaxizeiro ‘Gomo de Mel’ multiplicadas *in vitro* com diferentes concentrações de sacarose.

Ambos os fatores foram significativos para o comprimento de parte aérea (CPA), embora analisados isoladamente. Obteve-se o maior comprimento de plantas (2,18 cm) quando o meio de cultura foi acrescido de 20 g L⁻¹ de sacarose (Figura 3). A luz branca favoreceu um melhor desenvolvimento dos explantes (Figura 4).

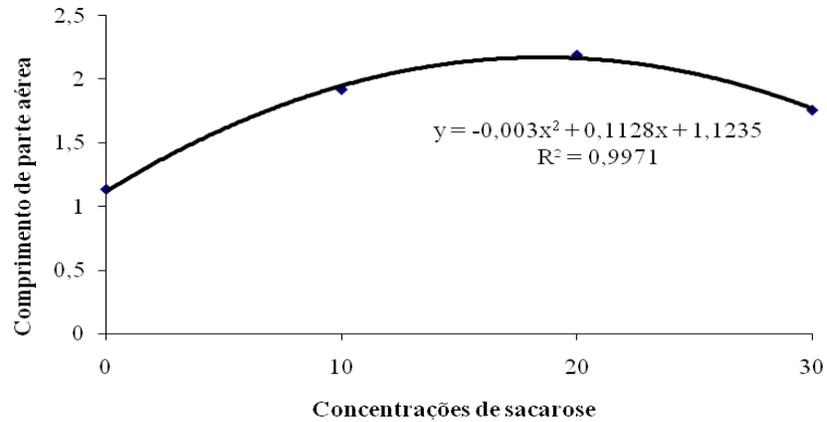


FIGURA 3 Comprimento médio da parte aérea em brotações de abacaxizeiro 'Gomo de Mel' multiplicadas *in vitro* em diferentes concentrações de sacarose.

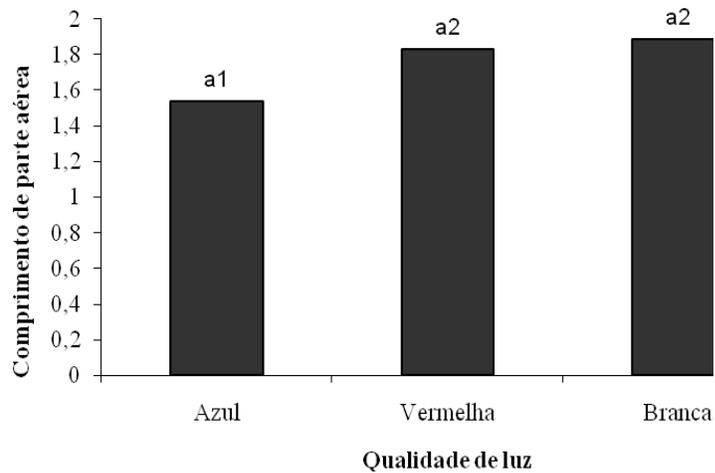


FIGURA 4 Comprimento médio da parte aérea em brotações de abacaxizeiro 'Gomo de Mel' multiplicadas *in vitro* com diferentes qualidades de luz.



FIGURA 5 Plântulas de abacaxizeiro ‘Gomo de Mel’ multiplicadas *in vitro* com diferentes qualidades de luz; 1-luz branca, 2-luz azul, 3-luz vermelha.

O melhor desenvolvimento foi obtido com a luz branca (Figura 4), embora não ocorreu diferença significativa entre as diferentes qualidades de luz (Figura 5). A luz vermelha também proporcionou um crescimento satisfatório. A luz vermelha tem influência no desenvolvimento das plantas, pelas alterações nas razões vermelho/vermelho distante (V:VD) absorvidas por formas interconversíveis do fitocromo. Variações nas razões V:VD estimulam respostas ao alongamento do caule e florescimento (Smith, 1992; Schuerger et al., 1997) e promovem, também, redução da espessura foliar sob condições de sombreamento (Kasperbauer & Peasler, 1973; Schuerger et al., 1997). Araújo et al. (2007), trabalhando com *Cattleya loddigesii*, obteve resultado semelhante em relação ao comprimento do explante sob malha vermelha. De modo geral, comprimentos de onda mais longos, principalmente na luz vermelha, promovem acentuado alongamento nas células, enquanto que as luzes azul e branca previnem o alongamento.

Resultado semelhante em relação à sacarose foi observado por Fráguas et al. (2004), estes reportaram que um meio de cultura contendo 20 g L⁻¹ de sacarose foi eficiente no crescimento *in vitro* de plântulas de *Cattleya labiata* x *Laelia itambana*. Ao contrário, Oliveira et al. (2003) obtiveram melhores respostas para altura de parte aérea em plântulas de *Oncidium varicosum*, com a utilização de 60 g L⁻¹ de sacarose. Skrebsky et al. (2004), avaliando diferentes concentrações de sacarose e período de cultivo *in vitro* de ginseng brasileiro

(*Pfaffia glomerata*), obtiveram resultados semelhantes. Altas concentrações de sacarose (30 e 45 g L⁻¹) proporcionaram maior comprimento de parte aérea. Silva et al. (2008), ao trabalhar com diferentes concentrações de sacarose em condições de luz natural e artificial com explantes de abacaxi, verificou que o acréscimo de 15 g.L⁻¹ de sacarose foi suficiente para obtenção de melhores brotações para ambos meios de cultivo, entretanto, comparando-se o ambiente com luz natural em meio de cultura de multiplicação, conclui-se que a redução da concentração da sacarose não promoveu queda significativa no número de brotações. Isso evidencia que, em condições de alta irradiância, não é necessário o emprego de altas concentrações de sacarose, porém, em condições de luz artificial, o fator sacarose é mais limitante.

Houve interação significativa para os fatores analisados referente à variável massa seca, onde o valor máximo utilizado de sacarose (30 g L⁻¹) e incidência de luz branca favoreceu a maior média (0,3653 g) de peso seco dos explantes do abacaxi 'Gomo-de-mel' (Figura 6).

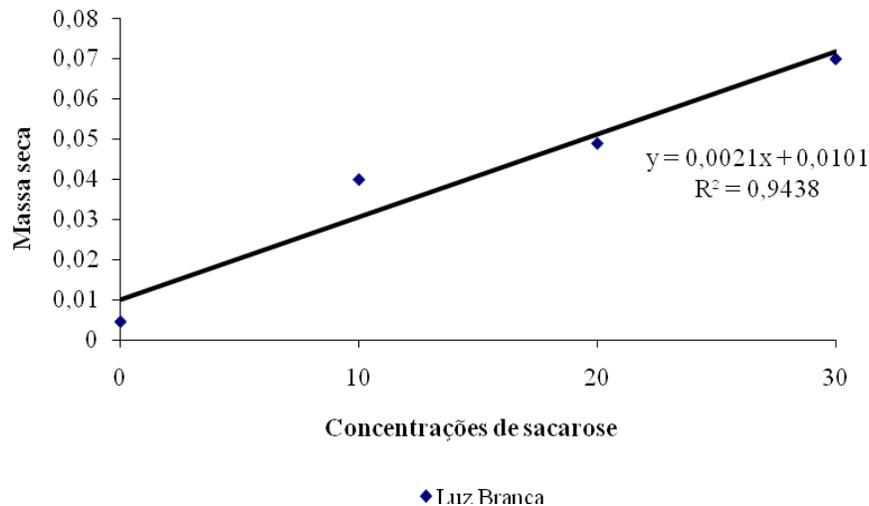


FIGURA 6 Massa seca de plântulas de abacaxizeiro 'Gomo-de-Mel' cultivadas em meio MS, sob diferentes qualidades de luz e concentrações de sacarose. Lavras, MG. 2007.

A redução de sacarose tem sido testada em diversas pesquisas como forma de melhorar a capacidade fotossintética dos tecidos cultivados *in vitro* e reduzir perdas atribuídas à contaminação microbiana. No entanto, alguns autores são contrários à idéia de redução de sacarose durante a micropropagação e afirmam que os mecanismos pelos quais a concentração de carboidrato influencia na aclimatização não são muito claros. Silva (2006) obteve melhor resultado em relação à massa seca de plântulas de abacaxizeiro 'Imperial' ao adicionar 30g L⁻¹ de sacarose no meio MS.

A alta irradiância promove um melhor desenvolvimento do explante *in vitro*, estudos estão sendo realizados com luz natural, onde até mesmo a ausência de sacarose sob condições de luz natural favorece o desempenho satisfatório dos explantes. Importante ressaltar que além dos reguladores de crescimento, a luz influencia muito a taxa de multiplicação e o crescimento dos explantes *in vitro* (Kodym & Zapata-Arias, 1998), trabalhando com bananeira.

Mesmo a luz sendo um fator importante na propagação de plantas em geral, são escassos os trabalhos sobre efeito da qualidade e intensidade de luz.

6 CONCLUSÃO

A adição de 30 g L⁻¹ de sacarose favoreceu os melhores resultados, tanto para número de brotos quanto massa seca, entretanto, a redução da mesma para 20 g L⁻¹ não prejudicou o desenvolvimento da parte aérea. A luz branca favoreceu os melhores resultados.

No caso da qualidade de luz, seriam pertinentes outros experimentos, possivelmente variando fonte e doses de reguladores para elucidar melhor o efeito da luz no desenvolvimento da planta *in vitro*.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. L.; MUNDSTOCK, C. M. O afilhamento da aveia afetado pela qualidade de luz em plantas sob competição. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 393-400, maio/jun. 2001.

ARAÚJO, A. G.; PASQUAL, M.; CASTRO, E. M. de; RODRIGUES, F. A.; SANTOS, D. N.; DUTRA, L. F. Efeito da concentração de sacarose e qualidade de luz na propagação *in vitro* de plântulas de orquídea. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 3, n. 2, p. 96-102, jun. 2007.

BRAGA, F. T.; PASQUAL, M.; CASTRO, E. M. de; DIGNART, S. L.; BIAGIOTTI, G.; PORTO, J. M. P. Qualidade de luz no cultivo *in vitro* de *Dendranthema grandiflorum* cv. Rage: características morfofisiológicas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 502-508, mar./abr. 2009.

CAPELLADES, M.; FOUNTARNAU, R.; CARULLA, C.; DEBERGH, P. Environment influences anatomy of stomata and epidermal cells in tissue cultured rosa multiflora. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, n. 1, p. 141-145, Jan. 1990.

CUNHA, G. A. P. da; REINHARDT, D. H. R. C. **Manejo de mudas de abacaxi**. Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMF, 2004. 4 p. (EMBRAPA-CNPMF. Comunicado Técnico, 105).

DIGNART, S. L. **Luz e sacarose na micropropagação de cattleya walkeriana**: alterações anatômicas e fisiológicas. 2006. 132 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

DIMASSI-THERIOU, K.; BOSABALIDIS, A. M. Effects of light, magnesium and sucrose on leaf anatomy, photosynthesis, starch and total sugar accumulation, in kiwifruit cultured *in vitro*. **Plant Cell Tissue and Organ**, Netherlands, v. 47, n. 2, p. 127-134, June 1996.

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Micropropagação fotoautotrófica e o uso da luz natural. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 961-965, jul./ago. 2005.

FOOD AGRICULTURAL ORGANIZATION. **Production crops**. Disponível em: <<http://apps.fao.org/lim500/nphwrap.pl>>. Acesso em: 25 jan. 2009.

FRÁGUAS, C. B.; VILLA, F.; SOUZA, A. V.; PASQUAL, M.; DUTRA, L. F. Crescimento *in vitro* de plântulas de orquídea oriundas da hibridação entre *Cattleya labiata* x *Laelia itambana*. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 50, n. 292, p. 719-726, nov./dez. 2004.

KASPERBAUER, M. J.; PEASLER, D. E. Morphology and photosynthetic efficiency of tobacco leaves that received end-of-day red or far-red light during development. **Plant Physiology**, Rockville, v. 52, n. 5, p. 440-442, Nov. 1973.

KODYN, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata* cv. 'Grand Naine1). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Netherlands, v. 55, n. 2, p. 141-145, May 1998.

MAGALHÃES JUNIOR, A. M. M.; PETERS, J. A. Cultura "in vitro" de ameixeira: efeito do ácido indolbutírico, tipo de lâmpada e intensidade luminosa no enraizamento. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 3, n. 1, p. 57-61, jan. 1991.

MULEO, R.; MORINI, S.; CASANO, S. Photoregulation of growth and branching of plum shoots: physiological action of two photosystems. **In vitro Cellular Development Biology Plant**, Wallingford, v. 37, n. 5, p. 609-617, Sept./Oct. 2001.

MURASHIGE, T.; SKOOGS, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, May 1962.

OLIVEIRA, L. V. R.; FARIA, R. T.; FONSECA, I. C. B.; SACONATO, C. Influência da fonte e concentração de carboidratos no crescimento vegetativo e enraizamento *in vitro* de *Oncidium varicosum* Lindl. (Orchidaceae). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 2, p. 265-272, 2003.

PASQUAL, M. **Meios de cultura**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 74 p.

PRAKASH, S.; HOQUE, M. I.; BRINKS, T. Culture media and containers. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Low costs options for tissue culture technology in developing countries**. Viena, 2004. p. 29-40.

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

SCHUERGER, A. C.; BROWN, C. S.; STRYJEWSKI, E. C. Anatomical features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) growth under red light emitting diodes supplemented with blue or far-red light. **Annals of Botany**, London, v. 79, n. 3, p. 273-282, Mar. 1997.

SILVA, A. B. **Luz natural e anatomia foliar de abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagado**. 2006. 132 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SILVA, A. B.; PASQUAL, M.; CASTRO, E. M.; MIYATA, L. Y.; MELO, L. A.; BRAGA, F. T. Luz natural na micropropagação do abacaxizeiro. **Interciencia**, Caracas, v. 33, n. 11, p. 839-843, nov. 2008.

SKREBSKY, E. C.; NICOLOSO, F. T.; FERRAO, G. E. Sacarose e período de cultivo *in vitro* na aclimatização *ex vitro* de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1471-1477, set./out. 2004.

SMITH, H. Light quality, photoperception, and plant strategy. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 33, p. 481-518, 1992.

WAINWRIGHT, H.; SCRACE, J. Influence of *in vitro* preconditioning with carbohydrates during the rooting of microcuttings on *in vitro* establishment. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 38, n. 3/4, p. 261-267, Mar. 1989.

YAMADA, Y.; SATO, F. The photoautotrophic culture of chlorophyllous cells. **Plant Cell Physiology**, Kyoto, v. 19, n. 4, p. 691-699, 1978.

CAPÍTULO 4

Crescimento *in vitro* de gemas axilares de abacaxizeiro ‘Gomo de mel’ em diferentes concentrações de BAP e constituição física do meio de cultivo

1 RESUMO

A variedade de abacaxi ‘Gomo de Mel’ foi lançada no mercado pelo Instituto Agronômico de Campinas, através de um cruzamento natural. Os meios utilizados para cultura de células, tecidos e órgãos de plantas fornecem as substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos e controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro*. Na tentativa de reduzir o custo da produção de mudas micropropagadas de abacaxizeiro, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do meio líquido, líquido com agitação constante e geleificado, combinados com diferentes concentrações de BAP, no crescimento *in vitro* de gemas axilares de abacaxizeiro ‘Gomo-de-mel’. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x3 com oito repetições. Ao meio MS foram acrescidas diferentes concentrações de BAP (0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mg.L⁻¹), nos tratamentos com meio sólido foram acrescidos 5g.L⁻¹ de ágar. Os explantes foram mantidos em sala de crescimento, parte dos tratamentos com meio líquido ficaram sob agitação constante, em mesa agitadora. Após 90 dias, foram avaliados números de brotos, comprimento da parte aérea e biomassa seca. Para as características avaliadas o acréscimo de 1,5 mg.L⁻¹ de BAP favoreceu o maior número de brotos, a ausência de regulador é viável para o desenvolvimento de parte aérea. O meio líquido com agitação constante favoreceu os melhores resultados para todas as variáveis analisadas.

Palavras-chaves: Meio líquido, fitorregulador, micropropagação

2 ABSTRACT

A variety of pineapple 'Gomo Honey' was released on the market by the Agronomy Institute of Campinas, through a natural crossing. The media used for cell cultures, tissues and organs of plants provide the substances essential for tissue growth and control in large part, the pattern of development in vitro. In an attempt to reduce the cost of seedling production of pineapple, the objective was to evaluate the effects of the liquid, liquid with stirring and gelled, combined with different concentrations of BAP, in vitro growth of axillary buds of pineapple ' Gomo de mel '. The experiment was conducted in a completely randomized in a 5x3 factorial design with eight replications. When MS medium were added various concentrations of BAP (0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg.L-1), in treatments with solid medium were added 5g.L-1 agar. The explants were kept in a growth chamber of the liquid treatments were under constant agitation on shaker. After 90 days, were evaluated numbers of shoots, shoot length and dry biomass. For the characteristics evaluated the addition of 1.5 mg.L-1 BAP favored the largest number of shoots, the lack of control is feasible for the development of the shoot. The liquid medium with constant agitation promoted the best results for all variables. Index terms: SMSA, NAA, micropropagation

Kew words: Media Net, phytohormone, micropropagation

3 INTRODUÇÃO

A produção de mudas de abacaxizeiro através da cultura de tecidos vegetais permite obter milhares de mudas a partir de uma única gema, em pequeno espaço e tempo, livres de pragas e doenças.

A cultivar do abacaxizeiro ‘Gomo-de-mel’, como algumas variedades presentes no mercado, é susceptível a fusariose. Essa doença se transmite por mudas contaminadas, assim, toda técnica de produção de mudas sadias deve ser considerada.

O custo de produção de mudas micropropagadas de abacaxizeiro é considerado mais elevado quando comparado com o da muda convencional. Sistemas automatizados de cultivo *in vitro* vêm sendo desenvolvidos, buscando redução de mão-de-obra, tempo de produção e maior eficiência, principalmente nas fases de multiplicação e alongamento de brotos, com conseqüente redução de custos.

Nos protocolos de estabelecimento publicados para abacaxizeiro, constata-se a predominância no uso do meio geleificado, com ou sem adição de reguladores de crescimento.

Os meios utilizados para cultura de células, tecidos e órgãos de plantas fornecem as substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos e controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro* (Caldas et al., 1998). As citocininas são utilizadas em cultura de tecidos para estimular a divisão celular e atuam, conseqüentemente, no processo de morfogênese (George, 1996). Das citocininas comercialmente disponíveis, BAP (6- benzilaminopurina) é a que geralmente proporciona melhores resultados (Grattapaglia & Machado, 1998). BAP é uma citocinina sintética muito utilizada devido à sua efetividade e baixo custo em relação às outras (Krikorian, 1991). Este regulador de crescimento induz à formação de grande número de brotos, eleva a taxa de multiplicação em

muitos sistemas de micropropagação (Hu & Wang, 1983), cuja concentração pode variar bastante em função da espécie e do tipo do explante.

Mendes et al. (1999) e Almeida et al. (2002) utilizaram o meio de cultivo líquido na fase de multiplicação e obtiveram maior número de brotos/explante em relação ao meio geleificado. Sistemas de cultivo em meio de cultura líquido sob agitação ou estacionário têm sido mais utilizados nessa fase de multiplicação de brotos. A disponibilidade de brotos ou plântulas, prontos para utilização na fase de multiplicação, pode assumir grande importância, principalmente para empresas que trabalham com produção de mudas em grande escala.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do meio líquido, líquido com e sem agitação constante e geleificado, combinados com diferentes concentrações de BAP, no crescimento *in vitro* de gemas axilares de abacaxizeiro ‘Gomo-de-mel’.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado nos Laboratórios de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Agricultura da UFLA, Lavras, MG. Utilizaram-se explantes de plantas de abacaxi ‘Gomo-de-mel’, já estabelecidas *in vitro*. As gemas de abacaxi foram inoculadas em meio de cultivo MS (Murashige & Skoog, 1962). Alguns tratamentos foram suplementados com 5 g.L⁻¹ de ágar para solidificação do meio, enquanto que outros foram mantidos no estado líquido. Ambos os tratamentos foram acrescidos de BAP (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 g.L⁻¹). O pH foi ajustado para 5,8±0,1 antes da autoclavagem, a 121°C e 1,5 atm, por 20 minutos. As gemas de abacaxi foram inoculadas em frascos, os quais foram vedados com tampas plásticas translúcidas e filme plástico e, em seguida, transferidos para sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25±2°C. O tratamento líquido ficou sob agitação contínua a 85 rpm em mesa agitadora orbital (Figura 1).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), constando de quinze tratamentos com oito repetições representada por um frasco contendo quatro gemas de abacaxi cada um, em esquema fatorial 5x3. Após 90 dias, foram avaliados número de brotos (NB), comprimento da parte aérea (CPA) e massa seca de plantas (MS). Os dados avaliados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa estatístico Sisvar, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



FIGURA 1 Constituição física do meio: meio líquido sem agitação; meio sólido; meio líquido com agitação. Mesa agitadora orbital.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação significativa entre os fatores estudados para comprimento de parte aérea. Para a variável número de brotos, houve significância dos fatores estudados isoladamente, enquanto que a variável massa seca das plântulas apresentou significância apenas para o fator meio de cultura.

O número máximo de brotos (7,03) foi obtido quando adicionados 1,5 mg L⁻¹ de BAP (Figura 2), em meio MS líquido sob agitação contínua (Figura 3).

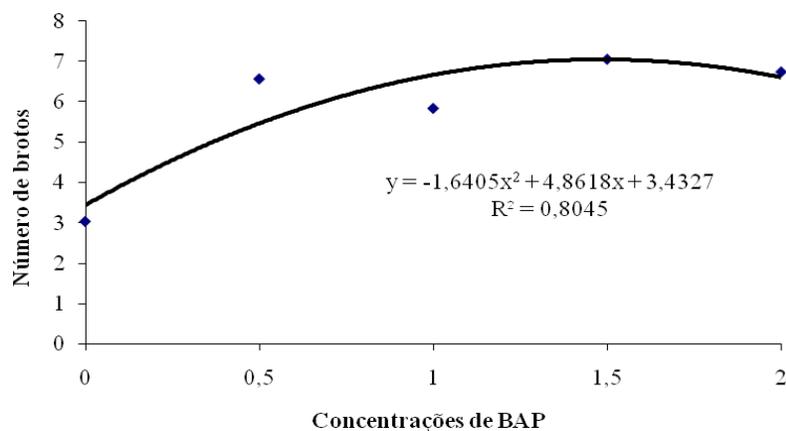


FIGURA 2 Número médio de brotos de abacaxizeiro 'Gomo-de-Mel' cultivados em meio MS, sob diferentes concentrações de BAP. Lavras, MG. 2009.

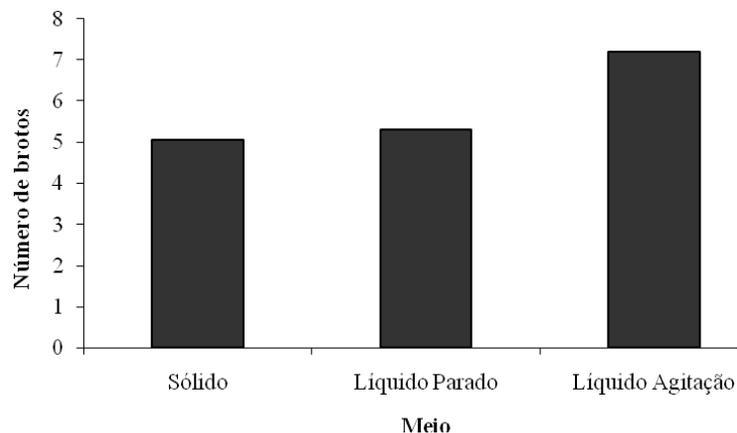


FIGURA 3 Número médio de brotos de abacaxi ‘Gomo-de-Mel’ cultivados sob diferentes constituições físicas do meio MS.

Guerra et al. (1999), trabalhando com genótipos de abacaxizeiro das cultivares Perolera e Primavera, obtiveram melhores resultados com meio MS líquido adicionado de $2,7 \text{ mg.L}^{-1}$ de ANA e $4,4 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP. O meio proporcionou uma taxa média de 19,7 brotos/explante. 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 e que estas plantas cultivadas em meio líquido apresentam melhores respostas quando comparadas ao meio sólido.

O meio sólido apresentou a média de 3,2 brotos, enquanto o meio líquido 2,6 brotos. Santos et al. (2008) verificaram que o meio nutritivo sem BAP foi considerado ineficiente para a multiplicação de abacaxizeiro ornamental (*Ananas comosus* var. *erectifolius*), pela formação de baixo número de brotações por explante. Resultados semelhantes foram obtidos por Tamaki et al. (2007), com cultivo *in vitro* do abacaxizeiro comercial. O aumento do número de brotações, em períodos sucessivos de subcultivo, foi constatado por Almeida et al. (2002) em *Ananas comosus* cv. Pérola. Esses autores obtiveram 2,13

brotações, no quinto subcultivo (20 semanas), em meio líquido suplementado com $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP. Entretanto, em meio sólido, Silva et al. (2002) obtiveram o máximo de 7,5 brotos maiores que 1 cm por explante, com a concentração de $2,52 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP, em 120 dias de cultivo, na cultivar Primavera. Essa discrepância de resultados da literatura pode ser explicada pela formulação de meio (sólido ou líquido), recipiente utilizado para estabelecimento das culturas, período de subcultivo, genótipo e método utilizado em cada estudo e volume do meio, no presente estudo foram utilizados 20 mL de meio em cada frasco.

Principais vantagens do uso do meio de cultura líquido são: maior homogeneidade, que permite maior velocidade de difusão (Costa & Zaffari, 2005), absorção mais eficiente de nutrientes pelos tecidos (Escalona et al., 1999; Costa & Zaffari, 2005) e menor custo em seu preparo (Escalona et al., 1999).

A interação foi significativa ao analisar a variável comprimento de parte aérea (5,47 cm), o meio líquido com agitação sem a presença de BAP, possibilitou o melhor resultado (Figura 4).

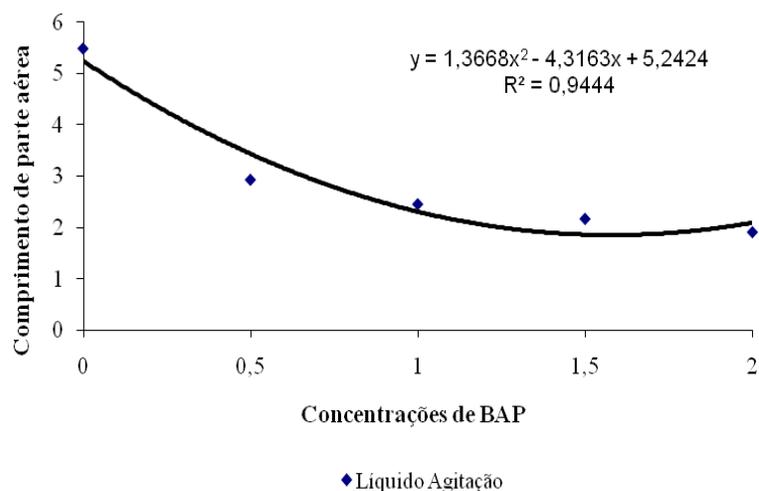


FIGURA 4 Comprimento de parte aérea de plântulas de abacaxizeiro ‘Gomo-de-Mel’ cultivadas em meio MS com diferentes concentrações de BAP e sob agitação.

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 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. Resultado semelhante foi encontrado por Pereira et al. (2005) com curauá, onde o tratamento em meio líquido com agitação contínua foi o que produziu plântulas maiores (4,5 cm).

Quanto às concentrações de BAP, menores dosagens são mais favoráveis ao alongamento da parte aérea. Medeiros et al. (2001) mostraram que, para micropropagação do abacaxizeiro, a adição de 4,0 mg L⁻¹ de BAP, embora favoreça a multiplicação do explante, não apresenta um alongamento satisfatório da parte aérea, dificultando a individualização. Vários estudos relatam que dosagens maiores de BAP prejudicam o crescimento do explante de abacaxi, conforme verificado por Araújo et al. (2008).

Na variável massa seca, o tratamento em meio MS com agitação contínua produziu maior biomassa (0,999 mg) em relação aos demais tratamentos (Figura 5).

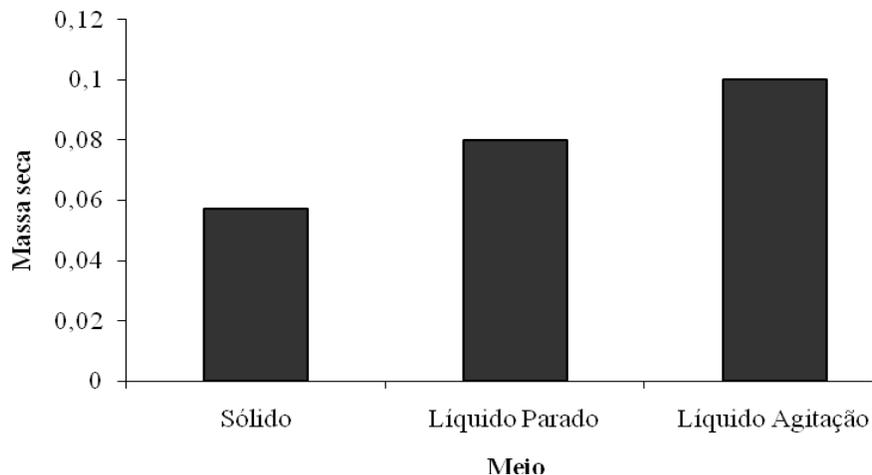


FIGURA 5 Biomassa seca de plântulas de abacaxi 'Gomo-de-Mel' cultivadas sob diferentes constituições físicas do meio MS.

Pereira et al. (2005) obtiveram resultados superiores ao deste trabalho cultivando brotos de curauá. O tratamento com agitação contínua produziu 0,28mg de massa seca, o sem agitação contínua 0,15mg e o meio sólido 0,06mg sendo todos estatisticamente distintos entre si. A agitação do meio promove melhor aeração para as plântulas *in vitro*, proporcionando melhor desenvolvimento dos explantes. Diferentemente desse resultados, Debergh et al. (1981) e Ziv (1995) afirmam que a exposição continuada ao meio líquido pode promover distúrbios fisiológicos, como a hiperidricidade. O meio líquido, além de apresentar desenvolvimento melhor, economicamente torna-se mais viável, uma vez que não há necessidade do ascrécimo de ágar no meio.

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.

6 CONCLUSÃO

A adição de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP é recomendável para obtenção de maior número de brotos de abacaxi 'Gomo-de-mel', já a ausência do regulador promove maior crescimento da parte aérea do explante. O meio MS líquido sob agitação contínua possibilita maior crescimento *in vitro* dos explantes.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, W. A. B. de; SANTANA, G. S.; RODRIGUEZ, A. P. M.; COSTA, M. A. P. de C. Optimization of a protocol for the micropropagation of pineapple. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 296-300, jun. 2002.

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.

ARAÚJO, R. F.; SIQUEIRA, D. L.; CECON, P. R. Multiplicação *in vitro* do abacaxizeiro '*smooth cayenne*' utilizando benzilaminopurina (BAP) e ácido naftalenoacético (ANA). **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 55, n. 4, p. 455-460, jul./ago. 2008.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998. p. 87-132.

COSTA, T. da; ZAFFARI, G. R. Micropropagação de *Ananas bracteatus* (Schultz) var. *striatus* Hort. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 11, n. 2, p. 109-113, jun. 2005.

DEBERGH, P.; HARBAOOUI, Y.; LEMEUR, R. Mass propagation of globe artichoke (*Cynara scolymus*) evaluation of different hypotheses to overcome vitrification with special reference to water potential. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 53, n. 2, p. 181-187, Feb. 1981.

ESCALONA, M.; LORENZO, J. C.; GONZÁLEZ, B.; DAQUINTA, M.; GONZÁLEZ, J. L.; DESJARDINS, Y.; BORROTO, C. G. Pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) micropropagation in temporary immersion systems. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 18, n. 9, p. 743-748, May 1999.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**: part 2, in practice. 2. ed. Edington: Exejetics, 1996. 1361 p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, 1998. v. 1, 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.

HU, C. Y.; WANG, P. J. Meristem, shoot tip and bud cultures. In: EVANS, D. A.; SHARP, W. R.; AMMIRATO, P. V.; YAMADA, Y. (Ed.). **Handbook of plant cell culture: techniques for propagation and breeding**. New York: MacMillan, 1983. p. 177-277.

KRIKORIAN, A. D. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. In: ROCA, W. H.; MROGINSKI, L. A. (Ed.). **Cultivo de tejidos em la agricultura: fundamentos y aplicaciones**. Cali: CIAT, 1991. p. 41-78.

MEDEIROS, D. N.; MACÊDO, C. E. C.; ALLOUFA, M. A. I. Efeito do NaCl sobre a multiplicação *in vitro* de abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merrill). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 1, p. 1-5, jan. 2001.

MENDES, B. M. J.; MENDES, F. J.; TULMANN NETO, A.; DEMÉTRIO, C. G. B.; PUSKE, O. R. Efficacy of banana plantlet production by micropropagation. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 12, p. 863-867, dez. 1999.

MURASHIGE, T.; SKOOGS, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, May 1962.

PEREIRA, F. D.; PINTO, J. E. B. P.; ROSADO, L. D. S.; RODRIGUES, H. C. A.; SOUZA, R. R.; TEIXEIRA, R. N.; BOTREL, P. P.; BEIJO, L. A.; BERTOLUCCI, S. K. V. Influência da consistência do meio de cultivo na produção de mudas de curauá. In: CONGRESSO DE PÓS GRADUAÇÃO DA UFLA, 14., 2005, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2005. 1 CD-ROM.

SANTOS, M. D. M.; RIBEIRO, D. G.; TORRES, A. C. Brotações adventícias de abacaxizeiro ornamental sob efeito de benzilaminopurina, ácido naftalenoacético e períodos de sbcultivos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 9, p. 1115-1120, set. 2008.

SILVA, A. B. da; PASQUAL, M.; MACIEL, A. L. de R.; MOREIRA, M. A.; DUTRA, L. F. Influência da benzilaminopurina e do benomyl na proliferação in vitro de abacaxizeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 6, p. 1190-1196, nov./dez. 2002.

TAMAKI, V.; MERCIER, H.; NIEVOLA, C. C. Cultivo in vitro de clones de *Ananas comosus* (L.) Merrill. cultivar 'Smooth Cayenne' em diferentes concentrações de macronutrientes. **Hoehnea**, São Paulo, v. 34, n. 9, p. 69-73, Sept. 2007.

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, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2003. p. 350.

ZIV, M. The control of bioreactor environment for plant propagation in liquid culture. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 393, n. 1, p. 25-38, Mar. 1995.