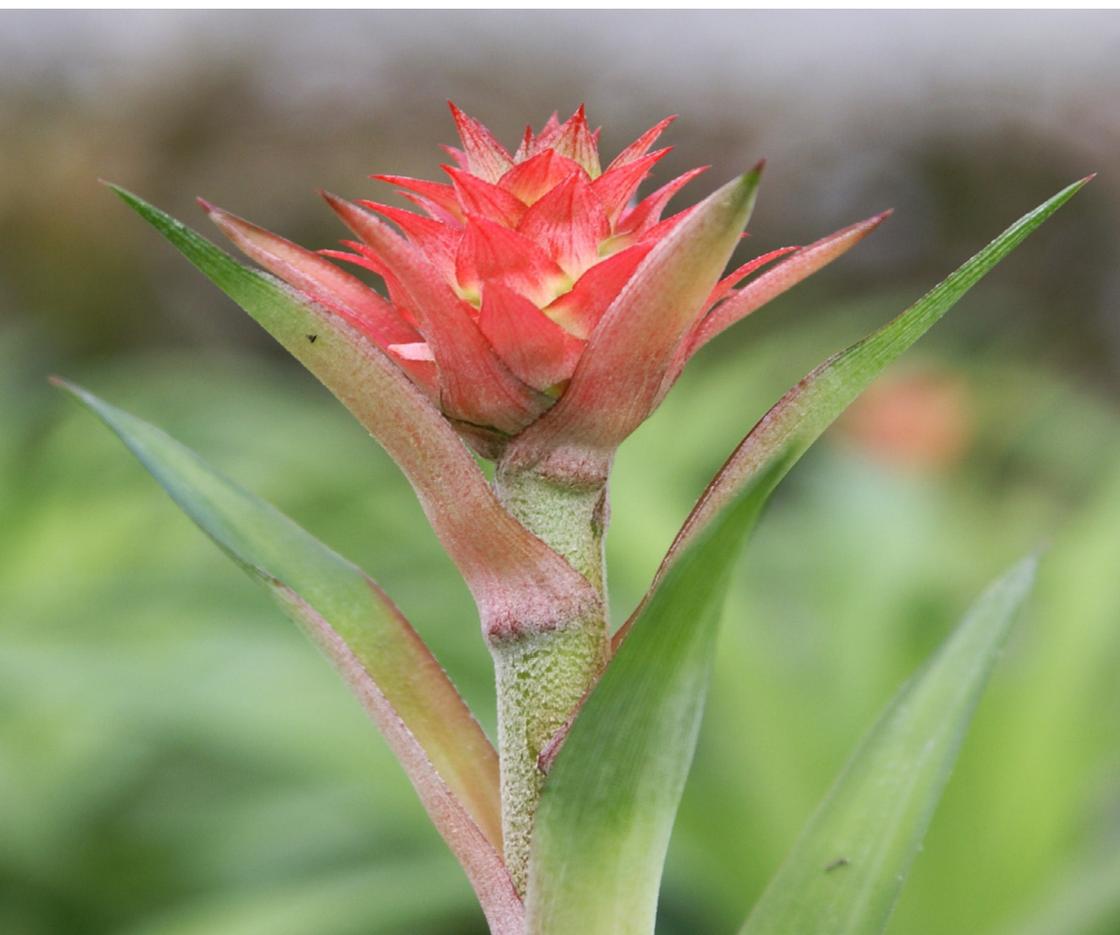


**Estiolamento e Regeneração de
Brotos de Híbridos de Abacaxizeiro
Ornamental**



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroindústria Tropical
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 139

Estiolamento e Regeneração de Brotos de Híbridos de Abacaxizeiro Ornamental

*Alexya Vitoria Felix Carvalho
Sérgio Luiz Ferreira Rios Filho
Priscila Bezerra dos Santos Melo
Adroaldo Guimarães Rossetti
Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho*

Embrapa Agroindústria Tropical
Fortaleza, CE
2017

Unidade responsável pelo conteúdo e edição:

Embrapa Agroindústria Tropical
Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici
CEP 60511-110 Fortaleza, CE
Fone: (85) 3391-7100
Fax: (85) 3391-7109
www.embrapa.br/agroindustria-tropical
www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente: *Gustavo Adolfo Saavedra Pinto*
Secretária-executiva: *Celli Rodrigues Muniz*
Secretária-administrativa: *Eveline de Castro Menezes*
Membros: *Janice Ribeiro Lima, Marlos Alves Bezerra, Luiz Augusto Lopes Serrano, Marlon Vagner Valentim Martins, Guilherme Julião Zocolo, Rita de Cássia Costa Cid, Eliana Sousa Ximendes*

Supervisão editorial: *Ana Elisa Galvão Sidrim*
Revisão de texto: *Marcos Antônio Nakayama*
Normalização: *Rita de Cassia Costa Cid*
Foto da capa: *Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho*
Editoração eletrônica: *Arilo Nobre de Oliveira*

1ª edição

On-line (2017)

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Agroindústria Tropical

Estiolamento e regeneração de brotos de híbridos de abacaxizeiro ornamental / Alexya Vitoria Felix Carvalho... [et al.]. – Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2017.

22 p. : il. ; 14,8 cm x 21 cm. – (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 1679-6543; 139).

Publicação disponibilizada on-line no formato PDF.

1. Abacaxizeiro ornamental. 2. Estiolamento. 3. Multiplicação de híbridos. 4. Cultura de tecidos vegetais. I. Carvalho, Alexya Vitoria Felix. II. Rios Filho, Sérgio Luiz Ferreira. III. Melo, Priscila Bezerra dos Santos. IV. Rossetti, Adroaldo Guimarães. V. Carvalho, Ana Cristina Portugal Pinto de. VI. Série.

CDD 635.98

© Embrapa 2017

Sumário

Resumo	4
Abstract.....	6
Introdução.....	7
Material e Métodos.....	9
Resultados e Discussão.....	10
Conclusões.....	18
Referências	19

Estiolamento e Regeneração de Brotos de Híbridos de Abacaxizeiro Ornamental

Alexya Vitoria Felix Carvalho¹

Sérgio Luiz Ferreira Rios Filho²

Priscila Bezerra dos Santos Melo³

Adroaldo Guimarães Rossetti⁴

Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho⁵

Resumo

Os abacaxizeiros ornamentais são marcados pela originalidade, beleza e durabilidade. A indução ao estiolamento e regeneração de brotos evita lesões na zona de regeneração e formação de calos. O objetivo deste trabalho foi verificar a viabilidade da técnica na multiplicação de dois híbridos de abacaxizeiro ornamental. Na fase de estiolamento, utilizou-se DIC, com quatro tratamentos: MS sem regulador de crescimento; MS + 10,0 μM de AIA; MS + 10,0 μM de AIB e MS + 10,0 μM de ANA, com cinco repetições. Aos 60 dias de cultivo in vitro, avaliou-se o número de brotos e de nós por broto, comprimento de brotos, distância entre os nós e número total de nós por explante. Na fase de regeneração, utilizou-se DIC, com sete tratamentos: MS + 0,00; 2,22; 4,44; 6,66; 8,88; 11,10 e 13,32 μM de BAP, com oito repetições. Aos 60 dias

¹ Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, alexyacarvalho2@gmail.com

² Graduando em Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, sergiorios@alu.ufc.br

³ Engenheira-agrônoma, mestre em Fitotecnia pela Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, priscila.santos07@outlook.com

⁴ Matemático, doutor em Engenharia e Gestão do Conhecimento, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, adroaldo.rossetti@embrapa.br

⁵ Bióloga, doutora em Genética, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, cristina.carvalho@embrapa.br

de cultivo in vitro, avaliou-se a taxa de multiplicação. Para ambos os híbridos, recomenda-se o estiolamento no meio MS adicionado de 10,0 μM de ANA. Para a fase de regeneração, adição de 8,88 μM a 11,10 μM de BAP promove maior número de brotos regenerados por nó, sugerindo as concentrações de 10,19 μM e 9,30 μM de BAP, para os híbridos A e D, respectivamente. Nessas concentrações de BAP, estima-se uma produção máxima de 4,98 brotos regenerados, para o híbrido A, e de 5,50, para o híbrido D.

Termos para indexação: *Ananas comosus* var. *bracteatus*, *Ananas comosus* var. *erectifolius*, cultura de tecidos vegetais.

In vitro Propagation of Ornamental Pineapple Hybrid by the Use of Etiolated Shoots

Abstract

Ornamental pineapples are noticeable by originality, beauty and durability. Shoot elongation induced in vitro prevents damage on the regeneration zone and calli formation. The aim of this study was to verify the viability of this technique in two ornamental pineapple hybrids multiplication. In the elongation phase, we used CRD, with four treatments: MS without growth regulators; MS + 10.0 μM of IAA; MS + 10.0 μM of IBA and MS + 10.0 μM of NAA; and five repetitions. On the 60th day of in vitro culture, we evaluated the number of buds and nodes per shoot, shoots length, distance between nodes and total number of nodes per explant. In the regeneration phase, we used CRD, with seven treatments: MS + 0.00; 2.22; 4.44; 6.66; 8.88; 11.10 and 13.32 μM of BAP; and eight repetitions. On the 60th day of in vitro culture, we evaluated the multiplication rate. For both hybrids, we recommend for shoot elongation MS medium added with 10.0 μM of NAA. For the regeneration phase, BAP additions in concentrations between 8.88 μM and 11.10 μM promote greater number of regenerated shoots per node, suggesting concentrations 10.19 and 9.30 μM of BAP, for hybrid A and D, respectively. In these BAP concentrations, there is an estimated maximum yield of 4.98 regenerated shoots per node for hybrid A and 5.50 for hybrid D.

Index terms: Ananas comosus var. bracteatus, Ananas comosus var. erectifolius, plant tissue culture.

Introdução

Os abacaxizeiros ornamentais, espécies tropicais marcadas pela originalidade, beleza e durabilidade, podem ser comercializados para paisagismo, em vaso e como flores, folhagens e minifrutos de corte (SOUZA et al., 2004).

De forma similar à espécie comestível (*Ananas comosus* var. *comosus*), os abacaxizeiros ornamentais são propagados de forma assexuada ou vegetativa, sendo este método predominante no estabelecimento dos cultivos comerciais. Convencionalmente, os propágulos são obtidos a partir de mudas formadas em diferentes partes da planta, tais como: coroa (brotação do ápice do fruto); filhote (brotação do pedúnculo); filhote rebentão (brotação da região da inserção do pedúnculo no caule) e rebentão (brotação do caule aéreo ou subterrâneo), bem como de mudas formadas em viveiro, a partir de gemas desenvolvidas em seções do caule ou por cultura de tecidos (REINHARDT; CUNHA, 1999). Mudanças obtidas pelos métodos convencionais possibilitam a disseminação de doenças e pragas, comprometendo os plantios (SOUZA et al., 2009). Dessa forma, estudos sobre a produção de mudas micropropagadas são imprescindíveis, por proporcionar a obtenção de milhares de plantas, a partir de uma gema, livres de pragas e doenças.

Atualmente, o principal método utilizado consiste na produção de mudas a partir de gemas axilares (CORREIA et al., 2009; CORREIA et al., 2010; CORREIA et al., 2011; COSTA; ZAFARRI, 2005; DIAS et al., 2010; MOREIRA, 2011; MOREIRA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2010; PASQUAL et al., 2008; PEREIRA et al., 2006; QUIRINO et al., 2009; SANTOS, 2008a, 2008b; SANTOS et al., 2008; SOUZA et al., 2009). Nesse sistema, ocorrem a proliferação de gemas axilares e a formação de gemas adventícias na base do explante (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998), sendo a produção de mudas para plantio mais lenta que em outras espécies, por ser alcançada depois de 9 a 12 meses depois do estabelecimento da cultura in vitro (MOREIRA et al., 2003). Esse obstáculo pode ser superado com novos

estudos para reduzir o tempo de produção das mudas e a formação de gemas adventícias. Nesse sentido, Kiss et al. (1995) propuseram um novo método de propagação rápida de abacaxizeiro, baseado no alongamento de brotos induzidos *in vitro*, por meio do estiolamento.

O estiolamento é o desenvolvimento de brotos, ramos ou partes deles na ausência de luz, causando o alongamento e a coloração amarela ou branca dessas estruturas, em razão da ausência de clorofila (HARTMANN; KESTER, 1990). No escuro, os entrenós do talo em abacaxizeiro se alongam, separando os nós, que, sob presença de luz, permaneceriam próximos uns dos outros. Na micropropagação, o maior distanciamento entre nós facilita o desenvolvimento de gemas axilares e a manipulação das mudas (BARBOZA; CALDAS, 2001).

Esse método, comparado com a propagação tradicional por gemas axilares, proporciona baixos níveis de variação somaclonal, por evitar lesões na zona de regeneração, minimizando a formação de calo (KISS et al., 1995; SANTOS et al., 2009), e pelas baixas concentrações de reguladores de crescimento necessárias para o estiolamento das hastes e proliferação dos brotos (SOUZA et al., 2009).

O primeiro relato da produção de mudas de abacaxizeiro ornamental, por meio do estiolamento *in vitro*, foi o de Carvalho et al. (2005). Posteriormente, estudos foram realizados utilizando essa técnica para outras variedades dessa espécie (DIAS et al., 2008; PEREIRA et al., 2008 e CARVALHO et al., 2009, 2012). Esse método abrevia o tempo necessário de produção de mudas em dois meses e meio, resultando em economia de tempo e mão de obra (CARVALHO et al., 2009).

O objetivo deste trabalho foi verificar a viabilidade da técnica de indução ao estiolamento e regeneração dos brotos, para posterior produção de mudas micropropagadas, em dois híbridos de abacaxizeiro ornamental.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza, CE, e desenvolvido em 2014.

Estiolamento

Foram utilizadas brotações, com aproximadamente 3,0 cm de altura, de dois híbridos oriundos do cruzamento *Ananas comosus* var. *bracteatus* x *Ananas comosus* var. *erectifolius* (denominados de híbridos A e D). Elas foram obtidas de mudas estabelecidas in vitro, a partir de gemas axilares da coroa. Essas brotações tiveram as folhas cortadas e o tamanho reduzido para 2,0 cm, restando apenas o eixo caulinar envolvido pelas bases foliares. O meio de cultura básico utilizado foi o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose e solidificado com ágar (Merck®) a 6,5 g L⁻¹. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, que foi realizada a 121 °C, por 15 minutos. Em capela de fluxo laminar, os explantes (eixos caulinares) foram inoculados em tubos de ensaio com 150 mm x 25 mm, contendo 10,0 mL de meio de cultura, e mantidos em sala de crescimento, a 25 ± 1 °C, permanecendo no escuro por 60 dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído por quatro tratamentos e cinco repetições, e a unidade experimental por seis tubos de ensaio, contendo um explante cada um. Foram testados os seguintes tratamentos: T1) MS sem regulador de crescimento; T2) MS + 10 µM de ácido indolacético (AIA); T3) MS + 10 µM de ácido indolbutírico (AIB); e T4) MS + 10 µM de ácido naftalenoacético (ANA). As avaliações ocorreram aos 60 dias, observando-se o número de brotos estiolados por explante (eixo caulinar), número de nós por broto, número total de nós por explante, comprimento de brotos e distância entre os nós, obtida por meio da divisão do comprimento dos brotos pelo número de nós por broto estiolado. O número total de nós por explante foi obtido a partir da multiplicação do número de brotos estiolados/explante pelo número de nós/broto estiolado. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias foram

comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados referentes ao número de brotos estiolados por explante e número de nós por broto estiolado foram transformados para raiz de $(x + 0,5)$.

Regeneração

Para a regeneração de brotos, foram utilizados, como explantes, brotos estiolados *in vitro*, aos 60 dias de cultivo no meio MS na presença de $10 \mu\text{M}$ de ANA. A escolha desses brotos foi em função do maior número total de nós formados nesse meio de cultura, para ambos os híbridos. Em capela de fluxo laminar, os brotos estiolados foram seccionados em segmentos contendo apenas dois nós, sendo estes colocados horizontalmente, em frascos com capacidade de 220 mL, contendo 30,0 mL de meio de cultura. Foram inoculados quatro segmentos por frasco. O meio de cultura básico utilizado foi o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 30 g L^{-1} de sacarose e solidificado com ágar (Merck®) a $6,5 \text{ g L}^{-1}$. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, que foi realizada a $121 \text{ }^\circ\text{C}$, por 15 minutos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído por sete tratamentos e oito repetições, e cada unidade experimental por um frasco contendo quatro segmentos. Utilizaram-se os tratamentos: T1) MS sem regulador de crescimento; T2) MS + $2,22 \mu\text{M}$ de 6-benzilaminopurina (BAP); T3) MS + $4,44 \mu\text{M}$ de BAP; T4) MS + $6,66 \mu\text{M}$ de BAP; T5) MS + $8,88 \mu\text{M}$ de BAP; T6) MS + $11,10 \mu\text{M}$ de BAP e T7) MS + $13,32 \mu\text{M}$ de BAP. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de $30 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Aos 60 dias, contou-se o número de brotações regeneradas por nó. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias, quando significativas, foram aplicadas à análise de regressão.

Resultados e Discussão

Estiolamento

Para o número de brotos estiolados por explante, não foram identificadas diferenças significativas entre os tratamentos testados

para o híbrido A. O número médio de brotos estiolados, produzido por explante, variou de 1,00 a 1,17 (Tabela 1). Entretanto, para o híbrido D, os explantes mantidos no meio contendo ANA formaram maior número de brotos estiolados (1,60) em comparação àqueles desenvolvidos nos meios sem a adição de regulador de crescimento (1,13) e suplementado com AIA (1,03) (Tabela 2). Os resultados obtidos para o híbrido A foram semelhantes aos registrados por Carvalho et al. (2005) e Dias et al. (2008), que também não constataram diferenças significativas para o número de brotos formados por explante, para os abacaxis ornamentais das variedades *bracteatus* e *ananassoides*. O maior número de brotos por explante foi de 1,96 para a var. *bracteatus* (CARVALHO et al., 2005) e de 3,42 para a var. *ananassoides* (DIAS et al., 2008). Neste trabalho, o maior valor alcançado para essa característica foi de 1,17 para o híbrido A. Os resultados obtidos para o híbrido D foram semelhantes aos constatados por Carvalho et al. (2009) para a var. *erectifolius*, sendo o maior número de brotos formados por explante também registrado no meio adicionado de ANA. Nos dois híbridos estudados, os valores obtidos para o número de brotos estiolados foram semelhantes aos do progenitor da var. *bracteatus*.

Tabela 1. Número de brotos estiolados por explante, número de nós por broto, comprimento de brotos, distância entre os nós e número total de nós por explante de abacaxizeiro ornamental *Ananas comosus* var. *bracteatus* x *Ananas comosus* var. *erectifolius* (híbrido A), em diferentes tratamentos, aos 60 dias de cultivo in vitro no escuro. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2014.

Meio de cultura	Nº de brotos estiolados/explante	Nº de nós/broto	Comprimento de brotos (cm)	Distância entre os nós (cm)	Nº total de nós/explante
MS	1,00 a	4,70 b	8,81 b	3,59 a	4,70 b
MS + 10 μ M de AIA	1,07 a	4,57 b	5,45 c	2,09 ab	4,77 b
MS + 10 μ M de AIB	1,13 a	4,02 b	7,30 bc	2,72 ab	4,57 b
MS + 10 μ M de ANA	1,17 a	9,16 a	12,10 a	1,40 b	10,30 a
CV %	15,24	31,86	21,05	44,15	26,96

* Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Número de brotos estiolados por explante, número de nós por broto, comprimento de brotos, distância entre os nós e número total de nós por explante de abacaxizeiro ornamental *Ananas comosus* var. *bracteatus* x *Ananas comosus* var. *erectifolius* (híbrido D), em diferentes tratamentos, aos 60 dias de cultivo in vitro no escuro. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2014.

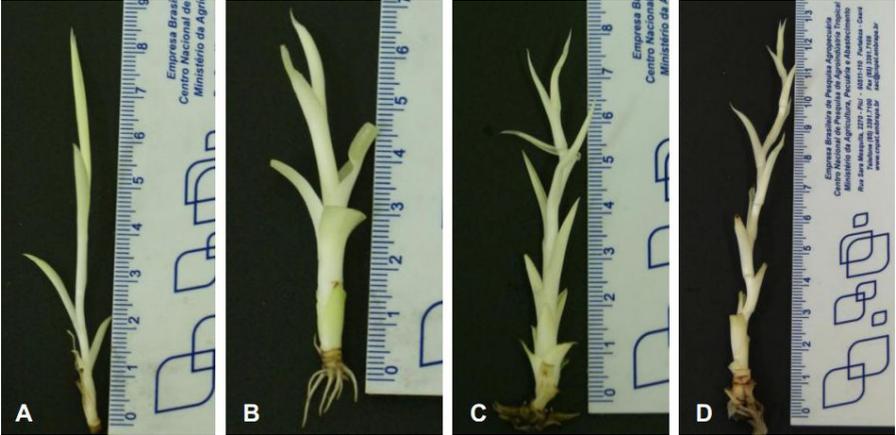
Meio de cultura	Nº de brotos/ explante	Nº de nós/broto	Comprimento de brotos (cm)	Distância entre os nós (cm)	Nº total de nos/explante
MS	1,13 b	3,32 bc	11,19 a	4,88 a	3,83 bc
MS + 10 μ M de AIA	1,03 b	1,70 c	4,11 c	2,78 ab	1,73 c
MS + 10 μ M de AIB	1,37 ab	4,03 b	7,80 b	2,17 b	5,35 b
MS + 10 μ M de ANA	1,60 a	6,54 a	8,95 ab	1,46 b	10,30 a
CV %	17,77	30,57	16,81	41,27	36,22

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quanto ao número de nós por broto estiolado, os maiores valores foram registrados no meio contendo ANA, tanto para o híbrido A (9,16) (Tabela 1) quanto para o híbrido D (6,54) (Tabela 2). Esses resultados não confirmam os obtidos por Carvalho et al. (2005, 2009), que registraram o maior número de nós por broto estiolado no meio sem a adição de regulador de crescimento para as var. *bracteatus* (7,75) e var. *erectifolius* (4,70). Nos dois híbridos estudados, a adição de ANA ao meio de cultura favoreceu a formação de maior quantidade de nós nos brotos estiolados, enquanto, para o desenvolvimento de nós nos seus progenitores, não é necessária a presença de uma auxina no meio de cultura.

O comprimento dos brotos estiolados é uma variável importante, pois está diretamente relacionada com o número de nós que serão recuperados em novas brotações, quando colocados em condições de luz. Com relação a essa característica, para o híbrido A, os valores obtidos no meio com ANA foram superiores aos demais tratamentos (12,10 cm) (Tabela 1, Figura 1), e, para o híbrido D, os brotos mais longos foram verificados no meio sem a presença de fitorreguladores (11,19 cm) (Tabela 2, Figura 2). O meio MS sem fitorreguladores também proporcionou resultado significativamente melhor para o comprimento de brotos estiolados para a var. *erectifolius*, quando estes atingiram 3,43 cm (CARVALHO et al., 2009). Utilizando este mesmo meio de cultura, para a var. *bracteatus*, Carvalho et al.

(2005) detectaram brotos com 6,19 cm. Em ambos os híbridos, os brotos estiolados apresentaram tamanhos maiores que os dos seus progenitores, quando submetidos aos mesmos tratamentos.



Fotos: Alexya Vitória Felix Carvalho

Figura 1. Brotos de abacaxi ornamental *Ananas comosus* var. *bracteatus* x *A. comosus* var. *erectifolius* (híbrido A) estiolados nos meios: MS sem regulador de crescimento (A), MS com 10 μM de AIA (B), MS com 10,0 μM de AIB (C) e MS com 10,0 μM de ANA (D), aos 60 dias de cultivo in vitro no escuro. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2014.



Fotos: Alexya Vitória Felix Carvalho

Figura 2. Brotos de abacaxi ornamental *Ananas comosus* var. *bracteatus* x *A. comosus* var. *erectifolius* (híbrido D) estiolados nos meios: MS sem regulador de crescimento (A), MS com 10 μM de AIA (B), MS com 10,0 μM de AIB (C) e MS com 10,0 μM de ANA (D), aos 60 dias de cultivo in vitro no escuro. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2014.

No escuro, as plantas se tornam estioladas, isto é, investem energia no alongamento rápido da parte aérea, não ocorrendo a expansão foliar nem a formação do sistema fotossintético funcional (GEORGE, 1993). Os brotos estiolados obtidos apresentaram coloração branca, indicando ausência ou reduzida atividade fotossintética. Além disso, nas folhas formadas de coloração branca, não houve a expansão dos limbos (Figura 1A). Não obstante a maior separação entre os nós, o estiolamento também pode aumentar, nas gemas, a sensibilidade a auxinas, e, conseqüentemente, a frequência com que elas podem ser enraizadas (GEORGE, 1996). A maior separação dos nós tem sido observada em plantas que crescem no escuro, e, para fins de micropropagação, a maior separação dos nós facilita o desenvolvimento das gemas axilares e a manipulação das brotações regeneradas. Esse comportamento foi observado para os dois híbridos estudados e por Carvalho et al. (2005; 2009), para as var. *bracteatus* e *erectifolius*, respectivamente, bem como Dias et al. (2008) para a var. *ananassoides*.

Para os dois híbridos, constatou-se diferença significativa entre os tratamentos para a variável distância entre os nós, sendo os maiores valores registrados no meio de cultura sem a adição de reguladores de crescimento, os quais foram de 3,59 cm para o híbrido A e 4,88 cm para o híbrido D. Entretanto, Carvalho et al. (2005), Dias et al. (2008) e Carvalho et al. (2009) não registraram diferenças entre os tratamentos para a distância entre os nós, obtendo uma distância média de 0,80 cm, 0,84 cm e 0,74 cm para as var. *bracteatus*, *ananassoides* e *erectifolius*, respectivamente, nesse mesmo meio de cultura. Nos dois híbridos estudados, ocorreu maior distanciamento entre os nós, em todos os tratamentos, em comparação aos seus progenitores.

Para os dois híbridos, o meio adicionado com ANA revelou o maior número total de nós por explante, sendo estatisticamente superior aos valores obtidos nos demais tratamentos, 10,30. Tais resultados confirmam os obtidos por Carvalho et al. (2009), que conseguiram em média 22,37 nós/explante, aos 60 dias no escuro, em meio contendo 10 μ M de ANA, para a var. *erectifolius*. Os resultados obtidos foram mais semelhantes aos registrados por Carvalho et al. (2005), 9,80 para a var. *bracteatus*, no meio de cultura sem a adição de reguladores de crescimento.

Regeneração

As médias, após as análises de regressão, ajustaram-se ao modelo matemático do segundo grau com coeficientes de ajuste (R^2) igual a 72,75% (Figura 3) e 77,41% (Figura 4) para o híbrido A e D, respectivamente. As regressões demonstraram que adições de BAP ao meio MS promoveram incremento no número de muda regenerada por explante (MRE), obtendo-se as maiores médias entre as concentrações de 8,88 μM a 11,10 μM , para os híbridos A e D.

De acordo com as análises de regressão, para o híbrido A, estima-se que sejam regeneradas 4,98 brotações por nó, quando a concentração de BAP for igual a 10,19 μM , enquanto, para o híbrido D, para essa mesma característica, são estimadas 5,50 brotações regeneradas por nó, quando a concentração de BAP for igual a 9,30 μM .

As avaliações efetuadas aos 60 dias indicaram que a adição de BAP teve um efeito positivo sobre o número de brotos regenerados por nó, quando comparado com a testemunha, em ambos os híbridos.

As taxas de multiplicação registradas no meio de cultura sem a adição de BAP foram de 1,06 (híbrido A) e 1,28 (híbrido D). Tais resultados confirmam os obtidos por Carvalho et al. (2005, 2009), isto é, os menores valores para o número de brotações regeneradas por nó também foram verificados no meio de cultura sem a adição de reguladores de crescimento, o quais foram de 0,90 para a var. *bracteatus* e 0,75 para a var. *erectifolius*. Grattapaglia e Machado (1998) citam o BAP como sendo uma citocinina adequada para a multiplicação de partes aéreas e para a indução de gemas adventícias. Para o abacaxi ornamental, o aumento da concentração de BAP ao meio de cultura resultou em um acréscimo no número médio de brotações regeneradas por nó, aos 60 dias de cultivo.

Para a var. *bracteatus*, Carvalho et al. (2005) registraram 2,03 brotos no meio de cultura adicionado de 13,32 μM e apenas 1,33 no meio contendo 8,88 μM de BAP. Já para a var. *erectifolius*, foram constatadas taxas semelhantes quando essa citocinina foi adicionada ao meio, independentemente da concentração utilizada; os valores

variaram de 3,23 a 3,75 brotos, entre 4,44 μM e 13,32 μM de BAP (CARVALHO et al., 2009). Os resultados obtidos indicam que as taxas de multiplicação obtidas pelos híbridos foram superiores as dos seus progenitores.

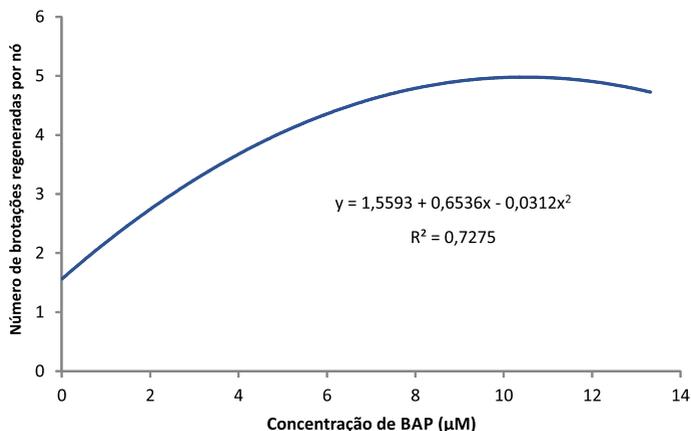


Figura 3. Efeito da adição de concentrações de BAP ao meio de cultura MS sobre o número de brotações regeneradas por nó do híbrido A (*Ananas comosus* var. *bracteatus* x *Ananas comosus* var. *erectifolius*), aos 60 dias de cultivo in vitro. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2015.

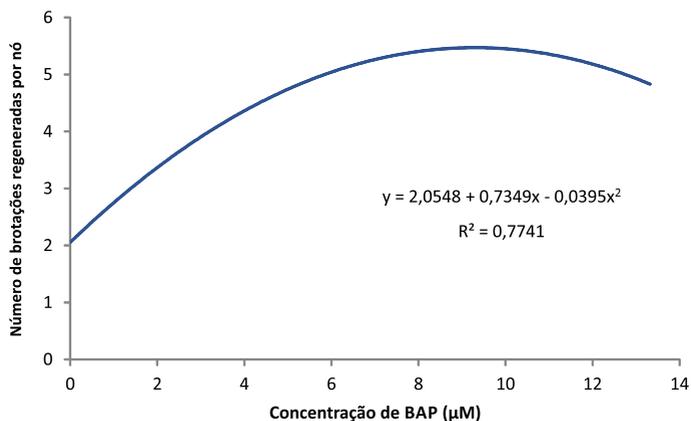
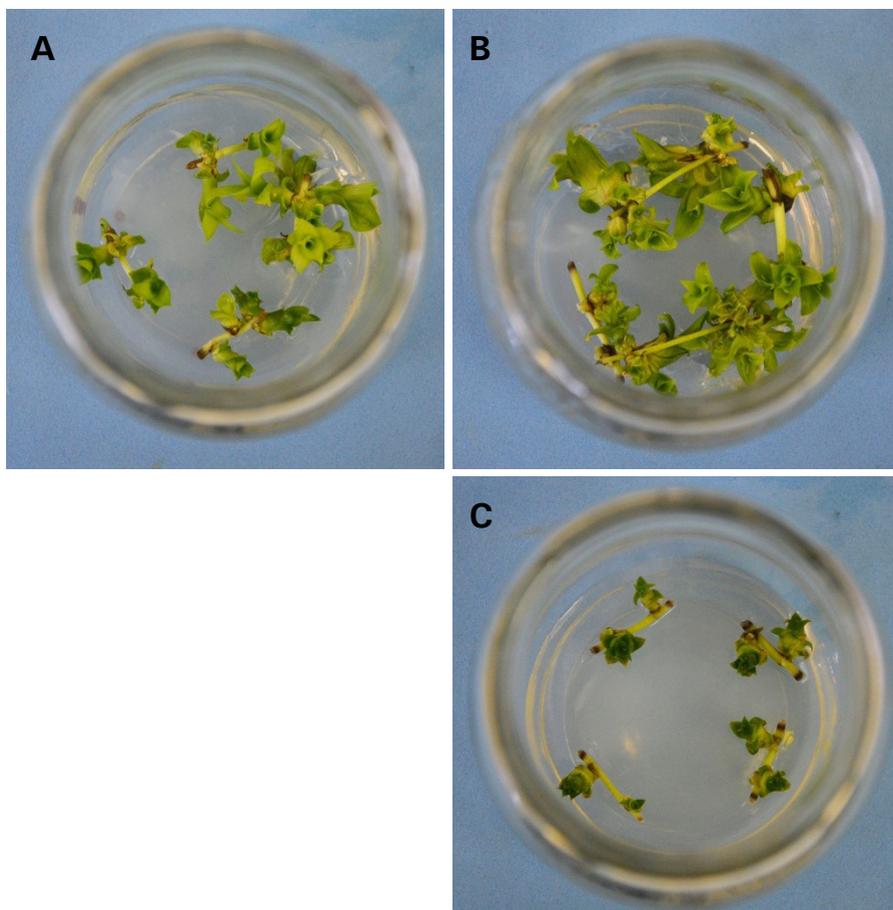


Figura 4. Efeito da adição de concentrações de BAP ao meio de cultura MS sobre o número de brotações regeneradas por nó do híbrido D (*Ananas comosus* var. *bracteatus* x *Ananas comosus* var. *erectifolius*), aos 60 dias de cultivo in vitro. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2015.

Na Figura 5, é possível observar o desenvolvimento dos brotos de abacaxi ornamental híbrido A (Figura 5A) e híbrido D (Figura 5B), aos 60 dias de cultivo in vitro, no meio de cultura MS adicionado de 8,88 μM de BAP suportando que a adição de BAP teve um efeito positivo sobre o número de brotos por nó quando comparado com a testemunha (Figura 5C).



Fotos: Alexya Vítoria Felix Carvalho

Figura 5. Brotações do híbrido A (A) e do híbrido D (B) de abacaxi ornamental (*Ananas comosus* var. *bracteatus* x *Ananas comosus* var. *erectifolius*) no meio de cultura MS adicionado de 8,88 μM de BAP, aos 60 dias de cultivo in vitro. Testemunha: brotações do híbrido A (C) no meio de cultura MS sem a adição de BAP, aos 60 dias de cultivo in vitro. Barras: 1,0 cm. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2015.

O sistema de micropropagação de abacaxizeiro utilizado atualmente, por meio da proliferação de gemas axilares, demanda, aproximadamente, 9 meses para que as mudas obtidas estejam desenvolvidas adequadamente para aclimatização, isto é, são necessários dois meses para a fase de estabelecimento, seis meses para a fase de multiplicação, efetuando-se seis subcultivos sucessivos de 30 dias cada, e mais um mês para a indução de alongamento e enraizamento. Comparando-se com o método sugerido, esse tempo poderia ser reduzido para 7 meses, isto é, seriam necessários 2 meses para a fase de estabelecimento, 2 meses para a fase de estiolamento, 2 meses para a fase regeneração das brotações e 1 mês para o alongamento e enraizamento, resultando, portanto, em economia em tempo e mão de obra.

Conclusões

O método do estiolamento de segmentos nodais e regeneração de brotos é viável para a multiplicação *in vitro* dos dois híbridos resultantes do cruzamento *Ananas comosus* var. *bracteatus* x *Ananas comosus* var. *erectifolius*.

O meio MS, adicionado do regulador de crescimento ANA, na concentração de 10,0 μM , é adequado para a indução *in vitro* de estiolamento de brotos em ambos híbridos.

A adição de BAP, ao meio de cultura, tem efeito positivo sobre o número de brotações regeneradas por nó, em ambos os híbridos. Concentrações estimadas de 10,19 μM e 9,30 μM de BAP favorecem os maiores números de brotos regenerados por nó, nos híbridos A e D, respectivamente.

Referências

BARBOZA, S. B. S. C.; CALDAS, L. S. Estiolamento e regeneração na multiplicação in vitro de abacaxizeiro híbrido PE x SC-52. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 36, n. 3, p. 417-423, 2001.

CARVALHO, A. C. P. P. de; BRAGA, E. P.; SANTOS, M. R. A. dos; MORAIS, J. P. S. Micropropagação de abacaxi ornamental (*Ananas comosus* var. *bracteatus*) através da indução ao estiolamento e regeneração de plantas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 11, n. 2, p. 121-126, 2005.

CARVALHO, A. C. P. P. de; PINHEIRO, M. V. M.; DIAS, G. de M. G.; MORAIS, J. P. S. Multiplicação in vitro de abacaxi ornamental por estiolamento e regeneração de brotações. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n. 1, p. 103-108, 2009.

CARVALHO, A. C. P. P. de; PINHEIRO, M. V. M.; DIAS, G. de M. G.; MORAIS, J. P. S. **Estiolamento in vitro de plantas**: alternativa para a produção de mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012. 12 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Circular técnica, 42).

CORREIA, D.; BORGES, N. S. S.; RIBEIRO, E. M.; MORAIS, J. P. S. de. **Produção de mudas in vitro e indução floral de abacaxizeiro ornamental**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. 24p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 134).

CORREIA, D.; ROCHA, M. V. P.; ALVEZ, G. C. Growth of micropropagated *Ananas comosus* var. *erectifolius* plantlets in different substrates under greenhouse conditions. **Acta Horticulturae**, Leuven, n. 822, p. 85-89, 2009.

CORREIA, D.; ROCHA, M. V. P.; ALVES, G. C.; MORAIS, J. P. S. **Produção de mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental em diferentes substratos na presença e ausência de fertilizante**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2010. 18 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 35).

COSTA, T.; ZAFFARI, G. R. Micropropagação de *Ananas bracteatus* (Shultz) cv. *estriatus* Hort. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 11, n. 2, p. 109-113, 2005.

DIAS, G. de M. G.; CARVALHO, A. C. P. P. de; PINHEIRO, M. V. M.; MORAIS, J. P. S. Micropropagação de abacaxi ornamental (*Ananas comosus* var. *ananassoides*) por estiolamento e regeneração de plântulas. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 4, n.1, p. 1-7, 2008.

DIAS, M. M.; PASQUAL, M.; ARAÚJO, A. G.; SANTOS, V. A. dos; CUSTÓDIO, T. N.; COSTA, F. H. S. da. Enraizamento ex vitro e aclimatização de plantas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 4, n. 2, p. 29-33, 2010.

GEORGE EF. Factors affecting growth and morphogenesis. In: GEORGE EF.(Ed.). **Plant propagation by tissue culture**. Edington: Exegetics, 1993. p. 183-230.

GEORGE EF. 1996. Rooting and establishment. In: GEORGE EF. *Plant propagation by tissue culture*. Edington: Exegetics Limited. 1996. p. 670-732.

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, DF: Embrapa Informação Tecnológica: Embrapa Hortaliças, 1998. v. 1, p. 183-260.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E. **Propagacion de plantas: principios y practicas**. México: Compañía Editorial Continental, 1990. 760 p.

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

MOREIRA, C. M. **Biotechnologia aplicada ao curauá (*Ananas comosus* var. *erectifolius*): caracterização morfológica - micropropagação e embriogênese somática em segmento foliar**. 2011. 112 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MOREIRA, C. M.; ANDRADE, H. B.; MONFORT, L. E. F.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; RIBEIRO, A. S. Indução de brotação *in vitro* em curauá: sistema de cultivo e concentrações de BAP. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, n. 2, S58-S66, 2011.

MOREIRA, M. A.; PASQUAL, M.; CARVALHO, J. G. de; FRAGUAS, C. B. Estiolamento na micropropagação do abacaxizeiro cv. Pérola. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 5, p. 1002-1006, 2003.

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

OLIVEIRA, M. K. T. de; NETO, F. B.; CÂMARA, F. A. A.; NUNES, G. H. de S.; OLIVEIRA, F. de A. Propagação in vitro da cultura do abacaxizeiro ornamental (*Ananas lucidus* Miller). **Caatinga**, Mossoró, v. 20, n. 3, p. 167-171, 2007.

OLIVEIRA, Y. de; ANSELMINI, J. I.; CUQUEL, F. L.; PINTO, F.; QUOIRIN, M. Pré-aclimatização in vitro de abacaxi ornamental. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, número especial, p.1647-1653, 2010.

PASQUAL, M.; SANTOS, F. C.; FIGUEIREDO, M. A.; JUNQUEIRA, K. P.; REZENDE, J. C.; FERREIRA, E. A. Micropropagação do abacaxizeiro ornamental. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 26, n. 1, p. 45-49, 2008.

PEREIRA, F. D.; PINTO, J. E. B. P.; RODRIGUES, H. C. de A.; ROSADO, L. D. S.; BEIJO, L. A.; LAMEIRA, O. A. Proliferação in vitro de brotos de curauá utilizando diferentes volumes de meio de cultura. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 2, n. 2, p. 102-106, 2006.

PEREIRA, F. D.; PINTO, J. E. B. P.; ROSADO, L. D. S.; RODRIGUES, H. C. A.; BERTOLUCCI, S. K. V.; LAMEIRA, O. A. Micropropagation of the fiber-rich Amazonian species *Ananas erectifolius* (Bromeliaceae). **Hortscience**, v. 43, n. 7, p. 2134-2137, 2008.

QUIRINO, Z. B. R.; BARBOZA, S. B. S. C.; VIEGAS, P. R. A.; LEDO, A. S. **Multiplicação in vitro do abacaxizeiro ornamental, *Ananas comosus* var. *erectifolius*, em meio líquido e gelificado**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009. 14p. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 40).

REINHARDT, D. H. R. C.; CUNHA, G. A. P. da. Métodos de propagação. In: CUNHA, G. A. P. da; CABRAL, J. R. C.; SOUZA, L. F. da S. (Org.). **O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia**. Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. p. 105-138.

SANTOS, M. da C.; BARBOZA, S. B. S. C.; LÉDO, A. da S.; VIÉGAS, P. R. A.; COPATI, L. A. Efeito do estiolamento na micropropagação de abacaxi cultivar Imperial. **Plan Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 5, n. 2, p. 101-110, 2009.

SANTOS, M. do D. M. dos. **Micropropagação do abacaxizeiro ornamental [*Ananas comosus* var. *bracteatus* (Lindley) Coppens & Leal] e avaliação da fidelidade genotípica dos propágulos**. 2008a. 127 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade de Brasília, Brasília, DF.

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

SANTOS, M. T. **Micropropagação e viabilidade de regeneração de variedades silvestres de abacaxi conservadas in vitro**. 2008b. 51 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA.

SOUZA, F. V. D.; SEREJO, J. A. S.; CABRAL, J. R. S. Beleza rara. **Cultivar Hortalças e Frutas**, v. 28, p. 6-8, 2004.

SOUZA, F. V. D.; SOUZA, A. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, E. H.; JUNGHAS, T. G.; SILVA, M. J. Micropropagação do abacaxizeiro e outras bromeliáceas. In: JUNGHAS, T. G.; SOUZA, A. S. (Ed.). **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2009, v. 1, p. 177-205.



Agroindústria Tropical



MINISTÉRIO DA
**AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO**

