

FOL 05457  
2001  
FL-FOL 5457

## Produção de mudas de abacaxi de alta qualidade através da micropropagação



**República Federativa do Brasil**

*Fernando Henrique Cardoso*  
Presidente

**Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

*Marcus Vinicius Pratini de Moraes*  
Ministro

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**

**Conselho de Administração**

*Márcio Fortes de Almeida*  
Presidente

*Alberto Duque Portugal*  
Vice-Presidente

*Dietrich Gerhard Quast*  
*José Honório Accarini*  
*Sérgio Fausto*  
*Urbano Campos Ribeiral*  
Membros

**Diretoria-Executiva da Embrapa**

*Alberto Duque Portugal*  
Diretor-Presidente

*Dante Daniel Giacomelli Scolari*  
*Bonifacio Hideyuki Nakasu*  
*José Roberto Rodrigues Peres*  
Diretores-Executivos

**Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**

*Luiz Antonio Barreto de Castro*  
Chefe-Geral

*Arthur da Silva Mariante*  
Chefe-Adjunto de Administração

*Clara Oliveira Goedert*  
Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

*José Manuel Cabral Sousa Dias*  
Chefe-Adjunto de Comunicação, Negócios e Apoio

FL 22314



ISSN 0102 - 0110

Dezembro, 2001

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

FL 17457

**Documentos 70**

**Produção de mudas de  
abacaxi de alta qualidade  
através da micropropagação**

João Batista Teixeira  
Andréa Rachel Ramos Cruz  
Francisco Ricardo Ferreira  
José Renato Santos Cabral

EMBRAPA

FNARBE

Brasília, DF  
2001

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

#### Embrapa - Recursos Genéticos e Biotecnologia

Serviço de Atendimento ao Cidadão  
Parque Estação Biológica, Av. W5 Norte (Final) - Brasília, DF  
CEP 70770-900 - Caixa Postal 02372  
PABX: (61) 448-4600  
Fax: (61) 340-3624  
<http://www.cenargen.embrapa.br>  
e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

#### Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: José Manuel Cabral de Sousa Dias  
Secretária-Executiva: Miraci de Arruda Camara Pontual  
Membros: Antônio Costa Allem  
Marcos Rodrigues de Faria  
Marta Aguiar Sabo Mendes  
Sueli Correa Marques de Mello  
Vera Tavares Campos Carneiro  
Suplentes: Edson Junqueira Leite  
José Roberto de Alencar Moreira  
Supervisor editorial: Miraci de Arruda Camara Pontual  
Revisor de texto: Miraci de Arruda Camara Pontual  
Normalização bibliográfica: Sérgio Souza Santos  
Tratamento de ilustrações: Alysson Messias da Silva  
Editoração eletrônica: Alysson Messias da Silva  
Foto Capa: João Batista Teixeira

#### 1ª edição

1ª impressão (2001): tiragem 150 exemplares.

#### Todos os direitos reservados.

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

TEIXEIRA, J. B.; CRUZ, A. R. R.; FERREIRA, F. R.; CABRAL, J. R. S. **Produção de mudas de abacaxi de alta qualidade através da micropropagação.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 26p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 70).

ISSN 0102 - 0110

1. Abacaxi. 2. Micropropagação. 3. Mudas. I. Cruz, A. R. R. II. Ferreira, F. R. III. Cabral, J. R. S. IV. Título. V. Série.

CDD 634.774

© Embrapa 2001

Embrapa

Unidade	_____
Valor aquisição	_____
Data aquisição	_____
N.º N. Fiscal/Fatura	_____
Fornecedor	_____
N.º OCS	_____
Origem	_____

FOL 5457

## Autores

#### João Batista Teixeira

Agr., PhD., Biologia Celular. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. E-mail: batista@cenargen.embrapa.br

#### Andréa Rachel Ramos Cruz

Agrª., M.Sc., Fruticultura. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. E-mail: rachel@cenargen.embrapa.br

#### Francisco Ricardo Ferreira

Agr., D.Sc. Fruticultura. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. E-mail: fricardo@cenargen.embrapa.br

#### José Renato Santos Cabral

Agr., M.Sc., Melhoramento de Plantas. Embrapa Mandioca e Fruticultura. E-mail: jrenato@cnpmf.embrapa.br

EMBRAPA  
CENARGEN

# Sumário

<b>Introdução</b> .....	7
Produção de mudas via cultura de tecidos .....	8
Seleção das plantas matrizes em viveiros ou em plantios comerciais .....	8
Escolha e coleta das mudas tipo filhote que vão fornecer as gemas para cultivo .....	9
Preparo da haste, desinfestação, excisão das gemas e inoculação em meio de cultura .....	9
Preparo das plântulas estabelecidas e inoculação em meio de multiplicação de gemas .....	12
Inoculação das gemas multiplicadas em meio de alongamento .....	15
Transferência das plântulas obtidas para casa de vegetação ou telado para fins de aclimação .....	17
Avaliação a campo das mudas micropropagadas (em andamento) .....	22
<b>Conclusões e Recomendações</b> .....	25
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	26

EMBRAPA  
BRASÍLIA

# **Produção de mudas de abacaxi de alta qualidade através da micropropagação**

---

## **Introdução**

A cultura do abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill) ocupa lugar de destaque entre as fruteiras tropicais mais cultivadas no Brasil. Em 2000, a área plantada no País foi de 56.726 hectares, com uma produção de 1.340.220 toneladas de frutos (FAO, 2001). O abacaxizeiro é uma fruteira amplamente cultivada no Brasil, representando excelente fonte de renda tanto pela comercialização do fruto ao natural como pela sua industrialização. Além da sua importância econômica, a cultura do abacaxi se caracteriza por ser uma atividade que absorve mão-de-obra no meio rural, contribuindo para a geração de emprego e renda.

O método convencional de propagação do abacaxizeiro é feito basicamente por meio de mudas do tipo filhote, filhote-rebentão ou rebentão, que são originadas de brotações laterais da planta. A coroa também pode ser utilizada, porém é pouco usada, porque acompanha o fruto no processo de comercialização (Reinhardt & Cunha, 1999).

O uso de mudas convencionais de baixa qualidade pode acarretar problemas para a lavoura a ser estabelecida em consequência do baixo vigor, ocasionado principalmente pela presença de pragas e doenças como a cochonilha (*Dysmicoccus brevipes*) e a fusariose (*Fusarium subglutinans*), respectivamente, a principal praga e doença da cultura do abacaxi no Brasil. Esta última constitui-se num fator limitante para a cultura, pois em condições favoráveis para

o desenvolvimento do fungo e, na ausência de controle, a perda da produção pode ser total (Sanches & Matos, 1999; Matos, 1999).

A muda de abacaxi micropropagada, produzida por meio de técnicas de cultura de tecidos, constitui uma nova alternativa para produção de mudas em escala comercial de alto padrão fitossanitário, além de apresentar alto vigor e uniformidade. O sucesso da cultura do abacaxi depende, entre outros fatores, da qualidade da muda. A sanidade do material propagativo constitui-se em um dos pré requisitos básicos para que altas produtividades e frutos de excelente qualidade possam ser obtidos (Teixeira et al., 2001).

A demanda estimada de mudas no Brasil por ciclo de cultivo é da ordem de 2 bilhões, para uma área plantada de aproximadamente 55 mil hectares, adotando-se densidades em torno de 40.000 plantas por hectare..

## Produção de mudas via cultura de tecidos

A produção de mudas de abacaxi via cultura de tecidos envolve os seguintes passos:

1. Seleção das plantas matrizes em viveiros ou em plantios comerciais;
2. Escolha e coleta das mudas tipo filhote que fornecerão as gemas para cultivo;
3. Preparo da haste, desinfestação, excisão das gemas e inoculação em meio de cultura;
4. Cultura das gemas em meio de estabelecimento de plântulas estoques *in vitro*;
5. Preparo das plântulas estabelecidas e inoculação em meio de multiplicação de gemas;
6. Inoculação das gemas multiplicadas em meio de alongamento;
7. Transferência das plântulas obtidas para casa de vegetação ou telado para fins de aclimação;
8. Avaliação a campo das mudas micropropagadas.

## Seleção das plantas matrizes em viveiros ou em plantios comerciais

As plantas matrizes a serem utilizadas como fonte de gemas devem apresentar boa sanidade além de um excelente vigor, que estejam produzindo mudas tipo filhote de excelente qualidade (Fig. 1A). Devem ser evitadas as plantas com qualquer sintoma aparente que denote a presença de ataque de pragas ou

doenças, bem como deficiência nutricional ou hídrica prolongada.

Da mesma forma, a escolha da planta matriz deve levar em consideração a qualidade do fruto e o tipo de coroa. Plantas com características diferentes do padrão da variedade e que apresentem frutos com anormalidades e coroa com fasciação (coroas múltiplas) devem ser evitadas.

## Escolha e coleta das mudas tipo filhote que vão fornecer as gemas para cultivo

O melhor material para retirada das gemas é a muda tipo filhote, embora em casos excepcionais possam ser utilizados o filhote-rebentão, o rebentão e mesmo a coroa.

Os filhotes devem ser retirados da planta após alguns meses de estiação e devem estar com um comprimento mínimo de 20 cm (Fig. 1B). Este material é conduzido para o laboratório e utilizado num prazo máximo de 15 dias, evitando, assim, a deterioração da muda durante esta fase. O ideal é que se faça a utilização do material no período de uma semana.

Para evitar deterioração rápida das mudas, os filhotes devem ser armazenados em local sombreado, que apresente umidade relativa entre 60 e 80% e uma temperatura entre 20 e 30 °C.

## Preparo da haste, desinfestação, excisão das gemas e inoculação em meio de cultura

O preparo da haste consiste basicamente na retirada das folhas visando à exposição das gemas, bem como de um corte da base da muda para reduzir o seu tamanho e facilitar a desinfestação (Fig. 1C). A partir deste momento, todos os procedimentos precisam ser conduzidos em capelas de fluxo laminar de ar estéril.

A desinfestação tem como objetivo eliminar a presença de contaminantes fúngicos e bacterianos na superfície da haste desfolhada. Contaminantes endógenos, isto, é presentes no interior dos tecidos, principalmente nos feixes vasculares, são principalmente do tipo bacteriano e de difícil controle. Caso a incidência deste tipo de contaminação seja detectada, é necessário lançar mão de novas matrizes, eventualmente, de novas plantações. Na Embrapa Recursos

Genéticos e Biotecnologia, não foi detectada a presença de contaminantes endógenos de bactérias em explantes de abacaxi. Em algumas hastes, entretanto, foram detectadas contaminações fúngicas, que, provavelmente, eram de *Fusarium*, agente causal da doença mais importante do abacaxi. Felizmente, a presença de *Fusarium* é detectada com relativa facilidade antes da excisão das gemas, não acarretando problemas sérios para o cultivo *in vitro*.

As hastes preparadas como mostra a Fig. 1C são, a seguir, tratadas com álcool etílico comercial numa concentração de 70% por 1 a 3 minutos. Em seguida, o álcool é substituído por uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5% de cloro ativo, que permanece em contato com a haste por 10 a 15 minutos. Logo após, faz-se, pelo menos, três lavagens com água destilada estéril. A duração de cada lavagem deve ser de, pelo menos cinco minutos, para permitir a retirada total do hipoclorito de sódio. O uso de água sanitária comercial deve ser evitado por apresentar alto teor de hidróxido de sódio, que tem ação cáustica e danifica os tecidos da gema.

A excisão da gema é feita a olho nu ou com auxílio de microscópio estereoscópico. Com a ajuda de pinças e bisturis devidamente estéreis, é feita a retirada de um tetraedro irregular de 2 a 4 mm de aresta de tecido da haste contendo a gema (Fig. 1D). Este fragmento é imediatamente colocado sobre a superfície do meio de cultura em um recipiente que pode ser um tubo de ensaio ou qualquer outro tipo de frasco de vidro ou plástico autoclavável.

O meio de cultura para estabelecimento da gema é constituído do meio básico de estabelecimento, ME, (Tabela 1), tomando como base o meio de Murashige & Skoog (1962). As gemas são cultivadas em meio ME por 4 a 6 semanas, em seguida sendo subcultivadas para este mesmo meio. Neste período, faz-se a avaliação da taxa de sobrevivência, contaminação fúngica e bacteriana, bem como do crescimento das gemas. As condições de cultivo são basicamente as seguintes: temperatura de 25 a 30 °C, intensidade luminosa equivalente a de quatro lâmpadas fluorescentes de 40 Watts, que equivale, aproximadamente, a 30  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ .

**Tabela 1.** Componentes do meio básico de Murashige & Skoog (1962), acompanhado das concentrações de BAP e ANA dos meios de estabelecimento (ME), multiplicação (MM) e alongamento (MA).

Componentes (mg/L)	Meio de Estabelecimento ME	Meio de Multiplicação MM	Meio de alongamento MA
KNO <sub>3</sub>	1900	1900	1900
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	1650	1650
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440	440	440
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370	370	370
K <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	170	170
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	27,8	27,8	27,8
Na <sub>2</sub> EDTA.2H <sub>2</sub> O	37,3	37,3	37,3
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	22,3	22,3	22,3
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8,6	8,6	8,6
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2	6,2	6,2
KI	0,83	0,83	0,83
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,25	0,25	0,25
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,025	0,025	0,025
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,025	0,025	0,025
Tiamina	0,1	0,1	0,1
Piridoxina	0,1	0,1	0,1
Ácido Nicotínico	0,5	0,5	0,5
Mioinositol	100	100	100
Glicina	1	1	1
Benzilamino purina (BAP)	2,5 $\mu\text{M}$	10,0 $\mu\text{M}$	0,0 $\mu\text{M}$
Ácido Naftalenoacético (ANA)	0,625 $\mu\text{M}$	2,5 $\mu\text{M}$	0,0 $\mu\text{M}$
Sacarose	3%	3%	3%
Fitagel	0,22%	0,22%	0,22%

Em experimentos conduzidos com oito genótipos de abacaxi, a partir de gemas derivadas de mudas de diferentes locais, observou-se uma percentagem de gemas desenvolvidas variando entre 13,3 e 80 (Tabela 2). Esta taxa de sobrevivência é função de vários fatores inerentes à muda utilizada, que pode

redundar em morte da gema, bem como contaminação fúngica e bacteriana. Observa-se pela tabela 2, que a contaminação por fungos e bactérias responde por uma porcentagem relativamente pequena do insucesso do estabelecimento das gemas nesta fase inicial. A contaminação tanto por bactérias quanto por fungos pode ser minimizada pelo uso de mudas limpas, coletadas em época seca e também pela adequada manipulação das gemas durante a fase de inoculação em meio de cultura. Por sua vez, a sobrevivência das gemas depende de outros fatores como as características fisiológicas e tamanho da muda utilizada. Há evidências de que quanto maior for a muda no momento da extração das gemas maior será a taxa de sobrevivência e crescimento *in vitro*.

### Preparo das plântulas estabelecidas e inoculação em meio de multiplicação de gemas

Em testes feitos na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, o melhor material para ser utilizado na fase de multiplicação foi o constituído por plântulas mantidas *in vitro* com tamanhos variando entre 4 a 7 cm (Fig. 1E).

O meio de multiplicação, MM, é constituído do meio básico (Tabela 1), suplementado com 10,0µM de BAP e 2,5µM de ANA. A presença de citocinina, no caso BAP, é fundamental para estimular a multiplicação das gemas, por um processo de quebra de dominância apical e estímulo à brotação lateral, sem a ocorrência de formação de gemas adventícias. A formação de gemas adventícias é indesejável do ponto de vista de fidelidade clonal, podendo dar origem a plântulas com alterações genéticas ou mesmo epigenéticas, que vão alterar o fenótipo da muda produzida.

Embora não seja essencial, o meio de cultura pode conter uma auxina, no caso o ANA, que contribui, em combinação com BAP, para estimular o crescimento do tecido e, com isso, aumentar a taxa de multiplicação. A relação entre citocinina e auxina foi estipulada em 4 para 1, o que resultou numa taxa de crescimento satisfatória. Além do mais, a presença de auxina no meio de multiplicação favorece o enraizamento na fase seguinte, isto é, no meio de alongamento.

A planta antes de ser transferida para o meio de inoculação deve receber uma poda das raízes e das folhas, deixando um pião de um a um e meio centímetro, aproximadamente, o qual deve ser colocado em posição vertical em meio gelificado ou em posição horizontal em meio líquido. O uso de meio líquido pode ser feito em frascos comuns tipo magenta, potes de margarina, potes de maionese ou em biorreatores, seja de imersão temporária ou contínua.

**Tabela 2.** Avaliação do comportamento de gemas de oito genótipos de abacaxi cultivados por um período inicial de quatro semanas em meio de estabelecimento (ME).

Genótipo	Gemas inoculadas	Desenvolvidos (%)		Mortos (%)	Contaminação (%)	
		Desenvolvidos (%)	Não Desenvolvidos (%)		Fungo	Bactéria
Pérola	30	80,0	0,0	0,0	6,7	13,3
Perolera	30	36,7	20,0	6,7	0,0	6,7
S. Cayenne	35	57,1	42,9	14,3	2,9	8,6
Primavera	25	20,0	28,0	40,0	4,0	8,0
FRF 632	35	17,1	25,7	17,1	8,6	11,4
FRF 168	32	40,6	37,5	25,0	3,1	15,6
FRF 820	30	30,0	33,3	20,0	0,0	16,7
Comum	30	13,3	36,7	20,0	3,3	26,7

As gemas devem ser subcultivadas a cada 4 ou 6 semanas visando favorecer o crescimento de tal modo a dar origem a plântulas vigorosas e bem enraizadas (Fig. 1E). A manutenção das plântulas deve ser feita em meio de cultura sem reguladores de crescimento. Se houver necessidade, as folhas podem ser podadas durante a renovação do meio e assim o estoque de plântulas pode ser mantido *in vitro* por tempo indeterminado.

Ao se utilizar frascos comuns, deve-se ter o cuidado de que o meio líquido não encubra o explante, para não acarretar aeração deficiente ao material em cultivo.

Os explantes devem permanecer no meio MM por um período máximo de cinco meses, com renovação mensal do meio de cultura. Em avaliações conduzidas na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, verificou-se que o número de agregados de gemas de tamanho aproximado de 2,0 cm aumentou substancialmente durante cinco meses de cultivo, o que resultou numa taxa de multiplicação (número de gema final/número de gema inicial) variando de 20,9 a 130,8 dependendo do genótipo (Tabela 3). Por exemplo, ao serem inoculadas 24 gemas de 'Pérola', foram obtidos, ao final de cinco meses de cultivo, 1684 agregados de gemas de tamanho aproximado de 2,0 cm, já que durante a passagem pelos diferentes ciclos cada agregado era subdividido em agregados menores, resultando numa taxa de multiplicação de 70,2, ou seja, para cada gema inoculada foram obtidos, ao final do processo, 70,2 agregados.

Os agregados de gemas têm o aspecto mostrado na Fig. 1F. Há pouco desenvolvimento das folhas, o que é benéfico, e observa-se entumescimento do explante devido ao desenvolvimento das gemas axilares.

**Tabela 3.** Número de agregados obtidos ao final de cada ciclo de multiplicação e taxa de multiplicação ao final do quinto ciclo.

Genótipo	Inicial	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	Ciclo 4	Ciclo 5	Taxa de multiplicação
Pérola	24	26	104	444	532	1684	70,2
Smooth	20	18	38	126	152	419	20,9
Çayenne							
Perolera	11	11	22	120	182	697	63,4
Primavera	5	10	31	147	236	654	130,8
FRF-168	13	26	52	212	347	422	32,5
FRF-632	6	27	59	162	210	393	65,5
FRF-820	9	31	137	408	537	626	69,6
Comum	4	19	36	116	163	221	55,3
<b>Média</b>	<b>12</b>	<b>21</b>	<b>60</b>	<b>217</b>	<b>317</b>	<b>640</b>	<b>53,3</b>

se.  
maic

## Inoculação das gemas multiplicadas em meio de alongamento

Ao final de cinco meses de cultivo em meio MM, os agregados de gemas foram transferidos para o meio de alongamento, MA, em frascos tipo Magenta® (Tabela 1). Os agregados permaneceram neste tratamento por dois meses sem a renovação mensal do meio, dando origem a plântulas alongadas e bem enraizadas (Fig. 1G).

O número de mudas regeneradas por agregado variou em função dos genótipos (Tabela 4), bem como da consistência do meio. Em meio gelificado, foram obtidos de 5,4 a 11,3 mudas por agregado inoculado, ao passo que em meio líquido este intervalo subiu para 11,1 a 37,4 mudas, um acréscimo de 2,1 a 4,6 vezes.

A produção de mudas ao final do processo, partindo de um única gema, pode variar de 304 a 531 em meio gelificado ou de 773 a 2440 em meio líquido para os genótipos apresentados na Tabela 4. Portanto, a eficiência do processo em meio líquido é da ordem de 3,5 vezes em comparação com o meio gelificado. Deve-se levar ainda em consideração que o meio líquido só foi utilizado na fase de alongamento das gemas, já que a multiplicação foi conduzida em meio gelificado.

**Tabela 4.** Eficiência de produção de plântulas alongadas, plântulas alongadas por agregado, bem como número de mudas produzidas por haste inoculada.

Genótipo	Número de agregados inoculados		Número de plântulas alongadas		Número de plântulas alongadas/agregado		Número final de mudas por haste inoculada <sup>2</sup>	
	Meio gelificado	Meio líquido <sup>1</sup>	Meio gelificado	Meio líquido	Meio gelificado	Meio líquido	Meio gelificado	Meio líquido
FRF-168	9	8	102	299	11,3	37,4	367	1216
FRF-820	15	12	81	133	5,4	11,1	376	773
Comum	15	14	83	277	5,5	19,8	304	1095
FRF-362	15	8	122	298	8,1	37,3	531	2440

<sup>1</sup>Os agregados foram inoculados em meio líquido em frascos tipo Rita® (Teisson et al., 1995), em sistema de cultivo sob imersão temporária.

<sup>2</sup>O número final de mudas foi calculado multiplicando-se o número de plântulas alongadas/agregado (Tabela 4) pela taxa de multiplicação respectiva de cada genótipo (Tabela 3).

## Transferência das plântulas obtidas para casa de vegetação ou telado para fins de aclimação

As mudas alongadas como mostra a Figura 1G foram retiradas do meio de cultura, lavadas em água corrente de torneira, para eliminação de qualquer resíduo do meio de cultura, tratadas por uma hora com suspensão de benomil a 2 g/L e plantadas em substrato do tipo Plantmax® em tubetes comerciais. As mudas foram mantidas em casa de vegetação, com temperatura aproximada de 20 a 30 °C, umidade relativa entre 50 a 80% e insolação reduzida em 50% por sombrite preto. As mudas receberam irrigação por micro-aspersão e adubação semanal com macro e micronutrientes.

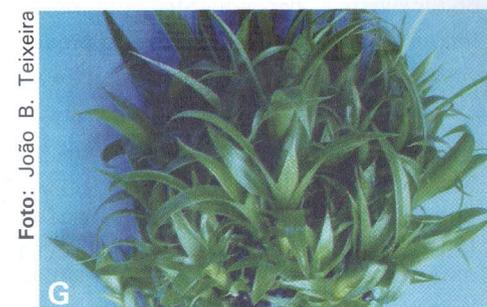
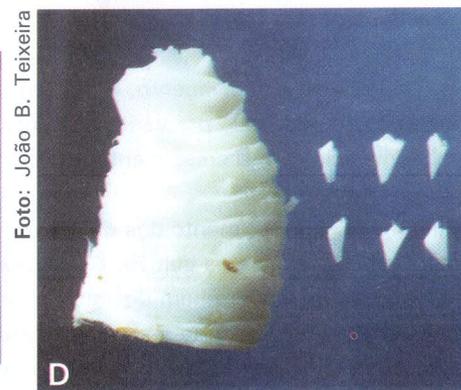
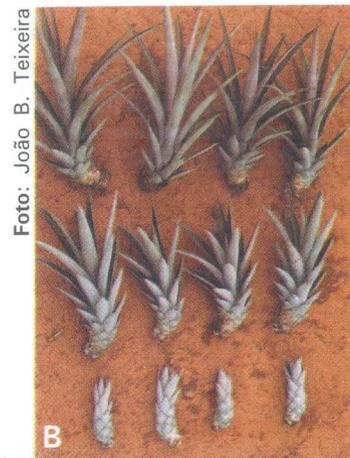
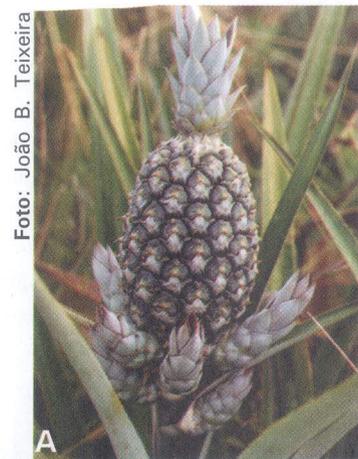
Observou-se que o crescimento das mudas foi muito lento nas fases iniciais de casa de vegetação. Não houve aparecimento de sintomas de desidratação em nenhuma das plântulas aclimatizadas e a percentagem de pega foi de 100%. No início do desenvolvimento, observou-se um enrugamento generalizado das folhas, o que persistiu por várias semanas, mas que não comprometeu a sobrevivência nem o crescimento das plântulas.

Diferenças no crescimento dos diferentes genótipos foram observadas apenas a partir do quarto mês de cultivo. As folhas produzidas em casa de vegetação apresentavam aspecto bem distinto daquelas provenientes do cultivo *in vitro*, com uma coloração verde mais clara e presença de cerosidade na superfície abaxial da folha. Estas características associadas a outras como tamanho, formato, largura e comprimento da folha, presença ou ausência de espinhos, constituíram evidências de que o fenótipo típico da variedade ou genótipo estava se manifestando (Fig. 1H).

Objetivando avaliar a influência do volume do substrato na fase inicial de desenvolvimento em casa de vegetação, foram testados quatro tamanhos de tubetes (Tabela 05).

**Tabela 5.** Dimensões dos diferentes tipos de tubetes utilizados na fase de aclimação.

Dimensões	TUBETE 1	TUBETE 2	TUBETE 3	TUBETE 4
Diâmetro (cm)	2,3	3,6	5,3	5,6
Comprimento (cm)	12,5	14,5	13,0	20,0
Volume (ml)	50	110	175	300



**Fig. 1.** Fases de produção de mudas de abacaxi via cultura de tecidos. A. Planta de abacaxi com fruto padrão da variedade Pérola; B. Mudras de abacaxi do tipo filhote para uso em micropropagação; C. Haste desfolhada com exposição das gemas axilares; D. Haste desfolhada e gemas excisadas, em forma de tetraedro irregular; E. Plântulas bem desenvolvidas e enraizadas pronta para serem introduzidas no meio de multiplicação. F. Agregados de gemas após cinco ciclos de multiplicação; G. Plantas alongadas ao final do cultivo em meio de alongamento, durante 60 dias; H. Mudras desenvolvidas após 7 meses em casa de vegetação, prontas para serem levados ao campo.

Foram utilizadas plântulas dos genótipos FRF-820, FRF- 168 e Comum, oriundas do último cultivo em meio de alongamento e enraizamento. O experimento foi instalado em delineamento experimental de blocos casualizados com três repetições.

As plântulas receberam o mesmo tratamento descrito para aclimação, diferindo apenas no tamanho dos tubetes. Foram realizadas avaliações da taxa de pega, número de folhas e comprimento da maior folha aos 30 e 90 dias.

As dimensões dos tubetes são bastante variáveis, o que reflete em diferenças marcantes no volume do recipiente e, conseqüentemente, no volume de substrato utilizado. O tubete tipo 1 é o mais utilizado na produção de mudas de hortaliças, provavelmente por apresentar pequeno diâmetro e volume, além de ser utilizado por períodos relativamente curtos.

O tubete tipo 4 tem volume 6 vezes maior que o tipo 1; 2,73 vezes que o tipo 2 e 1,71 vezes que o tipo 3. Por apresentar uma boa variação de volumes, foram escolhidos para o teste de tipos de tubete na fase de aclimação (Tabela 5).

Na fase inicial da aclimação antes do plantio definitivo as plantas precisam se adaptar às novas condições ambientais, tais como baixa umidade relativa, alta intensidade luminosa e oscilação de temperatura.

Aos 30 dias do início da aclimação, as plantas apresentavam média geral de 10,03 folhas (Tabela 6) contra 15,72 folhas por planta aos 120 dias de cultivo (Tabela 7). As folhas originadas *in vitro* apresentavam no início da aclimação fenótipo atípico do genótipo em questão, com espinhos pouco desenvolvidos e pouca cerosidade. Entretanto, as folhas formadas durante a fase de aclimação apresentaram fenótipo característico do genótipo, com respeito à coloração, comprimento, largura, cerosidade e presença de espinhos. No período de 30 dias em casa de vegetação, já pode ser detectada a formação de algumas folhas adicionais àquelas provenientes do cultivo *in vitro*. Entretanto, só aos 120 dias se observou intensa formação de folhas novas.

Embora a formação de folhas não tenha sido expressiva aos 30 dias, já era possível, neste período, observar diferenças significativas entre genótipos e tamanhos de tubetes. O genótipo FRF-820 apresentou o maior número de

folhas. Quanto aos tubetes, observa-se que o de maior volume resultou num maior número de folhas para todos os genótipos (Tabela 6).

**Tabela 6.** Avaliação do número de folhas de plantas de três genótipos após 30 dias de aclimação em casa de vegetação. Cada valor representa a média de 30 medições.

GENÓTIPO	TUBETE 1	TUBETE 2	TUBETE 3	TUBETE 4	MÉDIA
FRF-820	11,53	11,90	11,73	12,67	11,95 b
FRF-632	07,90	09,07	09,53	09,20	8,93 a
Comum	07,73	08,60	09,20	11,30	9,21 a
Média	09,06 a	09,86 b	10,16 b	11,06 c	10,03
Ganhos (%)	0,0	08,80	12,14	22,08	-

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si estatisticamente a 5 % de probabilidade pelo teste-t.

O efeito do tipo de tubete foi mais expressivo aos 120 dias. As mudas cultivadas no tubete maior (número 4) apresentaram, em média, 5,65 folhas a mais que no tubete menor (número 1), bem maior que o valor encontrado para avaliação feita aos 30 dias, que foi de apenas 2 folhas. Além do mais, aos 120 dias, houve uma maior discriminação entre médias, detectando-se, pela análise de variância, diferenças significativas entre médias obtidas para os tubetes 2 e 3, o que não foi verificado para os 30 dias de cultivo (Tabela 6, 7 e Fig. 2).

**Tabela 7.** Avaliação do número de folhas de plantas de três genótipos após 120 dias de aclimação em casa de vegetação. Cada valor representa a média de 30 medições.

GENÓTIPO	TUBETE 1	TUBETE 2	TUBETE 3	TUBETE 4	MÉDIA
FRF-820	14,33	15,23	17,07	17,77	16,10 a
FRF-632	10,77	16,57	17,03	18,13	15,63 ab
Comum	12,17	15,07	16,20	18,30	15,43 a
Média	12,42 a	15,62 b	16,77 c	18,07 d	15,72
Ganho (%)	0,0	25,80	35,00	45,50	-

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si estatisticamente a 5 % de probabilidade pelo teste-t.

O comprimento da maior folha, como já era esperado, constitui um parâmetro adequado para avaliação dos diferentes tratamentos. O mesmo padrão de significância estatística foi encontrado tanto para genótipo quanto para os diferentes tipos de tubetes. O que chama a atenção, entretanto, é o fato de que o comprimento médio de folha obtido para o tubete 4 foi de 50,3 % superior ao valor obtido para o tubete 1, um ganho muito expressivo no comprimento da folha apenas com o uso de tubete de maior volume. Deve-se notar ainda, que os ganhos obtidos para os tubetes 2 e 3 de 25,4 e 40,6 %, respectivamente, foram pouco discrepantes dos encontrados para a percentagem de aumento do número de folhas para tubetes 2, 3 e 4, que foi de 25,8; 35,0 e 45,5%, respectivamente (Tabela 7, 8 e Fig. 3).

**Tabela 8.** Avaliação do comprimento da maior folha de plantas de três genótipos após 120 dias da aclimação em casa de vegetação. Cada valor representa a média de três medições em cm.

GENÓTIPO	TUBETE 01	TUBETE 02	TUBETE 03	TUBETE 04	MÉDIA
FRF-820	14,76	15,50	20,73	19,96	17,74 b
FRF- 632	11,26	17,74	17,68	18,92	16,40 a
Comum	12,78	15,42	16,14	19,40	15,94 a
Média	12,93 a	16,22 b	18,18 c	19,43 d	-
Ganho (%)	0,0	25,40	40,60	50,30	-

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si estatisticamente a 5 % de probabilidade pelo teste-t.

### Avaliação a campo das mudas micropropagadas (em andamento)

Um dos problemas que pode ocorrer em mudas micropropagadas diz respeito à variação genética ou epigenética, que redundam em alterações morfológica ou fisiológica das mudas ao final do processo. Visando avaliar o comportamento das mudas, foi instalado um experimento em condições de campo, no qual foram utilizadas mudas micropropagadas de oito genótipos.

Avaliações de vigor e altura realizadas aos 11 meses após o plantio no campo estão representados na Fig. 4 e 5. Observa-se que a altura das plantas variou de 70 cm para a cultivar Pérola para 40 cm para 'Primavera'. As variedades

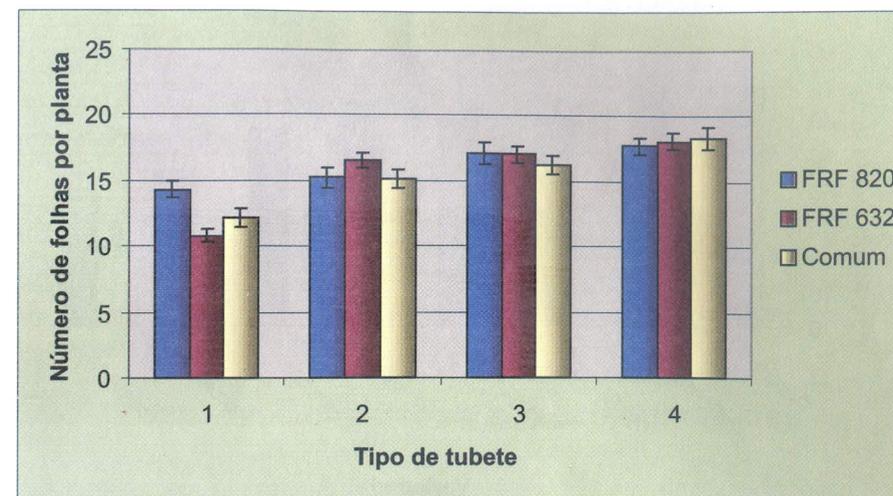


Fig. 2. Avaliação do número de folhas por planta de três genótipos aclimatados em casa de vegetação em diferentes tipos de tubetes (Tipo1 ; Tipo 2; Tipo 3; Tipo 4), após 120 dias de cultivo.

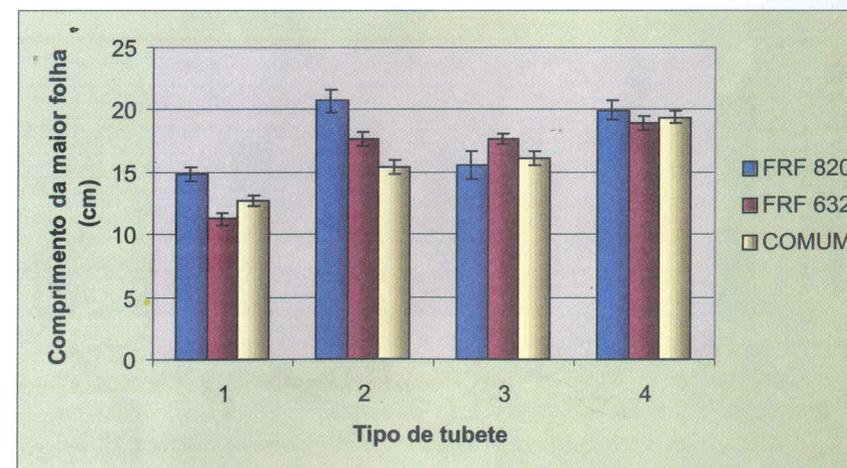


Fig. 3. Avaliação do comprimento médio da maior folha de plantas de três genótipos aclimatados em casa de vegetação em diferentes tipos de tubetes (Tipo 1; Tipo 2; Tipo 3; Tipo 4), após 120 dias de cultivo.

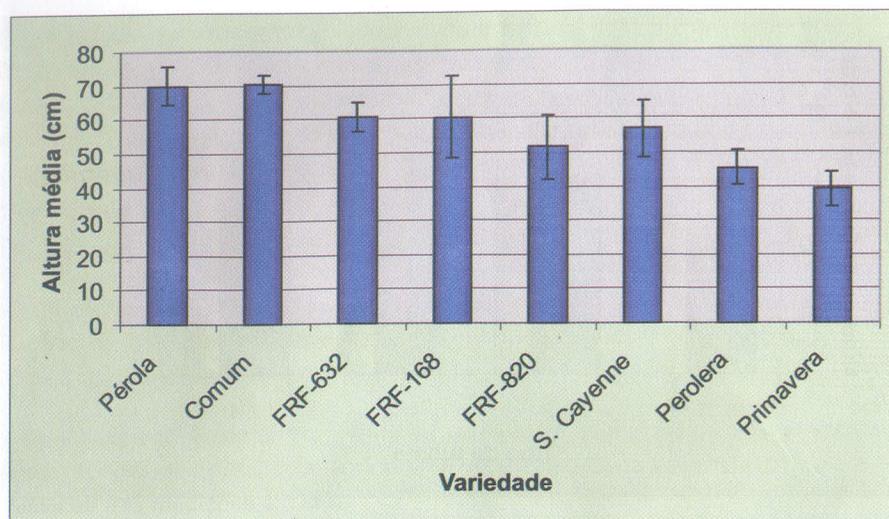


Fig. 4. Altura média de plantas de abacaxi micropropagadas cultivadas em campo, 11 meses após o plantio.

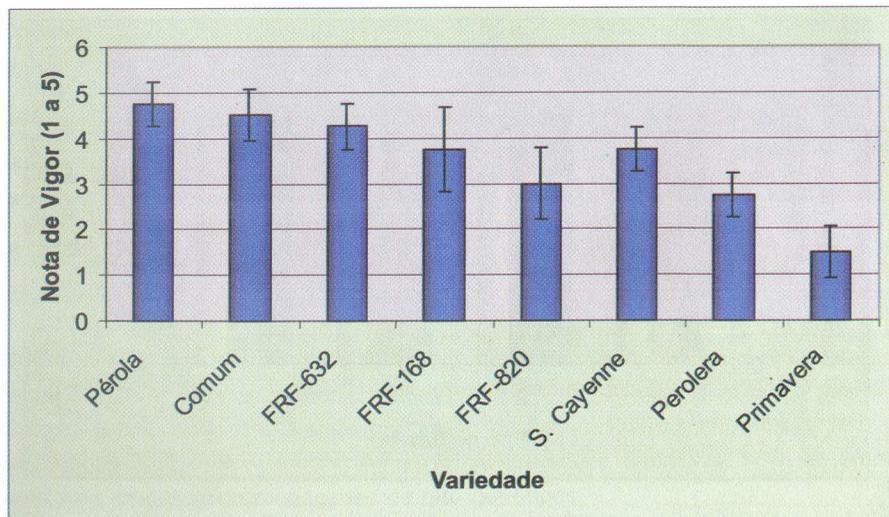


Fig. 5. Notas de vigor de plantas micropropagadas de abacaxi cultivadas em campo, 11 meses após o plantio.

Comum, e Smooth Cayenne e os genótipos FRF-632 e FRF-168 apresentaram igualmente valores elevados de altura, ultrapassando os 55 cm. A uniformidade das plantas foi bastante elevada, o que pode ser constatado pelo baixo valor de intervalo de confiança calculado para cada genótipo.

O vigor das plantas avaliado aos 11 meses através de notas de 0 a 5 mostrou mesma tendência dos valores de altura, ou seja, plantas mais altas apresentaram maior vigor, embora a nota de vigor tenha sido dada levando em consideração não apenas a altura das plantas, mas igualmente os aspectos de uniformidade, coloração e número de folhas.

## Conclusões e Recomendações

1. A metodologia de micropropagação de abacaxi foi revisada e aperfeiçoada, principalmente no que se refere aos testes de uso de meio líquido na fase de alongamento das gemas, bem como no volume de substrato utilizado na fase de aclimação;
2. Mesmo otimizando o volume de substrato, o crescimento das mudas em casa de vegetação foi muito lento, o que acarreta demora para atingir o tamanho mínimo para ser levado para campo. No presente trabalho, as mudas atingiram tamanho mínimo para serem transferidas para campo, após sete meses, em casa de vegetação;
3. As mudas produzidas por micropropagação não são recomendadas para plantios comerciais, devido ao seu alto custo, devendo então constituírem matrizes para fornecimento de mudas comerciais, quando cultivadas em campos específicos para produção de mudas com alto padrão fitossanitário ou para multiplicação rápida de cultivares lançadas pelos programas de melhoramento genético;
4. A metodologia disponível permite a produção de um alto número de mudas, sobretudo, quando se combina o uso de meio gelificado na fase de estabelecimento e meio líquido nas fases de multiplicação e alongamento;
5. Os resultados preliminares, observados até o momento, tanto na casa de vegetação como no campo, têm mostrado que as variações somaclonais são insignificantes para todos os genótipos testados.

## Referências Bibliográficas

- FAO. Disponível no site da FAO, 2001. <[http://apps.fao.org/page/form?collection = Production. Crops. Primary & Domain= Production & servlet = 1 & language=EN & hostname = apps. fao. org & version = default](http://apps.fao.org/page/form?collection=Production.Crops.Primary&Domain=Production&Servlet=1&language=EN&hostname=apps.fao.org&version=default)>.
- MATOS, A. P. de. Doenças e seu controle. In: CUNHA, J. R. S.; SOUZA, L. F. da S., (Ed.). **O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. p.269-305.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.
- REINHARDT, D. H. R. C.; CUNHA, G. A. P. da. Métodos de propagação. In: CUNHA, J. R. S.; SOUZA, L. F. da S., (Ed.). **O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. p.105-138.
- SANCHES, N. F.; MATOS, A. P. Murcha associada à Cochonilha *Dysmicoccus brevipes* (Cockerel, 1893). In: CUNHA, J. R. S.; SOUZA, L. F. da S., (Ed.). **O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. p.343-366.
- TEISSON, C.; ALVARD, D.; BERTHOULY, M.; COTE, F.; ESCALANT, J. V.; ETIENNE, H. In vitro culture by temporary immersion: a new device. **Plantations**, v.2, n.5, p.32-33, 1995.
- TEIXEIRA, J. B.; CRUZ, A. R. R.; FERREIRA, F. R.; CABRAL, J. R. S. Biotecnologia aplicada à produção de mudas: produção de mudas micropropagadas de abacaxi. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v.3, n.19, p.42-47, 2001.



---

*Recursos Genética  
e Biotecnologia*

Produção de mudas de ...

2001

FL-FOL 5457



CENARGEN- 22314-1