

06203
CPATU
1998

FL-06203

Número, 204

Lisa

ISSN 0100-8102

Ministério
da Agricultura
e do Abastecimento

Dezembro, 1998

**EFEITO DE REGULADORES DE
CRESCIMENTO NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO*
DE BROTOS DE ABACAXIZEIRO**

Efeito de reguladores de
1998 FL - 06203



30761-1

ibrapa

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL

Presidente
Fernando Henrique Cardoso

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO
Ministro
Francisco Sérgio Turra

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA
Presidente
Alberto Duque Portugal

DIRETORES
Dante Daniel Giacomelli Scolari
Elza Ângela Battagia Brôto da Cunha
José Roberto Rodrigues Peres

CHEFIA DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL

Emanuel Adilson Souza Serrão – Chefe Geral
Jorge Alberto Gazel Yared – Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento
Antonio Carlos Paula Neves da Rocha – Chefe Adjunto de Apoio Técnico
Antonio Ronaldo Teixeira Jatene – Chefe Adjunto de Administração

ISSN 0100-8102

Boletim de Pesquisa № 204

Dezembro, 1998

**EFEITO DE REGULADORES DE
CRESCIMENTO NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO*
DE BROTOS DE ABACAXIZEIRO**

Oriel Filgueiras de Lemos
Sheila Patricia Gomes da Silva
Elvilene de Melo e Silva Albim
Osmar Alves Lameira
Jales Carvalho Rego
Ilmarina Campos de Menezes



Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:

Embrapa-CPATU

Trav. Dr. Enéas Pinheiro, s/n

Telefones: (091) 246-6653, 246-6333

Telex: (91) 1210

Fax: (091) 226-9845

e-mail: cpatu@cpatu.embrapa.br

Caixa Postal, 48

66095-100 – Belém, PA

Tiragem: 200 exemplares

Comitê de Publicações

Leopoldo Brito Teixeira – Presidente

Eduardo Jorge Maklouf Carvalho

Antônio de Brito Silva

Maria do Socorro Padilha de Oliveira

Expedito Ubirajara Peixoto Galvão

Célia Maria Lopes Pereira

Joaquim Ivanil Gomes

Maria de N. M. dos Santos – Secretária Executiva

Oriél Filgeira de Lemos

Revisores Técnicos

Maria do Socorro Padilha de Oliveira – Embrapa-CPATU

Maria Rosa da Costa Oliveira – Embrapa-CPATU

Expediente

Coordenação Editorial: Leopoldo Brito Teixeira

Normalização: Célia Maria Lopes Pereira

Revisão Gramatical: Maria de Nazaré Magalhães dos Santos

Moacyr Bernardino Dias Filho (texto em inglês)

Composição: Euclides Pereira dos Santos Filho

LEMOS, O.F. de; SILVA, S.P.G. da; ALBIM, E. de M. e S.; LAMEIRA, O.A.; REGO, J.C., MENEZES, J.C. de. Efeito de reguladores de crescimento na multiplicação *in vitro* de brotos de abacaxizeiro. Belém: Embrapa-CPATU, 1998. 14p. (Embrapa-CPATU. Boletim de Pesquisa, 204).

1. Abacaxi – Micropropagação.
2. Abacaxi – Brotação induzida.
3. Abacaxi – Efeito de regulador de crescimento. I. Silva, S.P.G. da, colab.
- II. Alvim, E. de M. e S., colab.
- III. Lameira, O.A., colab.
- IV. Rego, J.C., colab.
- V. Menezes, I.C. de, colab.
- VI. Embrapa. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (Belém, PA).
- VII. Título.
- VIII. Série.

CDD: 634.7743

S U M Á R I O

INTRODUÇÃO.....	6
MATERIAL E MÉTODOS	8
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	9
CONCLUSÕES	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	13

EFEITO DE REGULADORES DE CRESCIMENTO NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE BROTOS DE ABACAXIZEIRO

Oriel Filgueira de Lemos¹

Sheila Patricia Gomes da Silva²

Elvilene de Melo e Silva Albim³

Osmar Alves Lameira⁴

Jales Carvalho Rego⁵

Ilmarina Campos de Menezes⁶

RESUMO: A micropropagação *in vitro* de abacaxizeiro (*Ananas comosus* L., Merr.), cultivar Cabeça-de-onça, foi estimulada pelo crescimento de brotos em meio de cultura básica de Murashige & Skoog (MS) suplementado com 6-benzilamino purina (BAP) a 2,0; 4,0 e 6,0 mg.L⁻¹ e ácido naftalenoaçético (ANA) a 0,0 e 0,5 mg.L⁻¹ sob condições de incubação de 16 h luz/8 h escuro, a 25°C. A melhor taxa de brotação foi observada aos 45 dias nos brotos crescidos em MS contendo 4,0 mg.L⁻¹ BAP e 0,5 mg.L⁻¹ ANA (15,96 brotos novos por explante). Um aumento na taxa de brotação em MS suplementado apenas com BAP de 9,28 (2,0 mg.L⁻¹) para 15,52 (6,0 mg.L⁻¹) foi notificado. Houve uma interação positiva entre BAP (2,0 mg.L⁻¹ ou 4,0 mg.L⁻¹) e ANA (0,5 mg.L⁻¹) na indução de brotos novos que produziram 12,60 e 15,96 brotos por explante, respectivamente. Os brotos novos transferidos para meio de cultura MS de enraizamento (sem regulador de crescimento) resultaram em "plantlets" com características morfológicas e genéticas similares às das plantas matrizes.

Termos para indexação: *Ananas comosus*, indução de brotos, "Cabeça-de-onça", cultivar, regulador de crescimento.

¹Eng.- Agr., M.Sc., Embrapa Amazônia Oriental, Caixa Postal 48, CEP 66017-970, Belém, PA.

²Eng.- Agr., Bolsista CNPq/FCAP/Embrapa Amazônia Oriental.

³Estudante Faculdade de Biologia Universidade Federal do Pará.

⁴Eng.- Agr., D.Sc., Embrapa Amazônia Oriental.

⁵Eng.- Agr., Bolsista CNPq/FCAP/Embrapa Amazônia Oriental.

⁶Eng.- Agr., M.Sc. Tec. Nível Superior, Embrapa Amazônia Oriental.

EFFECT OF GROWTH REGULATORS ON *IN VITRO* MULTIPLICATION OF PINEAPPLE SHOOTS

ABSTRACT: *In vitro* micropropagation of pineapple (*Ananas comosus* L., Merr.), cultivar 'Cabeça-de onça', was stimulated by growing shoots on basal Murashige & Skoog (MS) culture medium supplemented with 6-benzylaminopurine (BAP) at 2.0, 4.0 and 6.0 mg.L⁻¹ and naphthaleneacetic acid (NAA) at 0.0 and 0.5 mg.L⁻¹ and maintained in an incubator under illumination (16 h light/8 h dark), at 25° C. The best shooting rate was observed 45 days in those shoots grown on MS containing 4.0 mg.L⁻¹ BAP and 0.5 mg.L⁻¹ NAA (15.96 new shoots per explant). An enhanced shooting rate on MS supplemented with BAP only, from 9.28 (2.0 mg.L⁻¹) to 15.52 (6.0 mg.L⁻¹) was noticed. There was a positive interaction between BAP (2.0 mg.L⁻¹ or 4.0 mg.L⁻¹) and NAA (0.5 mg.L⁻¹) in the induction of new shoots which produced 12.60 and 15.96 shoots per explante, respectively. New shoots transferred to rooting MS culture medium (with no growth regulator) resulted in plantlets with similar morphological and genetic characteristics of the mother plants.

Index terms: *Ananas comosus*, shoot induction, "Cabeça-de-onça", cultivar, growth regulator.

INTRODUÇÃO

O Estado do Pará assumiu o segundo lugar na produção nacional de abacaxi em 1997, sendo Floresta do Araguaia o principal município paraense produtor, cuja colheita no Estado atingiu 249 milhões de frutos, superando a produção do Estado da Paraíba, considerado o segundo maior produtor, que produziu 127 milhões de frutos. O Estado de Minas Gerais é o maior produtor brasileiro, com produção de 310 milhões de frutos no mesmo ano (Cresce..., 1998).

O abacaxizeiro é uma planta nativa da América, e a espécie *Ananas comosus* (L.) Merr. engloba as cultivares de interesse na fruticultura (Ritzinger, 1992). O processo de

multiplicação do abacaxizeiro requer intensa utilização de mão-de-obra, dispõe de muito tempo e ainda produz um pequeno número de mudas, podendo ainda fornecer materiais de qualidade sanitária discutível (Fauth et al. 1994). A propagação *in vitro* surge como uma das alternativas para a solução destes problemas, pois diversos autores já conseguiram alta freqüência de regeneração de plantas a partir de gemas axilares (Marciani-Bendezu et al. 1990).

A fruticultura se baseia, em grande parte, no plantio de clones selecionados e propagados vegetativamente. A cultura de tecidos tem, nos últimos anos, proporcionado maior disponibilidade de plantas de boa qualidade fitossanitária (Caldas & Grattapaglia, 1986).

Zepeda & Sagawa (1981) afirmam que, pelo menos 5 mil plantas podem ser obtidas em doze meses, através do cultivo de gemas extraídas de uma coroa, desde que haja a proliferação de gemas múltiplas nos explantes.

No Pará, as principais cultivares utilizadas são a Smooth Cayenne e a Pérola. Ambas possuem folhas espinhosas, e na cultivar Smooth Cayenne os espinhos situam-se nas extremidades das folhas e a produção de mudas desta cultivar é pequena (Cunha et al. 1994). Assim, a cultivar Cabeça-de-onça surge como uma nova opção de cultivo já que apresenta características consideradas como padrão para cultivares de abacaxi. Seus frutos apresentam forma cilíndrica (ideal para consumo *in natura*) e pesam, em média, 2,8 kg (contra 2,1 kg da cultivar Smooth Cayenne), as folhas sem espinhos facilitam o manejo cultural e o ciclo de produção é precoce, ou seja, o florescimento ocorre naturalmente (Ritzinger, 1992). Entretanto, são grandes as dificuldades para a obtenção de mudas para a expansão da área de cultivo e, devido a isso, a micropopragação se apresenta como uma alternativa viável.

Este trabalho teve como objetivo testar o efeito de reguladores de crescimento na proliferação de brotos de abacaxizeiro, cultivar Cabeça-de-onça.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental. Foram utilizados como fonte de explantes, brotos obtidos a partir de 'plantlets' da cultivar Cabeça-de-onça produzidos *in vitro* em meio de cultura de MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com 3,0 mg.L⁻¹ de BAP.

Os explantes foram cultivados em meio de cultura MS, solidificados com 0,75% de ágar e suplementados com 2,0; 4,0 e 6,0 mg.L⁻¹ de BAP combinado com 0,0 e 0,5 mg.L⁻¹ de ANA. O pH dos meios de cultura foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem. Frascos cilíndricos (250 mL) com 40 mL de meio de cultura foram autoclavados a 121°C por 15 minutos. Em seguida, os explantes foram inoculados sob câmara de fluxo laminar em condições assépticas. A cultura foi mantida em sala de crescimento, sob condições de 26±1°C, fotoperíodo de 16 horas de luz/8 horas de escuro e intensidade luminosa de 25 mmol.m⁻².s⁻¹ de irradiação.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado num fatorial de 2 x 3 (ANA x BAP), totalizando seis tratamentos, com cinco repetições, onde cada repetição constou de um frasco com cinco explantes (brotos).

Após 45 dias da inoculação, foi avaliado o número de brotos por explante, estimado o desvio padrão e realizado o teste Tukey, ao nível de 5% de significância, para comparação das médias entre tratamentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os resultados da análise de variância, demonstrando que houve diferença significativa entre as concentrações de BAP testadas ($2,0$; $4,0$ e $6,0 \text{ mg.L}^{-1}$), de ANA ($0,0$ e $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$) e da interação entre as concentrações de BAP e ANA.

TABELA 1. Análise de variância para efeito de ANA e BAP na multiplicação *in vitro* de brotos de abacaxizeiro.

Causas de variação	G.L.	Q.M.	F
ANA	1	20.5013	5.1279*
BAP	2	44.7693	11.1979**
ANA X BAP	2	18.4333	4.6106*
Tratamentos	5	29.3813	
Resíduo	24	3.9980	

*Média 13.37; **C.V. 14.95.

G.L. = grau liberdade; Q.M. = quadrado médio.

A Tabela 2 mostra que as maiores taxas de produção de brotos foram obtidas com 6 mg.L^{-1} de BAP com $0,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ANA e 4 mg.L^{-1} de BAP com $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de ANA, média de 15,52 e 15,96 brotos por explante, respectivamente, cuja diferença não foi significativa estatisticamente. Considerou-se que as concentrações de $4,0$ e $6,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP são mais efetivas para a multiplicação de brotos *in vitro* de abacaxizeiro, cultivar Cabeça-de-onça, com ou sem ANA, na concentração de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$.

Os dados da Tabela 3 revelam ainda que o BAP isoladamente no meio de cultura foi eficiente na proliferação *in vitro* de brotos de abacaxizeiro, cultivar Cabeça-de-onça, sendo observado que à medida que a concentração foi aumentada ocorreu maior taxa na multiplicação, de 9,28

(2,0 mg.L⁻¹) para 15,52 (6,0 mg.L⁻¹) por explante. Resultados semelhantes foram obtidos por Marciani-Bendezu et al. (1990) quando utilizaram a cultivar de abacaxizeiro Smooth Cayenne.

TABELA 2. Efeito de meio básico MS, suplementado com diferentes concentrações e combinações de BAP e ANA, na taxa de multiplicação de brotos de abacaxizeiro, após 45 dias de cultura.

BAP (mg.L ⁻¹)	ANA (mg.L ⁻¹)	Número de brotos/explante		
		Média	±	ds ¹
2,0	0,0	9,28	±	1,29 b
4,0	0,0	12,84	±	9,33 a b
6,0	0,0	15,52	±	1,01 a
2,0	0,5	12,60	±	4,82 a b
4,0	0,5	15,96	±	1,05 a
6,0	0,5	14,04	±	6,49 a

¹ds: desvio padrão; ²comparação de média pelo teste Tukey, mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5% de significância.

TABELA 3. Teste de comparação de média dos efeitos de BAP, ANA e BAPxANA na multiplicação de brotos de abacaxizeiro, cultivar Cabeça-de-onça, após 45 dias de cultura.

BAP (mg.L ⁻¹)	ANA (mg.L ⁻¹)	Broto/ Explante	BAP (mg.L ⁻¹)	ANA (mg.L ⁻¹)	Broto/ Explante	Média BAP
2,0	0,0 a	9,28 b	2,0	0,5 b	12,60 b	10,94 b
4,0	0,0 a	12,84 a	4,0	0,5 b	15,96 a	14,40 a
6,0	0,0 a	15,52 a	6,0	0,5 a	14,04 a b	14,78 a
0,0	12,55 a	-	0,5	-	14,20 b	-

Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si, ao nível de 5% de significância, pelo teste Tukey.

Na interação BAP e ANA ($0,5 \text{ mg.L}^{-1}$) ocorreu aumento na taxa de proliferação até a concentração de $4,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP. A partir desta concentração, houve uma redução na taxa de multiplicação de 15,96 para 14,04 brotos por explante, BAP $4,0 \text{ mg.L}^{-1}$ e $6,0 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente, cuja diferença não foi significativa estatisticamente. Este fato da interação BAP e ANA favorecer a multiplicação de brotos com diferença significativa entre os tratamentos contrariam os resultados obtidos por Pescador & Koller (1992). Segundo os autores, o meio de cultura contendo 3, 6 e 9 mg.L^{-1} de BAP com 2, 4 e 6 mg.L^{-1} de ANA não apresentaram diferenças significativas na proliferação de brotos de abacaxizeiro, cultivar Pérola.

A interação favorável de BAP e ANA também foi verificada por Leite et al. (1992) na proliferação de brotos de pereira, sendo constatado que o BAP foi um fator determinante na proliferação de gemas e que o ANA atuou de forma sinérgica sobre esta multiplicação, com melhores resultados nas concentrações de $1,5$ e $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP associadas a $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ de ANA.

Daquinta et al. (1995), trabalhando com folhas de abacaxi, cultivar Smooth Cayenne, proveniente do México, verificaram que após 60 dias houve uma taxa de proliferação de 8 e 7,25 brotos por explante em meio de cultura contendo $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP mais $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de ANA e em $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP com $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de ANA e adição de 80 mg.L^{-1} de adenina, respectivamente. Porém, quando usaram folhas da mesma cultivar, proveniente do Havaí, verificaram que na combinação de $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP e $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de ANA houve proliferação de 12 brotos por explante após 60 dias. Estes resultados evidenciam que ocorre efeito positivo em determinadas concentrações de interação BAP X ANA (Fig. 1).

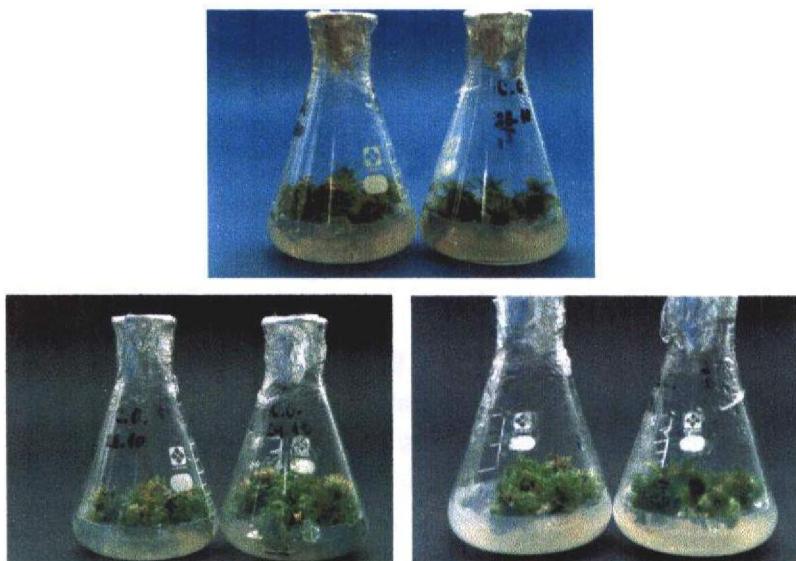


FIG. 1. Efeito da interação BAP e ANA em meio básico de cultura MS na proliferação de brotos de abacaxizeiro, cultivar Cabeça-de-onça. A₁- 2,0 mg.L⁻¹ e A₂ 4,0 mg.L⁻¹ de BAP; B₁ 2,0 mg.L⁻¹ BAP e 0,5 mg.L⁻¹ ANA e B₂ 4,0 mg.L⁻¹ BAP e 0,5 mg.L⁻¹ ANA; e C₁ 6,0 mg.L⁻¹ BAP e 0,5 mg.L⁻¹ ANA e C₂ 6,0 mg.L⁻¹ BAP.

CONCLUSÕES

– O regulador de crescimento BAP é eficiente na proliferação de brotos *in vitro* de abacaxizeiro, cultivar Cabeça-de-onça nas concentrações de 2,0 a 6,0 mg.L⁻¹.

– A concentração de 6,0 mg.L⁻¹ de BAP sem ANA (0,0 mg.L⁻¹) e 4,0 ou 6,0 mg.L⁻¹ de BAP + 0,5 mg.L⁻¹ de ANA no meio básico de cultura MS, são mais efetivas para a multiplicação de brotos de abacaxizeiro, cultivar Cabeça-de-onça, numa taxa média de 14 a 16 brotos por explante, cujas diferenças não são significativas estatisticamente;

– A interação BAP e ANA na concentração de 4,0 mg.L⁻¹ de BAP e 0,5 mg.L⁻¹ de ANA permite maior taxa de proliferação de brotos de abacaxizeiro, cultivar Cabeça-de-onça;

– O uso de ANA à concentração de 0,5 mg.L⁻¹ melhora a multiplicação de brotos *in vitro* em combinação com BAP.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALDAS, L.S.; GRATTAPAGLIA, D. Aplicações da biotecnologia na fruticultura presente e futuro. Revista Brasileira de Fericultura, Cruz das Almas, v.8, n.3, p.7-17, 1986.
- CRESCE a produção de abacaxi. O liberal, Belém, 9 mar. 1998. Painel, p.8.
- CUNHA, G.A.P. da.; MATOS, A.P. de., CABRAL, J.R.S.; SOUZA, L.F. da S.; SANCHES, N.F.; REINHARDT, D.H.R.C. Abacaxi para exportação: aspectos técnicos da produção. FRUPEX, Brasília: Embrapa-SPI, 1994. 41p.
- DAQUINTA, M.; BENEGA, R.; MARTINEZ, T.; CASTILLO, R. In vitro pineapple leaf cuttings. Centro-Agricola, Spain, v.22, n.2, p.82-7, 1995.

- FAUTH, A.; TOFOL, M.; SILVA, A.L.; MARASCHIN, M.
Aclimatação de mudas de abacaxi (*Ananas comosus* (L.)
Merril) resistentes à fusariose, cultivadas *in vitro*. *Revista
Brasileira de Fruticultura*, Cruz das Almas, v.16, n.2,
p.7-12, set. 1994.
- LEITE, D.L.; PETERS, J.A.; NAKASU, B.H. Micropropagação
da pereira (*Pyrus spp.*), cultivar Carrick. *Revista Brasileira
de Fruticultura*, Cruz das Almas, v.14, n.1, p.149-154,
1992.
- MARCIANI-BENDEZÚ, J.; PINTO, J.E.B.P.; PASQUAL, M.
Efeito de 6-Benzilaminopurina (BAP) sobre a proliferação
de brotos de abacaxizeiro, a partir de plântulas
produzidas *in vitro*. *Revista Brasileira de Fruticultura*,
Cruz das Almas, v.12, n.1, p.35-39, 1990.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid
growth and bioassays with tobacco tissue cultures.
Physiologia Plantarum, Capenhagen, v.15, p.473-497,
1962.
- PESCADOR, R., KOLLER, O.C. Propagação *in vitro* do
abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merril) cv. Pérola.
Revista Brasileira de Fruticultura, Cruz das Almas, v.14,
n.2, p.1-4, 1992.
- RITZINGER, R.A. Avaliação e caracterização de cultivares de
abacaxi no Acre. Rio Branco: Embrapa-CPAF Acre, 1992.
28p. (Embrapa-CPAF Acre. Boletim de Pesquisa, 3).
- ZEPEDA, C.; SAGAWA, Y. In vitro propagation of pineapple.
HortScience, v.16, n.4, p.495, aug. 1981.



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Ministério da Agricultura e do Abastecimento
Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental
Trav. Dr. Enéas Pinheiro s/n, Caixa Postal 48,
Fax (091) 276-9845 CEP 66017-970
e-mail: cpatu@cpatu.embrapa.br

