

Maio e Junho de 1999

VOL. XLVI | Nº265

Viçosa - Minas Gerais

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**EFEITO DE BAP, THIDIAZURON E SULFATO DE
ADENINA NA PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE
ABACAXI¹**

Patrícia Duarte de Oliveira Paiva²
Mariana Del Ben Mayer³
Márcia Iasue Kawamura³
Moacir Pasqual²
Renato Paiva⁴

1. INTRODUÇÃO

O abacaxi (*Ananas comosus* L. Merr.) tem sido propagado via cultura de tecidos objetivando-se a obtenção de grande número de mudas. O sucesso desta técnica depende, no entanto, da determinação e utilização de metodologia eficiente para o processo de micropropagação, segundo AMMIRATO *et al.* (1).

Utilizando-se gemas laterais, é possível, segundo ZEPEDA e SAGAWA (13), obterem-se múltiplas formações de brotos e, para tanto, a otimização dos reguladores de crescimento utilizados no meio de cultura é

¹ Aceito para publicação em 06.07.1998.

² Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras (UFLA). Cx. Postal. 37, 37200-000 Lavras, MG.

³ Bolsista do CNPq.

⁴ Departamento de Biologia, UFLA.

de fundamental importância. Reguladores como BAP têm sido intensivamente utilizados em protocolos de cultura de tecidos para diversas espécies (3, 10, 12).

Novas substâncias, no entanto, com efeito de citocininas, como o TDZ (Thidiazuron), têm sido avaliadas como alternativas para a indução de multiplicação *in vitro* (2, 3, 4, 7, 9, 11). O TDZ é geralmente utilizado com eficiência em baixas concentrações, enquanto o sulfato de adenina, em concentrações variáveis, possui o efeito de estimular a proliferação de brotos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de BAP, TDZ e sulfato de adenina na proliferação *in vitro* de brotos de abacaxi.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado *in vitro* com os cultivares de abacaxi Skay e Primavera, que são nativos e empregados em programas de melhoramento. O cultivar Primavera ocorre na Região Amazônica e apresenta como características a ausência de espinhos e resistência à fusariose. Utilizaram-se como explantes brotos com tamanho médio entre 1,0 e 1,5 cm.

O meio de cultura básico utilizado foi o de MURASHIGE E SKOOG (MS) (8), com 0,3% de sacarose, 0,7% de ágar e pH ajustado em 5,8, antes do processo de autoclavagem. A este meio foram acrescentados os seguintes tratamentos: 1) 1 mg/L BAP; 2) 1 mg/L BAP + 160 mg/L sulfato de adenina; 3) 160 mg/L sulfato de adenina; 4) 0,1 mg/L TDZ; 5) 0,1 mg/L TDZ + 160 mg/L de sulfato de adenina; 6) 0,2 mg/L TDZ; e 7) 0,2 mg/L TDZ + 160 mg/L sulfato de adenina.

Utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado, com quatro repetições e tratamentos formados pela combinação de dois cultivares com os sete tratamentos. Cada unidade experimental foi constituída por três tubos de dimensões de 15 x 25 mm.

As plantas foram conduzidas em sala de crescimento com temperatura de 26° C e fotoperíodo de 16 horas de luz, com intensidade luminosa de 31,2-36 $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$. Após 45 dias efetuaram-se as avaliações, observando-se número e tamanho de brotações por explante. Para efeito de análise estatística, os dados foram transformados em $\sqrt{x+1}$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os explantes de abacaxi cultivados *in vitro* apresentaram desenvolvimento inicial após a inoculação no meio de cultura contendo os

tratamentos e, posteriormente, iniciaram a emissão de brotações. Os brotos formados apresentavam tamanho médio de 1 cm. Assim, avaliaram-se apenas o número de brotos e a altura dos explante inoculados. Houve interação entre os cultivares e os diferentes tratamentos quanto ao número de brotos (Quadro 1). A altura dos explantes não foi afetada significativamente pelos tratamentos nem pelos cultivares.

QUADRO 1 - Análise de variância de número de brotos e da altura dos explantes observados nos cultivares de abacaxizeiro			
Causas da Variação	Quadrados Médios ¹		
	GL	Número de Brotos	Altura de Explantes
Cultivares	1	0,8138 *	0,0607
Tratamentos	6	0,5675 *	0,0645
Cult. x Tratamentos	6	0,5624 *	0,0155
Resíduo	42	0,1866	0,0664
C.V. (%)		24,68	11,33

¹ Dados transformados em $\sqrt{x+1}$
* Significativo a 5%.

O cultivar Primavera não apresentou diferença no número de brotos formados em razão dos tratamentos testados, ocorrendo em média 1,65 broto por explante (Quadro 2). O cultivar Skay produziu em média 2,49 brotos por explante, o que indica sua maior capacidade de proliferação

QUADRO 2 - Número médio de brotos observados na micropropagação de cultivares de abacaxizeiros em diferentes tratamentos		
Tratamentos	Cultivares ¹	
	Primavera	Skay
MS + 1 mg/L BAP	1,07 B a	4,40 A a
MS + 1 mg/L BAP + 160 mg/L sulfato de adenina	2,42 A a	2,24 A abc
MS + 160 mg/L sulfato de adenina	1,45 A a	0,65 A bc
MS + 0,1 mg/L TDZ	2,26 A a	4,56 A a
MS + 0,1 mg/L TDZ + 160 mg/L sulfato de adenina	1,36 B a	3,79 A ab
MS + 0,2 mg/L TDZ	1,54 A a	3,25 A ab
MS + 0,2 mg/L TDZ + 160 mg/L sulfato de adenina	1,58 A a	0,14 A c
Média	1,65 B	2,49 A

¹ Médias seguidas de mesma letra maiúscula (cultivares) ou minúscula (tratamentos) não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

in vitro em relação ao cv. Primavera. Menor produção de brotos foi obtida em meios contendo sulfato de adenina, na ausência de regulador de crescimento ou quando se acresceu 0,2 mg/L de TDZ, o que indica possível toxidez do sulfato de adenina, pois boa produção de brotos (3,25 por explante) foi obtida em meio contendo 0,2 mg/L de TDZ, na ausência de sulfato de adenina. Maior número de brotos também foi formado na ausência de sulfato de adenina, nos meios em que se acresceu 1 mg/L de BAP ou 0,1 mg/L de TDZ, sendo formados 4,40 e 4,56 brotos por explante, respectivamente. Estes resultados confirmam a maior eficiência de TDZ em relação ao BAP, nas dosagens utilizadas. Neste experimento, a utilização de TDZ em concentração dez vezes menor que a de BAP proporcionou resultados semelhantes de produção de brotos. Os resultados observados com a utilização de TDZ nos meios de cultura concordam com os obtidos por GEORGE E SHERRINGTON (3), KERNS E MEYER (4), NIEUWKERK *et al.* (9), FELLMAN *et al.* (2) e MENEGUCCI *et al.* (7), os quais trabalharam com essa substância, porém em espécies diferentes.

O número de brotos obtidos neste experimento foi inferior aos de outros pesquisadores (5, 13) em cultivo *in vitro* de abacaxi. Esta variação pode ser atribuída ao comportamento de diferentes cultivares estudados nos trabalhos, observando-se que, neste, os cultivares são selvagens e naturalmente a sua capacidade produtiva é inferior à dos cultivares comerciais. Em média, porém, o cultivar Skay apresentou maior produção de brotos em relação ao cv. Primavera (Quadro 2).

A presença de sulfato de adenina nos meios com 1 mg/L de BAP ou 0,1 mg/L de TDZ também induziu a uma boa produção de brotos, 2,24 e 3,79 brotos por explante, porém em valores inferiores aos obtidos na ausência desta substância no meio de cultura. Em meios em que se utilizou o sulfato de adenina, o número de brotos formados em explantes do cultivar Skay foi menor, observando-se o amarelecimento deles, possivelmente devido às dosagens utilizadas, sendo este efeito também observado no cultivar Primavera. Assim, o sulfato de adenina não produziu alterações satisfatórias no desenvolvimento de abacaxi, nos cultivares testados, não permitindo a sua indicação como substância capaz de estimular a eficiência *in vitro*, conforme indicação de GEORGE e SHERRINGTON (3), MANTES E TEPPER (6) e MENEGUCCI *et al.* (7).

O Quadro 3 mostra os valores de altura dos explantes em cm, indicando que não houve diferenças significativas, pois apresentaram desenvolvimento semelhante, independentemente dos tratamentos aplicados, atingindo em média 4,0 cm o cv. Primavera e 4,31 cm o Skay.

Não se observou a formação de calos ou raízes nos explantes cultivados nos diferentes meios de cultura.

QUADRO 3 - Altura (cm) dos explantes de cultivares de abacaxizeiros desenvolvidos em diferentes meios de cultura		
	Cultivares	
	Skay	Primavera
MS + 0,1 mg/L TDZ	3,10	3,10
MS + 0,1 mg/L TDZ + 160 mg/L sulfato de adenina	3,82	3,45
MS + 0,2 mg/L TDZ	3,69	4,17
MS + 0,2 mg/L TDZ + 160 mg/L sulfato de adenina	4,32	4,48
Média	4,01	4,31

4. CONCLUSÕES

a) O cultivar Skay apresentou-se superior ao cv. Primavera, produzindo maior número de brotos por explante.

b) A utilização do regulador de crescimento TDZ a 0,1 mg/L ou de BAP a 1 mg/L no meio de cultura propiciou a formação de 4,36 e 4,40 brotos por explante, respectivamente, no cultivar Skay. Não se observou diferença significativa no número de brotos no cv. Primavera, por efeito dessas substâncias.

c) O sulfato de adenina não foi eficiente na proliferação de brotos de abacaxi nos cultivares avaliados.

d) A altura dos explantes não foi afetada significativamente pelos tratamentos nem pelos cultivares.

e) Não houve formação de raízes ou calos.

5. RESUMO

Objetivou-se neste experimento avaliar o efeito de sulfato de adenina e dos reguladores de crescimento BAP e TDZ acrescidos ao meio MS, sobre a proliferação de brotos nos cultivares de abacaxi Skay e Primavera. Observou-se maior número de brotos produzidos pelo cultivar Skay quando se utilizou 0,1 mg/L de TDZ ou 1 mg/L de BAP. O cultivar Primavera não apresentou respostas aos tratamentos testados. O sulfato de adenina não influenciou o desenvolvimento de brotos dos cultivares testados. Observou-se ainda desenvolvimento dos explantes inicialmente inoculados no meio de cultura, sem no entanto ocorrer a proliferação de brotos. Não houve formação de raízes.

6. SUMMARY

(EFFECT OF BAP, THIDIAZURON AND ADENINE SULPHATE ON IN VITRO PROPAGATION OF PINEAPPLE)

The objective of this work was to evaluate the effect of adenine sulphate (AS) and the growth regulators BAP and TDZ added to MS medium on shoot proliferation of pineapple, cultivars Skay and Primavera. Although no effects of BAP and/or TDZ were observed for the cultivar Primavera, our results showed high production of shoots for the cultivar Skay using 0.1 mg/L TDZ or 1 mg/L BAP. For both cultivars, the use of AS had no effect on shoot development. *In vitro* development was observed in explants initially inoculated in the culture medium, but without the occurrence of shoot proliferation. No root formation was observed.

7. LITERATURA CITADA

1. AMMIRATO, P.V.; EVANS, D.A.; SHARP, W.R. & YAMADA, Y. *Handbook of plant cell culture*. V.3 - Crop species. New York, Macmillan Publishing Company, 1984. 620p.
2. FELLMAN, C.D.; READ, P.E. & HOSIER, N.A. Effects of thidiazuron and CPPU on meristem formation and shoot proliferation. *Hort Science*, 22: 1197-1200. 1987.
3. GEORGE, E.F. & SHERRINGTON, P.D. *Plant propagation by tissue culture*. Eversley, Exegetics Limited, 1984. 593p.
4. KERNS, H.R. & MEYER Jr., M.M. Tissue culture propagation of *Acer x freemanii* using thidiazuron to stimulate shoot tip proliferation. *HortScience*, 21:1209-1210. 1986.
5. KISS, E.; LISS, J.; GYULAI, G. & HESZKY, L.E. A novel method for rapid micropropagation on pineapple. *HortScience*, 30:127-129. 1995.
6. MANTES, S. & TEPPER, I.B. Propagation of *Musa textilis* Neé plants from apical meristem slices *in vitro*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 2:151-159. 1983.
7. MENEGUCCI, J.L.P.; PINTO, J.E.B.P. & SILVA, C.R.de R. Avaliação de um novo regulador de crescimento na micropropagação de cultivares de bananeiras (*Musa* sp. AAB). *Ciência e Prática*, 17:318-321. 1993.
8. MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for growth and tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, 15:473-497. 1962.
9. NIEUWKERK, J.P.van; ZIMMERMAN, R.H. & FORDHAM, I. Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation *in vitro*. *HortScience*, 21:516-518. 1986.
10. PASQUAL, M.; PEIXOTO, P.H.P.; SANTOS, J.C.de & PINTO, J.E.B.P. Propagação "in vitro" de amora-preta (*Rubus idaeus* L.) cv. Ébano: uso de reguladores de crescimento. *Ciência e Prática*, 15:282-286. 1991.
11. RATHORE, T.S.; TANDON, P. & SHEKHWAT, N.S. In vitro regeneration of pitcher plant (*Nepenthes khasiana* Hook.) - a rare insectivorous plant of India. *Journal of Plant Physiology*, 139:246-248. 1991.

12. SILVA, A.T.da; PASQUAL, M.; ANTUNES, L.E.C. & CARVALHO, S.A. de. Efeito de BAP e ANA na propagação “*in vitro*” da amoreira preta (*Rubus idaeus* L. cv. Ébano). *Ciência e Prática*, 19:145-148. 1995.
13. ZEPEDA, C. & SAGAWA, Y. In vitro propagation of pineapple. *HortScience*, 16:495. 1981.