

EFEITO DA VENTILAÇÃO DO FRASCO E CONCENTRAÇÃO DA SACAROSE NO CULTIVO *IN VITRO* DE ABACAXI (*Ananas comosus*)¹

Flávia Antunes², Patrícia dos Santos Mendes³, Wellington Farias Araújo⁴, Edvan Alves Chagas⁵, Lorena Pastorini Donini⁶, Marcio Akira Couceiro⁴

¹ Projeto desenvolvido na Biofábrica da Universidade Federal de Roraima (UFRR), BR174, Km 12, s/n, Campus do Cauamé, Boa Vista-RR, Brasil, 69301-970, apoio financeiro PRODOC-CAPEs e SUFRAMA 575587/2008-3; ² Pesquisadora PRODOC-CAPEs, UFRR; ³ Bolsista do programa de iniciação científica (PIC)-CNPq, aluna do curso de Agronomia, UFRR; ⁴ Professor da UFRR; ⁵ Pesquisador da Embrapa Roraima; ⁶ Pesquisadora PNPd-CAPEs Embrapa Roraima, *email*<biofabrica@ufr.br>

Introdução

A cultura do abacaxi tem se destacado em Roraima pela expansão da área cultivada, entretanto, esta expansão ainda é pouco significativa no cenário nacional. Além disso, a expansão da cultura não está acompanhada da melhoria das técnicas de produção de mudas e de manejo da cultura, o que tem desestimulado muitos produtores. A baixa qualidade das mudas está diretamente relacionada com a baixa produtividade e a vulnerabilidade e disseminação de pragas e doenças.

Uma alternativa para produção de mudas de qualidade é a utilização de sistemas de propagação *in vitro*. Nesses sistemas as plantas são propagadas vegetativamente em ambiente controlado, o que garante o controle de patógenos, a homogeneidade de produção e a redução do tempo de formação das mudas pelo rígido controle do ambiente (TORRES et al., 1998). Porém, o ambiente do cultivo convencional *in vitro* (heterotrófico e fotomixotrófico) é completamente diferente do ambiente *ex vitro* e, frequentemente, é a causa de características, anatômicas e fisiológicas, anormais nas plantas (AFREEN et al., 2000).

Outro fator crucial negativo relacionado às condições convencionais de cultivo *in vitro* é a baixa concentração de CO₂ dentro do frasco, alcançando rapidamente o ponto de compensação. Como consequência, as plantas apresentam baixas taxas fotossintéticas durante o resto do fotoperíodo. Foi comprovado o aumento no crescimento, desenvolvimento e na porcentagem de sobrevivência das plantas relacionadas com o aumento da ventilação dos frascos de cultivo (ZOBAYED et al., 2000). Isto se dá porque a cultura clorofilada pode desenvolver-se vigorosamente em meio sem adição de açúcar (cultivo fotoautotrófico), pela melhora do ambiente *in vitro*, promovendo a fotossíntese, transpiração e absorção de nutrientes inorgânicos do meio de cultura.

O presente trabalho visou implantar técnicas de cultivo fotoautotrófico *in vitro* para o desenvolvimento de um sistema eficiente de produção de mudas de abacaxi de forma a contribuir com o aumento da produtividade dos pomares e melhoria da qualidade dos frutos.

Material e métodos

Os explantes utilizados foram gemas provenientes de filhotes de plantas matrizes de abacaxizeiro, cultivar Perolera, cultivadas no campo experimental da Biofábrica, UFRR. As gemas foram desinfestadas e inoculadas em meio MURASHIGE & SKOOG (1962) (MS) acrescido com 7,0 mg L⁻¹ BAP (benzilaminopurina) em meio gelatinoso, pH 5,7 ± 0,1 e transferidos para iluminação artificial (16 h d⁻¹ de fotoperíodo) e temperatura controlada (25 + 2°C). Após o estabelecimento, durante a fase de multiplicação, os explantes foram repicados em meio MS líquido acrescidos com BAP 1,0 mg L⁻¹ e ANA (ácido naftalenacético) 0,25 mg L⁻¹, pH 5,8 ± 0,1.

Para os experimentos, plântulas provenientes da fase de multiplicação foram transferidas para meio MS líquido na mesma composição descrita acima. Para forçar a circulação do ar ao redor dos frascos foram instalados ventiladores de computador nas prateleiras da sala de cultivo. Nas tampas dos frascos, foram feitos dois furos de 10 mm de diâmetro. Para evitar a entrada de microorganismos patógenos, os furos foram cobertos com filtros de membrana (Milliseal, diâmetro do poro 0,5 µm; Millipore).

Os tratamentos consistiram no fatorial de três concentrações de sacarose (0, 15, e 30 g L⁻¹) e três condições de ventilação do frasco: (1) frasco sem filtro e sem ventilação (S/V), (2) frasco com filtros em prateleiras sem ventiladores (CF/SV) e (3) frascos com filtro em prateleiras com ventiladores (CF/CV).

Os parâmetros avaliados foram: número de brotos maiores que um centímetro (NB), massa fresca (MF) e massa seca (MS). Para cada tratamento foram utilizados quatro frascos com 3 plantas por frasco, sendo considerado cada planta uma repetição. Os resultados foram obtidos pelas médias de oito repetições para cada tratamento.

Resultados e discussão

O melhor resultado para massa seca (0,26 g) e número de brotos (7,38 brotos) foi obtido quando as plântulas foram cultivadas em frascos com filtros e submetidas à ventilação em meio com 30 g.L⁻¹ de sacarose. Os valores de massa fresca foram maiores em plântulas cultivadas em frascos sem filtros em meio com 30 g.L⁻¹ de sacarose (3,89 g) e em frascos com filtros e submetidos à ventilação em meio com 15 g.L⁻¹ de sacarose (3,83 g).

A ventilação promoveu o aumento do número de brotos e matéria seca em meio na presença de sacarose, independente da concentração. Em relação ao número de brotos, houve um aumento de 130% quando as plântulas foram cultivadas em frascos com filtros e submetidas à ventilação, comparados a plântulas cultivadas em frascos sem filtros em meio com 15 g.L⁻¹ de sacarose. Em relação à massa seca, o aumento foi de 42% para plântulas

cultivadas em frascos com filtros e submetidas à ventilação, comparados a plântulas cultivadas em frascos sem filtros em meio com 15 g.L⁻¹.

Tabela 1. Crescimento e desenvolvimento de plantas de abacaxi (*Ananas* sp) cultivadas por 45 dias nos seguintes sistemas *in vitro*: frasco sem filtro e sem ventilação (S/V); frasco com filtros em prateleiras sem ventiladores (CF/SV) e frascos com filtro em prateleiras com ventiladores (CF/CV), todos combinados com três concentrações de sacarose (0, 15 e 30 g L⁻¹). Os dados apresentados são valores médios de oito repetições, seguidos do desvio padrão do número de brotos (NB), massa fresca (MF) e massa seca (MS).

Sacarose (g.L ⁻¹)	ventilação	NB	MF (g)	MS(g)
0	S/V	0 ±0	0,67 ±1,43	0,03 ±0,05
0	CF/SV	0 ±0	0,60 ±1,30	0,03 ±0,06
0	CF/CF	0 ±0	0,39 ±0,87	0,002 ±0,04
15	S/V	3,00 ±2,33	2,28 ±1,01	0,14 ±0,04
15	CF/SV	3,63 ±1,92	2,80 ±1,43	0,14 ±0,06
15	CF/CF	6,88 ±4,94	3,83 ±1,51	0,20 ±0,06
30	S/V	3,75 ±1,67	3,89 ±1,05	0,24 ±0,04
30	CF/SV	5,75 ±5,65	3,26 ±1,77	0,24 ±0,13
30	CF/CF	7,38 ±6,80	3,53 ±0,99	0,26 ±0,07

Em meio sem sacarose não houve formação de novos brotos e os valores de massa seca e fresca foram semelhantes para todos os tratamentos. O aumento da concentração de sacarose no meio de cultura de 15 para 30 g.L⁻¹ aumentou a massa seca e o número de brotos das plântulas em todos os tratamentos. Em relação à massa fresca, o aumento da concentração de sacarose estimulou o crescimento das plântulas cultivadas em frascos sem filtros (aumento de 70%) e em frascos com filtros sem ventilação (aumento de 16%), e pouco alterou (redução de 8%) os valores para as plântulas cultivadas em frascos com filtros submetidos à ventilação.

Em meio sem açúcar no meio de cultura a contaminação pode ser facilmente controlada e as plântulas são forçadas a desenvolver o seu aparelho fotossintético durante o cultivo *in vitro* o que facilitaria a sua aclimatização *ex vitro* e a sobrevivência ao ambiente externo (KOZAI et al., 2005). Além disso, a presença de sacarose ao meio de cultura e o cultivo em frascos fechados, que não permitem trocas de ar com o ambiente externo, são responsáveis por anomalias na fisiologia e morfologia das plantas *in vitro*. Desta forma é necessário a busca de melhorias do ambiente *in vitro* de forma que a planta consiga crescer e se desenvolver em condições semelhantes ao ambiente *ex vitro*. De acordo com a Tabela 1 verificamos que a presença de filtros em frascos submetidos à ventilação dos frascos estimulou o crescimento e desenvolvimento das plântulas. Este resultado mostra a importância da troca de ar entre o ambiente e o frasco e ressalta a capacidade das plântulas *in vitro* de desenvolver o aparelho fotossintético e crescerem dependentes somente da fonte de carbono endógena (ZOBAYED et al., 2002).

Normalmente, em cultura de tecidos e órgãos, é adicionada sacarose ao meio de cultura como fonte de carbono para o metabolismo das plântulas *in vitro*. Em micropropagação, a concentração geralmente é de 30 g.L⁻¹ de sacarose. Entretanto, de

acordo com os resultados mostrados e considerando o fato que as concentrações de CO₂ nos frascos sem filtros serem menor que o ponto de compensação (KOZAI et al., 2005), pode-se dizer que esta concentração de sacarose, como fonte de carbono, é indispensável somente quando a ventilação do frasco e, conseqüentemente, o CO₂ do ambiente não é suficiente para o desenvolvimento do aparelho fotossintético das plântulas *in vitro*.

Conclusões

A ventilação dos frascos estimulou o crescimento das plântulas de abacaxi, sendo possível a redução de 50% de sacarose do meio de cultivo, sem afetar a qualidade das plântulas. Este resultado indica, que a fonte de carbono exógena (sacarose) pode ser eliminada do meio de cultura caso melhore as condições do ambiente *in vitro* e a plântula consiga desenvolver seu aparelho fotossintético e crescer dependente somente do CO₂ do ambiente. Desta forma, será possível a promoção do crescimento e a produção de plantas *in vitro* com maior qualidade e menor perda durante o processo.

Agradecimentos

À Iolete do Nascimento Araújo Maciel, pelo suporte técnico, à CAPES e ao CNPq pela concessão de bolsas.

Referências bibliográficas

- AFREEN, F.; ZOBAYED, S.M.A.; KUBOTA, C.; KOZAI, T. Physiology of *in vitro* plantlets grown photoautotrophically. *In*: KUBOTA, C; CHUN, C. Transplant production in the 21st century. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000. p.238-245.
- KOZAI, T.; AFREEN, F.; ZOBAYED, S.M.A. Photoautotrophic (sugar-free medium) micropropagation as a new propagation and transplant production system. Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2005, 315p.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.
- TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas. EMBRAPA, Brasília, 1998, 864p.
- ZOBAYED, S.M.A.; AFREEN-ZOBAYED, F.; KUBOTA, C.; KOZAI, T. Mass propagation of *Eucalyptus camaldulensis* in a scaled-up vessel under *in vitro* photoautotrophic condition. **Annals of Botany** v.85, p.587-592, 2000.
- ZOBAYED, S.M.A.; ARMSTRONG, J.; ARMSTRONG, W. Leaf anatomy of *in vitro* tabaco and cauliflower plantlets as affected by different types of ventilation. **Plant Science**, v.161, p.537-548, 2002.