

## Notas Científicas

### Conservação in vitro de germoplasma de abacaxi tratado com paclobutrazol

Ana Maria Mascarenhas Eloy Canto<sup>(1)</sup>, Fernanda Vidigal Duarte Souza<sup>(2)</sup>, Maria Angélica Carvalho Costa<sup>(1)</sup>, Antônio da Silva Souza<sup>(2)</sup>, Carlos Alberto da Silva Ledo<sup>(2)</sup> e José Renato Souza Cabral<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade Federal da Bahia, Escola de Agronomia, CEP 44380-000 Cruz das Almas, BA. E-mail: mapcosta@ufba.br <sup>(2)</sup>Embrapa Mandioca e Fruticultura, Caixa Postal 007, CEP 44380-000 Cruz das Almas, BA. E-mail: fernanda@cnpmf.embrapa.br, assouza@cnpmf.embrapa.br, ledo@cnpmf.embrapa.br, cabral@cnpmf.embrapa.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do paclobutrazol (PBZ) no crescimento in vitro de plantas de abacaxi visando à conservação do germoplasma. Utilizou-se o meio MS suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 8 g L<sup>-1</sup> de ágar. Cada tratamento consistiu de duas doses de PBZ: a primeira aplicada no início do experimento e a segunda, noventa dias após, em combinações que envolviam a ausência, 0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>. Os melhores resultados foram obtidos na ausência do PBZ, ou com 0,5 mg L<sup>-1</sup> aplicada apenas no início do experimento. Foi possível reduzir o número de subcultivos durante o período de conservação.

Termos para indexação: *Ananas comosus*, crescimento reduzido, Bromeliaceae.

#### In vitro conservation of pineapple germplasm treated with paclobutrazol

Abstract – The aim of this work was to evaluate the effect of paclobutrazol (PBZ) on in vitro growth and conservation of pineapple germplasm. Plants of the PE x SC-60 pineapple hybrid were cultivated on MS medium supplemented with 30 g L<sup>-1</sup> of sucrose and 8 g L<sup>-1</sup> of agar. Treatments consisted of two concentrations of PBZ, the first one applied at the beginning of the trial and the other ninety days after. The best result was obtained without PBZ or with 0.5 mg L<sup>-1</sup> at the beginning of the trial. It was possible to reduce the number of subcultures during conservation.

Index terms: *Ananas comosus*, minimal growth conditions, Bromeliaceae.

Estima-se que 70% da produção mundial de abacaxi provenha da cultivar Smooth Cayenne, preferida para plantio e consumo, o que tem gerado um desaparecimento gradual de cultivares de interesse local e regional, que a longo prazo leva à erosão genética da espécie. Este fato tem preocupado os melhoristas da cultura, quanto à conservação do germoplasma ainda disponível.

A conservação in vitro é uma alternativa de conservação de germoplasma, que apresenta vantagens (Nass, 2001), como a manutenção de um grande número de acessos num pequeno espaço físico e livres dos riscos que existem no campo. A conservação in vitro consiste na manutenção da cultura em taxas de crescimento reduzido por meio da diminuição da temperatura de incubação e da adição de retardantes osmóticos e hormonais ao meio de cultura. Em abacaxi, estes trabalhos ainda são escassos e os resultados são pouco expressivos (Zee

& Munekata, 1992). A utilização de paclobutrazol (PBZ) como retardante de crescimento vem sendo estudada há mais de 15 anos como alternativa aos reguladores de crescimento convencionais (Sterreftt, 1985; Valle & Almeida, 1991; Berova et al., 2002). Esta substância interfere na síntese do ácido giberélico, inibindo o crescimento em diferentes espécies de plantas (Sterreftt, 1985; Carvajal et al., 1998). Na conservação in vitro poderia favorecer a ampliação do tempo entre subcultivos e propiciar menor custo para manutenção do banco de germoplasma em laboratório.

Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do paclobutrazol no crescimento in vitro de plantas de abacaxi, visando à conservação do germoplasma.

Foram utilizadas plantas do abacaxizeiro híbrido PE x SC-60, cultivadas inicialmente em caixas de plástico, com 70 mL de meio de cultura básico MS, suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, gelificado com 8 g L<sup>-1</sup> de ágar,

ajustado a um pH de 5,8 e autoclavado a 121°C (1 kg cm<sup>-2</sup>) por 40 minutos, ao qual foram adicionadas 0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup> de paclobutrazol (PBZ). As plantas foram transferidas para sala de crescimento, sob condições de temperatura de 27±1°C, intensidade luminosa de 22 µE m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas, onde permaneceram por 90 dias. Após este período, as plantas foram subcultivadas no mesmo meio básico, na ausência de PBZ ou suplementado com 0,5 mg L<sup>-1</sup> de PBZ, em combinação com os tratamentos anteriores, consistindo nas seguintes doses em mg L<sup>-1</sup>: 0,0 e 0,0 (T1); 0,5 e 0,0 (T2); 0,5 e 0,5 (T3); 1,0 e 0,0 (T4); 1,0 e 0,5 (T5), aplicados no cultivo inicial e final, respectivamente. Foram colocadas cinco plantas por caixa de plástico com 70 mL de meio de cultura e mantidas nas mesmas condições de incubação mencionadas anteriormente. Após um ano de cultivo, foi realizada uma análise destrutiva para avaliação das seguintes variáveis: a) altura de planta, segundo Cunha & Cabral (1999); b) número de folhas verdes; c) número de folhas senescentes; d) massa da parte aérea; e) massa da raiz; f) relação massa da raiz:massa da parte aérea. A massa da parte aérea e da raiz foi determinada após secagem a 65°C em estufa de circulação forçada de ar, até atingir massa constante.

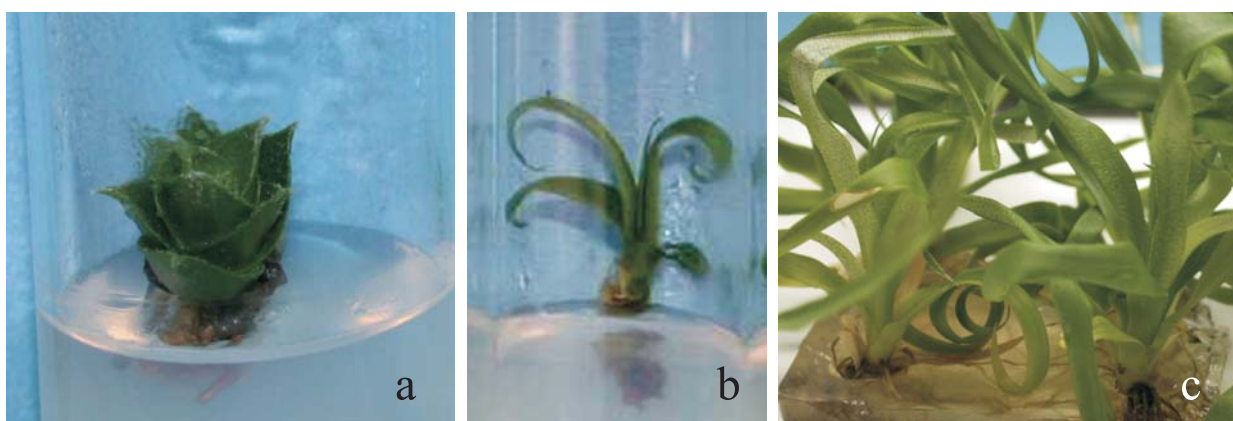
O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso com 15 repetições, e cada planta foi considerada uma repetição. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Foi utilizado o sistema SAS para as análises estatísticas (SAS Institute Inc., 2000).

O efeito do PBZ como inibidor do crescimento foi evidente no estabelecimento da cultura, principalmente aos 30 dias de cultivo, quando as plantas apresentaram forma típica de roseta, muito diferente da morfologia

normal do abacaxizeiro in vitro (Figura 1). Este tipo de comportamento, resultante de um encurtamento excessivo das folhas, é característico de plantas de abacaxi tratadas com PBZ (Feuser et al., 2001). Contudo, esta mesma morfologia não foi verificada ao final dos 12 meses do segundo cultivo, já que a forma de roseta deu lugar a plantas com a estrutura normal do abacaxizeiro (Figura 1).

Houve diferenças significativas entre os tratamentos em relação à altura da planta, após um ano em cultivo. A maior média observada foi no tratamento T3, cuja dose inicial e final foi 0,5 mg L<sup>-1</sup> de PBZ. Os tratamentos T1 (controle) e T2 (0,5 e 0,0 mg L<sup>-1</sup>) apresentaram as menores médias, seguidos de T4 (1,0 e 0,0 mg L<sup>-1</sup>) e T5 (1,0 e 0,5 mg L<sup>-1</sup>). É possível que a concentração utilizada em T3 e T5, no segundo subcultivo (0,5 mg L<sup>-1</sup>), não tenha sido suficiente para limitar, como esperado, o crescimento das folhas (Figura 2).

Quanto ao número de folhas verdes e senescentes, observou-se uma correlação negativa e significativa entre as duas variáveis ( $r = -0,67$ ;  $P < 0,01$ ), indicando a existência de uma interdependência entre as mesmas. Os tratamentos com maior número de folhas verdes também apresentaram menor número de folhas senescentes, o que foi constatado nos tratamentos com ausência de PBZ (T1, T2 e T4) (Figura 2). A presença de maior número de folhas senescentes em T3 e T5 revela que a dose de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de PBZ favoreceu o maior desenvolvimento das plantas que, conseqüentemente, entraram em senescência antes dos demais tratamentos. Esta condição de senescência é indesejável in vitro, principalmente quando se objetiva a conservação de germoplasma, porque envolve a realização de um novo subcultivo para que a planta possa recuperar seu vigor e não tenha sua capacidade de regeneração comprometida.



**Figura 1.** Aspectos morfológicos de plantas do abacaxizeiro PE x SC-60 aos 30 dias de cultivo em meio com paclobutrazol mostrando um formato de roseta (a), e morfologia normal, na ausência deste regulador (b) ou após um ano de cultivo (c).

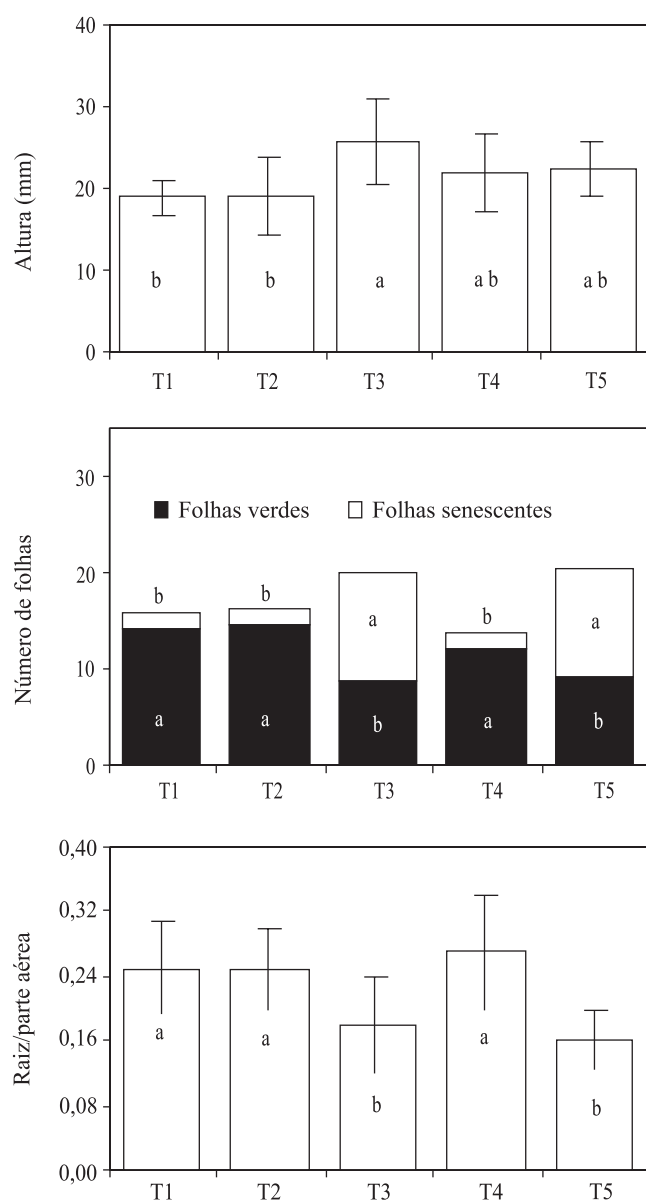
Quanto à relação massa da raiz:massa da parte aérea, foi verificado que os tratamentos T2 e T4, cultivados na ausência de PBZ durante um ano, apresentaram as maiores médias, indicando que, nestas condições, houve maior formação de raízes em detrimento da parte

aérea, comportamento semelhante a T1 (Figura 2). Esses dados mostram que o PBZ contribui para alterar o particionamento de carbono entre a raiz e a parte aérea. Um sistema radicular mais desenvolvido é considerado benéfico, uma vez que é um fator de extrema importância para a posterior aclimação das plantas.

As plantas oriundas de T1, T2 e T4, cujas doses iniciais foram 0,0, 0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup> de PBZ, respectivamente, quando posteriormente cultivadas na ausência do regulador apresentaram um comportamento uniforme em todas as variáveis analisadas. Estes resultados sugerem que não existe efeito residual do PBZ sobre o crescimento da planta, pelo menos nas doses iniciais utilizadas. Esta resposta não era esperada já que os tratamentos que continham o regulador na dose inicial e final não apresentaram como resposta a redução do crescimento da planta. Valle & Almeida (1991), por exemplo, obtiveram redução drástica na altura de plântulas de cacau (*Theobroma cacao* L.), utilizando PBZ, que foi atribuída à interação entre o estágio de desenvolvimento das plântulas e as doses utilizadas. De acordo com esses autores, os efeitos do PBZ diminuiram à medida que a idade fisiológica da planta aumentou, fato semelhante ao ocorrido com o abacaxizeiro. Carvajal et al. (1998), trabalhando com plantas de dendê (*Elaeis guineensis*), observaram que sob menores doses de PBZ, o retardamento do crescimento se mantinha por um período curto de tempo (cinco meses), igualando-se, posteriormente, ao controle.

Uma analogia pode ser feita em relação ao presente trabalho, uma vez que foi observada a redução no comprimento das folhas das plantas do abacaxizeiro apenas no primeiro subcultivo. Os resultados revelaram que o PBZ nas concentrações utilizadas não foi eficiente no objetivo de manutenção das plantas em condições de baixa taxa de crescimento. Esse fator é ainda mais crítico quando se deseja conservar o material por um longo período. No caso do abacaxi, a expectativa é de se chegar a pelo menos um ano e meio sem a necessidade de novos subcultivos.

No presente trabalho o tratamento sem regulador foi considerado o mais recomendado na conservação in vitro de germoplasma de abacaxi, pois apresentou menor crescimento e permitiu a manutenção de plantas em bom estado vegetativo durante um ano, sem subcultivos intermediários.



**Figura 2.** Altura, número de folhas verdes e senescentes e relação entre a massa da raiz e a massa da parte aérea de plantas do abacaxizeiro PE x SC-60. Colunas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; as barras representam o desvio-padrão da média (T1: controle; T2: 0,5 e 0,0; T3: 0,5 e 0,5; T4: 1,0 e 0,0; T5: 1,0 e 0,5 mg L<sup>-1</sup> de paclobutrazol, aplicados no início do experimento e 90 dias após, respectivamente).

### Referências

- BEROVA, M.; ZLATEV, Z.; STOEVA, N. Effect of Paclobutrazol on wheat seedlings under low temperature stress. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, v.28, p.75-84, 2002.
- CARVAJAL E.; ALVARADO, A.; STERLING, F.; RODRIGUES, J. Uso de Paclobutrazol en clones de palma aceitera durante la etapa de vivero. **ASD Oil Palm Papers**, n.18, p.29-33, 1998.
- CUNHA, G.A.P. da; CABRAL, R.S. Taxonomia, espécies, cultivares e morfologia. In: CUNHA, G.A.P.; CABRAL, R.S.; SOUZA, L.F. da S. (Org.). **O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia**. Brasília: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 1999. p.17-51.
- FEUSER, S.; NODARI, R.O.; GUERRA, M.P. Eficiência comparativa dos sistemas de cultura estacionária e imersão temporária para a micropropagação do abacaxizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, p.6-10, 2001.
- NASS, L.L. Utilização de recursos genéticos vegetais no melhoramento. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S. de; VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p.30-55.
- SAS INSTITUTE INC. (Cary, Estados Unidos). **SAS/STAT user's guide: version 8.0**. Cary, 2000. v.1-3.
- STERREFTT, J.P. Paclobutrazol: a promising growth inhibitor for injection into woody plants. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.110, p.4-8, 1985.
- VALLE, R.R.; ALMEIDA, A. Growth reduction effects of paclobutrazol applied at different cacao seedling stages. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, p.1911-1917, 1991.
- ZEE, F.T.; MUNEKATA, M. In vitro storage of pineapple (*Ananas spp.*) germplasm. **HortScience**, v.27, p.57-58, 1992.

---

Recebido em 17 de outubro de 2003 e aprovado em 15 de março de 2004