



## DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS OBTIDAS DE SEGMENTOS NODAIS DE *Ananas ananassoides* (BAKER) L.B. SM CULTIVADOS *IN VITRO* COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NITROGÊNIO

Priscila Primo Andrade Silva Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica, São Paulo, SP.;

Flávia Maria Kazue Kurita Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica, São Paulo, SP

Vívian Tamaki Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica, São Paulo, SP.

### INTRODUÇÃO

A bromélia *Ananas ananassoides* é endêmica do cerrado, onde é conhecida popularmente como “abacaxizinho do cerrado” (Proença e Sajo, 2007). Como este bioma encontra-se ameaçado de extinção, tendo sido incluído entre os 34 hotspots globais de biodiversidade, com riquíssima flora com mais de dez mil espécies de plantas, sendo 4.400 endêmicas (Sugiyama, 2010), medidas de conservação de suas espécies são necessárias. Assim, os estudos para se propagar *A. ananassoides* tornam-se importantes. Dentre as formas de preservação de espécies vegetais, o cultivo *in vitro* de bromélias tem sido considerado uma estratégia eficiente para se propagar material genético de espécies raras e ameaçadas, com a meta de assegurar a sobrevivência desse material na natureza (Mercier e Nievola, 2003). Técnicas para se multiplicar *A. ananassoides* usando a micropropagação são importantes, visto que há poucas informações disponíveis sobre a obtenção de mudas desta espécie e sobre quais são as melhores condições de cultivo das mesmas. Entre alguns métodos de micropropagação pode-se citar a multiplicação por estiolamento caulinar com a bromélia *A. ananassoides* (Silva *et al.*, 2013 em preparação). Outros trabalhos relatam a produção vegetal a partir de segmentos nodais, mencionando a importância da posição do segmento no eixo caulinar no desenvolvimento da planta (Souza *et al.*, 2003; Santos, 2009). O uso desse método é importante quando se deseja multiplicar uma espécie, visto que é possível a não utilização de reguladores de crescimento, cujas substâncias podem induzir variações somaclonais (Tamaki *et al.*, 2007). Para o estabelecimento do cultivo *in vitro*, além da escolha do melhor explante também é necessária a seleção da melhor composição nutricional para crescimento e desenvolvimento da planta. O meio de cultura, frequentemente, utilizado para o cultivo *in vitro* de bromélias é o de Knudson (1946). Contudo, existem trabalhos que citam também o uso do meio de Murashigue e Skoog (1962-MS) com composição original ou contendo macronutrientes reduzidos à metade da concentração (Mercier e Kerbaux, 1997; Tamaki *et al.*, 2007).

### OBJETIVOS

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de investigar qual a influência da posição do segmento nodal no eixo caulinar sobre o desenvolvimento *in vitro* das plântulas da bromélia terrícola *A. ananassoides* em diferentes concentrações de nitrogênio.

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório do Núcleo de Pesquisas em Plantas Ornamentais, do Instituto de Botânica, da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo (SMA- SP). Neste estudo foram utilizados 150

segmentos nodais (classificados em apical, mediano e basal), que foram cultivados em frascos de 360 mL (quatro segmentos por frasco), contendo 30 mL de meio de Murashige e Skoog (1962) (MS) modificados com diferentes concentrações de nitrogênio (15mM, 30mM e 60mM de N). Os frascos foram mantidos em condições assépticas em sala de cultura com fotoperíodo de 12 horas com luminosidade de 30  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  e a temperatura média de  $26\pm 2$  °C durante quatro meses. Após este período foram feitas as análises do comprimento das partes aérea e radicular e massa fresca e seca da partes aéreas e radiculares. As médias foram calculadas e submetidas à análise de variância, sendo comparadas pelo teste Tukey em nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS

Em relação aos resultados de comprimento da parte aérea e radicular as maiores plantas foram obtidas a partir dos segmentos nodais apicais (média da parte aérea e radicular  $4,00\pm 1,04$  cm e  $3,62\pm 1,07$  cm, respectivamente), em relação as plantas originadas dos outros dois segmentos nodais, porém o número de folhas das plantas geradas dos segmentos nodais apicais foi menor. Para as variáveis massa seca e fresca da parte aérea, os maiores resultados foram obtidos nas plantas provenientes dos segmentos nodais apicais e medianos nos tratamentos de 15 mM de N (9,375 mM de nitrato e 5,625 mM de amônio e 60 mM de N (31,875 mM de nitrato e 28,125 mM de amônio).

## DISCUSSÃO

O resultados de comprimento mostraram que os segmentos nodais apicais apresentaram os maiores valores, isto pode estar relacionado, pois o eixo caulinar das plantas pode apresentar gradiente basípeto de auxina e acrópeto de citocinina (Mercier, 2004). Estudos mostram que balanços hormonais com elevada proporção de citocinina favorecem a diferenciação em gemas caulinares e ao contrario, elevada proporção relativa de auxina induz a diferenciação de raízes nos tecidos parenquimáticos da medula e o alongamento celular (Skoog e Miller, 1956), assim, é possível explicar o que pode ter ocorrido no presente trabalho, onde os segmentos nodais apicais devem possuir maior quantidade de auxina em relação a citocinina e os basais, mais citocininas. Em relação aos resultados de massa fresca e seca, de acordo com Tamaki e Mercier (2007), a maior disponibilidade de nitrato em relação ao amônio presente no meio de cultivo visto que nitrato induz a síntese de citocininas, promovendo o crescimento das plantas.

## CONCLUSÃO

É possível o uso de qualquer segmento nodal para o desenvolvimento *in vitro* de *A. ananassoides*, mas vale ressaltar que os segmentos medianos geram plantas com melhor relação parte aérea/raiz em 15 e 60 mM de N.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MERCIER, H.; KERBAUY, G.B. 1997. Micropropagation of ornamental bromeliads (Bromeliaceae). *Biotechnology in Agriculture and Forestry* 40: 43-57.

MERCIER, H.; NIEVOLA, C.C. 2003. Obtenção de bromélias *in vitro* como estratégia de preservação. *Vidalia* 1 (1): 57-62 p. MERCIER, H. 2004. Estudos em Bromeliaceae: desenvolvimento e metabolismo do nitrogênio. Tese (Livre-Docência) - Instituto de Botânica, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497 p.

PROENÇA, S. L.; SAJO, M. G. 2007. Anatomia foliar de bromélias ocorrentes em áreas de cerrado do Estado de São Paulo, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 21, n. 3, 657-673 p.

SANTOS D. S. Micropropagação da bromélia ornamental *Acanthostachys strobilacea* (Schultz F.) Klotzsch e a

influência do etileno. Dissertação de Mestrado. Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente. São Paulo  
SOUZA, B.M.; KRAUS, J.E.;

ENDRES, L.; MERCIER, H. 2003. Relationships between endogenous hormonal level and axillary bud development of *Ananas comosus* nodal segments. *Plant Physiology and Biochemistry* 41: 733-739.

SUGIYAMA, M. Biomas do Estado de São Paulo. In: BONONI, V. L. R. Biodiversidade Secretaria de Estado do Meio Ambiente, Instituto de Botânica. São Paulo: SMA, 2010. 112 p.

TAMAKI, V. ; MERCIER, H. 2007. Cytokinins and auxin communicate nitrogen availability as long-distance signal molecules in pineapple (*Ananas comosus*). *Journal of Plant Physiology* 164: 1543-1547.

TAMAKI, V.; MERCIER, H.; NIEVOLA, C.C. 2007. Cultivo in vitro de clones de *Ananas comosus* (L.) Merrill cultivar Smooth Cayene em diferentes concentrações de macronutrientes. *Hoehnea* 34(1):67-73.

## **Agradecimento**

Instituição Financiadora: CNPq/PIBIC