

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E FITOSSANIDADE
CURSO DE ENGENHARIA AGRONÔMICA

HIDELBRANDO PIMENTA PIRES

**ACLIMATIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO *EX VITRO* DE PLANTAS
MICROPROPAGADAS DE ABACAXIZEIRO CV. PÉROLA**

São Luís – MA

2021

HIDELBRANDO PIMENTA PIRES

**ACLIMATIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO *EX VITRO* DE PLANTAS
MICROPROPAGADAS DE ABACAXIZEIRO CV. PÉROLA**

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia Bacharelado do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Estadual do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador (a): Prof.^a. Dra. Thais Roseli Corrêa.

São Luís – MA

2021

HIDELBRANDO PIMENTA PIRES

ACLIAMATIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS MICROPROPAGADAS
DE ABACAXIZEIRO CV. PÉROLA


Monografia apresentada ao Curso de
Agronomia Bacharelado do Centro de
Ciências Agrárias, da Universidade Estadual
do Maranhão, como requisito para obtenção
do título de Engenheiro Agrônomo.

Aprovada em: 06/09/2021

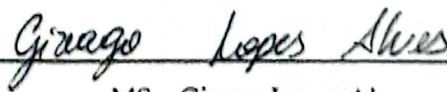
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Thais Roseli Corrêa
Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade/DFP/UEMA



Prof. Dr. Marcos Vinicius Marques Pinheiro
Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente/PPGAA/UEMA



MSc. Givago Lopes Alves
Programa de Pós-Graduação em Agroecologia/PPGA/UEMA

Pires, Hidelbrando Pimenta.

Aclimatização e desenvolvimento *ex vitro* de abacaxizeiro cv. Pérola / Hidelbrando Pimenta Pires. – São Luís, 2021.

45 f

Monografia (Graduação) – Curso de Agronomia, Universidade Estadual do Maranhão, 2021.

Orientador: Profa. Dra. Thaís Roseli Corrêa.

1.Fotomixotrófico. 2.Concentração de sacarose. 3.Substratos. I. Título.

CDU: 634.774-153

Dedico esse trabalho...
Aos meus pais, familiares, amigos e a todos
aqueles que acreditam que o caminho para a
mudança do mundo se dá através da fé, da
ciência e da educação.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter preenchido o vazio infinito que havia em meu coração, do tamanho do Amor que Ele tem por mim. E que com paz, me tirou da escuridão e me conduziu para uma vida direcionada pela Sua Graça, mesmo sem eu ser merecedor.

Aos meus pais, Hildelena e Antonio Pires, que acreditaram e investiram em mim. Essa luta seria muito mais difícil, talvez até impossível, sem vocês. Eu os amo!

Às minhas irmãs Kacianna e Kacielle, pela paciência comigo (às vezes). Aos meus sobrinhos: Willian e Helena, que eu tenho a alegria de ver chamando de “tio”. Também, ao meu cunhado Jefferson Macedo, principalmente, pelo esforço em me levar nos vestibulares da vida.

A todos os meus professores que contribuíram para essa jornada durante a graduação. Em especial, à minha orientadora, Profa. Dra. Thais Corrêa e ao Prof. Dr. Marcos Vinícius pela paciência e excelência na orientação. E também aos professores: Dra. Cristina Mendonça, pela grande força, suporte e incentivo para continuar e ao Dr. Gusmão Araújo, por ter despertado em mim a curiosidade pela fruticultura, principalmente pelo tão almejado abacaxi ‘Turiaçu’ e ao Dr. Paulo Catunda pelos conselhos e palavras de incentivo.

Aos irmãos que esse curso me deu: Caio Sales, Marianne Peixoto, Maycon Pedrosa e Rodrigo Barbosa. Vocês foram responsáveis por incontáveis motivações e parcerias. Que essa amizade não termine com o fim da graduação.

A Universidade Estadual do Maranhão, CNPq, FAPEMA e FAPEAD, pelo ensino e pelas bolsas que me incentivaram à busca pela ciência durante a graduação.

A todos do Laboratório de Cultura de Tecidos, em especial aos mestres Givago Alves, Táciela Marinho, a Eng.^a Agrônoma Juliana de Pádua e a Irislene Albuquerque, os quais tenho grande admiração.

Aos meus amigos, que sentiram minha ausência nesses últimos meses em meio a tanta correria por este trabalho, e que, recorrentemente, se preocupavam comigo: Fernanda Azevedo, Willame Cristino, Nayara Leite, Diovana Oliveira e Flávia Myllena, obrigado pelo carinho.

Aos amigos do curso de Agronomia. Em especial aos mais próximos: Iago, Avelina, Mayara, Cleude, Samantha, Ruan Íthalo, Matheus, Luís, Natália, Denise, Vitor e a todos que votaram na Chapa 1!

Aos todos meus amigos do grupo Imperfeitos, em especial a Ana Vitória e Déborah Araújo pela constante preocupação comigo.

A todos tantos outros que direta e indiretamente me ajudaram na realização desse trabalho, meu muito obrigado!

“Aqueles que são sábios reluzirão como o brilho do céu, e aqueles que conduzem muitos à justiça, serão como as estrelas, para todo sempre”

(Daniel 12:3)

“Ergam os olhos e olhem para as alturas. Quem criou tudo isso? Aquele que põe em marcha cada estrela do seu exército celestial, e a todas chama pelo nome. Tão grande é o seu poder e tão imensa a sua força, que nenhuma delas deixa de comparecer!”

(Isaías 40:26)

RESUMO

No Brasil a cv. Pérola é a mais produzida entre as cultivares, o que garante ao País o 3º lugar em produção mundial. Para garantia dessa produção, nos cultivos comerciais são utilizados mudas advindas da micropropagação pois além de garantir a padronização dos mudas, oferta maior quantidade de mudas em tempo reduzido. O objetivo desse trabalho foi avaliar o desenvolvimento de plantas de abacaxi cv. Pérola na fase de aclimatização oriundas de diferentes condições *in vitro* em diferentes substratos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com 5 repetições, sendo uma planta no copo com substrato ou solo considerada como uma unidade experimental. O esquema fatorial foi $2 \times 2 + 1$, sendo dois tipos de substrato (solo da fazenda escola e composto comercial Quixabá®) e os tipos de cultivo que as mudas foram previamente estabelecidas na fase *in vitro*: o fotomixotrófico (10g L⁻¹ de sacarose e 30 g L⁻¹ de sacarose) e outro convencional, utilizado como testemunha. As plantas advindas de sistema de cultivo *in vitro* fotomixotrófico apresentaram maior adaptação para a fase de aclimatização, o que levou números mais expressivos de altura de parte aérea e massa seca de raiz. O substrato Quixabá® proporcionou às plantas maior capacidade de desenvolvimento de número de folhas e diâmetro de colmo, assim como o que mais contribuiu para a intensidade de cor verde das plantas. Quanto as variáveis de trocas gasosas, observou-se que as dosagens de sacarose foram determinantes para a eficiência das variáveis nas plantas de abacaxi, uma vez que as plantas advindas do sistema com menor sacarose no estabelecimento (10 g L⁻¹) apresentaram maior controle da condutância estomática. As plantas de abacaxi cv. Pérola, quando advindas de sistemas de cultivo fotomixotrófico apresentam desenvolvimento superior na fase de aclimatização, entretanto, é a menor quantidade de sacarose nos meios de cultivo, que determinam a melhor adaptabilidade do aparato fotossintético que promove, assim, maiores resistências estomáticas aos fluxos de gases e transpiração. Com isso, utilizar as mudas advindas de sistema fotomixotrófico, com menor dosagem de sacarose (10 g L⁻¹) na fase *in vitro*, em substrato comercial Quixabá® proporciona maior desenvolvimento das plantas de abacaxi cv. Pérola na fase de aclimatização.

Palavras chave: Fotomixotrófico; concentrações de sacarose; substratos;

ABSTRACT

In Brazil, cv. Pérola is the most produced among the cultivars, which guarantees the country the 3rd place in world production. To guarantee this production, seedlings from micropropagation are used in commercial crops, as in addition to guaranteeing the standardization of the seedlings, it offers a greater quantity of seedlings in a reduced time. The objective of this work was to evaluate the development of pineapple cv. Pearl in the acclimatization phase from different in vitro conditions on different substrates. The experimental design was completely randomized (DIC), with 5 replications, with a plant in a cup with substrate or soil considered as an experimental unit. The factorial scheme was $2 \times 2 + 1$, with two types of substrate (school farm soil and Quixabá® commercial compost) and the types of cultivation in which the seedlings were previously established in the in vitro phase: the photomixotrophic (10 g L^{-1} sucrose and 30 g L^{-1} of sucrose) and a conventional one, used as a control. Plants from in vitro photomixotrophic cultivation system showed greater adaptation to the acclimatization phase, which led to more expressive numbers of aerial part height and root dry mass. The Quixabá® substrate provided the plants with a greater capacity to develop the number of leaves and stem diameter, as well as contributing the most to the intensity of the green color of the plants. As for the gas exchange variables, it was observed that the sucrose dosages were determinant for the efficiency of the variables in the pineapple plants, since the plants coming from the system with lower sucrose in the establishment (10 g L^{-1}) showed greater control of stomatal conductance. Pineapple plants cv. Pérola, when coming from photomixotrophic culture systems, present superior development in the acclimatization phase, however, it is the smaller amount of sucrose in the culture media, which determines the better adaptability of the photosynthetic apparatus, thus promoting greater stomatal resistance to gas flows and sweating. Thus, using seedlings from a photomixotrophic system, with a lower dose of sucrose (10 g L^{-1}) in the in vitro phase, in a commercial Quixabá® substrate provides greater development of pineapple cv. Pérola in the acclimatization phase.

Keywords: Photomyxotrophic; sucrose concentrations; substrates;

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Esquema de um abacaxizeiro e suas estruturas principais: coroa, infrutescência, filhote, pendúculo, rebentão, filhote-rebentão, caule, raiz.....14
- Figura 2- Principais estados produtores de abacaxi no Brasil em 2019.....16
- Figura 3- Fonte de carbono nos tipos de cultivo *in vitro*: heterotrófico, mixotrófico, fotomixotrófico e autotrófico e suas respectivas fontes de carbono.....21
- Figura 4- Tampas de frascos dos cultivos *in vitro*. A) Tampa de polietileno dos frascos com membranas que permitiram a troca gasosa entre os meios externos e interno dos frascos. (B) Tampa sem membrana, utilizada nos métodos convencionais de cultivo *in vitro*.....23
- Figura 5- Unidades experimentais no Laboratório de Cultura de Tecidos/UEMA (A) Copos descartáveis com diferentes substratos antes de receberem as plântulas de abacaxi cv. *Pérola*. (B) Disposição das plantas na fase de aclimatização na sala de crescimento do LCT/UEMA.....24
- Figura 6- Médias e erro padrão do parâmetro altura da parte aérea de Abacaxi cv. *Pérola* advindas de diferentes sistemas de cultivo na etapa de aclimatização.....28
- Figura 7- Médias e erro padrão da massa seca de parte aérea e massa seca de raiz na aclimatização de mudas de Abacaxi cv. *Pérola* advindas de diferentes sistemas de cultivo. (A) Porcentagem de massa seca de raiz (B) Porcentagem de massa seca de parte aérea.....30
- Figura 8- Médias e erro padrão do número de folhas e diâmetro do colmo das mudas aclimatadas de Abacaxi cv. *Pérola* advindas de diferentes sistemas de cultivo. (A) Números de folhas comparadas aos diferentes substratos (B) Diâmetro do colmo, em milímetro, entre os diferentes substratos.....31
- Figura 9- Médias e erro padrão de parâmetros fisiológicos avaliados na aclimatização de abacaxi cv. *Pérola* advindas de diferentes sistemas de cultivo. (A) Intensidade de cor verde (SPAD) (B) Relação entre a concentração interna e a concentração externa de CO₂; (C) Condutância estomática; (D) Transpiração.....33

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1- Evolução da área colhida, produção e produtividade do abacaxi no Brasil, no período de 1970 a 2017.....16
- Tabela 2- Análise química do substrato comercial (Composto Quixabá®) e substrato não comercial (solo da Fazenda Escola).....25
- Tabela 3- Fatores do experimento de aclimatização de mudas abacaxi cv. *Pérola* micropropagadas.....25

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 A cultura do abacaxizeiro	15
2.2 Origem e dispersão da cultura.....	16
2.3 Importância econômica e social.....	16
2.4 Cultivar Pérola	18
2.5 A micropropagação	18
2.7 Tipos de cultivo <i>in vitro</i>	21
2.8 Aclimatização	22
2.9 Efeito dos substratos na aclimatização de mudas	23
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
3.1 Cultivo <i>in vitro</i>	24
3.2 Cultivo <i>ex vitro</i>	25
3.2.1 Transplântio	25
3.2.2 Delineamento experimental.....	26
3.3 Variáveis analisadas.....	27
3.3.1 Parâmetros de crescimento	27
3.3.2 Avaliação das trocas gasosas.....	27
3.3.3 Intensidade de cor verde	28
3.4 Análises estatísticas	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 Parâmetros de crescimento	28
4.2 Variáveis fisiológicas.....	33
5. CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS	38

1. INTRODUÇÃO

A cultura do abacaxi (*Ananas Comosus* L. Merrill) é uma das diversas culturas originadas da região da América do Sul, mais precisamente entre o Paraguai e o Brasil (SILVA E TASSARA, 2001). Esse último produz aproximadamente 1,8 bilhão de frutos de abacaxi por ano. Em 2019, foram produzidas mais 617 mil toneladas (IBGE, 2020). Para garantir essa produção, são necessárias em torno de 35.000 a 70.000 mudas por hectare, dependendo do espaçamento (BERILLI et al., 2011; PARANATINGA, et al., 2018).

A propagação do abacaxizeiro é de forma vegetativa, e o método convencional de propagação é feita utilizando-se: coroa, filhote, filhote-rebentão e rebentão obtidas, sobretudo, por seccionamento do caule, destruição do meristema apical, tratamento químico durante a diferenciação floral e cultura de tecidos, essa última por sua vez é uma das mais utilizada para obtenção de mudas em larga escala (MORAES et al., 2007; REINHARDT, et al., 2017; CABRAL et al., 2003; RIOS, 2019).

A micropropagação do abacaxi é uma técnica de propagação assexuada usada para aumentar e acelerar a taxa de multiplicação, e diminuir a incidência de pragas e patógenos nas mudas comerciais. Estima-se que uma gema axilar micropropagada pode gerar até 5 mil plantas por ano. (BARBOZA e CALDAS, 2001; REIS, 2018). A técnica consiste na formação de novas plântulas a partir de pequenas partes inoculadas em meio nutritivo artificial (STORCK et al., 2016). A micropropagação tem basicamente quatro etapas: estabelecimento, que consiste na inoculação de explantes em meios de cultivo *in vitro*; multiplicação, quando os explantes já acondicionados e desenvolvidos geram partes possíveis de serem multiplicadas; enraizamento, a formação de raízes adventícias na plântula ainda em meio *in vitro*; e, a aclimatização que compreende na retirada da plântula da condição *in vitro* para a condição *ex vitro*, isto é retirada das condições artificiais. (BASTOS et al., 2007; ROSSATO et al., 2015).

Atualmente, no cultivo *in vitro* convencional são utilizados frascos vedados, que não permitem trocas gasosas de maneira plena (WALTER, 2019), sendo a sacarose utilizada como fonte de carbono, servindo para sustentar o crescimento e o desenvolvimento (BATISTA et al., 2017). A sacarose que é muitas vezes vantajosa, em determinados momentos pode ocasionar problemas, ao inibir a síntese de clorofila, diminuir a atividade enzimática do ciclo de Calvin, (KOZAI, 2010) e com isso pode dificultar o processo de aclimatização, ao comprometer a capacidade fotossintética das plantas. (PARK et al., 2004). Outra dificuldade para o processo de aclimatização se dá também pela restrição do fluxo de CO₂ e O₂ por esses frascos estarem vedados (RODRIGUES et al., 2012).

O cultivo com ventilação é um sistema que possibilita a otimização das trocas gasosas, e com isso diminui a dependência de sacarose no meio de cultivo, possibilitando menos distúrbios para a plântula e, assim, reduzir problemas na fase de aclimatização, diferenciando-se do sistema convencional (WALTER, 2019; LOPES, 2016). Nesse sistema de cultivo, para aumentar a concentração de CO₂, usa-se filmes permeáveis a gás como membranas, ou produtos geradores de CO₂ que possibilitam as trocas gasosas. Muitas dessas alternativas já se encontram comercialmente como as membranas MilliSeal® (MilliSeal, Nihon Millipore Ltda., Yonezawa, Japan) e as membranas de Teflon (Flora Laboratories; Austrália), sendo a primeira mais utilizada mundialmente. (WALTER, 2019).

Condições semi-autotróficas, também chamadas de “fotomixotróficas”, acrescentam ao cultivo *in vitro* uma atmosfera rica em CO₂. O crescimento de plantas cultivadas sob tais condições, pode acarretar maior rustificação metabólica que a micropropagação convencional (na qual a nutrição da planta depende-se unicamente do meio de cultura) e essa rustificação proporcionará menos perdas na última etapa da multiplicação. (ARIGITA et al., 2010; SILVA et al., 2014). O abacaxizeiro responde bem ao sistema de micropropagação quando se utiliza a ventilação, isto é, as condições fotomixotróficas dos frascos de cultivo (SILVA et al., 2014).

Uma etapa considerada crítica na micropropagação, é a aclimatização, pois as plantas cultivadas precisam ser transferidas para condição *ex vitro*, e podem ocorrer características anatômicas e fisiológicas desfavoráveis, tais como cutícula pouco espessada, estômatos pouco funcionais, além de fraca conexão vascular, ocasionando perdas (CARVALHO et al., 2011). A aclimatização é considerada uma fase muito delicada, pois as plantas são sensíveis a desidratação, e por possuírem muitas vezes estômatos não funcionais, apresentam taxas fotossintéticas muito baixas e são acometidas de estresse após o transplântio.

Uma outra preocupação na fase de aclimatização é o substrato, pois influencia, de forma considerável, no crescimento e desenvolvimento das plantas, assim como na qualidade das raízes que são formadas. (COUTO et al, 2003; CORREA, 2017). Os substratos agem de diversas maneiras na proporção de nutrientes para as plântulas e, influenciando também, no peso de massa fresca e seca de raízes e folhas (ARENAS DE SOUZA e KARSBURG, 2017).

Há poucos trabalhos que avaliem a fase de aclimatização das mudas advindas de diferentes sistemas de cultivo *in vitro*, com a possibilidade de trocas gasosas por membranas. Com isso, conhecer o comportamento de plantas micropropagadas na fase de aclimatização, advindas de sistemas de cultivo *in vitro* convencionais e com incremento de CO₂ é importante para que se possa melhorar a qualidade do processo e diminuir as perdas na produção final de plantas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento de plantas de abacaxi

cv. Pérola na fase de aclimatização oriundas de diferentes condições *in vitro* em diferentes substratos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

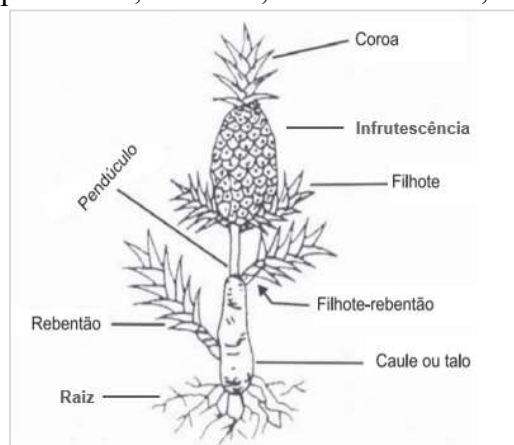
2.1 A cultura do abacaxizeiro

O abacaxizeiro (*Ananas Comosus* L. Merrill) é uma planta pertencente à família Bromeliaceae e o membro mais importante economicamente dessa família. É uma planta semi-perene, e seu fruto é caracterizado por um aglomerado de uma ou duas centenas de pequenos frutos (gomos) em torno de um mesmo eixo central, em que cada “olho” ou “escama” da casca do abacaxi é um fruto verdadeiro que cresceu a partir de uma flor, e estes se fundem em um grande corpo chamado “infrutescência”, no topo do qual se forma a coroa (SILVA e TASSARA, 2001; LOBO e YAHIA, 2017).

O abacaxizeiro possui folhas dispostas diretamente no seu caule, em forma de roseta, onde as folhas mais velhas encontram-se mais externamente que as folhas mais jovens. As folhas da planta são rígidas, serosas na superfície e protegidas por tricomas, como uma camada, em sua superfície abaxial, os quais reduzem significativamente a transpiração (MANICA, 1999; SANTOS, 2019).

Quanto ao sistema radicular é do tipo fasciculado, isto é, a raiz primária para de se desenvolver e se degenera precocemente, logo o sistema radicular é constituído exclusivamente pelas raízes adventícias que são formadas a partir da base do caule, tendo entre 15 a 20 cm de profundidade (SILVA et al, 2004; CORTEZ, 2016) (Figura 1).

Figura 1. Esquema de um abacaxizeiro e suas estruturas principais: coroa, infrutescência, filhote, pendúculo, rebentão, filhote-rebentão, caule, raiz.



Fonte: Autor, adaptado de REINHARDT, 2006.

Os frutos são altamente consumidos em todo mundo, devido suas qualidades organolépticas que agradam o olfato e o paladar. Essas características são tão importantes que deram origem ao nome, logo que, etimologicamente, abacaxi vem do termo tupi *ibacati* (iba = fruto + *cati* = recender ou cheirar), deste modo, na tradução livre: fruto que cheira. A casca do fruto é formada por sépalas e tecidos das brácteas e ápices dos ovários, enquanto sua porção comestível consiste, principalmente, dos ovários e das bases das sépalas e das brácteas, bem como do córtex do eixo central (GIACOMELLI, 1981; CRESTANI et al., 2010, REINHARDT, 2017).

2.2 Origem e dispersão da cultura

O gênero Ananas, no qual pertence o abacaxi, tem seu centro de origem no hemisfério oeste, na América tropical e subtropical, mais precisamente na região central da América do Sul, entre o Brasil e o Paraguai. A literatura relata que o primeiro encontro entre europeus e o abacaxi ocorreu em novembro de 1493, em viagem desses para a região do Caribe (SILVA E TASSARA, 2001). A presença do abacaxi nas ilhas do Caribe não foi um evento natural, mas sim resultado de séculos de migração e comércio indígena por tribos exploradoras. Logo, depois desse primeiro contato dos colonizadores na América, a cultura foi disseminada pelo mundo pelos portugueses e espanhóis (CTENAS e QUAST, 2000; CRESTANI, 2010).

Como fruto têm como centro de origem o Brasil, o abacaxi sempre foi bem apreciado desde os primeiros povos indígenas, ou colonizadores que por essa terra passaram, muitas vezes sendo exaltado até nos próprios relatos da recém-descoberta terra. No poema Caramuru, a fruta é exaltada pelo Frade José de Santa Rita Durão, de forma que esse a descreve como fruta mais louvada do país na estrofe XLIII do canto XII:

Das frutas do país a mais louvada/
É o régio ananás, fruta tão boa/
Que a mesma natureza namorada/
Quis como a rei cingi-la da coroa/
Tão grato cheiro dá, que uma talhada/
Surpreende o olfato de qualquer pessoa;/
Que, a não ter do ananás distinto
aviso,/Fragrância a cuidará do Paraíso. (DURÃO, 1878).

2.3 Importância econômica e social

A produção comercial no Brasil começou nos anos 1930, tendo sua produção crescendo gradativamente à partir de 1970, nessa época, existiam poucos relatos sobre a cultura, mas

mundialmente uma cultivar já era conhecida, a ‘Smooth Cayene’ que dominou o mercado durante décadas. Com avanço das pesquisas e da tecnologia, a produção nacional avançou com a produtividade por hectare (REINHARDT, 2019) (Tabela 1).

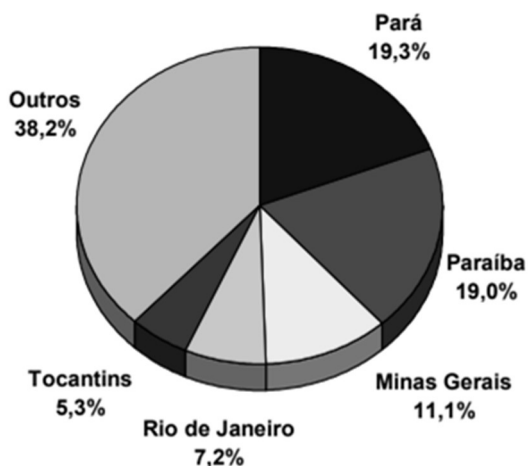
Tabela 1. Evolução da área colhida, produção e produtividade do abacaxi no Brasil, no período de 1970 a 2019.

Ano	Área colhida (ha)	Produção (mil frutos)	Produtividade (nº de frutos/ha)
1970	32.189	282.602	8.779
1980	25.185	377.219	14.978
1990	33.167	735.931	22.189
2000	60.406	1.355.792	22.114
2017	62.116	1.502.598	24.190
2019	67.167	1.617.684	24.085

Fonte: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2020)

O abacaxi se destaca entre as mais importantes e influentes culturas agrícolas do Brasil, concentrando suas vendas, principalmente no período de outubro a março, sendo produzido em quase todas unidades federativas do país (SOUZA et al., 2017). O abacaxi está entre as três principais frutas em produção e valor na fruticultura brasileira, deixando o país em destaque mundial como terceiro maior produtor da cultura (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2019). Dentre as cultivares de abacaxi exploradas no território nacional, destacam-se ‘Smooth Cayenne’ e a Pérola, justificadas principalmente, pela predição dos brasileiros por essas variedades (BERILLI et al., 2011) (Figura 2).

Figura 2. Principais estados produtores de abacaxi no Brasil em 2019



Fonte: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2020)

No Maranhão, há grande destaque para a cultivar Pérola, sendo o município de São Domingos do Maranhão o maior polo produtor, com 720 hectares de área plantada da cultura (IMESC, 2020). Segundo levantamento da Produção Agrícola por municípios, o valor de produção desse polo do estado é em torno R\$ 17.963, o que somado aos demais polos do estado posiciona o Maranhão em 6º lugar no ranking de produção do nordeste (SAGRIMA, 2019; IBGE, 2020).

Ainda que essa produção seja expressiva, diversos fatores impedem que ocorra a expansão da abacaxicultura, dentre os quais o de maior impacto é o de ordem fitossanitária (SILVA, 2016). Por isso, buscou-se ao longo dos anos, meios de propagação mais eficientes como a micropropagação, que usando-se para fins comerciais, gera grande quantidade de mudas com alta qualidade fitossanitária (SANTOS et al., 2012; NEVES, 2015).

2.4 Cultivar Pérola

A cultivar Pérola é a mais cultivada no Brasil, conhecida também como Pernambuco ou Branco de Pernambuco. A planta apresenta porte médio e crescimento ereto, com folhas com cerca de 65 cm de comprimento e espinhos nos bordos, e a infrutescência conectada a um pedúnculo longo de aproximadamente 30 cm (REINHARDT et al., 2006; SANTOS, 2018).

Seus frutos apresentam a forma cônica, casca pouco colorida, haste frutífera e folhas longas com finos espinhos, polpa branca e suculenta, com sólidos solutos totais de 14% a 16% (MATOS e SANCHES et al., 2011). Por possuir essa suculência nas polpas é considerada a preferida, para consumo ao natural, fazendo com que seja apreciada não somente no Brasil mas nos demais países do Mercosul e Europa (HOFSKY et al., 2009; VALLONE et al., 2009; SANTOS, 2019). A cultivar produz muitos filhotes, em torno de 5 a 15, presos ao pedúnculo próximos a base do fruto, estes por sua vez pesam de 1,0 a 1,5 kg, possuindo uma coroa grande e tem sido pouco visado para o mercado do exterior, embora apresente positivas características organolépticas. Outra desvantagem é a suscetibilidade à fusariose, doença causada pelo fungo *Fusarium subg Lutinans*, tornando ainda mais interessante, a busca por meios de propagação com alto padrão fitossanitário (REINHARDT et al., 2006; FERREIRA et al., 2017).

2.5 A micropropagação

A cultura de tecidos vegetal é uma técnica que estuda e possibilita o crescimento de células em meios controlados, permitindo dessa forma a clonagem em escala comercial. As

plantas podem ser regeneradas principalmente devido a capacidade de totipotência das células vegetais, isto é, capacidade de por meio de mitoses seguidas, originarem qualquer tecido do corpo da planta (GEORGE, 1996; ALVES et al., 2018). Harnning (1904) foi o primeiro a cultivar *in vitro* embriões imaturos de crucíferas e desde então os avanços e contribuições da cultura de tecidos foram de grande importância para o conhecimento sobre aspectos fisiológicos e morfológicos de plantas. No Brasil, o primeiro trabalho sobre cultura de tecidos ocorreu no Instituto Biológico de São Paulo, apenas em 1950 (CORREA et al, 2019).

A cultura de tecidos é o cultivo asséptico de qualquer parte viva da planta (explantes) constituído por frações de tecidos, órgãos ou mesmo células em suspensão, em meio de cultura sintético sob condições controladas de temperatura, umidade e luminosidade, para gerar uma nova planta. Este meio nutritivo (meio de cultura) contém dentre outros constituintes, água, sais minerais, vitaminas, aminoácidos, reguladores de crescimento e uma fonte de carboidrato (LAMEIRA et al., 2000; CORREA et al., 2019)

A micropropagação é uma das aplicações da cultura de tecidos, com maior destaque na perpetuação de espécies, e visa a obtenção de espécies idênticas à matriz em curto período de tempo, num espaço reduzido e livre de contaminantes (GRATTAPAG LIA e MACHADO, 1998; REIS, 2018). É baseada em dois procedimentos: a organogênese, processo de diferenciação na qual se formam órgão vegetais novos à partir de estruturas preexistentes, e a embriogênese, processo pelos quais as células somáticas desenvolvem-se através de estímulos ambientais ou químicos, em estrutura semelhante a embriões zigóticos (CARVALHO; VIDAL, 2003; REIS 2018; CORREA, 2019).

Dentre as vantagens dessa técnica destacam-se: incremento acelerado do número de plantas, redução do tempo de multiplicação, maior controle sobre a sanidade do material propagado, criação e manutenção de bancos de germoplasma, entre outros (LAMEIRA et al., 2000). Entretanto, apresenta como desvantagem o custo elevado de implantação, produtos que em parte dependem de importação e a necessidade de mão de obra especializada (FLORES, 2017).

Para o setor agrícola, principalmente no âmbito da fruticultura, a micropropagação é utilizada para gerar mudas uniformes, e de maior qualidade, quando comparada a outras técnicas de propagação vegetativa. Essa técnica eficiente de propagação se constitui de quatro etapas bem definidas: estabelecimento, multiplicação e enraizamento *in vitro*, e aclimatização *ex vitro* (FIGUEIREDO, 2003; BASTOS, 2007; NEVES, 2015).

2.6 Etapas da micropropagação

Na etapa de estabelecimento, o explante é selecionado com base nas características da planta doadora e essa por sua vez deve ser escolhida observando alguns aspectos como: idade, nutrição, estação, tipo de reprodução predominante, porte, fisiologia e estado fitossanitário. (LAMEIRA et al., 2000). Após essa escolha e para sucesso nessa etapa, é fundamental que ocorra um método eficiente de desinfestação dos explantes, isto é, precisam ser submetidos a procedimentos de assepsia, antes de introduzir em condições *in vitro*. A assepsia é comumente realizada com compostos clorados, que possuem espectro de atividade biocida, como hipoclorito de sódio (GRIFFINTGS e RAY, 1979; REIS, 2018).

Após as plantas serem submetidas a assepsia, ainda no estabelecimento, são inoculadas em frascos que contenham meio de cultura. O meio de cultivo mais utilizado na micropropagação de plantas é o desenvolvido por Murashige e Skoog (1962), acrescido de um composto geletificante como ágar (SCHERWINSKI PEREIRA, 2003).

A segunda etapa da micropropagação, a multiplicação, acontece após o estabelecimento da cultura, e é quando ocorre a divisão e diferenciação celular. Nesse momento procura-se promover a proliferação de brotos, aumentar o número de gemas nos explantes e promover, quando necessário o alongamento dos brotos (COUTO, 2014). Na terceira etapa, se faz a indução do enraizamento. Para a formação de raízes é necessário a energia, podendo ser oriunda da fotossíntese ou de outra fonte de carbono. A maioria das espécies forma raízes com adição de 20 a 30 g L⁻¹ de sacarose (GEORGE, 1996; CALVETE et al., 2002). Essa quantidade de sacarose pode interferir não somente na quantidade de raízes, mas também na massa dessas (BINH e TAI, 2018).

A sacarose funciona como suprimento de carboidrato, porém quando encontra-se em excesso, este composto pode causar a desidratação celular, aumento do conteúdo de ácido abscísico (ABA) endógeno e redução da taxa de multiplicação (COUTO, 2014). Com a fonte de carbono sendo proveniente da sacarose, a planta reduz a fixação de carbono por meio do Ciclo de Calvin, tornando-se dependente dos meios nutritivos para sua sobrevivência (DESJARDINS E HIDDEN, 1995; COUTO, 2014).

Para espécies que enraízam com maior dificuldade utiliza-se, geralmente, reguladores de crescimento, adicionados ao meio de cultura. Dentre esses, como a auxina que desempenham papel importante na formação de raízes adventícias (MOHAMED e OZZAMBAK, 2014). Rahman et al., (2014), acrescenta que não somente a adição de reguladores de crescimento ao

meio, mas as diferentes concentrações podem interferir, de diferentes formas, sendo que a emissão de raízes determina de forma significativa o sucesso da aclimatização.

Nessa última etapa, ocorre a transferência das mudas para condição *ex vitro*. Isto é adaptar as mudas para que se tornem capazes de suportar eficientemente as condições naturais. Destaca-se que esse processo tem custos elevados, devido às perdas, principalmente pela ausência de capacidade fotossintética das plantas. Além disso, o sucesso dessa fase também depende do tipo de substrato, que deve proporcionar condições favoráveis de nutrição e aeração para as raízes das plantas (KAMPF, 2006; ALVES, 2018).

A micropropagação é uma alternativa viável pois produz mudas de abacaxi vigorosas e livre de patógenos, em larga escala e em curto período de tempo (COUTO, 2014; ROCHA, 2019). Entretanto, o estudo sobre aclimatização *ex vitro* de mudas de abacaxi propagadas no Brasil, ainda é escasso, sendo necessárias pesquisas que verifiquem principalmente o melhor protocolo, evitando perdas na etapa final da micropropagação (ARAGÃO et al., 2020)

2.7 Tipos de cultivo *in vitro*

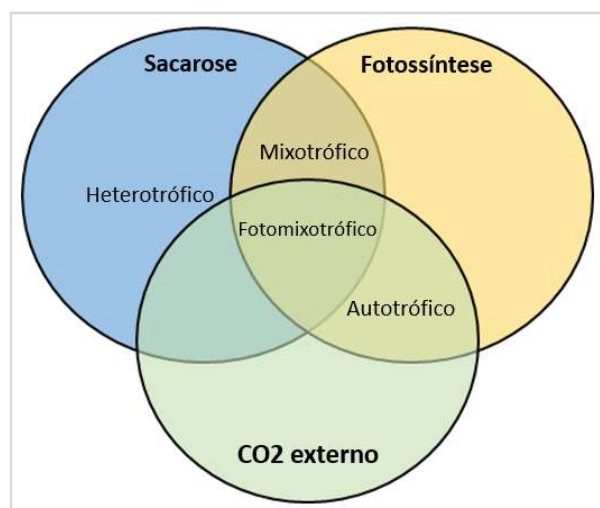
Os sistemas de cultivo *in vitro*, podem ser classificados de acordo com a nutrição, de diversos tipos podendo ser heterotróficos, que são compostos por sacarose e a utilização de frascos com vedação total e em condições de escuro, tendo esse nome, por dependerem unicamente da sacarose do meio (CARNEIRO, 2014). Outro tipo de cultivo é o mixotrófico ou convencional, no qual consiste em cultivos com baixa luminosidade, com sacarose e também o uso de frascos vedados. Há também o cultivo fotomixotrófico, que consiste além das condições mixotróficas, a possibilidade de permeabilidade gasosa com a presença de membranas nos frascos de cultivo. E por fim, o cultivo autotrófico, na qual há a ausência de sacarose no meio de cultivo, mas com as condições de luz e trocas gasosas favorecendo a “independência” da planta do meio de cultivo. (CARDOSO, 2015; CHOI e LEE, 2015; MUÑOZ et al., 2021)

Quanto menor a luminosidade e maior a utilização de açúcar no meio, as plantas acabam por apresentar mudanças anatômicas e metabólicas que impossibilitam que a maquinaria fotossintética opere normalmente (KOZAI e KUBOTA et al., 2001). Essa dependência dessas condições, devido à falta de autonomia na obtenção de alimento, acaba acarretando problema para as fases seguintes ao cultivo *in vitro*.

Diferentemente dos cultivos convencionais e heterotróficos, os cultivos com ausência ou diminuição de sacarose, minimizam perdas de plântulas por contaminação com bactérias ou

fungos no meio, além de proporcionarem maior altura e a massa que as condições convencionais, tornando elas mais adaptadas para condições externas, na aclimatização (MUÑOZ et al., 2021). Mendes et al. (2015), ao verificar o efeito da ventilação do frasco e da concentração de sacarose em abacaxi *in vitro* observou que os melhores resultados de massa seca, foi quando realizou-se a combinação entre doses de sacarose a 30 g L^{-1} e frascos com membranas submetidas a ventilação. Miranda (2018), verificou que a maior emissão de brotações laterais de estacas só foi possível em estabelecimentos com cultivos reduzidos de sacarose, desde que incrementados com CO_2 . Demonstra-se assim a eficiência da utilização do sistema com trocas de CO_2 como fonte de carbono para as plantas cultivadas (Figura 3).

Figura 3. Fonte de carbono nos tipos de cultivo *in vitro*: heterotrófico, mixotrófico, fotomixotrófico e autotrófico e suas respectivas fontes de carbono.



Fonte: Autor, adaptado de MARIANNO et al., (2010).

2.8 Aclimatização

A aclimatização é definida como a adaptação climática ou ambiental de um organismo, especialmente uma planta a um novo ambiente (CONOVER e POOLE, 1984; ALVES, 2019). Nessa fase, a planta se torna mais resistente ao estresse, umidade e infecções, devido a mudança das condições de cultivo (BHATIA e SHARMA, 2015).

Há grandes diferenças nessa fase, dependendo do tipo de cultivo *in vitro* na qual a planta foi submetida. Pospisilová et al. (2000) afirma que há uma ausência de estômatos funcionais e cutículas finas em cultivos heterotróficos e mixotróficos. Aragón et al. (2005) também observou a ausência não somente de estômatos, mas também de raízes funcionais nas

plantas de banana (*Musa* ABB) em condições mixotróficas, o que pode comprometer drasticamente a fase de adaptação dessas mudas aos meios externos.

A aclimatização é um fator limitante para a maior parte das espécies micropropagadas, devido sua alta taxa de mortalidade (LIMA-BRITO et al, 2016). Os sistemas fotossintéticos dessas plantas não são funcionais, possuindo um processo fotossintético parcialmente ativo (VALE et al., 2019). Logo, a eficiência nessa etapa, poderia ser aumentada com o estímulo de maior quantidade de raízes na etapa anterior a aclimatização e a proporção de condições mais rústicas desde a fase de estabelecimento *in vitro* (CARVALHO et al., 2002; COUTO, 2014)

Durante a aclimatização as plantas remanescentes renovam as raízes e sofrem um processo de estresse adaptativo, para se adequarem as novas condições. Entretanto, se essas condições já forem sendo incentivadas, pela diminuição da quantidade de sacarose e incremento de CO₂ externo nos sistemas de cultivo, logo essas plantas teriam melhores consumações nessa fase final da micropropagação, garantindo de forma eficiente a aclimatização da espécie (SANDHU, 2018; RIGO, 2020).

2.9 Efeito dos substratos na aclimatização de mudas

Substrato é o meio onde se desenvolvem as raízes das plantas. Esse proporciona a sustentação e a nutrição das plantas, além de oferecer capacidade de crescimento para as raízes dessas plantas (DALANHOL et al., 2016). A obtenção de substratos de qualidade é um fator limitante para a produção de mudas (COSTA et al., 2015). Esse deve possuir capacidade de reter umidade e não estar excessivamente compactado, comprometendo a drenagem e a aeração radicular (MOREIRA et al., 2006; GONÇALVES et al., 2018)

Para a aclimatização, o substrato é determinante e deve ser selecionado em função das suas propriedades químicas e físicas, e também, deve ser facilmente encontrado na região em questão, para assim possuir baixo valor comercial (KAMPF et al., 2006; RODRIGUES et al., 2018). Mudanças propagadas por sementes, ou micropropagadas têm sido estabelecidas em diversos tipos de substrato (RODRIGUES et al., 2015)

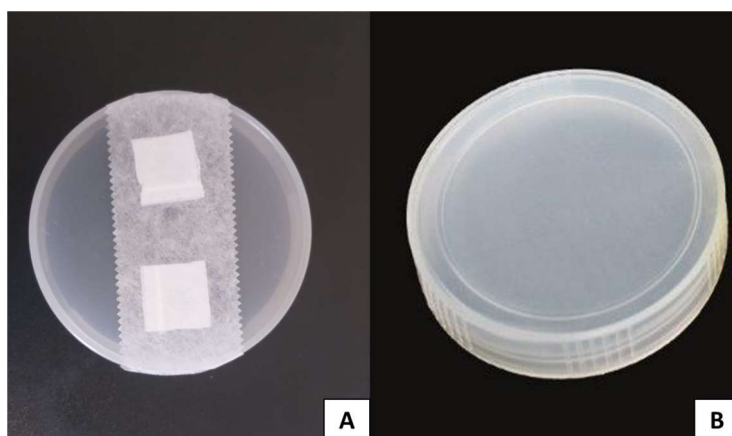
O tamanho do recipiente também é um fator determinante para o crescimento e desenvolvimento de mudas micropropagadas na etapa de aclimatização. Observando-se sempre que tanto o porte quanto a posição da muda no vaso, na hora do transplante podem ser determinantes para o sucesso na fase final da micropropagação (VALLONE et al., 2009; GONÇALVES, 2019).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Cultivo *in vitro*

Foram utilizadas plantas previamente estabelecidas *in vitro* de duas formas: convencional e com membranas. No sistema convencional, foram utilizados frascos fechados, vedados, sem trocas gasosas. Para o sistema fotomixotrófico, foram utilizados furos de 10mm de diâmetro na tampa de polipropileno, dos frascos. Esses furos foram cobertos com uma membrana composta por duas camadas de fita microporosa, que permitiram as trocas gasosas (SALDANHA et al., 2012) (Figura 4).

Figura 4. Tampas de frascos dos cultivos *in vitro*. A) Tampa de polietileno dos frascos com membranas que permitiram a troca gasosa entre os meios externos e interno dos frascos. (B) Tampa sem membrana, utilizada nos métodos convencionais de cultivo *in vitro*.



Fonte: Pádua, 2020

Cada frasco de cultivo continha 50mL de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), composto por sais e vitaminas com 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, 2,7 µM de ANA (ácido naftalenoacético), solidificado com 6,5 g L⁻¹ de ágar bacteriológico. Neste meio foi adicionado 30g L⁻¹ de sacarose nos frascos para o cultivo de forma convencional, e 10 g L⁻¹ e 30 g L⁻¹ de sacarose nos frascos para cultivo fotomixotrófico. O pH foi ajustado para 5,7 ± 0,1 e autoclavado por 15 minutos a 1,0 atm e 121°C

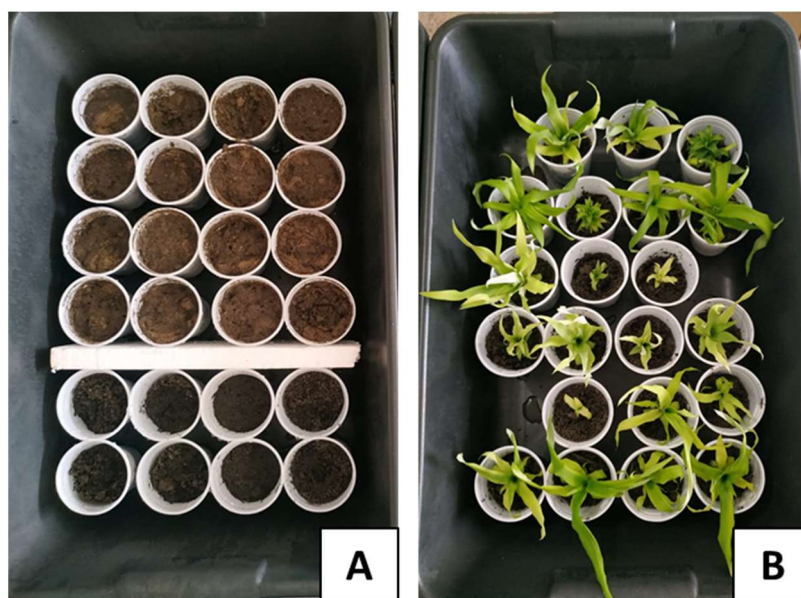
3.2 Cultivo *ex vitro*

O experimento foi conduzido em sala de crescimento do Laboratório de Cultura de Tecidos (LCT/UEMA), São Luís- MA.

3.2.1 *Transplantio*

As mudas de abacaxi cv. Pérola foram retiradas dos meios, após 45 dias e assim prosseguiram para etapa de aclimatização. Para isso, as raízes foram lavadas para remoção do excesso de meio de cultura. Em seguida, foram transplantadas em copos plásticos de 150ml e preenchidos até a borda com dois tipos de substratos, um com substrato comercial - Composto Orgânico Quixabá®, e outra com substrato não comercial, isto é, solo da Fazenda Escola de São Luís (Figura 5). Os dois substratos foram levados para análise de fertilidade química (Tabela 2).

Figura 5. Unidades experimentais no Laboratório de Cultura de Tecidos/UEMA. A) Copos descartáveis com diferentes substratos antes de receberem as plântulas de abacaxi cv. *Pérola*. B) Disposição das plantas na fase de aclimatização na sala de crescimento do LCT/UEMA.



Fonte: Autor, 2021.

Tabela 2. Análise química do substrato comercial (Composto Quixabá®) e substrato não comercial (solo da Fazenda Escola)

Substrato	pH CaCl	M.O g/Kg	P mg/dm ³	Complexo Sortivo						Saturação do Complexo			
				K	Ca	Mg	H+Al cmol/dm ³	SB	CTC	V	Ca %	Mg	K
Comercial	6,3	48,8	150,8	0,73	5,11	3,28	0,45	9,12	9,57	95,33	53,4	34,3	7,6
Não Comercial	5,2	23,2	57,3	0,08	3,12	1,49	2,09	4,69	6,77	69,2	46,1	22,0	1,1

Fonte: Laboratório Agrônômico Terra Brasileira®, Balsas - MA, 2021.

3.2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com 5 repetições, sendo uma planta no copo com substrato ou solo considerada como uma unidade experimental. O esquema fatorial foi 2x2+1, sendo dois tipos de substrato (solo da fazenda escola e composto comercial Quixabá®) e os tipos de cultivo que as mudas foram previamente estabelecidas na fase *in vitro*: o fotomixotrófico (10g L⁻¹ de sacarose e 30g L⁻¹ de sacarose) e outro convencional, utilizado como testemunha.

Tabela 3. Fatores do experimento de aclimatização de mudas abacaxi cv. Pérola micropropagadas.

Sistemas de Cultivo <i>in vitro</i>	Substrato em condições <i>ex vitro</i>
Fotomixotrófico e 10 g L ⁻¹ Sacarose	Comercial
Fotomixotrófico e 30 g L ⁻¹ Sacarose	(Composto Orgânico Quixabá®)
Convencional	Não Comercial (Solo Fazenda Escola)

Fonte: autor, 2021.

As plantas foram mantidas em sala de crescimento com irradiância luminosa em torno de 60 μmol m⁻² s⁻¹ provenientes de 4 lâmpadas de cor branca (Tubular TB LED 10W Brilha, Brazil) com fotoperíodo de 16 h e temperatura média de 25 °C, durante 60 dias.

3.3 Variáveis analisadas

As avaliações foram realizadas aos 60 dias após a implantação (DAI). Foi avaliado os parâmetros de crescimento das plantas aclimatadas e os parâmetros fisiológicos dessas plantas, nos aspectos: relação de trocas gasosas e a intensidade de cor verde.

3.3.1 Parâmetros de crescimento

As avaliações morfológicas foram: altura da parte aérea (APA) (cm), número de folhas (NF) e diâmetro do colmo (DC) (mm) e a partição de massa seca entre parte aérea e raiz (%). A altura da parte aérea foi determinada com uma régua graduada em centímetro, medindo-se do colo da planta até o ápice. Contou-se o número de folhas e o diâmetro da roseta foi determinado com auxílio de um paquímetro digital colocado no colo da planta (logo abaixo da folha mais baixa).

Para a avaliação de partição de massa seca foram retiradas duas repetições de cada tratamento, após todas as outras variáveis serem analisadas. Cuidadosamente, as plantas foram divididas em parte aérea e raiz, pesadas em balança analítica, depois acondicionadas em estufa de circulação forçada à 70° C por 48 horas. Posteriormente, foram pesadas novamente para avaliação das massas e a partir daí calculado a porcentagem de massa das partes aérea e raiz, em relação a massa seca total.

3.3.2 Avaliação das trocas gasosas

Essa avaliação foi realizada em todos tratamentos e todas as repetições utilizado o analisador de gás a infravermelho (IRGA, Infrared Gas Analyzer - LI-6400 XT, Licor Ltda, USA).

Por meio do analisador foi determinada a condutância estomática (g_s) ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a transpiração (E) ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e a relação entre a concentração interna de CO_2 (C_i) e concentração externa de CO_2 (C_a) (C_i/C_a). A folha utilizada foi a terceira folha, contada de cima para baixo, de cada unidade experimental.

3.3.3 Intensidade de cor verde

A intensidade de cor verde foi avaliada por meio do medidor portátil de clorofila, modelo SPAD-502 (Soil Plant Analysis) (Minolta, Japão), no período da manhã ente 8:00 e 12:00 horas. Foram realizadas três leituras na mesma folha que foi realizada as análises de emissão da fluorescência de clorofila. A folha utilizada foi a terceira folha, contada de cima para baixo, de cada unidade experimental.

3.4 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de significância pelo programa estatístico Agroestat (BARBOSA e MALDONADO JR, 2015).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

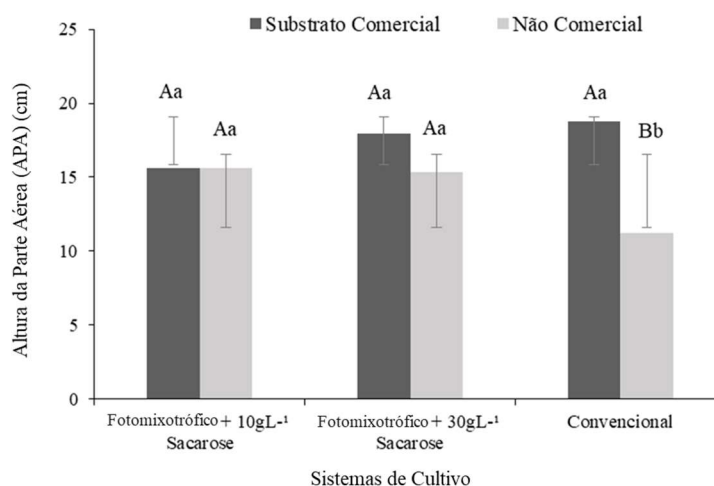
A aclimatização das mudas de abacaxizeiro cv. Pérola, demonstrou que o uso de técnicas que permitem a entrada de CO₂ no cultivo de plantas *in vitro* tornou essas mais adaptadas para o desenvolvimento no *ex vitro*. Logo, destacou-se que a aclimatização, que tem como objetivo reduzir o estresse ocasionado para essa mudança de ambiente de cultivo das mudas, quando acontece com plantas que são proporcionadas por menores dependências dos cultivos *in vitro*, tendem a apresentar desempenhos mais satisfatórios quando comparada aos sistemas de cultivo convencionais

4.1 Parâmetros de crescimento

Para altura de parte aérea, houve interação entre os fatores, e diferenças significativas entre os sistemas de cultivo, e entre os substratos. As mudas provenientes do sistema fotomixotrófico apresentaram-se superiores, independentemente do tipo de substrato utilizado. A maior média também foi alcançada pelas plantas estabelecidas em sistema convencional (frascos com tampas sem membranas), porém apenas naquelas aclimatizadas em substrato comercial. (Figura 6). Estes resultados indicam que o sistema fotomixotrófico apresentou maior

suporte e assim essas plantas apresentaram maior desenvolvimento na fase aclimatização, provavelmente devido ao fato de que a presença de CO₂ neste sistema, diferentemente do sistema convencional, proporcionou rusticidade para as plantas ainda na fase *in vitro*.

Figura 6. Médias e erro padrão do parâmetro altura da parte aérea de Abacaxi cv. Pérola advindas de diferentes sistemas de cultivo na etapa de aclimatização.



Fonte: Autor (2021). Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas não são significativamente diferentes entre os sistemas de cultivo. E, as médias seguidas pela mesma letra maiúscula, não são diferentes entre os tipos de substratos pelo teste de Tukey com nível de 5% de variância.

Os resultados encontrados assemelharam-se com os de Silva et al. (2016), no qual observaram que as plantas de *Aechmea bromeliifolia*, uma bromeliaceae, quando cultivadas *in vitro* sob condições de ventilação, isto é, fotomixotrófico, apresentaram maior altura de plantas. Quando estes autores compararam as estruturas anatômicas das folhas dessa mesma espécie *in vitro* e *ex vitro*, as plantas desenvolvidas em tubos com membrana microporosa, foram as que mais se assemelharam as plantas que já estavam condições *ex vitro*. Isso demonstra que as plantas que desde o cultivo *in vitro* já tem a possibilidade de CO₂ externo nos frascos, estão mais adaptadas para as condições ambiente, o que por sua vez facilita melhor desenvolvimento na fase de aclimatização.

Couto (2014), também observou que dosagens menores que 30 g L⁻¹ de sacarose em sistema fotomixotrófico facilitaram o desempenho *ex vitro* de plantas de abacaxi das cultivares IAC Fantástico e Vitória.

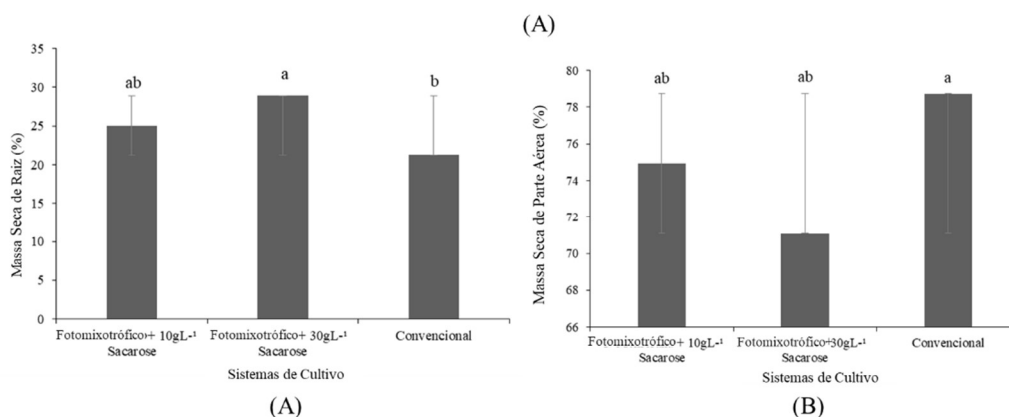
Quando comparados os substratos, o substrato não comercial, em análise do complexo sortivo apresentou teores de matéria orgânica, fósforo (P) e potássio (K) que chegaram apenas a metade do que foi ofertado pelo substrato comercial Quixabá®. A composição do substrato, altera desde a emergência até o crescimento das plantas e os pigmentos fotossintéticos, modificando a captação de energia e influenciando na quantidade de fotoassimilados produzidos (AFONSO et al., 2017).

O desempenho de plantas em substrato comercial pode ser superior, pois estes apresentam nutrição adequada para o desenvolvimento da parte aérea. Estes mesmos autores, demonstraram que os substratos comerciais proporcionaram maiores desenvolvimentos de parte aérea em plantas de abacaxi cv. Pérola na fase de aclimatização. (MOREIRA et al., 2006)

Catunda et al. (2008) avaliou os nutrientes da parte aérea de abacaxi cv. 'Imperial', constatou que eles estão ligeiramente proporcionais à disponibilidade desses nutrientes nos substratos. Assim, para as plantas que foram suplementadas com adubação mineral, ou seja que tiveram no seu substrato maiores quantidades de nutrientes, apresentaram maior desenvolvimento de parte aérea, o que assemelha-se aos resultados deste trabalho, nos quais o substrato que proporcionou maior desenvolvimento de parte aérea foi justamente o que teve maiores quantidades de nutrientes no seu complexo sortivo (composto orgânico Quixabá®).

Com relação a partição de massa seca, entre a parte aérea e a raiz, apenas o sistema de cultivo foi relevante. No sistema de cultivo fotomixotrófico, foram observadas maiores médias de massa seca da raiz, e quanto a massa seca de parte aérea, não houve diferenças quanto ao tipo de sistema na qual as mudas foram cultivadas *in vitro* (Figura 7). Estes resultados indicaram que, quando estabelecidas no sistema convencional, as plantas não desenvolveram raízes na fase de aclimatização de forma satisfatória. Provavelmente, isso se justifica pela falta de raízes funcionais na fase *in vitro*, o que proporcionou tardio desenvolvimento do sistema radicular, comparado às mudas advindas dos sistemas com membranas.

Figura 7. Médias e erro padrão da massa seca de parte aérea e massa seca de raiz na aclimatização de mudas de Abacaxi cv. Pérola advindas de diferentes sistemas de cultivo. **(A)** Porcentagem de massa seca de raiz **(B)** Porcentagem de massa seca de parte aérea.



Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas não são significativamente diferentes entre os sistemas de cultivo pelo teste de Tukey com nível de 5% de variância

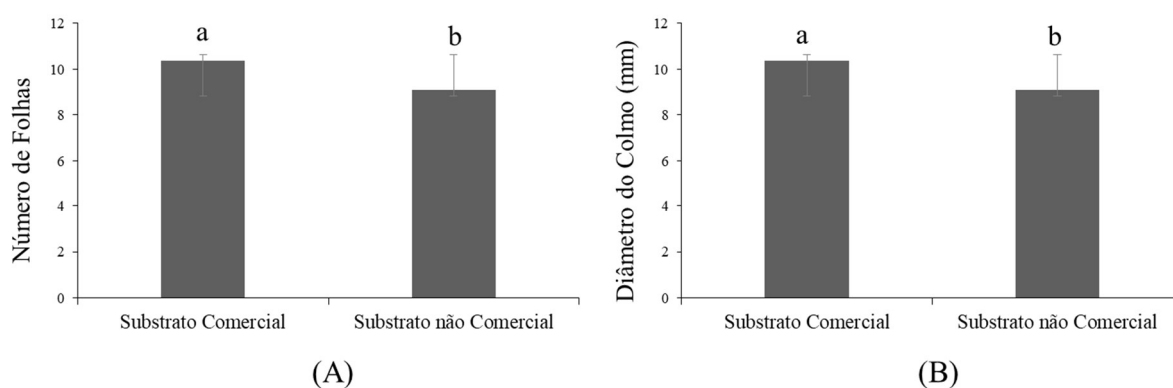
As mudas provenientes do sistema fotomixotrófico com 10 g L⁻¹, por sua vez, além de apresentarem maior massa seca de raiz, também apresentaram médias de massa seca de parte aérea equivalentes às do sistema convencional, isso sugere que mesmo com doses menores de sacarose, a possibilidade de entrada de CO₂, proporcionou condições favoráveis para que tais plantas se desenvolvessem de forma igualitária na fase de aclimatização. Os resultados encontrados assemelharam-se com os obtidos por Ribeiro et al. (2019), que ao estudar *Dendrobium bigibbum* verificaram que as mudas advindas de sistemas com ventilação, apresentaram maiores taxas de desenvolvimento *ex vitro* e incremento de massas na parte aérea que as plantas estabelecidas em sistemas sem ventilação.

De acordo com Silva et al. (2017), os rápidos aumentos da parte aérea na aclimatização determinam o desempenho final do material propagado. Logo, esses aumentos proporcionam maiores acúmulos de massa seca na parte aérea das plantas que eficientemente se desenvolvem nesse aspecto. Segundo os autores, para os cultivos convencionais, isso ocorre de forma expressiva, principalmente, devido à necessidade dessas plantas em completar seu autotrofismo, elevando as taxas metabólicas para poder assim realizar a fotossíntese. Algo que, ao se observar o cultivo com ventilação, já estava ocorrendo pelo incremento de CO₂ no sistema de cultivo.

Para o número de folhas e o diâmetro do colmo, houve diferenças significativas, apenas quanto aos tipos de substrato. Foi observado uma melhor eficiência do sistema com apenas 10 g L⁻¹, que não divergiu dos outros sistemas mesmo com dosagem menor de sacarose. Em ambas as variáveis, o substrato que proporcionou plantas com maiores médias, foi o

composto comercial Quixabá®, estes resultados podem ser explicados devido a nutrição mineral dessas plantas (Figura 8).

Figura 8. Médias e erro padrão do número de folhas e diâmetro do colmo das mudas aclimatadas de Abacaxi cv. Pérola advindas de diferentes sistemas de cultivo. (A) Números de folhas comparadas aos diferentes substratos (B) Diâmetro do colmo, em milímetro, entre os diferentes substratos



Fonte: Autor. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não são significativamente diferentes entre si, pelo teste de Tukey com nível de 5% de variância.

Na análise de química dos substratos, o composto comercial Quixabá® apresentou valores maiores para soma de bases trocáveis (SB) e a capacidade de troca catiônica (CTC) que os resultados do substrato da Fazenda Escola. A soma de bases representa o somatório dos íons de cátions trocáveis de cálcio, magnésio e potássio, isto é, a disposição em quantidades trocáveis que esses elementos estão presentes naquele solo. Enquanto a CTC é a capacidade que o solo analisado tem de liberar os nutrientes que o compõe (RONQUIM, 2010). Em consonância a isso, observou-se que o substrato comercial forneceu subsídios nutricionais suficientes para que o número de folhas e o diâmetro do colmo fosse maior que o observado nas plantas com o substrato não comercial.

O pH, que também apresentou valores diferentes entre os substratos, é um dos principais fatores que influenciam na solubilidade dos nutrientes e na produtividade agrícola (RONQUIM, 2010). O pH apresenta, de forma geral, as condições químicas do solo, e afeta a dinâmica dos nutrientes e a absorção desses pelas raízes das plantas. Isso ocorre, porque os íons de alguns nutrientes importantes para a nutrição das plantas, não ficam disponíveis para serem absorvidos pelas raízes dessas (BERILLI et al., 2011), como no caso do substrato da não

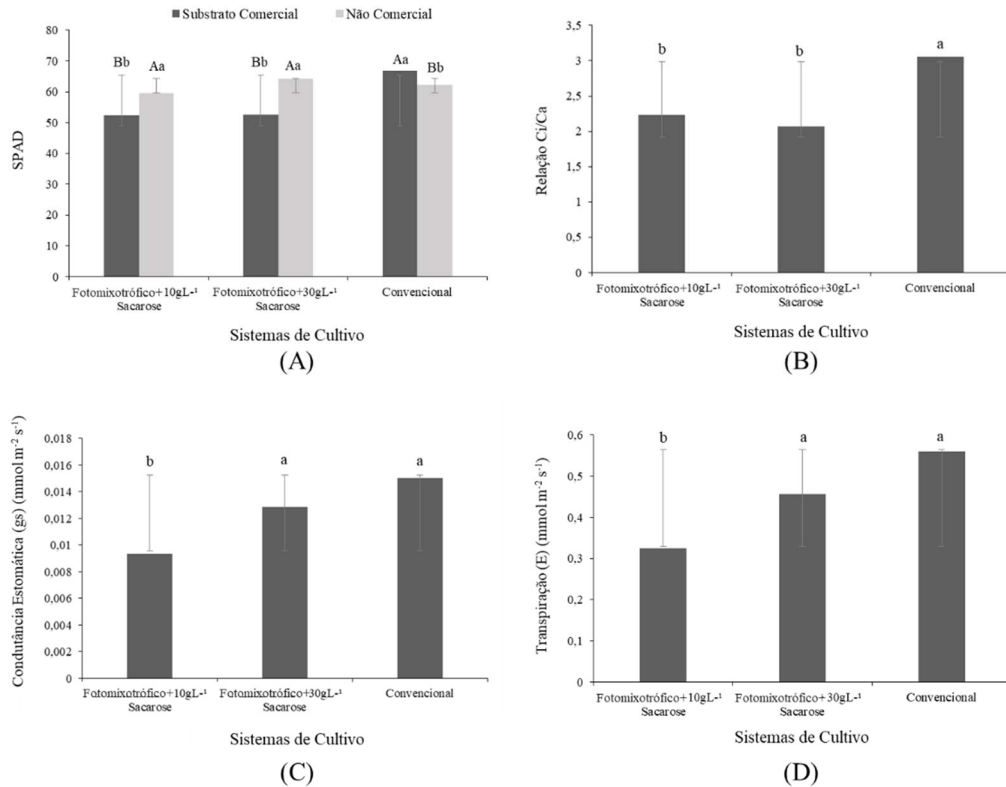
comercial que apresentou maior teor de acidez (pH menor) que o do substrato comercial. Esses resultados mostram a importância da fertilidade do substrato para o desenvolvimento das plantas de abacaxi Pérola na fase de aclimatização. Logo, deve ser realizada a aquisição de substratos ricos em nutrientes minerais, ou que seja feita a devida correção desses após a análise de fertilidade química.

Souza Júnior et al. (2001) encontraram maior valor médio para “número de folhas” de plantas de abacaxi cv. Pérola aclimatizadas em substratos comerciais, como o Plantmax®. Catunda et al. (2008), verificou também que substratos com maiores teores de nitrogênio e potássio interferiram diretamente no diâmetro da roseta e número de folhas de abacaxi cv. Imperial, similar aos resultados encontrados nesse trabalho. Souza (1999), constatou que mudas de abacaxizeiro com deficiências nutricionais apresentam folhas pouco numerosas, além de serem mais estreitas. Embora não tenha sido realizado análise de nutrientes foliares ou de raiz, na análise de solo desses substratos utilizados na aclimatização, encontrou-se diferenças quanto a quantidade de nutrientes para essas plantas.

4.2 Variáveis fisiológicas

Quanto a intensidade de cor verde (SPAD), tanto o substrato quanto os sistemas de cultivo houveram significância pelo Teste F. Plantas cultivadas em substrato comercial e advindas do sistema convencional apresentaram as maiores médias para intensidade da cor verde. Por outro lado, plantas cultivadas em substrato não-comercial, apresentaram médias superiores para intensidade da cor verde, quando advindas dos sistemas de cultivo com membrana. Estes resultados demonstram que para apresentar teores superiores de intensidade verde, o cultivo convencional precisa da manutenção de alta disponibilidade de nutrientes no substrato na fase de aclimatização, isto é no substrato comercial. Todavia, plantas em sistemas com membranas, por estarem mais rustificadas, apresentam as maiores médias, quando avaliou-se os diferentes tipos de mudas dos sistemas de cultivo no substrato não comercial (Figura 9A)

Figura 9. Médias e erro padrão de parâmetros fisiológicos avaliados na aclimatização de abacaxi cv. Pérola advindas de diferentes sistemas de cultivo. (A) Intensidade de cor verde (SPAD) (B) Relação entre a concentração interna e a concentração externa de CO₂; (C) Condutância estomática; (D) Transpiração.



As médias seguidas pela mesma letra minúscula não são significativamente diferentes entre si, entre os sistemas de cultivo, e médias seguidas pela mesma letra maiúscula não são significativamente diferentes entre os tipos de substrato, pelo teste de Tukey com nível de 5% de variância.

As plantas cultivadas em sistemas fotomixotróficos podem apresentar rápido consumo dos nutrientes presentes nos substratos, principalmente pelo fato das suas raízes já serem funcionais, devido a rustificação. Logo, aos 60 DAI, as plantas que tiveram esse rápido desenvolvimento de raízes, podem estar sofrendo deficiência pela falta de nutrientes nos substratos.

Ramos et al. (2013), avaliaram leitura SPAD em relação a deficiência de macronutrientes em plantas de abacaxizeiro 'Imperial' e verificaram que houve correlação positiva entre a leitura SPAD com a deficiência de nutrientes, no qual plantas com menores teores de nutrientes, apresentaram também menores médias de leitura SPAD.

Para as avaliações de trocas gasosas, os tipos de substrato não tiveram influência, contudo, quanto ao sistema de cultivo, o convencional e com membrana+30 g L⁻¹, proporcionaram plantas com as maiores médias para transpiração (Figura 9C) e condutância

estomática (Figura 9D). Esses dois sistemas tiveram algo em comum na sua composição que foi a dosagem de sacarose (30 g L^{-1}), sugere-se então que essa dosagem foi um fator determinante para a expressividade dessas variáveis nesses dois sistemas.

A condutância estomática e a transpiração estão diretamente relacionadas. Nos organismos vegetais, os estomas são a principal resistência ao fluxo dos vapores de água através das folhas (transpiração) e também da passagem de outros gases. O inverso de condução estomática é a resistência do estoma a esse fluxo de vapor. Logo, quando essa resistência não ocorre ou é rompida, o fluxo de vapores de água acontece livremente, apresentando maiores índices de condução estomática e por sua vez as plantas transpiram mais. Um fator externo que determina esse fluxo contínuo ou não, é o estresse hídrico. Plantas sujeitas a esse tipo de estresse, fecham seus estomas bloqueando o fluxo de vapor, para não perder água, e assim evitam a transpiração (COMSTOCK, 2002). Entretanto, acabam por evitar a entrada de outros gases que seriam assimilados nos ciclos de obtenção de energia, ou carboidrato da mesma, o que, em condições específicas, pode ser um problema (OLIVEIRA et al, 2011)

Os resultados sugerem que com dosagens maiores de sacarose, ocorreu a diminuição da resistência estomática, provavelmente, causada pela ineficiência dos seus estomas em controlar o fluxo de vapor de água. Logo, em condições naturais de ambiente externo, essas plantas perderiam muita água, já que não controlariam esse fluxo e transpirariam exaustivamente.

A maior utilização de sacarose no meio de cultivo *in vitro* provoca mudanças anatômicas na maquinaria fotossintética, como estômatos não funcionais, o que conseqüentemente acarreta perdas na fase de aclimatização (KOZAI E KUBOTA et al., 2001; CARVALHO et al., 2011).

As mudas advindas do sistema convencional também apresentaram a maior média entre a relação de concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a), tais resultados apenas confirmam o pré-exposto sobre a condutância estomática, uma vez que esse fluxo de vapor é contínuo pelo estômato, a concentração de CO_2 é maior internamente (Figura 9B).

Pereira et al. (2020), verificaram em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) que houve um aumento na relação C_i/C_a quando, possivelmente, ocorria um dano à estrutura do mesófilo, que não fixa por sua vez o CO_2 na fase carboxilativa. Ou seja, esse aumento de CO_2 interno ocorre pela planta, por algum fator, não estar fixando o gás carbônico pela ribulose-1,5-difosfato (RuDP).

Os resultados sugerem que devido às possíveis mudanças na maquinaria fotossintética, provocado pelo excesso de sacarose no meio, as plantas podem, ainda aos 60 DAI, apresentarem dificuldades na fixação do CO₂, bem como no funcionamento do aparelho fotossintético.

Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Couto et al. (2014) que demonstraram que o incremento de CO₂ nos cultivos de abacaxi *in vitro*, não foram suficientes para melhorar a competência dessas trocas gasosas. Embora o sistema fotomixotrófico promova, desde o cultivo *in vitro*, melhor desempenho, devido seus estômatos mais funcionais (SILVEIRA, 2015), na fase de aclimatização eles não são o único fator para que ocorra um adequado desenvolvimento dos aspectos fisiológicos avaliados. Segundo Ribeiro et al. (2019), o sistema de micropropagação convencional interfere nas trocas gasosas, uma vez que a vedação dos frascos ocasiona um aumento da concentração de gás etileno dentro dos frascos, ocasionando assim mudanças fisiológicas dos tecidos.

Medina (1987) afirma que o processo adaptativo está mais dependente das mudanças anatômicas nas folhas do que nas trocas de CO₂, em qualquer estágio de desenvolvimento das plantas. Isto é, para essas variáveis em questão, outros fatores como as doses de sacarose, o rápido desenvolvimento de parte aérea, e a intensidade de cor verde (que podem significar maiores quantidades de clorofila – que vão atuar na taxa fotossintética) podem ter determinado as maiores médias para as mudas advindas de sistemas convencionais.

5. CONCLUSÃO

Os tipos de cultivo *in vitro*, bem como os tipos de substrato influenciam o desenvolvimento das plantas de abacaxi cv. Pérola na fase de aclimatização.

As plantas de abacaxi cv. Pérola, quando advindas de sistemas de cultivo que proporcionam rustificidade, seja pela possibilidade de trocas gasosas e/ou pela redução das concentração de sacarose no meio de cultura na fase *in vitro*, apresentam desenvolvimento superior na fase de aclimatização, entretanto, é a menor quantidade de sacarose nos meios de cultivo, que determinam a melhor adaptabilidade do aparato fotossintético que promove, assim, maiores resistências estomáticas aos fluxos de gases e transpiração.

O substrato comercial por prover maior disponibilidade de nutrientes para as plantas, é o mais indicado para aclimatização do cultivar avaliada.

Com isso, utilizar as mudas advindas de sistema fotomixotrófico, com menor dosagem de sacarose (10 g L^{-1}) na fase *in vitro*, em substrato comercial Quixabá® proporciona maior desenvolvimento das plantas de abacaxi cv. Pérola na fase de aclimatização.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, M.V; MARTINAZZO, E.G. AUMONDE, T.Z. VILLELA, F.A.; Parâmetros fisiológicos de mudas de *Albizia nipoides* produzidas em diferentes composições de substrato. **Revista de Ciência Florestal**, v. 27, n.4. Santa Maria. 2017.
- ALVES, L.R. **Análise da propagação e desenvolvimento inicial *in vitro*, e aclimatização de *Brassavola martiana* Lindl (Orchidaceae)**. Dissertação (Mestrado Biodiversidade, Ecologia e Conservação) - Universidade Federal do Tocantins. Porto Nacional, 2018.
- ALVES, V.F.R.T. **Uso de ferramentas biotecnológicas para a valorização de *Corema álbum*: Micropropagação**. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular) - Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. Porto Nacional, 2019.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA 2020. **Editora Gazeta Santa Cruz**, 2019.
- ARAGÓN, C.E.; ESCALONA, M.; CAPOTE, I.; PINA, D.; CEJAS, I., RODRIGUEZ, R., CANÁL, M.J; SANDOVAL, J., ROELS, S.; DEBERGH, P.; GONZALES-OLMEDO, J. Photosynthesis and carbon metabolism in plantain (*MUSA* AAB) plantlets growing in temporary immersion bioreactors and during *ex vitro* acclimatization. **Vitro Cellular & Developmental Biology**. 2005.
- ARENAS-DE-SOUZA, M. D.; KARSBURG, I. V. Desenvolvimento vegetativo de espécie e híbrido natural do gênero *Catasetum* LC Richard ex Kunth (Orchidaceae) micropropagadas. **Revista Biociências**, v. 23, n. 2, p. 26-32, 2018
- ARIGITA L, CANÁL J, TAMÉS RS, GONZÁLEZ A. CO₂-enriched microenvironment affects sucrose and macronutrients absorption and promotes autotrophy in the *in vitro* culture of kiwi (*Actinidia deliciosa* Chev. Liang and Ferguson). **Vitro Cellular & Developmental Biology**, v. 46, p. 312–322, 2010.
- BARBOSA, J.C.; MALDONADO JÚNIOR, W. **AgroEstat: Sistema para Análises Estatísticas de Ensaio Agronômicos**, Versão 1.0, 2015.
- BARBOZA, S.B.S.C.; CALDAS, L. S. Estiolamento e regeneração na multiplicação *in vitro* do abacaxizeiro híbrido PE x SC-52. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n. 3, p. 417-423, 2001.
- BASTOS, L. P.; MOREIRA, M. J. S.; COSTA, M. A. P. C.; HANSEN, D. S.; SILVA, S. A.; DANTAS, A. C. V. L.; SOUSA, C. S. Cultivo *in vitro* de mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Revista Brasileira de Biociências**, 2007.
- BATISTA, D.S.; CASTRO, K.M.; KOEHLER, A.D. PORTO, B.N.; SILVA, A.R.; SOUZA, V.C.; TEICEIRA, M. L.; CARDOSO, M. G.; SANTOS, M.O.; VICCINI, L.F. OTONI, W.C. Elaveted CO₂ improves growth, modifies anatomy, and modulates essential oil qualitative production and gene expression. In *Lippia alba* (Verbenaceae). **Plant Cell Tiss Organ Cult**. 2017.
- BERILLI, S. da S.; ALMEIDA, S. B.; CARVALHO, A. J. C.; FREITAS S. J.; BERILLI, A. P. C. G.; SANTOS, P. C. Avaliação sensorial dos frutos de cultivares de abacaxi para consumo *in*

natura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Volume Especial, p. 592 – 598, Jaboticabal – SP, 2011.

BHATIA, S; SHARMA. K; Micropropagation. Em: **Modern Applications of Plant Biotechnology in Pharmaceutical Sciences**. 2015

BINH, V. T.; TAI, S. S. K. Effects of plant growth regulators and sucrose on the regeneration of *Paphiopedilum micranthum* var. North Vietnam. **Vietnam Journal of Agricultural Sciences**, v. 1, n. 1, p.11-20, 2018

CABRAL, J.R.S.; SOUZA, A.S.S.; MATOS, A.P.; CALDAS, R.C. Efeito da autofecundação em cultivares de abacaxi. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.1, p.184-185, Jaboticabal – SP, 2003.

CALVETE, E. O.; AZEVEDO, M.; BORDGNON, M. H.; SUZIN, M. Análises anatômicas e da biomassa em plantas de morangueiro cultivadas *in vitro* e ex vitro. **Revista da Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 649-653, 2002.

CARDOSO, M.C. **Impacto de um programa de exercícios no local de trabalho sobre o nível de atividade física e o estágio de prontidão para a mudança de comportamento**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas.) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

CARNEIRO, L.L. **Pré-Melhoramento genético, floração *in vitro* e criopreservação de orquídeas nativas do cerrado**. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento Plantas) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia - GO, 2014.

CARVALHO, L.C., OSÓRIO, M.L., CHAVES, M.M.; AMÂNCIO, S. Chlorophyll fluorescence as an indicator of photosynthetic functioning of *in vitro* grapevine and chestnut plantlets under ex vitro acclimatization. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, 2001.

CARVALHO, A.C.P.P.; TORRES, A.C.; BRAGA, E.A.B.; LEMOS, E.E.P.; SOUZA, F.V.D.; PETER, J.A.; WILLADINO, L.; CÂMARA, T. R. G Lossário de cultura de tecidos de plantas. **Plant cell culture e micropropagation**. v. 7, n. 1, p. 30-60, 2011.

CATUNDA, P.H.A.; MARINHO, C.S.; GOMES, M.M.A.; CARVALHO, A.J.C. Brassinosteroide e substratos na aclimação do abacaxizeiro 'Imperial'. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 30, n. 3, p. 345-352, 2008

CHOI, H.J.; LEE, S.M.; Biomass and oil content of microalgae under mixotrophic conditions. **Environmental Engineering Research**, v. 20, 2015

COMSTOCK, J. P. Hydraulic and chemical signalling in the control of stomataln conductance and transpiration. **Journal of Experimental Botany**. v. 53, n. 367, 2002

CONOVER C.A.; POOLE, R.T. Acclimatization of indoor foliage plants. **Horti-cultural Reviews**, v. 6, 1984

CORREA, C.D.; HIPOLITO, J.S.; UBER, S.C.; SILVEIRA, F.N.; RODRIGUES, J.R. Emergência de plântulas de arará submetidas a diferentes substratos e aclimações. **Revista Científica Rural**. Bage-RS. 2017.

CORREA, T.R. PIRES, HP; ASEVEDO, L.C.B. SILVA, J.S. NETO, C.A.S.M. **Apostila de Biotecnologia Agrônômica**. 67p. São Luís, 2019. CDU: 606:63

CORTEZ, P.A; SILVA, D.C.S.; CHAVES, A.L.F. Manual prático de morfologia e anatomia vegetal. **Editora Editus UESC**. Ilhéus-BA. 2016

COSTA, E.; SANTO, T. L. E.; SILVA, A. P.; SILVA, L. E.; OLIVEIRA, L. C.; BENETT, C. G. S.; BENETT, K. S. S. Ambientes e substratos na formação de mudas e produção de frutos de cultivares de tomate cereja. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 1, p. 110-118, 2015.

COUTO, T. R.; SILVA, J. R.; TORRES NETTO, A.; CARVALHO, V. S.; CAMPOSTRINI, E. Eficiência fotossintética e crescimento de genótipos de abacaxizeiro cultivados *in vitro* em diferentes qualidades de luz, tipos de frasco de cultivo e concentrações de sacarose. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, 2014.

COUTO, M.; WAGNER JUNIOR, LA.; QUEZADA, A.C. Enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de Prunus SP. "Barrier" em diferentes concentrações de ácido indol-3-butírico (AIB) e do meio murashige & Skoog (MS). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, RS, v.9, n.4, 2003.

CRESTANI, M. B.; HAWERROTH, R. L.; CARVALHO, F. J.; FÉLIX, F. I.; OLIVEIRA, A. C. Das Américas para o mundo: origem, domesticação e dispersão do abacaxizeiro. **Revista Ciência Rural**, v. 40, 2010

CTENAS, M.L.B.; QUAST, D. Abacaxi. In: **Frutas das terras brasileiras**. São Paulo: C2, 2000.

DALANHOL, S. J.; NOGUEIRA, A. C.; GAIAD, S.; KRATZ, D. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares e da adubação no crescimento de mudas de Eugenia uniflora L., produzidas em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 1, 2016.

DESJARDINS, Y.; HDIDER, C.; RIEK, J. Carbon nutrition *in vitro*: regulation and anipulation of carbon assimilation in micropropagated systems. **Kluwer Academic Publishers**, 1995.

DURÃO, F. J. S. R. **Caramuru: poema épico do descobrimento da Bahia**. Rio de Janeiro: Edictor, Mamiliano da C. Honorato, 1878. Disponível em: https://digital.bbm.usp.br/bitstream/bbm/4723/1/008804_COMPLETO.pdf Acesso em: 01 nov. 2020.

FERREIRA, C. D. S. et al. Influência do uso do regulador de crescimento Ácido 2, 3-clorofenoxipropionico (fruitone®) no rendimento da Produção de abacaxi. **Revista Agroecossistemas**, v. 9, n. 1, p. 236-242, 2017.

FIGUEIREDO, M de L. **Desenvolvimento de protocolos para propagação *in vitro* de três espécies de bromeliaceae nativas do Brasil**. Tese (Doutorado em Agronomia) – Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, 2003.

- FLORES, M.C.; **Cultivo de batata em sistema de imersão temporária**. Trabalho de Conclusão de Curso. Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 2018.
- GEORGE, E. F. Plant propagation by tissue culture: **In practice**. 2 ed. Edington: Springer, 1996.
- GIACOMELLI, E. J.; PY, C. **O abacaxi no Brasil**. Campinas, Fundação Cargill, 1982. 101p.
- GONÇALVES, J.S. MUNIZ, N.P.; SOUZA, E. H. SOUZA, F.V.D.; SILVA, H.S.A.; Crescimento de mudas micropropagadas de abacaxizeiro em substratos suplementados com rizbacterias produtoras de ácido indolacético. **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, 2018.
- GONÇALVES, W. ALMEIDA, J.A.S.; SALOMOM, M. V.; FILHO, O.G.; **Aclimatização e aclimação de mudas micropropagadas de híbrido F₁ de *Coffea arábica* L.** X SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS. Vitória-ES, 2019.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas Brasília: **Embrapa-SPI/Embrapa-CNPQ**, v.1, p.43-76. 1998
- GRIFFINGS, L.R.; RAY, P.M. Dependence of cell wall secretion on calcium. **Plant Physiology**, v.63, n.5, 1979
- HOFKY, V.A.; GOMES, J.P.; NETO, A.L.B.; SILVA, F.L.H.; ALMEIDA, F.A.C.; Cinética de secagem de abacaxi cv. Pérola em fatias. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.11, n.2, 2009.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal, 2020**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1612#resultado>>. Acesso em: 10 dez de 2020.
- IMESC. Instituto Maranhense de Estudos Socioeconômicos e Cartográficos. **Produção Agrícola Municipal do Maranhão**. SEPE/Governo do Maranhão, São Luís: IMESC, 2020.
- KAMPF, A.N.; TAKANE, R.J.; SIQUEIRA, P.T.V. Floricultura: técnicas de preparo de substratos. **Editora LK**, Brasília-DF 2006. 132p.
- KOZAI, T. Photoautotrophic micropropagation environmental control for promoting photosynthesis. **Propagacion Ornamental Plants**. 2010.
- KOZAI, T.; KUBOTA, C. Developing a photoautotrophic micropropagation system for woody plants. **Journal of Plant Research**, v.114, p.525-537, 2001.
- LAMEIRA, O.A.; LEMOS, O.F.; MENEZES, I.C.; PINTO, J.E.B.P. **Cultura de Tecidos (manual)**: Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000, 41p.
- LIMA-BRITO, A.; ALBUQUERQUE, M. M. S.; RESENDE, S. V.; CARNEIROS, C. E.; SANTANA, J. R. F. Rustificação *in vitro* em diferentes ambientes e aclimatização de microplantas de *Comanthera mucugensis* Giul. subsp. *mucugensis*. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 47, n. 1, Fortaleza – CE. 2016.

LIMA, R.S.N. **Irrigação parcial do sistema radicular e déficit de irrigação regulado em mamoeiro (*Carica papaya* L.): capacidade fotossintética, crescimento e eficiência no uso da água.** Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes. 2014. 143 f.

LOPES, A.S.; TSUKAMOTO FILHO, A.; BRONDANI, G. E.; MATOS, S. E. DE; OLIVEIRA, T. M. DE; BARBOSA FILHO, J.; FONSECA, R. M. C.; NICÁCIO, P. R. Produtividade de minicepas de *Eucalyptus urophylla* S. T Blake em função da solução nutritiva e coleta de brotações. **Nativa**, v. 4, n. 1, p. 44-47, 2016

LOBO, M. G.; YAHIA, E. Biology and postharvest physiology of pineapple. **John Wiley & Sons**, cap. 3. p. 39-61.2017.

MANICA, I. Abacaxi. In: **Fruticultura Tropical**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 1999.

MARIANNO, A. B.; RAMOS, L. P.; VARGAS, J. V. C; PULLIAN, R.; BALMANT, W.; MORAIS, K. C. C.; DZUMAN, M. J.; ARANTES, A. C. C. Comparação de meios de cultivo autotróficos, mixotróficos e heterotróficos para produção de biomassa de microalga com foco em biocombustíveis e coprodutos. **5º Congresso Internacional de Bioenergia**. Curitiba-PR, 2010.

MATOS, A.P; SANCHES, N.F. Cultura do Abacaxi: Sistema de Produção para a Região de Itaperaba, Bahia. **Embrapa Mandioca e Fruticultura**. 2011.

MENDES, P. S; ARAUJO, W.F.; ANTUNES, F.; CHAGAS, E.A.; COUCEIRO, M.A. Cultivo *in vitro* de plântulas de abacaxizeiro com uso de filtros, ventilação artificial e sacarose. **Revista Agro@ambiente** On-line, v. 9, n. 2, p. 202- 207, 2015.

MEDINA, ERNESTO. Aspectos ecofisiológicos de plantas CAM en los tropicos **Revista Biologia Tropical**, v. 35, n. 1, p. 55-70, 1987.

MIRANDA, N.A. **Jardim clonal *in vitro* na propagação vegetativa de *Eucalyptus* spp.** Tese (doutorado) Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal. Universidade Federal de Viçosa. 2018.

MORAES, A.M; ALMEIDA, F. A C; FILHO, J. C. Desinfestação e estabelecimento *in vitro* de gemas auxiliares de abacaxizeiro. **Tecnologia. & Ciência Agropecuária**, v.1, n.2, 2007

MOREIRA, M. A.; CARVALHO, J. G.; PASCOAL, M.; FRÁGUAS, C. B.; SILVA, A. B. Efeito de substratos na aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 5, 2006.

MOHAMED, S.A.; ÖZZAMBAKB, M.E. Shoot regeneration capacity of *in vitro* cultures of some gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus) explants. **Sudanese Journal of Agricultural Sciences**, v. 1, 2014.

MUÑOZ, D.A.B.; VOGEL, H. **Propagación *in vitro* de maqui (*Aristotelia chilensis*) mediante condiciones autotróficas.** (Dissertação) Universidad Talca, 2021.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. **Plant Physiology**, v. 15, 1962.

NEVES, R.A.; **Tempo de permanência *in vitro* na fase de alongamento e enraizamento, na aclimatização de mudas, micropropagadas de abacaxizeiro ornamental.** Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Federal do Ceará, 2015.

OLIVEIRA, V. J.S.; SAMPAIO, A. H. R.; COELHO FILHO, M. A.; OLIVEIRA, E. J.; DANTAS, J. L. L.; DANTAS, A. C. V. L. Avaliação de condutância estomática e temperatura foliar em variedades de mamão submetidas a déficit hídrico. **EMBRAPA**, Brasília, 2011.

PARANATINGA, I.L.D.; COSTA, T.P.D.; PEREIRA, R.J.B.; GALÚCIO, M.P.; SAI, E.F.; Estabelecimento *in vitro* de gemas axilares de abacaxizeiro em função da variação da concentração de 6-benzilaminopurina. **Agroecossistemas**, v. 10, n. 2, 2018.

PARK, S. W.; JEON, J. H.; KIM, H.S.; PARK, Y. M.; ASWATH, C.; JOUNG, H. Effect of sealed and vented gaseous microenvironments on the hyperhydricity of potato shoots *in vitro*. **Scientia Horticulturae**, v. 99, n. 2, 2004.

POSPÍSILOVÁ, J.; HASEL, D.; SYNKOVA, H.; CATSKY, J.; WILHELMOVÁ, N., PLZÁKOVÁ, S.; PROCHÁRKOVÁ, D., SRAMEK, F. Photosynthetic pigments and gas Exchange during ex vitro acclimation of tobacco plants as affected by CO₂ supply and abscisic acid. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, 2000.

RANGAN, T.S. Pineapple. In: Ammirato, P.V., EVANS; D.A., SHARP; W.R., YAMADA, Y. (Editores) Handbook of plant cell culture. **MacMillan**, n. 3:373-382. New York, 1984.

RAHMAN, M.; AHMED, B.; ISLAM, R.; MANDAL, A.; HOSSAIN, M. A Biotechnological approach for the production of red gerbera (*Gerbera Jamesonii* Bolus). **Nova Journal of Medical and Biological Sciences**, v. 2 n. 1, 2014.

RAMOS, M. J. M.; MONNERAT, P. H.; PINHO, L. G. da R. Leitura SPAD em abacaxizeiro 'Imperial' cultivado em deficiência de macronutrientes e de boro. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 35, n. 1, 2013.

REINHARDT, Domingo Haroldo Rudolfo Conrado; DA CUNHA, Getúlio Augusto Pinto A propagação do abacaxizeiro. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Cruz das Almas: **Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**, 2006.

REINHARDT, D.H.R.C.; BARTHOLOMEW, D.P.; SOUZA, F.V.D.; CARVALHO, A.C.P.P.; PÁDUA, T.R.P.; JUNGHANDS, D.T.; MATOS, A.P.; Advances in pineapple plant propagation. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 40, n. 6, 2017.

REINHARDT, D.H.R.V.; A cultura do abacaxizeiro: tradição e inovação. Em: Fruticultura Tropical – Diversificação e Consolidação. **EMBRAPA**. Brasília-DF, 2019

REIS, C.R.; VIANA, E.S.; PÁDUA, T.R.P.; MATOS, A.P.; SASAKI, F.F.C.; CORDEIRO, Z.J.M. Influência da densidade de plantio na qualidade físico-química e sensorial do abacaxi Pérola em sistema orgânico de produção. Cruz das Almas, BA: **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, 2018.

REIS, E.O. **Testes para desinfestação de explantes do cacaueiro visando estabelecimento *in vitro***. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Federal do Ceará. Fortaleza – CE, 2018.

RIOS, D. de O. **Propagação vegetativa do abacaxi por meio do fracionamento do caule**. Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade Evangélica de Goianésia. 2019.

RIBEIRO, L.M. SORGATO, J.C.; SCALON, S.P.Q.; SOARES, RIBEIRO, I.S. Influência da luz, ventilação natural e tamanho do frasco no crescimento e desenvolvimento de denphal (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.14, n.3. 2019.

RIGO, G. **Comportamento morfofisiológico de *Dendrocalamus asper* (Schult f.) Backer ex Heyne no sistema de propagação *in vitro* por Clusters e no processo de aclimatização**. Dissertação (mestrado). Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais. Florianópolis, 2020.

ROCHA, A.S.; SOUSA, A.B.P; SOUZA, C.P.F.; OLIVEIRA, S.A.S.; SOUZA, F.V.D. Uso de microrganismos associados ao gênero *Ananas* como potenciais promotores do crescimento na etapa de aclimatização de plantas micropropagadas da variedade Pérola. **Anais. 13ª Jornada Científica**. Brasília-DF, Embrapa, 2019

RODRIGUES, D.; ASSIS, A.M.; PEIL, R.M.N.; SCHUCH, M.W. Resíduos agrícolas para aclimatização de *Oncidium baueri* Lindl. **Revista Científica Rural**, v. 20, n. 2, 2018.

RODRIGUES, D. T.; NOVAIS ,R. F. .; ALVAREZ V. V. H.; DIAS, J. M. M.; VILLANI E. M. A. Concentrações e composições químicas do meio nutritivo para cultivo *in vitro* de orquídea. **Revista Ceres** 59:1-8p., 2012

RONQUIM, C.C. Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais. **Embrapa**, São Paulo. 2010.

ROSSATO, M., SCHUMACHER, P. V., COSTA NETTO, A. P., SOUZA, G., REIS, E; STEIN, V. C. Multiplicação e enraizamento *in vitro* de gabirobeira. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 11, n. 2, p. 70-77, 2015.

SAGRIMA, Secretaria de Estado da Agricultura, Pecuária e Pesca do Maranhão . **Perfil da Agropecuária Maranhense – 2019**. São Luís: SPG/SAGRIMA/Governo do Maranhão. 2019.

SALDANHA, C.W.; MARTINS-CORDER, M.P.; *In vitro* germination and embryogenic competence acquisition of *Euterpe edulis* Martius immature zygotic embryos. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, n. 12, p 171-178, 2012.

SANDHU, M.; WANI, S.H.; JIMÉNEZ, V.M.. *In vitro* propagation of bamboo species through axillary shoot proliferation: a review. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.132, p. 27-53, 2018

SANTOS, E.F.S. **Gradiente de mudanças fisiológicas e de qualidade durante a maturação de abacaxi Pérola**. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Federal da Paraíba. Areia-PB, 2018.

SANTOS, M.V.C. **Influência da densidade de plantio na qualidade produtiva e química do abacaxizeiro**. Trabalho de Conclusão de Curso - Instituto de Ensino Superior da Amazônia. Vilhena-AM. 2019.

SCHERWINSKI PEREIRA, J. E. - Protocolo para produção de material vegetativo de batata em meio líquido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 38, 1035-1043. 2003.

SILVA, A. B.; CORREA, V. R. S.; TOGORO, A. H.; SILVA, J. A. S. Efeito da luz e do sistema de ventilação natural em abacaxizeiro (Bromeliaceae) micropropagado. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 2, 2014.

Souza, L.F. da S. Exigências edáficas e nutricionais. In: Cunha, G.A.P. da, Cabral, J.R.S. **O abacaxizeiro, Cultivo, agroindústria e economia**. Embrapa, p.67-82. 1999

SOUZA, A.E.; **Distribuição espacial da produção de abacaxi no Brasil com ênfase na Paraíba no período 2003 – 2015**. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Federal da Paraíba, 2017.

SOUZA JÚNIOR, E. E. de; BARBOZA, S. B. S. C.; SOUZA, L. A. C. Efeitos de substratos e recipientes na aclimação de plântulas de abacaxizeiro [Ananas comosus (L.) Merrill] CV. PÉROLA. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 31, n. 2, p. 147–151, 2007.

SILVA, N.M; ADAIME, R.; ZUCCHI, R.A.; Pragas Agrícolas e Florestais na Amazônia. **EMBRAPA**. Brasília – DF, 2016.

SILVA, S.; TASSARA, H. Abacaxi. In: SILVA, S.; TASSARA, H. Frutas no Brasil. **São Paulo: Nobel**, 2001. p.25-27.

STORCK, A; EINSFELD, V; SILVA, P. A. K. X; Técnicas convencionais de produção de cultivares de plantas *in vitro*. **Anais**. Seminário de Iniciação Científica Tecnológica, v. 5,. 2016.

VALE, P.; OLIVEIRA JÚNIOR, J.; COSTA, F.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. Height and number of shoots on the survival and development of micropropagated bamboo plantlets during pre-acclimatization. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 49, p. e53751, 2019.

VALLONE, H.S., GUIMARÃES, R.J., MENDES, A.N.G., SOUZAS, C.A.S., DIAS, F.P; CARVALHO, A.M. Recipientes e substratos na produção de mudas e no desenvolvimento inicial de cafeeiros após o plantio. **Ciência & Agrotecnologia** 33: 1327-1335, 2009.

VIDAL, F. R.; DINIZ, J. D. N.; SILVA, F. P. da. Multiplicação *in vitro* de plantas juvenis de mamoeiro. **Pesquisa Agropecuaria**, v.3, n.2, 2013

WALTER, R. **Aplicação da cultura de tecidos no melhoramento de *Capsicum annum*: superação de barreiras pós-zigóticas, produção de genótipos em larga escala e protocolo para obtenção de haploides**. 2019. Tese (Doutorado). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes. 2019. 163 f.