



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS-CCA
CURSO DE AGRONOMIA BACHARELADO

MARIA CRISTINA ROCHA SILVA

**MICROPROPAGAÇÃO DE ABACAXIZEIRO VAR. TURIAÇU EM
BIORREATORES DE IMERSÃO TEMPORÁRIA SOB DIFERENTES
INTENSIDADES DE LUZ E CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE**

São Luís

2025

MARIA CRISTINA ROCHA SILVA

**MICROPROPAGAÇÃO DE ABACAXIZEIRO VAR. TURIAÇU EM
BIORREATORES DE IMERSÃO TEMPORÁRIA SOB DIFERENTES
INTENSIDADES DE LUZ E CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE**

Artigo Científico apresentado ao Curso de Agronomia Bacharelado do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual do Maranhão, como requisito para obtenção do título de bacharel em Agronomia.

Orientadora: Prof^a. Dra. Thais Roseli Corrêa
Coorientador: Dr. Givago Lopes Alves

São Luís

2025

Silva, Maria Cristina Rocha

Micropropagação de abacaxizeiro var. Turiacu em biorreatores de imersão temporária sob diferentes intensidades de luz e concentrações de sacarose. / Maria Cristina Rocha Silva. – São Luís, MA, 2025.

30 f

Artigo Científico (Graduação em Agronomia Bacharelado) - Universidade Estadual do Maranhão, 2025.

Orientadora: Prof^a. Dra. Thais Roseli Corrêa

Coorientador: Dr. Givago Lopes Alves

1.*In vitro*. 2.Fotomixotrofia. 3.Irradiância. 4.Fruticultura. I.Título.

CDU:634.774

MARIA CRISTINA ROCHA SILVA

**MICROPROPAGAÇÃO DE ABACAXIZEIRO VAR. TURIAÇU EM
BIORREATORES DE IMERSÃO TEMPORÁRIA SOB DIFERENTES
INTENSIDADES DE LUZ E CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE**

Artigo Científico apresentado ao Curso de
Agronomia Bacharelado do Centro de Ciências
Agrárias da Universidade Estadual do
Maranhão, como requisito para obtenção do
título de bacharel em Agronomia.

Aprovado em: 10 / 07 / 2025

BANCA EXAMINADORA:



Documento assinado digitalmente
THAIS ROSELI CORREA
Data: 22/07/2025 18:49:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª. Dra. Thais Roseli Corrêa – Orientadora
Doutora em Genética e Melhoramento
Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade – DFF/CCA/UEMA



Documento assinado digitalmente
VITORIA KARLA DE OLIVEIRA SILVA MORAES
Data: 22/07/2025 13:53:54-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Me. Vitória Karla de Oliveira Silva Moraes
Mestre em Agroecologia
Universidade Estadual do Maranhão



Documento assinado digitalmente
VANESSA DE ARAUJO LIRA
Data: 22/07/2025 15:57:12-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Vanessa de Araújo Lira
Doutora em Agroecologia
Universidade Estadual do Maranhão

Ao meu tio-avô Raimundo Nonato da Conceição Rocha
que, com sua força e coragem, abriu caminho para tudo o
que somos hoje e em cada conquista da nossa família, há
um pedaço da sua luta (este trabalho não é diferente).

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus Pai, pelo dom da vida, pelas provações e bênçãos concedidas até aqui.

À Maria Santíssima, minha Mãe e Senhora, por interceder em meu favor quando mais precisei.

À minha mãe querida, Geruza Rocha Silva, por todo amor, apoio e educação que me deste; à minha avó, Maria da Conceição Rocha Silva; à minha tia Joelma Rocha Silva, a quem considero como mãe; e a todas as mulheres da família, que, com suas histórias e lutas, me inspiraram de alguma forma, meu muito obrigada! O amor que sinto por vocês, jamais poderei expressar em palavras.

À minha irmã, Camyla Cristina Rocha Gonçalves, suas cartinhas e seu “te amo, irmãzinha” renovaram minhas forças nos dias mais difíceis. Eu te amo. Obrigada!

Aos meus padrinhos Fernanda Marreiros Rocha e Afonso Henrique Barbosa Conceição e às minhas Marias, Fernanda e Luíza, minha família do coração. Gratidão por todo amor, amparo, conselhos e principalmente, por acreditarem em mim. Eu os amo. A vocês, minha gratidão eterna.

Ao meu companheiro, Cícero Rocha Silva, por todo amor, compreensão, apoio, confiança, motivação e por nunca ter me deixado sozinha, apesar da distância. Eu te amo. Obrigada!

Ao meu avô, aos meus tios, primas e primos, sobrinhas e sobrinhos queridos; à minha doce afilhada, Klarice Silva Pereira, pelo carinho e torcida. É bom voltar para casa e sentir o amor de vocês. Gratidão!

Ao meu tio-avô, Raimundo Nonato da Conceição Rocha. Certa vez, quando eu ainda era uma criança, assistindo ao Globo Rural, lhe ouvi dizer: “Taí uma coisa que, se eu pudesse, teria estudado para ser: um engenheiro agrônomo!” Foi nesse dia que eu soube qual seria minha profissão. Seu exemplo de vida é o meu maior ensinamento. Obrigada!

A todos os professores e professoras com quem tive o privilégio de aprender, em especial as que marcaram minha vida: Mariana Leal e Lucidalva Ribeiro no ensino fundamental e Daniele Lavra, minha querida tia Dani, no ensino médio. Sem o direcionamento de vocês, eu não teria chegado até aqui. Gratidão!

Aos amigos que a saudosa escola Cincinato me deu, Aline, Lília, Ariene, Ariele, Maísa, Tayrene, Lenice, Dayana, Lara, Oscar e Hudson, e aos “sobrinhos” que ganhei, Lorenzo, Pietro e Melissa. São mais de dez anos de amizade, apoio, afago e macarronadas. Obrigada por todos os momentos! Tem sido e que continue sendo ‘do fundamental para vida.’

Aos amigos da graduação, Aline, Darlyara, Marion, Roberto, Ellen, Alderir, Rosélia, João Miranda, João Rabelo, Daniel, Geovana, Isabela, Gabriele e Edilaila, os “pioristas”, obrigada pela parceria ao longo desses cinco anos. Foram tantas risadas... Foi ótimo poder dividir o peso do processo com vocês! Obrigada por tanto.

Às amigas Aline Araújo e Darlyara Silva, por serem tão parceiras e leais. São Tomás de Aquino disse: “A amizade diminui a dor e a tristeza.” De fato, quantas vezes choramos juntas e fomos o acalento, o aconchego e o apoio de que cada uma precisava? Nesses cinco anos longe de casa, nos tornamos a família uma da outra. Tantas vezes vocês tornaram meu fardo mais leve, me ajudando a carregá-lo. A vocês, minha gratidão e amizade para o resto de nossas vidas.

Às minhas vizinhas, que também se tornaram minha família, dona Nica, dona Adelaide e Paula Padilha, obrigada por toda companhia, conversas, apoio e cuidado!

Aos amigos Marion Soares e Mariana Lima, que o LCT me deu, minha gratidão pelos sorrisos e lágrimas compartilhados, pelo apoio, pelos ensinamentos e pela parceria que foi além da montagem de experimentos. Obrigada!

À equipe do Laboratório de Cultura de Tecidos (LCT-UEMA), que me acolheu no início da graduação e me permitiu permanecer até o final dela, minha profunda gratidão. Vocês muito contribuíram para o meu crescimento acadêmico e pessoal, em especial Givago Alves, Irislene Albuquerque, Vitória Silva Moraes, Jordanya Pinheiro, Vanessa Lira, Priscila Rivas, e os professores Thaís Corrêa, Marcos Pinheiro, Fábio Figueredo, Fabrício Reis e Sérgio Felipe, por toda ajuda, orientação e companheirismo. Vocês são incríveis! Minha admiração e gratidão!

A minha orientadora, Dra. Thais Roseli Corrêa, agradeço imensamente pela acolhida, orientação, ensinamentos, paciência e amor. Quando ouço/vejo essa frase: "Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana"(Carl Jung), lembro-me de você. És exemplo de profissional e pessoa para mim. Obrigada por ser essa alma tão humana, justa e gentil!

Ao meu coorientador, Dr. Givago Lopes Alves, pela orientação leve e paciente. Sua ajuda foi imprescindível para a concretização deste trabalho. Gratidão, ‘amado mestre’!

Às pesquisadoras membros da banca examinadora, Vanessa Lira e Vitória Silva Moraes, obrigada por terem aceito o convite e pelas valiosas contribuições. Minha admiração e gratidão!

E por fim, a todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho, meu sincero agradecimento. Muito obrigada!

RESUMO

O abacaxizeiro var. Turiaçu é nativo da Amazônia Maranhense, está em processo de domesticação e sua propagação ocorre por métodos tradicionais em campo. A micropropagação com o uso de biorreatores de imersão temporária (BIT) por meio do cultivo fotomixotrófico e fotoautotrófico, surge como uma alternativa viável para a produção de milhares de mudas de abacaxizeiro em pequeno intervalo de tempo e espaço físico. Desse modo, este trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento das plantas de abacaxizeiro var. Turiaçu sob o uso de biorreatores de imersão temporária (BIT) com intensidades luminosas ($71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e concentrações de sacarose (0 e 15 g L^{-1}). Após 50 dias de cultivo *in vitro* foi realizada a avaliação dos parâmetros de crescimento, pigmentos fotossintéticos e parâmetros fisiológicos e a caracterização anatômica das folhas. Nossos resultados demonstraram com clareza que o cultivo fotomixotrófico com 15 g L^{-1} de sacarose impulsionou o crescimento e desenvolvimento das plantas, independente da intensidade luminosa. Em todas as combinações de sacarose e irradiância, as folhas apresentaram diferenciação marcante entre os parênquimas aquífero e clorofiliano. Concluímos então que a combinação de 15 g L^{-1} de sacarose e $71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de intensidade luminosa é a mais indicada para micropropagação, pois conferiu às plantas de abacaxizeiro var. Turiaçu maior qualidade morfológica, fisiológica e anatômica, e impulsionou o crescimento e desenvolvimento das plantas.

Palavras-chave: *In vitro*; fotomixotrofia; irradiância; fruticultura.

ABSTRAT

The pineapple 'Turiaçu' is native to the Amazon region of Maranhão, is in the process of domestication and its propagation occurs by traditional methods in the field. Micropropagation using temporary immersion bioreactors (TIB) through photomixotrophic and photoautotrophic cultivation appears as a viable alternative for the production of thousands of pineapple seedlings in a short period of time and physical space. Thus, this study aimed to evaluate the development of pineapple plants 'Turiaçu' under the use of temporary immersion bioreactors (TIB) with different light intensities ($71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and sucrose concentrations (0 and 15 g L^{-1}). After 50 days of in vitro cultivation, the growth parameters, photosynthetic pigments and physiological parameters were evaluated, as well as the anatomical characterization of the leaves. Our results clearly demonstrated that photomixotrophic cultivation with 15 g L^{-1} of sucrose boosted plant growth and development, regardless of light intensity. In all combinations of sucrose and irradiance, the leaves showed marked differentiation between the aquifer and chlorophyll parenchyma. We conclude that the combination of 15 g L^{-1} of sucrose and $71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ of light intensity is the most suitable for micropropagation, as it gave the pineapple 'Turiaçu' plants greater morphological, physiological and anatomical quality and boosted plant growth and development.

Keywords: *In vitro*; photomixotrophy; irradiance; fruit growing.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	12
2.1	Material vegetal e condições de cultivo	12
2.2	Delineamento experimental e variáveis analisadas.....	13
2.2.1	Parâmetros de crescimento	13
2.2.2	Índice estomático.....	14
2.2.3	Quantificação de pigmentos fotossintéticos.....	14
2.2.4	Eficiência fotoquímica.....	14
2.2.5	Assimilação fotossintética de CO ₂	15
2.2.6	Caracterização anatômica foliar.....	15
2.3	Análises estatísticas	15
3	RESULTADOS	16
3.1	Parâmetros de crescimento	16
3.2	Pigmentos fotossintéticos	18
3.3	Parâmetros fisiológicos	19
3.4	Caracterização anatômica foliar	21
4	DISCUSSÃO	22
5	CONCLUSÃO	25
	REFERÊNCIAS.....	26

1 INTRODUÇÃO

O abacaxizeiro Turiaçu (*Ananas comosus* var. *comosus* (L.) Merrill) é uma variedade nativa da Amazônia Maranhense em processo de domesticação (Reis *et al.*, 2019). Suas características químicas e morfológicas demonstram tratar-se de uma variedade com atributos muito apreciados pelo mercado consumidor, como: tamanho do fruto, polpa amarelada, maior teor de açúcares e menor percentual de acidez (Araujo *et al.*, 2012; Reis *et al.*, 2024), o que lhe confere vantagens quando comparadas às cultivares de abacaxizeiro tradicionalmente comercializadas.

De acordo com os dados da *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO, 2025), a produção mundial de abacaxi em 2023 foi de 29,6 milhões de toneladas, sendo a Indonésia, Filipinas, Costa Rica e o Brasil os maiores produtores do mundo. Na fruticultura brasileira, o abacaxi se destaca entre as fruteiras mais importantes em termos econômicos, sociais e influentes culturas agrícolas (Souza, Silva e Feistel, 2021). Na safra de 2023, o País teve uma área colhida de 63.943 hectares, com produção aproximada de 1,6 milhões de frutos, e uma arrecadação que corresponde a 3,9 bilhões de reais (IBGE, 2025a).

Em 2023, o estado do Maranhão colheu aproximadamente 50.317.000 frutos de abacaxi em uma área total de 2.279 hectares, com destaque para os municípios de São Domingos do Maranhão, seguido de Turiaçu, Graça Aranha e Lago dos Rodrigues (IBGE, 2025b). Da área total, apenas 242 hectares foram destinados a produção da variedade Turiaçu, com 6.042.000 de frutos colhidos, isto é, apenas 12% do total de frutos colhidos em todo o Estado (IBGE, 2025b).

A propagação do abacaxizeiro var. Turiaçu é realizada exclusivamente por meio de técnicas tradicionais em campo, como mudas formadas a partir de brotações laterais da planta, contudo, esse sistema tem demonstrado que contribui para a disseminação de pragas e doenças (Araujo *et al.*, 2012; Couto *et al.*, 2014). Para superar tais obstáculos, a micropropagação surge como uma alternativa viável, no qual proporciona a produção de milhares de mudas em pequeno intervalo de tempo e espaço físico, e totalmente livres de pragas e doenças (Reinhardt *et al.*, 2018; Vendrame, Xu e Beleski, 2022). A micropropagação do abacaxizeiro 'Turiaçu' foi recentemente descrita por Alves *et al.* (2024) e Silva-Moraes *et al.* (2024), no entanto, ainda existem desafios a serem superados para a otimização desse processo.

Na micropropagação convencional, as plantas apresentam metabolismo mixotrófico, no qual fixam carbono tanto por meio da fotossíntese, utilizando luz e CO₂ atmosférico, quanto

pela absorção de sacarose disponibilizada no meio de cultura (Ševčíková *et al.*, 2018). Embora apresente inúmeras vantagens, as condições ambientais estabelecidas nesse método, como a alta concentração de sacarose, frascos com restrição de trocas gasosas, elevada umidade relativa e baixa intensidade luminosa, constituem fatores limitantes para o desenvolvimento dos explantes, ocasionando, sobretudo altas taxas de mortalidade no processo de aclimação (Kozai e Kubota, 2005).

A intensidade e a qualidade da radiação luminosa emitida pelas lâmpadas influenciam diretamente o desenvolvimento e a atividade fotossintética das plantas cultivadas *in vitro* (Tang *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2024). A disponibilidade inadequada de luz — seja por excesso, ausência ou baixa intensidade — pode comprometer significativamente ambos processos, especialmente em condições de cultivo *in vitro* (Cavallaro *et al.*, 2022). A luz, portanto, é um fator determinante na micropropagação de plantas (Vendrame, Xu e Beleski, 2022).

Dentre as alternativas para melhorar a qualidade fisiológica das plantas produzidas na micropropagação convencional, destaca-se a alteração do ambiente *in vitro* com o uso de biorreatores de imersão temporária (BIT's) por meio do cultivo fotomixotrófico e fotoautotrófico (Bello-Bello, Mancilla-Álvarez e Spinoso-Castillo, 2025). O cultivo fotomixotrófico está pautado na redução da sacarose no meio de cultura, aumento da qualidade e da intensidade de luz e as trocas gasosas entre o *headspace* do recipiente e o ambiente externo (Kozai e Kubota, 2005; Alves, J., *et al.*, 2022). No cultivo fotoautotrófico, a sacarose é totalmente retirada do meio de cultura, sendo necessário ajustar a intensidade luminosa e a concentração de CO₂ para favorecer a capacidade fotossintética e o crescimento das plantas. (Trauger *et al.*, 2022).

Na micropropagação, em particular, os BIT's constituem uma excelente alternativa para aperfeiçoar e acelerar o processo de produção de plantas, uma vez que há redução da concentração de sacarose do meio de cultura, ventilação do ambiente, e elevação da qualidade e da intensidade da luz, permitindo o maior desenvolvimento do aparato fotossintético das plantas, e assim proporcionar mudas mais rústicas e com melhor adaptação às condições *ex vitro* (Fuentes *et al.*, 2007; Damiani e Schuch, 2008).

Há apenas um relato na literatura sobre micropropagação do abacaxizeiro var. Turiagu em BIT, em que os autores descreveram pela primeira vez um protocolo de micropropagação da variedade, e verificaram diferentes sistemas de cultivo e o potencial fotoautotrófico (Alves, G., *et al.*, 2024), porém, estudos sobre combinações de condições de diferentes intensidades luminosas e alterações na concentração de sacarose, ainda não foram

relatados. Desse modo, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o crescimento e desenvolvimento das plantas de abacaxizeiro var. Turiaçu *in vitro* sob o uso de biorreatores de imersão temporária com intensidades luminosas e alteração na concentração de sacarose no meio de cultivo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal e condições de cultivo

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos da Universidade Estadual do Maranhão (LCT-UEMA), em São Luís- MA. As brotações de abacaxizeiro Turiaçu passaram pela fase de multiplicação em meio de cultura MS (Murashige; Skoog, 1962) (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, USA), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose (Isofar®, Duque de Caxias, Brasil), 100 mg L⁻¹ de mio-inositol (Sigma-Aldrich®), 2 µM de ácido naftalenoacético (ANA, Sigma-Aldrich®) e 4 µM de 6-benzilaminopurina (BAP, Sigma-Aldrich®) e solidificado com 2,0 g L⁻¹ de Phytigel (Sigma-Aldrich®), contidos em frascos de 350 mL vedados com tampas de polietileno transparentes (Figura 1A), cujo o pH foi ajustado para 5,7 ± 0,1, autoclavado a 121 °C e 1 atm durante 15 minutos.

Figura 1 - Micropropagação de abacaxizeiro Turiaçu (A) fase de multiplicação em frascos de cultivo e (B) após 50 dias da transferência do frasco para o Biorreator de Imersão Temporária (BIT Plantform®). Barra = 2 cm.



Os frascos foram armazenados em sala de crescimento sob condições controladas, a 25 ± 2 °C de temperatura e irradiância de 71 µmol m⁻² s⁻¹ proveniente de duas lâmpadas LEDs (diodos emissores de luz) de cor branco (Tubular T8 Led, 20w, Empalux®, Brasil), para posterior transferência dos explantes para os biorreatores de imersão temporária (BIT's).

Em câmara de fluxo laminar, foi realizada a transferência dos explantes com aproximadamente dois centímetros de comprimento, oriundos do banco de multiplicação para BIT's (Plantform®), contendo 400 mL de meio de cultura líquido, composto por sais e vitaminas MS (Murashige e Skoog, 1962) (Sigma-Aldrich®), com adição 100 mg L⁻¹ de mio-inositol (Sigma-Aldrich®, 2,7 µM de ANA, e 0 e 15 g L⁻¹ de sacarose (Figura 1B). O pH do meio de cultura foi ajustado para $5,7 \pm 0,1$, e autoclavado a 121 °C a uma pressão de 1 atm, por 15 minutos.

Os BIT's foram mantidos na sala de crescimento sob temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas de luz, com irradiância fornecida por lâmpadas de Led de cor branca (Tubular T8 Led, 20w, Empalux®, Brasil) de 71 e 116 µmol m⁻² s⁻¹ chegando dentro do biorreator, a depender do tratamento. O tempo de imersão dos explantes em meio de cultivo foi regulado por um cronômetro programável (*timer*), realizado a cada três horas, e os brotos permaneceram em imersão durante 5 minutos.

2.2 Delineamento experimental e variáveis analisadas

Os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial 2 x 2: com duas concentrações de sacarose (0 e 15 g L⁻¹) e duas intensidades luminosas (71 µmol m⁻² s⁻¹ e 116 µmol m⁻² s⁻¹). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições, sendo cada repetição um biorreator de imersão temporária (BIT) com 8 brotos de abacaxizeiro var. Turiaçu.

Após 50 dias de cultivo *in vitro* foram avaliados: comprimento da parte aérea (cm), diâmetro da base da roseta (mm), número de folhas, área foliar (cm²), comprimento da maior raiz (cm), massa fresca da parte aérea (g), massa fresca da raiz (g), massa seca da parte aérea (g) e massa seca da raiz (g); rendimento quântico máximo do fotossistema II (Fv/Fm), energia absorvida por ativo centro de reação (RC/ABS), índice fotossintético (PI); índice estomático (%); pigmentos fotossintéticos: clorofila *a* e *b* e carotenoides (µg mL⁻¹); assimilação fotossintética de CO₂ (A) (µmol m⁻² s⁻¹) e a caracterização anatômica das folhas foi realizada.

2.2.1 Parâmetros de crescimento

O comprimento da parte aérea, diâmetro na base da roseta e o comprimento da maior raiz, foram medidos com auxílio de uma régua e paquímetro digital. A área foliar foi

determinada utilizando o software Image J[®]. A parte aérea e raiz das plantas foram pesadas para obtenção da massa fresca, colocadas em saco de papel separadamente e secos em estufa de ventilação forçada (AmbiKontrol, Arujá, SP, Brasil) a 60 °C até massa constante para obtenção da massa seca. O material vegetal foi pesado com auxílio de uma balança de precisão.

2.2.2 Índice estomático

Para avaliar o índice estomático, foram preparadas lâminas de vidro com a impressão epidérmica abaxial da quinta folha do ápice para base, denominada folha “D”, utilizando adesivo instantâneo (SuperBonder[®]). As impressões foram examinadas por intermédio de um microscópio de luz (modelo B20T; Bioptika, Colombo, PR, Brasil) com o sistema U-photo acoplado a uma câmera digital (modelo CMOS-5.0; Bioptika, Colombo, PR, Brasil) e um computador com o software Capture V2.1. As imagens capturadas foram processadas pelo software Image J[®] e o índice foi calculado conforme Cutter (1968):

$$\text{Índice Estomático (\%)} = C2 * 100 / (C1 + C2)$$

Em que: C1 = células epidérmicas e C2 = estômatos

2.2.3 Quantificação de pigmentos fotossintéticos

Os teores de pigmentos fotossintéticos foram determinados pelo método espectrofotométrico de extração com o solvente orgânico dimetilsulfóxido (DMSO), saturado com 5 g L⁻¹ de carbonato de cálcio (CaCO₃). Para isso, cinco discos de 5 mm de diâmetro cada da folha “D” foram retirados e acondicionados em tubos de ensaio com tampa de rosca, contendo 5 mL da solução de DMSO e mantidos no escuro por 48 horas, em temperatura ambiente (± 25°C). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (BEL Engineering, UV-M51 UV/Vis Spectrophotometer) nas absorvâncias de 480, 649 e 665 nm (Wellburn, 1994). Os teores de clorofila e carotenoides foram calculados conforme as equações de Wellburn (1994):

$$\text{Clorofila } a \text{ (}\mu\text{g mL}^{-1}\text{)} = 12,19A_{665} - 3,45A_{649}$$

$$\text{Clorofila } b \text{ (}\mu\text{g mL}^{-1}\text{)} = 21,99A_{649} - 5,32A_{665}$$

$$\text{Carotenoides (}\mu\text{g mL}^{-1}\text{)} = (1000A_{480} - 2,14 \text{ Clorofila } a - 70,16 \text{ Clorofila } b) / 220$$

2.2.4 Eficiência fotoquímica

A eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (Fv/Fm), índice fotossintético (PI) e densidade de centros de reação ativos do PS II (RC/ABS) foram medidos após uma adaptação ao escuro das plantas por 30 min. Esta adaptação foi realizada para que os centros de reações estivessem completamente abertos com uma perda mínima de calor. As avaliações foram realizadas na folha “D”, usando um fluorímetro não modulado (Pocket PEA; Plant Efficiency Analyzer, Hansatech, King's Lynn, Reino Unido) aplicando um pulso de luz saturante de $3500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Gonçalves *et al.*, 2010).

2.2.5 Assimilação fotossintética de CO₂

A assimilação fotossintética de CO₂ (A) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foi determinada utilizando o analisador de gás no infravermelho (IRGA, Infrared Gas Analyzer, LI-6400 XT, Licor Ltda, USA) em plantas recém retiradas da condição *in vitro*, utilizando As avaliações foram feitas 2 horas após os LEDs da sala de crescimento serem ligados e as leituras realizadas na folha “D” e com uma intensidade luminosa de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

2.2.6 Caracterização anatômica foliar

Para caracterização anatômica estrutural, foram utilizadas amostras de 0,5 cm da parte mediana da folha “D”, fixadas em solução de FAA (formalina: ácido acético: 50% álcool etílico na proporção 1:1:18), conforme Johansen (1940). Após a fixação, as amostras foram desidratadas em séries etanólicas crescentes (30, 40, 50, 60, 70, 80, 85, 90 e 95%) e incluídas em resina acrílica (Historesin; Leica Instruments, Jena, Alemanha). Cortes transversais de 6 μm de espessura foram obtidos em micrótomo rotativo semiautomático (modelo MRP2015, Lupetec Tecnologia Aplicada, São Carlos, SP, Brasil) e corados com azul de toluidina (pH 3,2). As lâminas foram montadas e as imagens capturadas utilizando um microscópio de luz (modelo B20T; Bioptika, Colombo, PR, Brasil) com o sistema U-photo, acoplado a uma câmera fotográfica digital (modelo CMOS-5.0; Bioptika, Colombo, PR, Brasil) e computador com software Capture V2.1.

2.3 Análises estatísticas

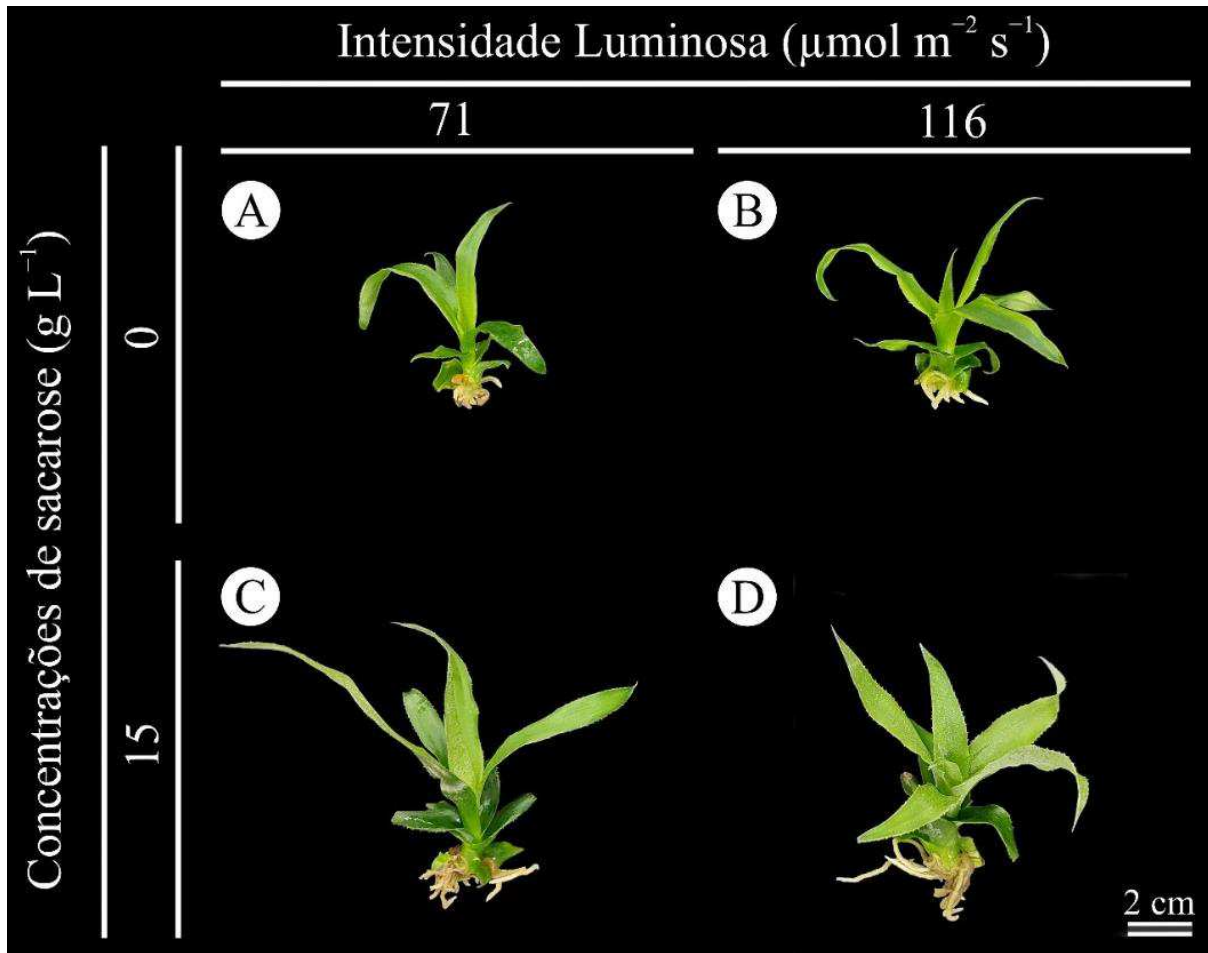
Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk, as diferenças significativas foram determinadas por análise de variância (ANOVA) e foi aplicado o teste de médias (Tukey a 5% de probabilidade) utilizando o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2011).

3 RESULTADOS

3.1 Parâmetros de crescimento

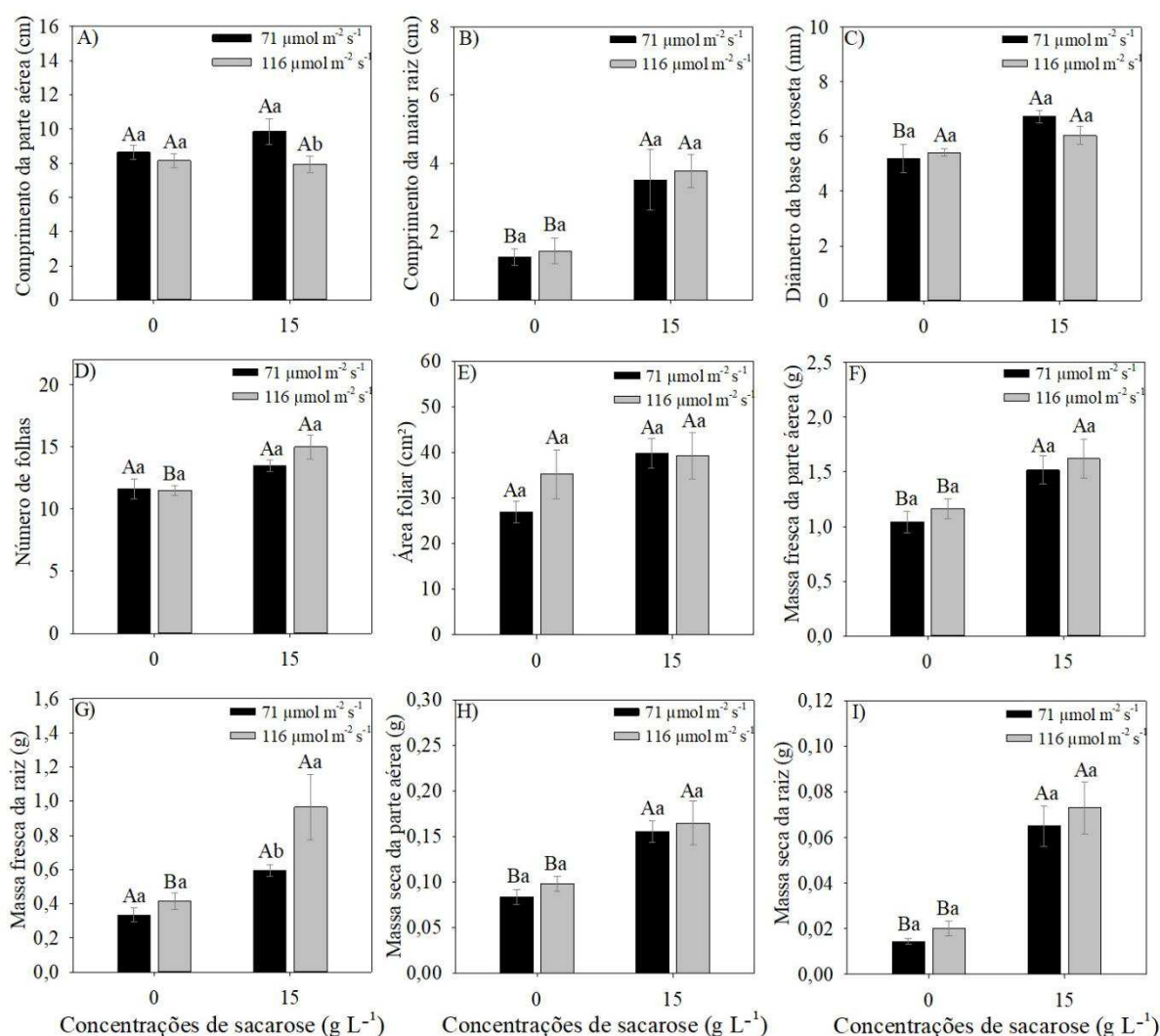
As plantas de abacaxizeiro var. Turiaçu cultivadas *in vitro* apresentaram variações morfofisiológicas influenciadas pela intensidade luminosa e pela presença de sacarose no meio de cultivo (Figura 2). A ausência de sacarose limitou o desenvolvimento das plantas, mas nessas condições, a maior irradiância, $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, promoveu um maior número de folhas e raízes (Figura 2B). No geral, a coloração verde mais intensa, maior número de folhas e raízes, maior vigor e robustez foram observados em plantas cultivadas em fotomixotrofia. Folhas mais alongadas foram observadas na combinação de 15 g L^{-1} de sacarose e $71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 2C) uma maior massa de raízes, em plantas sob 15 g L^{-1} de sacarose e $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 2D). Isto evidencia que a sacarose foi determinante para o maior acúmulo de biomassa dos abacaxizeiros cv. Turiaçu.

Figura 2 - Plantas *in vitro* de abacaxizeiro var. Turiagu: (A) ausência de sacarose sob $71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e (B) sob $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, (C) com 15 g L^{-1} de sacarose sob $71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e (D) sob $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Barras = 2 cm.



O comprimento da parte aérea não foi afetado pela sacarose. No entanto, plantas sob 15 g L^{-1} de sacarose na intensidade de $71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ apresentaram comprimento da parte aérea ~24% maior do que em plantas sob $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de irradiância (Figura 3A, 2C). O comprimento da maior raiz foi ~179% e 167% maior em plantas cultivada em 15 g L^{-1} de sacarose sob 71 e $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente (Figura 3B). Em plantas sob $71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 116 de irradiância, a sacarose promoveu um aumento respectivo de ~45% e 40% para massa fresca da parte aérea (Figura 3F), ~88% e 78% para massa seca da parte aérea (Figura 3H) e 5x e 2,5x para massa fresca da raiz (Figura 3I), em comparação àquelas cultivadas sem sacarose sob mesma irradiância.

Figura 3 - Parâmetros de crescimento de abacaxizeiro var. Turiagu após 50 dias de cultivo *in vitro* sob diferentes concentrações de sacarose (0 e 15 g L^{-1}) e intensidades luminosas ($71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). (A) comprimento da parte aérea, (B) comprimento da maior raiz, (C) diâmetro da base da roseta, (D) número de folhas, (E) área foliar, (F) massa fresca da parte aérea, (G) massa fresca da raiz, (H) massa seca da parte aérea e (I) massa seca da raiz. Letras maiúsculas comparam as concentrações de sacarose na mesma intensidade luminosa, enquanto as minúsculas comparam as intensidades luminosas na mesma concentração de sacarose (teste de Tukey; $p \leq 0,05$). As barras representam o erro padrão ($n = 4$).

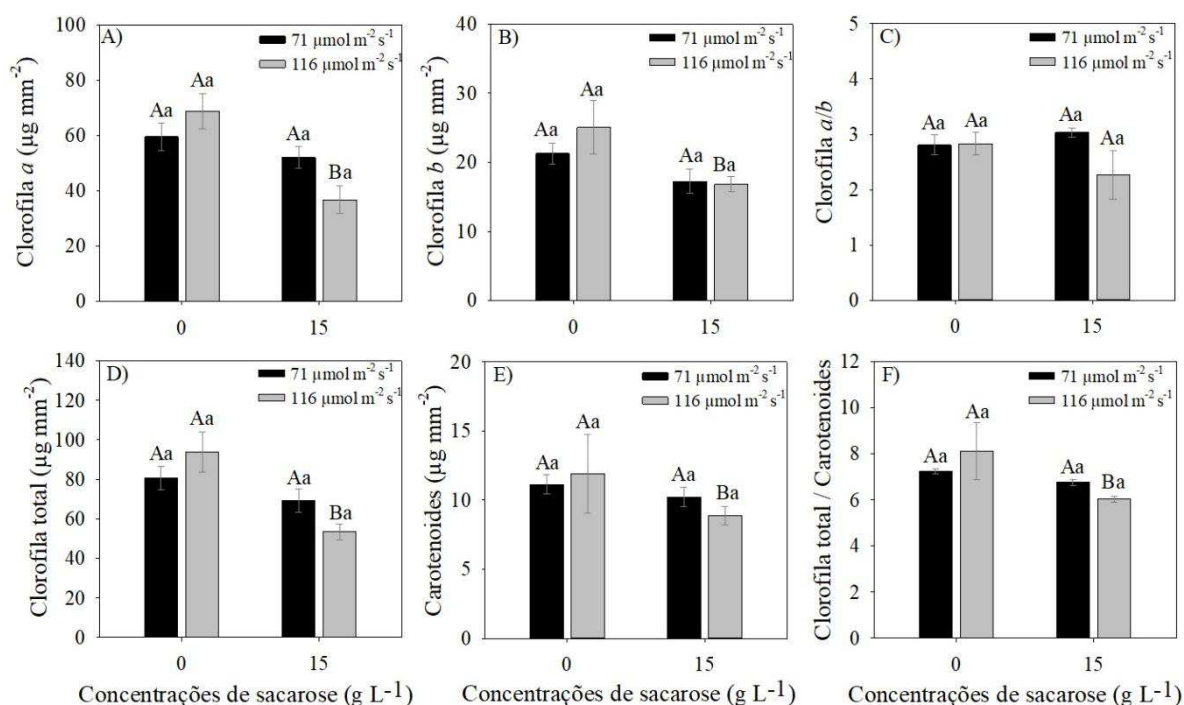


Para área foliar, as plantas de abacaxizeiro var. Turiçu não apresentaram diferenças significativas entre as concentrações de sacarose (0 e 15 g L⁻¹) e intensidades luminosas (71 e 116 μmol m⁻² s⁻¹), que variaram de 26 a 36 cm² (Figura 3E). A sacarose afetou o diâmetro da base da roseta e o número de folhas. Quando cultivadas em 15 g L⁻¹ de sacarose sob 71 μmol m⁻² s⁻¹, as plantas de abacaxizeiro apresentaram diâmetro da base da roseta ~29% maior, diferindo-se das plantas do tratamento de mesma irradiância e 0 g L⁻¹ de sacarose (Figura 3C). Quando cultivadas em 15 g L⁻¹ de sacarose sob 116 μmol m⁻² s⁻¹, as plantas de abacaxizeiros apresentaram um aumento de ~30% no número de folhas (Figura 3D) e ~134% na massa fresca da raiz (Figura 3G, 2D), quando comparado àquelas cultivadas sem sacarose.

3. 2 Pigmentos fotossintéticos

As plantas cultivadas no sistema fotoautotrófico (0 g L^{-1} de sacarose), quando combinados a intensidade luminosa de $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, apresentaram maiores teores de clorofila *a* ($\sim 86\%$) (Figura 4A), clorofila *b* ($\sim 49\%$) (Figura 4B), clorofila total ($\sim 77\%$) (Figura 4D), carotenoides ($\sim 40\%$) (Figura 4E) e clorofila total/carotenoides ($\sim 27\%$), em comparação àquelas cultivadas no sistema fotomixotrófico com 15 g L^{-1} de sacarose sob mesma irradiância (Figura 4F). Para Clorofila *a/b*, os tratamentos não apresentaram interações significativas entre as concentrações de sacarose (0 e 15 g L^{-1}) e intensidades luminosas (71 e $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), que variaram de $2,8$ a $3,0 \mu\text{g mm}^{-2}$ (Figura 4C).

Figura 4 - Parâmetros fisiológicos do abacaxizeiro var. Turiçu após 50 dias de cultivo *in vitro* sob diferentes concentrações de sacarose (0 e 15 g L^{-1}) e intensidades luminosas ($71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). (A) Clorofila *a*, (B) Clorofila *b*, (C) Clorofila *a/b*, (D) Clorofila total, (E) Carotenoides e (F) Clorofila total/Carotenoides. Letras maiúsculas comparam as concentrações de sacarose na mesma intensidade luminosa, enquanto as minúsculas comparam as intensidades luminosas na mesma concentração de sacarose (teste de Tukey; $p \leq 0,05$). As barras representam o erro padrão ($n = 4$).

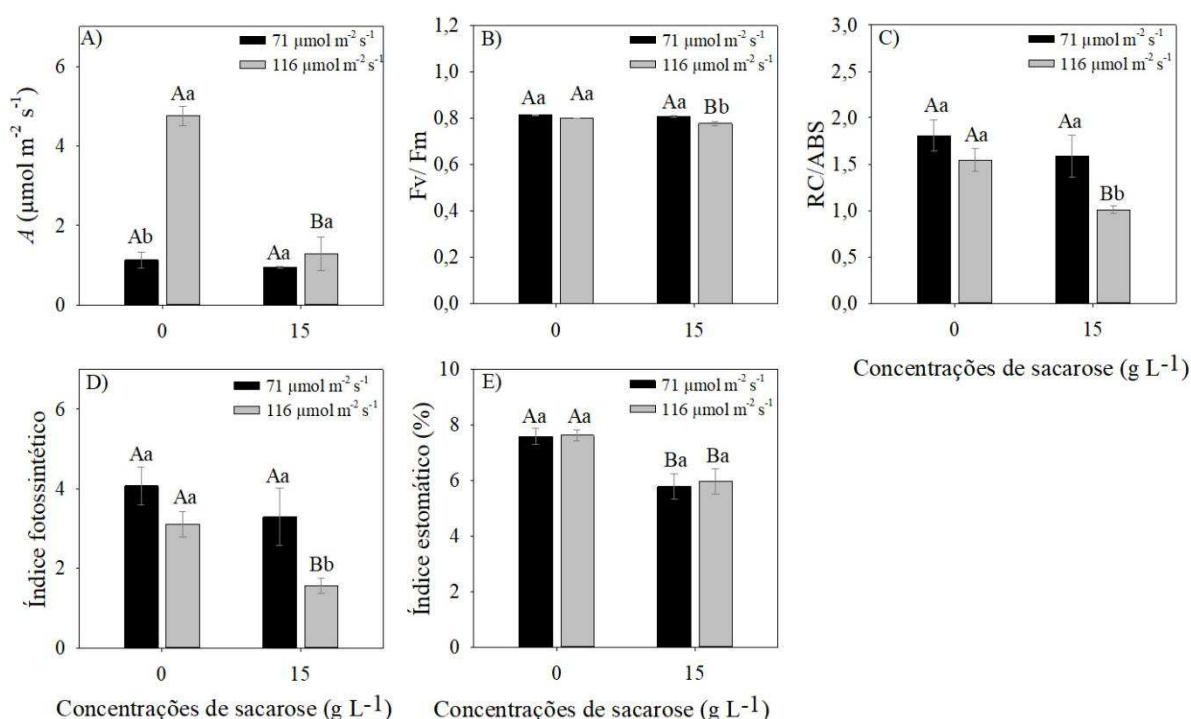


3. 3 Parâmetros fisiológicos

As variáveis assimilação fotossintética de CO₂ (*A*), *Fv/Fm*, *RC/ABS* e índice fotossintético, foram afetadas pela sacarose e pelas intensidades luminosas. Para *A*, o cultivo fotoautotrófico sob $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ conferiu às plantas um aumento de $\sim 260\%$, em relação

àquelas cultivadas sob $71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $\sim 270\%$ àquelas sob $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ com 15 g L^{-1} de sacarose (Figura 5A).

Figura 5 - Parâmetros fisiológicos do abacaxizeiro var. Turiagu após 50 dias de cultivo *in vitro* sob diferentes concentrações de sacarose (0 e 15 g L^{-1}) e intensidades luminosas ($71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). (A) assimilação fotossintética de CO_2 (A), (B) rendimento quântico máximo do fotossistema II (Fv/Fm), (C) energia absorvida por ativo centro de reação (RC/ABS), (D) índice fotossintético e (E) índice estomático. Letras maiúsculas comparam as concentrações de sacarose na mesma intensidade luminosa, enquanto as minúsculas comparam as intensidades luminosas na mesma concentração de sacarose (teste de Tukey; $p \leq 0,05$). As barras representam o erro padrão ($n = 4$).



No cultivo fotoautotrófico sob $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, para Fv/Fm, o aumento foi de $\sim 2,6\%$ (Figura 5B), para RC/ABS, de 54% (Figura 5C) e para o índice fotossintético, de $\sim 100\%$ (Figura 5D), em relação às cultivadas sob mesma irradiância em condições fotomixotróficas com 15 g L^{-1} de sacarose (Figura 5A). Para estas, com 15 g L^{-1} de sacarose, a irradiância de $71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ foi superior significativamente à de $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 5), sendo o aumento de $\sim 5\%$ para Fv/Fm, 58% de RC/ABS, de 112% para o índice fotossintético.

Para todas as variáveis fisiológicas estudadas, com exceção do índice estomático, as plantas no sistema fotomixotrófico e fotoautotrófico sob intensidade luminosa de $71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ não apresentaram diferenças significativas. O índice estomático foi afetado apenas pela sacarose (Figura 5E), onde a sacarose promoveu um aumento respectivo de $\sim 31\%$ e 27% nas irradiâncias de 71 e $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

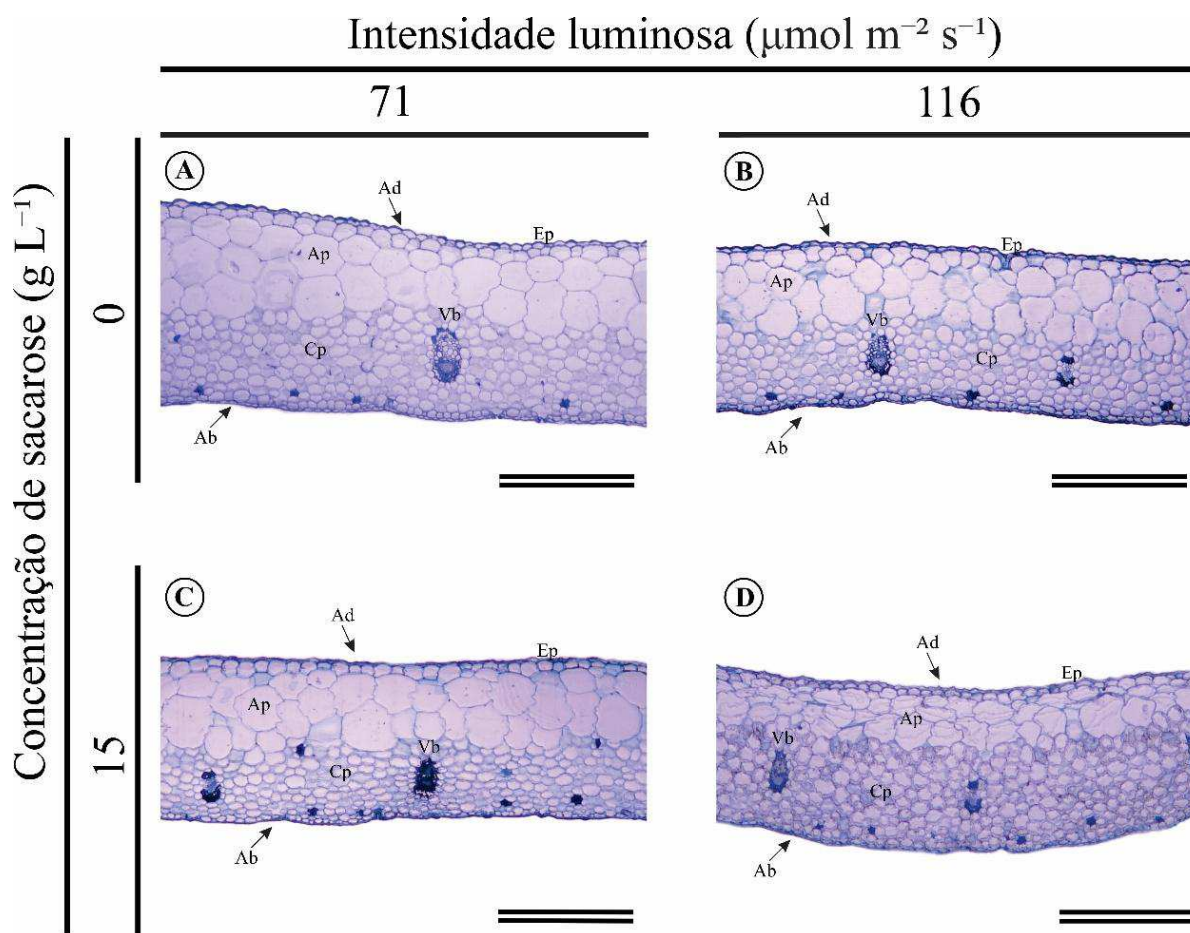
3. 4 Caracterização anatômica foliar

Plantas de abacaxizeiro var. Turiaçu *in vitro* apresentaram limbo foliar com epiderme unisseriada nas duas superfícies (adaxial e abaxial), com parênquima aquífero e parênquima clorofiliano, onde localizaram-se os feixes vasculares (xilema e floema) e fibras. Esta organização dos tecidos foi influenciada pelas diferentes concentrações de sacarose (0 e 15 g L⁻¹) e intensidades luminosas (71 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 116 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), que apresentaram diferenças quanto a forma e arranjo das células da epiderme adaxial e abaxial, dos parênquimas aquíferos e clorofilianos, bem como a espessura total das folhas (Figura 6).

Na intensidade luminosa de 71 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ sem sacarose, a espessura total da folha foi superior as demais (Figura 6A). Nesta condição, as células do parênquima aquífero apresentaram maior volume e foram dispostas de maneira mais irregular que as células do parênquima clorofiliano, que apresentam menores dimensões, são mais compactas e arredondadas. Em contraste, na condição de 15 g L⁻¹ de sacarose sob 71 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de irradiância, as células do parênquima clorofiliano apresentaram-se mais compactadas e comprimidas, o que sugere uma maior densidade celular (Figura 6C).

A ausência de sacarose combinada com 116 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de irradiância resultou em células do parênquima aquífero mais expandidas (Figura 6B) se comparadas as plantas submetidas ao tratamento com 15 g L⁻¹ de sacarose, que se apresentaram bem células mais comprimidas e justapostas (Figura 6D). Além disso, na combinação de 15 g L⁻¹ de sacarose e 116 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de irradiância, exclusivamente, verificou-se o que parece ser o espessamento da parede celular das células da epiderme, parênquimas, sobretudo do parênquima clorofiliano (Figura 6D).

Figura 6 - Anatomia foliar de abacaxizeiro var. Turiçu após 50 dias de cultivo *in vitro* (A) com ausência de sacarose sob $71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e (B) sob $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, (C) com 15 g L^{-1} de sacarose sob $71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e (D) sob $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Ep: epiderme; Ab: epiderme abaxial; Ad: epiderme adaxial; Ap: parênquima aquífero; Cp: parênquima clorofiliano; Vb: feixes vasculares. Barras = $200 \mu\text{m}$.



4 DISCUSSÃO

Compreender como a combinação de sacarose (15 g L^{-1}) e os níveis de intensidade luminosa (71 e $116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) afetam o cultivo *in vitro* de abacaxizeiro var. Turiçu é essencial para otimizar um protocolo de micropropagação que permita a produção de plantas em larga escala. Nossos resultados demonstraram com clareza que o cultivo fotomixotrófico com 15 g L^{-1} de sacarose impulsionou o crescimento e desenvolvimento das plantas, independente da intensidade luminosa.

A sacarose pode atuar na geração de energia e servir como fonte de esqueletos carbônicos para processos biossintéticos envolvidos na diferenciação celular e no crescimento dos explantes, resultando no aumento substancial da biomassa vegetal (Kozai, 1991;

Muthoharoh *et al.*, 2019), além de atuar como regulador osmótico no meio de cultura (Mamdouh e Smetanska, 2022).

Contudo, no cultivo *in vitro*, a sacarose não é a fonte imediata de carbono para os tecidos cultivados (Borkowska e Szczerba, 1991), mas sim a glicose e a frutose, hexoses monossacarídicas resultantes da hidrólise da sacarose, por enzimas chamadas invertases ácidas ou sacarases, presentes na parede celular, pela via apoplástica (Wu *et al.*, 2021). A glicose e frutose são utilizadas como substratos para diversos processos metabólicos, como na síntese de ácidos graxos (Zhai *et al.*, 2021), açúcares mais complexos e aminoácidos (Granot, David-Schwartz e Kelly, 2013), além da biossíntese de hormônios vegetais (Choi, 2024). A glicose também é utilizada na respiração celular (Ciclo de Krebs), fornecendo ATP, que é a principal fonte de energia para os processos metabólicos da célula (Taiz *et al.*, 2017).

Em consonância com estudos anteriores de micropropagação do abacaxizeiro cv. Imperial (Silva, A., *et al.*, 2014), batata (Bandinelli *et al.*, 2013), coentro-maranhense (Silva, D. *et al.*, 2024) e com próprio abacaxizeiro var. Turiaçu (Alves, G., *et al.*, 2024), nossos achados evidenciam que a sacarose foi determinante para o maior acúmulo de biomassa das plantas ao propiciar o aumento de massa fresca e seca da parte aérea e radicular, ainda que tenha reduzido a atividade fotossintética das plantas, quando comparada com as plantas cultivadas no sistema fotoautotrófico. Este comportamento pode indicar que a presença da sacarose afetou negativamente a atividade do aparelho fotossintético das plantas (Lobo *et al.*, 2015) alterando seu funcionamento. Ou ainda, que a sacarose tenha desacoplado a fotossíntese do crescimento vegetal, uma vez que o desenvolvimento das plantas não dependeu diretamente da atividade fotossintética, sugerindo uma desassociação entre crescimento e fotossíntese (Ševčíková *et al.*, 2018).

De fato, a sacarose pode restringir a eficiência fotossintética das plantas cultivadas *in vitro*, haja vista que a necessidade de fixação de CO₂ atmosférico diminui, levando a uma menor atividade do aparato fotossintético e como consequência, há a redução de níveis de clorofila e outros parâmetros fisiológicos (Gago *et al.*, 2014), fato observado em nosso estudo. Por outro lado, a ausência da sacarose implicou na maior absorção dos pigmentos e melhor desempenho fotossintético. Possivelmente, as plantas aprimoraram sua capacidade fotossintética por não terem a sacarose disponível no meio de cultura, sendo a fotossíntese o único caminho para a fixação de carbono (Kozai e Kubota, 2005; Askari, Aliniaieifard, e Visser, 2022).

O índice fotossintético fornece informações quantitativas sobre o estado atual da atividade fotoquímica da planta sob condições de estresse a partir da avaliação dos fotossistemas II e I, com a principal vantagem de poder indicar um estresse na planta antes mesmo do aparecimento dos sintomas (Couto *et al.*, 2014). Enquanto o índice estomático representa o investimento da planta na produção de estômatos em relação ao total de células epidérmicas (Zhu, C., *et al.*, 2021). Os estômatos são essenciais para que a fotossíntese ocorra, pois permitem a entrada de CO₂ nas células. O aumento no número de estômatos observado nos tratamentos fotoautotróficos, constitui de uma adaptação funcional para otimizar a eficiência de assimilação de CO₂ (Zhu, M., *et al.*, 2015).

Embora, a sacarose tenha afetado o funcionamento do aparato fotossintético das plantas, nossos resultados não sugerem que a sacarose foi um fator estressante, pois não limitou o crescimento e o acúmulo de biomassa dos abacaxizeiros var. Turiaçu. Sugerem, portanto, que o aparelho fotossintético das plantas sobre fotomixotrofia, foi menos estimulado a produzir estômatos e realizar fotossíntese, haja vista que a sacarose serviu como fonte de esqueletos carbônicos e forneceu energia aos abacaxizeiros, função atribuída ao aparato fotossintético.

Assim como a presença de sacarose, a intensidade e qualidade da radiação emitida pelas lâmpadas desempenham um papel fundamental no crescimento e na fotossíntese das plantas *in vitro* (Tang *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2024). O excesso, a ausência ou a baixa disponibilidade de luz pode comprometer significativamente ambos os processos, especialmente em condições de cultivo *in vitro* (Cavallaro *et al.*, 2022). Em resposta a ambientes com baixa intensidade luminosa, as plantas podem desenvolver mecanismos adaptativos que favoreçam o alongamento da parte aérea, como forma de maximizar a captação de luz (Tang *et al.*, 2022). Sob essa perspectiva, podemos atribuir o maior comprimento da parte aérea das plantas de abacaxizeiro var. Turiaçu observados no cultivo fotomixotrófico (15 g L⁻¹ de sacarose) sob menor irradiância (71 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a uma estratégia para ampliar a área de interceptação luminosa.

Ademais, a irradiância altera a anatomia foliar e a alta irradiância favorece a maior diferenciação e organização dos tecidos (Erig e Schuch, 2005). De fato, observamos que as irradiâncias utilizadas (71 e 116 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), juntamente com as concentrações de sacarose (0 e 15 g L⁻¹), afetaram de forma positiva a anatomia foliar dos abacaxizeiros var. Turiaçu. Em todas as combinações, as folhas de abacaxizeiro var. Turiaçu apresentaram uma diferenciação bem marcante entre os parênquimas aquífero e clorofiliano *in vitro*, igualmente observado por Barboza *et al.* (2006) no abacaxizeiro cv. Pérola.

A maior espessura do parênquima clorofiliano em relação ao aquífero, em plantas sob maior irradiância sugere maior capacidade fotossintética (Silva, A., *et al.*, 2014) pois as células do parênquima clorofiliano são ricas em cloroplastos, responsáveis pela absorção de luz para o processo de fotossíntese (Appezzato-da-Glória e Carmello-Guerreiro, 2006). Em contrapartida, constatamos a maior espessura do parênquima clorofiliano (em relação ao aquífero) nas plantas submetidas a combinação de sacarose e maior irradiância estudada ($116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e esta condição não favoreceu o potencial fotossintético dessas plantas (Figura 5A, 6D).

5 CONCLUSÃO

O abacaxizeiro var. Turiaçu apresenta potencial fotoautotrófico. No entanto, sob condições fotomixotróficas, a combinação de 15 g L^{-1} de sacarose e $71 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de intensidade luminosa foi a mais eficiente para a micropropagação, pois conferiu às plantas maior qualidade morfológica, fisiológica e anatômica. Este estudo é pioneiro ao abordar a interação entre diferentes intensidades luminosas e concentrações de sacarose em biorreatores de imersão temporária para o cultivo *in vitro* dessa variedade. Os resultados obtidos fornecem valiosos subsídios para pesquisas futuras sobre a micropropagação do abacaxizeiro var. Turiaçu, além de contribuir para sua conservação e para o fortalecimento da cadeia produtiva dessa importante variedade maranhense.

REFERÊNCIAS

- ALVES, G. L. *et al.* Photoautotrophic potential and photosynthetic competence in *Ananas comosus* [L]. Merr. cultivar Turiaçu in *in vitro* culture systems. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 60, n.1, p. 1-16, 2024. DOI: 10.1007/s11627-02310410-z
- ALVES, J. de P. *et al.* Morphophysiology of *Ananas comosus* during *in vitro* photomixotrophic growth and *ex vitro* acclimatization. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 59, p. 106–120, 2022. DOI: 10.1007/s11627-022-10321-5
- ARAUJO, J. R. G. *et al.* Abacaxi 'Turiaçu': cultivar tradicional nativa do Maranhão. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4, p. 1270-1276, 2012. DOI: 10.1590/S0100-29452012000400037
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia Vegetal**. 3^a ed. Viçosa: Editora UFV, 2006.
- ASKARI, N.; ALINIAEIFARD, S.; VISSER, R.G.F. Low CO₂ levels are detrimental for *in vitro* plantlets through disturbance of photosynthetic functionality and accumulation of reactive oxygen species. **Horticulturae**, v. 8, ed. 1, 2022. DOI: 10.3390/horticulturae8010044
- BARBOZA, S. B. S. C. *et al.* Anatomia foliar de plantas micropropagadas de abacaxi. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.41, p. 185-194, 2006. DOI: 10.1590/S0100-204X2006000200002
- BANDINELLI, M. G. *et al.* Concentração dos sais e da sacarose do meio MS na multiplicação *in vitro* e na aclimatização de batata. **Horticultura Brasileira**, v. 31, p. 242-247, 2013. DOI: 10.1590/S0102-05362013000200011
- BELLO- BELLO, J. J; MANCILLA-ÁLVAREZ, E.; SPINOSO-CASTILLO, J. Scaling-up procedures and factors for mass micropropagation using temporary immersion systems. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**. 61, 2025. DOI: 10.1007/s11627-024-10480-7.
- BORKOWSKA, B.; SZCZERBA, J. Influence of Different Carbon Sources on Invertase Activity and Growth of Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.) Shoot Cultures. **Journal of Experimental Botany**, v 42, p. 911–915, 1991. DOI: 10.1093/jxb/42.7.911
- CAVALLARO, V. *et al.* Light and Plant Growth Regulators on *In Vitro* Proliferation. **Plants**, v. 11, 2022. DOI: 10.3390/plants11070844
- CHOI, H. W. From the photosynthesis to hormone biosynthesis in plants. **Plant Pathology Journal**, v. 40, n. 2, p. 99–105, 2024. DOI: 10.5423/PPJ.RW.01.2024.0006
- COUTO, T. R. *et al.* 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, p. 459-466. 2014. DOI: 10.1590/0100-2945-167/13

CUTTER E. G. **Anatomia vegetal: Parte I - Células e tecidos**, 2 ed. São Paulo: Roca, p. 304, 1986.

DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M.W. Multiplicação fotoautotrófica de mirtilo através do uso de luz natural. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.2, p.482-487, 2008. DOI: 10.1590/S0100-29452008000200037

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Micropropagação fotoautotrófica e o uso da luz natural. **Ciência Rural**, Pelotas, v. 35, p. 961-965, 2005. DOI: 10.1590/S0103-84782005000400039

FAO - ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO. FAOSTAT. (2023) Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. Acesso em: 17.02.2025.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FUENTES, G. *et al.* Low exogenous sucrose improves *ex vitro* growth and photosynthesis in coconut *in vitro* plantlets if grown *in vitro* under high light. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.748, p.151-156, 2007. DOI: 10.17660/ActaHortic.2007.748.18

GAGO, J. *et al.* Modeling the Effects of Light and Sucrose on In Vitro Propagated Plants: A Multiscale System Analysis Using Artificial Intelligence Technology. **Plos One**, v. 9, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0085989

GONÇALVES, J. F. C. *et al.* Análise dos transientes da fluorescência da clorofila a de plantas jovens de *Carapa guianensis* e de *Dipteryx odorata* submetidas a dois ambientes de luz. **Acta Amazonica**, v. 40, n. 1, p. 89-98, 2010.

GRANOT, D.; DAVID-SCHWARTZ, R.; KELLY, G. Hexose kinases and their role in sugar-sensing and plant development. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 44, 2013.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola, Pesquisa Mensal de Previsão e Acompanhamento de Safras Agrícolas, 2023. Rio de Janeiro: IBGE, 2025a.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal 2023. Rio de Janeiro: IBGE, 2025b.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940.

KOZAI, T. Micropropagação em condições fotoautotróficas. *In*: Debergh, P.C., Zimmerman, R. H. (eds) **Micropropagação**. Dordrecht: Springer, 1991. DOI: 10.1007/978-94009-2075-0_26

KOZAI, T.; KUBOTA, C. Concepts, definitions, ventilation methods, advantages and disadvantages. *In*: KOZAI, T.; AFREEN, F.; ZOBAYED, S. M. A. (Eds.). **Photoautotrophic (Sugar-free medium) micropropagation as a new micropropagation and transplant production system**. Springer, 2005.

- LOBO, A. K. M. *et al.* Exogenous sucrose supply changes sugar metabolism and reduces photosynthesis of sugarcane through the down-regulation of Rubisco abundance and activity. **Journal of Plant Physiology**, v. 179, p. 113-121, 2015. DOI:10.1016/j.jplph.2015.03.007
- MAMDOUH, D.; SMETANSKA, I. Optimization of Callus and Cell Suspension Cultures of *Lycium schweinfurthii* for Improved Production of Phenolics, Flavonoids, and Antioxidant Activity. **Horticulturae**, v. 8, n. 394, 2022. DOI: 10.3390/horticulturae8050394
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia plantarum**, Rehovot, v.15, p.473-97, 1962.
- MUTHOHAROH, L. *et al.* Effect of Carbon Source on Biomass and Flavonoid Content of *Gynuraproscumbens* (Lour.) Merr Adventitious Root in Liquid Culture. **Biosci Biotech Res Asia**, v. 16, n. 1, 2019. DOI: 10.13005/bbra/2729
- REIS, F. de O. *et al.* Fruit quality of a traditional pineapple cultivar (Turiaçu) compared to the most popular cultivar (Pérola) in Brazil. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v.13, n.4, p.546-551, 2019.
- REIS, F. de O. *et al.* Ecophysiological responses of ‘Turiaçu’ pineapple plants at vegetative and reproductive stages to soil fertilization and crop location. **Ciência Rural**, v.54, n. 4, 2024. DOI: 10.1590/0103-8478cr20220592
- REINHARDT, D. H. R. C. *et al.* Advances in pineapple plant propagation. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 40, n.6 e-302, 2018. DOI: 10.1590/0100-29452018302
- RUAN, Y.-L. *et al.* Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase: roles in development, yield potential, and response to drought and heat. **Molecular Plant**, Oxford, v. 3, n. 6, p. 942–955, 2010. DOI: 10.1093/mp/ssq044
- RUAN, Y.-L. Sucrose Metabolism: Gateway to Diverse Carbon Use and Sugar Signaling. **Annual Review of Plant Biology**, v. 65, p. 33–67, 2014. DOI: 10.1146/annurev-arplant-050213-040251
- ŠEVČÍKOVÁ, H. *et al.* Mixotrophic *in vitro* cultivations: the way to go astray in plant physiology. **Physiologia Plantarum**, v. 167, p. 365–377, 2018. DOI: 10.1111/pp.12893
- SILVA, A. B. da. *et al.* Efeito da luz e do sistema de ventilação natural em abacaxizeiro (Bromeliaceae) micropropagado. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 2, p. 380-386, 2014.
- SILVA, A. B. da. *et al.* Morfofisiologia e anatomia foliar de mudas micropropagadas e aclimatizadas de abacaxizeiro cv. Smooth Cayenne em diferentes substratos. **Revista Ceres**, v. 59, 2012.
- SILVA, D. R. *et al.* Unlocking the Potential of In Vitro Photoautotrophy for *Eryngium foetidum*: Biomass, Morphophysiology, and Acclimatization. **Horticulturae**, v. 10, n. 1, p. 107, 2024. DOI: 10.3390/horticulturae10010107

- SILVA-MORAES, V. K. de O. *et al.* Induction of nodular clusters with putrescine improves microshoot regeneration of *Ananas comosus* cv. Turiaçu. **South African Journal of Botany**, v. 173, p. 312–319, 2024. DOI: 10.1016/j.sajb.2024.03.037.
- SOUZA, A. E.; SILVA, M. V. da; FEISTEL, P. R. Distribuição espacial da produção de abacaxi no Brasil com ênfase na Paraíba no período de 2003 a 2017. **Revista Econômica do Nordeste**, v. 51, n. 4, p. 47–66, 2021. DOI: 10.61673/ren.2020.1026
- SOUZA, L. M. de. *et al.* Influência da sacarose no crescimento e no perfil de pigmentos fotossintéticos em duas espécies arbóreas cultivadas *in vitro*. **Revista Brasileira de Desenvolvimento**, v. 1, p. 1916–1626, 2020. DOI: 10.34117/bjdv6n1-135
- TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.
- TANG, W. *et al.* Effect of Light Intensity on Morphology, Photosynthesis and Carbon Metabolism of Alfalfa (*Medicago sativa*) Seedlings. **Plants**, v. 11, n. 1688, 2022. DOI: 10.3390/plants11131688
- TRAUGER, M. *et al.* CO₂ supplementation eliminates sugar-rich media requirement for plant propagation using a simple inexpensive temporary immersion photobioreactor. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.150, p. 57–71, 2022. DOI: 10.1007/s11240-021-02210-3
- VENDRAME, W.A.; XU, J.; BELESKI, D. Evaluation of the Effects of Culture Media and Light Sources on *In Vitro* Growth of *Brassavola nodosa* (L.) Lindl. Hybrid. **Horticulturae**, v. 8, p. 450, 2022. DOI: 10.3390/horticulturae8050450
- WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, v. 144, p. 307-313. 1994.
- WU, Y. *et al.* Change in Sucrose Cleavage Pattern and Rapid Starch Accumulation Govern Lily Shoot-to-Bulblet Transition *in vitro*. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 564713, 2021. DOI: 10.3389/fpls.2020.564713.
- ZHAI, Z. *et al.* The role of sugar signaling in regulating plant fatty acid synthesis. **Frontiers in Plant Science**, 12: 643843, 2021.
- ZHANG, Y. *et al.* Manipulation of artificial light environment improves plant biomass and fruit nutritional quality in tomato. **Journal of Advanced Research**, 2024. DOI: 10.1016/j.jare.2024.11.030
- ZHU, M. *et al.* Linking osmotic adjustment and stomatal characteristics with salinity stress tolerance in contrast ing barley accessions. **Functional Plant Biol**, v. 42, n. 3, p. 252–263, 2015. DOI: 10.1071/FP14209
- ZHU, C. *et al.* A Deep Learning-Based Method for Automatic Assessment of Stomatal Index in Wheat Microscopic Images of Leaf Epidermis. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, 2021. DOI: 10.3389/fpls.2021.716784