

# UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS CURSO DE AGRONOMIA

### **RAIZA ALPOIM NEVES**

TEMPO DE PERMANÊNCIA *IN VITRO*, NA FASE DE ALONGAMENTO E ENRAIZAMENTO, NA ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS MICROPROPAGADAS DE ABACAXIZEIRO ORNAMENTAL

> FORTALEZA 2015

### **RAIZA ALPOIM NEVES**

# TEMPO DE PERMANÊNCIA *IN VITRO*, NA FASE DE ALONGAMENTO E ENRAIZAMENTO, NA ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS MICROPROPAGADAS DE ABACAXIZEIRO ORNAMENTAL

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Engenheira Agrônoma.

Orientador Pedagógico: Prof. Dr. Benito Moreira de Azevedo

Orientadora Técnica: Dra. Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho.

### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação Universidade Federal do Ceará Biblioteca de Ciências e Tecnologia

### N427t Neves, Raiza Alpoim.

Tempo de permanência *in vitro*, na fase de alongamento e enraizamento, na aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental / Raiza Alpoim Neves. -2015. 40 f. : il. color.

Monografia (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Engenharia Agrícola, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2015. Orientação: Prof. Dr. Benedito Moreira de Azevedo.

Coorientação: Profa. MSc. Gislane Mendes de Morais.

1. Abacaxi. 2. Plantas - propagação. 3. Tecidos vegetais - cultura e meios de cultura. I. Título.

CDD 631

### **RAIZA ALPOIM NEVES**

# TEMPO DE PERMANÊNCIA *IN VITRO*, NA FASE DE ALONGAMENTO E ENRAIZAMENTO, NA ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS MICROPROPAGADAS DE ABACAXIZEIRO ORNAMENTAL

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Engenheira Agrônoma.

Aprovada em: 23 / 06 / 2015.

# Prof. Dr. Benito Moreira de Azevedo (Orientador Pedagógico) Universidade Federal do Ceará Ma. Gislane Mendes de Morais (Coorientadora) Doutoranda em Eng. Agrícola (PPGEA/UFC) Dra. Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho (Orientadora Técnica) Embrapa Agroindústria Tropical Me. Abelardo Lopes Amaral Neto Doutorando em Eng. Agrícola (PPGEA/UFC)

Bolsista PNPD Capes

### **AGRADECIMENTOS**

A Deus em primeiro lugar, por me dar saúde e determinação para concluir meu curso:

Ao meu pai, Gilson Neves, que, mesmo nas dificuldades, nunca me deixou perder as esperanças e sempre me deu apoio em tudo;

A nova família que tive quando cheguei a Fortaleza, Maria José e seus filhos, que me acolheram junto à sua família com muito carinho;

A minha família, tias, tios, primos e avós, que sempre estiveram presentes torcendo por mim;

Ao meu Orientador Pedagógico, Prof. Benito, pela paciência e pela confiança dedicada;

A minha Orientadora Técnica, Dra. Ana Cristina Portugal, pela calma, paciência e sua competência admirável;

A minha companheira de laboratório Gislane Mendes, que com muita paciência me coordenou na elaboração do trabalho, assim como Myrella e Alexya, que foram essenciais para o meu desenvolvimento;

Ao meu amigo Raul, que sempre esteve presente em todos os momentos, auxiliando no que podia;

Aos amigos Rafaela, Viviane, Deborah, Jaque, Maíra, Marina, Érica, Pedro, Ageu, Fred que estavam sempre por perto, entre outros que de alguma forma contribuíram;

Ao CNPq, pela bolsa concedida que me ajudou no desempenho do meu trabalho.

### **RESUMO**

Visando redução de custos no processo de produção de mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental, este trabalho objetivou desenvolver um protocolo, ajustando o melhor tempo de permanência das brotações, na fase de alongamento e enraizamento in vitro, para aclimatização das mudas. O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Agroindústria Tropical, usando brotações do híbrido A. comosus var. bracteatus x A. comosus var. erectifolius – PL 16 (denominado de acesso D), alongadas e enraizadas em meio de cultura MS adicionado de 0,1 mg L-1 de ácido naftalenoacético (ANA) e aclimatizadas em bandejas de 162 células em substrato HS Florestal por 60 dias em telado. Foram definidos 05 tratamentos T1 (28 dias), T2 (35 dias), T3 (42 dias), T4 (49 dias) e T5 (56 dias), analisados de acordo com o tempo de permanência das culturas in vitro durante a fase de alongamento e enraizamento. As brotações mantidas na fase de alongamento e enraizamento in vitro durante 35 dias apresentaram melhor desenvolvimento para altura, número de folhas, diâmetro do colmo, comprimento de maior raiz, massas frescas das partes aéreas e radicular, durante a aclimatização. Conclui-se que as brotações alongadas e enraizadas durante apenas 35 dias apresentaram desempenho satisfatório na aclimatização.

Palavras chaves: Abacaxi ornamental, cultura de tecidos, micropropagação.

### **ABSTRACT**

In order to reduce the costs of production process of micropropagated seedlings of ornamental pineapple, this study aimed to develop one protocol, fitting the best time of permanence of shoots in the elongation phase and rooting in vitro, for acclimatization of seedlings. The experiment was accomplished with Laboratorio de Cultura de Tecidos Vegetais placed on Embrapa Agroindustria Tropical, using hybrid shoots A. comosus var. bracteatus x A. comosus var. erectifolius - PL 16(called access D), elongated and rooted in the middle of culture MS added 0,1mgL-1of naftalenoacetico acid (ANA) and acclimatized on trays of 162 cell in substrate HS Florestal for 60 days in a greenhouse. The study defined 5 treatments T1(28 days), T2 (35 days), T3 (42 days), T4 (49 days), T5 (56 days), analyzed in accord with the stay time of culturas in vitro during elongation and rooting. The shoots which were kept in elongation and rooting phase in vitro for 35 days showed better development for height, number of leaves, colmo diameter, lenght of bigger root, fresh pasta of aérea and root part, during the acclimatization. The investigation concludes that the elongated and rooted shoots in 35 days only showed satisfastory performance in acclimatization.

Key-words: Ornamental Pineapple, Tissue Culture, Micropropagation.

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Detalhe da infrutescência do abacaxizeiro ornamental - Ananas comosus
var. bracteatus x Ananas comosus var. erectifolius – PL 16 (acesso D)22
Figura 2 - Etapas de remoção de raízes e folhas mortas (A) e de inserção 4
explantes por frasco no meio de cultura semissólido (B)

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais estados exportadores de flores e plantas ornamentais e         respectivos valores de exportação no Brasil em 2013.
Tabela 2 - Evolução das exportações cearenses de flores e plantas ornamentais, no período de 1996 a 2013.       15
<b>Tabela 3</b> – Composição química do meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962)
Tabela 4 - Características químicas e físicas do substrato HS Florestal.         25
<b>Tabela 5</b> - Altura da planta (ATL - mm), número de folhas (NF), diâmetro do colmo (DC - mm), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CMR - mm) porcentagem da presença de broto (PB), massa fresca da muda (MF - mg) e porcentagem da presença de raiz (PR) para as brotações de abacaxi ornamenta acesso D, nos diferentes intervalos de tempo durante a fase de alongamento e enraizamento <i>in vitro</i> . Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza-CE, 2015
<b>Tabela 6</b> - Altura da planta (ATL – mm ), número de folhas ativas (NFA), número de folhas inativas (NFI), número total de folhas (NTF), diâmetro do colmo (DC - mm) comprimento da maior raiz (CMR - mm), porcentagem de presença de broto (PB) massa fresca parte aérea (MFPA - mg), massa fresca parte radicular (MFPR - mg) massa fresca total (MFT - mg), massa seca parte aérea (MSPA - mg), massa seca parte radicular (MSPR - mg) e massa seca total (MST - mg) para as mudas de abacaxi ornamental acesso D, durante 60 dias na fase de aclimatização. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza-CE, 2015.
Tabela 7 - Resumo da análise de variância, relativo aos dados obtidos em         experimento (delineamento inteiramente casualizado) com abacaxizeiro ornamenta         (acesso D) nos diferentes intervalos de tempo durante a fase de alongamento e         enraizamento in vitro.
<b>Tabela 8</b> - Resumo da análise de variância relativo aos dados obtidos em experimento (delineamento inteiramente casualizado) com abacaxizeiro ornamenta (acesso D), após 60 dias na fase de aclimatização

# SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	5
RESUMO	6
ABSTRACT	7
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	8
LISTA DE TABELAS	9
SUMÁRIO	10
1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 A floricultura	13
2.2 A floricultura no Nordeste	14
2.3 O Abacaxi	16
2.3.1 Aspectos gerais da cultura	16
2.3.2 Abacaxi ornamental	17
2.4 Micropopagação	19
3 MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 Alongamento e enraizamento	23
3.2 Aclimatização	25
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	26
4.1 Alongamento e enraizamento	26
4.2 Aclimatização	28
4.3 Delineamento experimental	32
5. CONCLUSÕES	34
REFERÊNCIAS	35

### 1 INTRODUÇÃO

Estudos apontam que a produção comercial de flores no Brasil teve início na década de 1950, isto é, 100 anos depois, quando comparada ao seu começo na Europa e nos Estados Unidos da América (TSUBOI e TSURUSHIMA, 2009). A floricultura se tornou um agronegócio lucrativo, devido à iniciativa dos imigrantes, principalmente, holandeses, japoneses, italianos, alemães e portugueses. E, apenas na década de 1980, depois de seguir as aptidões mundiais e suas variações, as atividades de exportação de flores e plantas ornamentais tiveram início nas regiões produtoras do Brasil (GOMES, 2013).

Atualmente, a floricultura, como distribuição de flores e plantas cultivadas com propósito ornamental, exerce um dos mais rentáveis segmentos do agronegócio brasileiro (JUNQUEIRA e PEETZ, 2011).

Um dos aspectos que favorecem o crescimento do agronegócio de flores e plantas ornamentais no Brasil são as condições climáticas que o País apresenta, proporcionando o cultivo de flores tanto de climas temperado quanto tropical. Em decorrência dessa diversidade climática, é viável produzir no Brasil: flores, folhagens e outros derivados, durante todo o ano a um menor custo, em comparação com os EUA e com países europeus (FRANÇA e MAIA, 2008). Entretanto, a agroindústria de flores brasileiras, para competir, precisa de tecnologias mais avançadas, de melhor conhecimento tecnológico dos produtores e de uma eficiente metodologia de distribuição e comercialização (PEREIRA et al., 2006).

De acordo com Pereira *et al* (2006), o comércio em floricultura atinge o cultivo de plantas ornamentais, flores de corte e plantas em vasos, assim como a produção de sementes, mudas de árvores de grande porte e bulbos.

Atualmente, tem se verificado que o setor da floricultura não está restrito apenas aos estados do Sul e do Sudeste. As regiões Centro-Oeste, Nordeste e Norte apresentam-se como polos promissores, principalmente próximos aos grandes centros urbanos (TOMBOLATO, 2004). Na região Nordeste, essa atividade está concentrada nos estados de Pernambuco, Bahia, Ceará e Alagoas, onde ocupa áreas mais favorecidas em termos climáticos (BRAINER e OLIVEIRA, 2006).

Desses estados, Pernambuco e Ceará tornaram-se especializados em flores tropicais (PERASSOLI, 2004). No ano de 2003, 72% das rosas produzidas no estado do Ceará, teve como destino a Holanda, o restante da produção foi exportada para Portugal. No ano de 2004, o estado do Ceará exportou aproximadamente 3 milhões de dólares, principalmente em rosas, tendo a Holanda como principal destino. Outras plantas ornamentais, como helicônias, alpínias, antúrios, crisântemos, gladíolos também foram exportadas para países da Europa (MATHIAS, 2004)

O abacaxi no âmbito ornamental (*Ananas comosus var. erectifolius*) se destaca em diversos países, sendo bastante demandado para decorações em geral (EMBRAPA, 2011a). Essa variedade representa um dos produtos mais exportado da floricultura do Ceará (EMBRAPA, 2007). A produção e o comércio de abacaxi ornamental surgem como uma opção promissora e com muito potencial, devido a sua diversidade, destaque no mercado e na preferência do consumidor (EMBRAPA, 2010). O Brasil é o único país que possui plantios comerciais de abacaxizeiro ornamental (BORGES *et al.*, 2003).

A relevância do abacaxizeiro ornamental está concentrada no mercado interno, salientando que o Ceará já é um polo florícola estável no Brasil. O produto de maior importância é o abacaxi para flor de corte e em mudas (EMBRAPA, 2011b).

Para o setor agrícola, a micropropagação é uma ferramenta que pode colaborar bastante. Vem sendo usado para fins comerciais gerando grande quantidade de mudas uniformes e de alta qualidade fitossanitária. O potencial da técnica de micropropagação para multiplicação em grande escala pode se dar com a aplicação de técnicas de cultura de tecidos de baixo custo, ou seja, adoção de práticas corretas, uso adequado de equipamentos e de recursos, utilização de meios de cultura orgânicos e práticas ambientalmente corretas, objetivando a redução do custo unitário do micropropágulo, sem prejudicar a qualidade do produto. A comercialização em alta escala de propágulo de cultura de tecido ainda está muito inferior à capacidade de produção e demanda de mercado, entre as principais causa está o alto custo unitário da muda, quando a produção é realizada para pequenas quantidades (CARVALHO, RODRIGUES e SANTOS, 2012).

A técnica da micropropagação consta das fases de estabelecimento *in vitro*, multiplicação, alongamento e enraizamento e aclimatização. Na fase de alongamento e enraizamento, o objetivo é proporcionar o alongamento das células e a formação de raízes adventícias nas brotações resultantes da fase da multiplicação (FIGUEIREDO, 2003). Nesta fase, não se utiliza o fitorregulador 6-benzilaminopurina (BAP), porque este se mostra relevante para a multiplicação de parte aérea e indução de gemas adventícias (BRUM; SILVA e PASQUAL, 2002).

Na fase de alongamento e enraizamento as brotações que possuem reduzido número de folhas e tamanho pequeno, geralmente, não enraízam bem (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998), por esse motivo as folhas devem ser conservadas para que possa ter um bom desenvolvimento de raízes.

A fase de aclimatização serve para adaptar as mudas ao novo ambiente. Nessa fase, as plantas obtidas, em laboratório, são transferidas para desenvolvimentos em ambiente natural, quando as plantas passam de heterotróficas para autotróficas (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). Essa é a parte mais crítica da micropropagação, pois é nessa fase que a planta sofre maior estresse, correndo riscos de ataques de fungos e bactérias (COSTA, 1998). Assim, se faz necessário uma boa escolha do substrato a ser utilizado, que deve ser baseada na disponibilidade do material e na exigência da espécie aclimatizada. Existem diferentes composições de substrato, no entanto, ele deve apresentar baixa densidade, boa retenção de umidade e alta porosidade. Além disso, existem várias combinações de substratos, tais como: vermiculita, casca de arroz carbonizada, pó de fibra de coco, cama de galinheiro, entre outros (CARVALHO et al, 2012). Em experimentos feitos com mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental, os resultados apontam que o substrato HS Florestal proporcionou produção de mudas com melhor qualidade (MARTINS et al, 2014).

Dessa forma, este trabalho objetivou desenvolver um protocolo, ajustando o melhor tempo de permanência das brotações, na fase de alongamento e enraizamento *in vitro*, para aclimatização das mudas micropropagadas de abacaxi ornamental.

### 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 A floricultura

Nos últimos cinco anos, o setor de flores e plantas ornamentais registrou produção significativa em muitos estados do Brasil (Tabela 1). Esse aumento se deve, entre outros fatores, à qualidade das flores, à crescente competitividade e ao desenvolvimento da floricultura, tornando-a um dos principais segmentos do agronegócio no País (SEBRAE, 2014). O Brasil se consolidou no mercado de flores ao longo da década de 2000, quando conquistou um pequeno lugar no mercado internacional de flores e folhagens tropicais de corte (JUNQUEIRA; PEETZ, 2013).

**Tabela 1** - Principais estados exportadores de flores e plantas ornamentais e respectivos valores de exportação no Brasil em 2013

ехрогтаção no Brasil em 2013. Classificação - Estado	Valor (US\$ 1,00 – FOB*)
1º - São Paulo	15.740.751,00
2º - Ceará	3.974.780,00
3º - Rio Grande do Sul	2.586.266,00
4º - Minas Gerais	1.144.523,,00
5º - Pará	182.222,00
6º - Rio Grande do Norte	104.387,00
7º - Espírito Santo	64.134,00
8º - Santa Catarina	59.910,00
9º - Goiás	52.807,00
10° - Rio de janeiro	9.064,00
Total	23.918.844,00

Fonte: Instituto Agropolos do Ceará, 2013. \* Free on board

Na atualidade, o contexto político, econômico e social do mercado de flores exige cada vez mais aumento de produção, de qualidade e conformidade aos valores culturais. Assim, é indispensável à floricultura a conformação de tais

requisitos mercadológicos, e com isso a floricultura passa a ser uma atividade econômica cada vez mais dependente da industrialização tecnológica na globalização (ALMEIDA *et al.*, 2007).

### 2.2 A floricultura no Nordeste

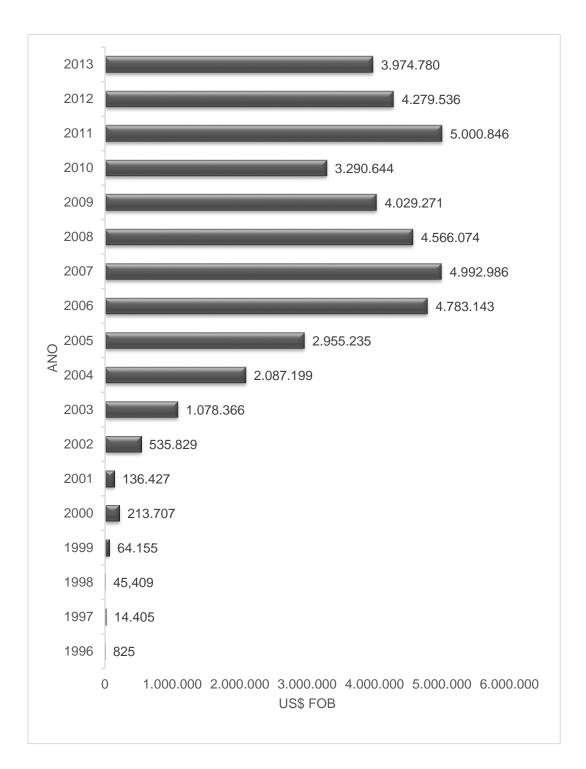
A produção de flores e plantas ornamentais na região Nordeste compreende, basicamente, os estados de Pernambuco, Bahia, Ceará e Alagoas, nas áreas mais propícias em termos de clima, com aptidão para expansão, apresentando-se assim como uma boa opção rentável. Como essa atividade faz uso intenso dos fatores de produção, resulta na evidência para a alta geração de emprego por área cultivada no setor, colaborando para o aumento da ocupação de mão-de-obra local e obtenção de lucros com a atividade (BRAINER e OLIVEIRA, 2006).

No Nordeste brasileiro, apesar da grande extensão de clima semiárido, há também regiões com condições que favorecem o cultivo de muitas espécies ornamentais. Na década 1990, a floricultura manifestou um destacado desenvolvimento na região Nordeste. O mercado consumidor regional era suprido pela produção de outras regiões produtoras de flores de clima temperado e, hoje, passou a ser abastecido, principalmente, pela produção local. Ademais, houve a introdução de grandes quantidades de espécies ornamentais tropicais (BRAINER e OLIVEIRA, 2006)

De acordo com Reis (2008), o primeiro plantio comercial de flores conduzido no Ceará foi datado nos anos de 1920, tendo sido feito por um imigrante japonês. Entretanto a floricultura do Estado, nos dias de hoje, se encontra bastante modificada, apresentando crescimento muito relevante em todos os seus indicadores, nos últimos dez anos.

Pode-se observar, na Tabela 02, o crescimento das exportações cearenses de flores e plantas ornamentais entre 1996 e 2013, com a Holanda como principal destino.

**Tabela 2** - Evolução das exportações cearenses de flores e plantas ornamentais, no período de 1996 a 2013.



Fonte: Instituto Agropolos do Ceará, 2013.

### 2.3 O Abacaxi

### 2.3.1 Aspectos gerais da cultura

Originário do Brasil, o abacaxizeiro comestível (*Ananas comosus*) é uma planta de clima tropical, monocotiledônea, herbácea e perene da família Bromeliácea, com caule (talo) curto e grosso, ao redor do qual crescem folhas estreitas, compridas e resistentes, quase sempre margeadas por espinhos e dispostas em rosetas (EMBRAPA, 2005). De maior importância econômica da família Bromeliaceae, o abacaxi consiste na sexta fruta tropical mais explorada economicamente no mundo (FAO, 2011).

De acordo com Crestani *et al.* (2010), o abacaxi comestível é ícone de regiões tropicais e subtropicais, sendo muito apreciado em, praticamente, todos os países, é consumido em várias formas como: congelado, *in natura*, enlatado, cristalizado, dentre outros derivados. O abacaxi pode ser utilizado na fabricação de doces, sorvetes, cremes, balas e bolos, também pode ser consumido na forma de suco, licor, refresco, vinho, vinagre, xarope e aguardente, da mesma forma que pode ser usado na forma de matéria-prima para a extração de álcool e ração animal, com a utilização dos resíduos da industrialização.

Recentemente, Coppens D'Eeckenbrugge e Leal (2003) propuseram uma nova classificação, mais simples e consistente, do gênero *Ananas*. Os autores levaram em consideração as características morfológicas, bioquímicas e moleculares, além da distribuição geográfica e da biologia reprodutiva. Nessa nova classificação, tanto o abacaxi comestível quanto o ornamental pertencem à mesma espécie, porém a variedades diferentes. O abacaxi comestível *Ananas comosus* (L.) Merril é designado de *Ananas comosus* var. *comosus*, e os abacaxis ornamentais *Ananas lucidus* Miller, *Ananas bracteatus* (Lindley) Schuttes f. e *Ananas nanus* (L.B. Smith) L.B. Smith, são denominados respectivamente de: *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L.B. Smith) Coppens & Leal, *Ananas comosus* var. *bracteatus* (Lindl.) Coppens & Leal e *Ananas comosus* var. *ananassoides* (Baker) Coppens & Leal.

### 2.3.2 Abacaxi ornamental

A demanda por novas variedades ornamentais de abacaxizeiro tropicais tem aumentado muito nos últimos anos, principalmente as espécies marcadas pela originalidade, beleza, coloração e longevidade (CARVALHO *et al.*, 2012). Assim o abacaxizeiro ornamental se destaca por sua demanda para paisagismo de parques e jardins, e também é possível comercializar em vasos, como minifruto de corte, flores e folhagens (SOUZA, 2010).

O uso ornamental do abacaxizeiro vem se evidenciando ao longo dos anos, gerando uma demanda, principalmente em outros países como os da Europa e Estados Unidos da América, em razão do seu exotismo, pequeno porte, cor, formato e textura, além da grande durabilidade dos pequenos abacaxis ornamentais (SOUZA, 2010).

Em questão à afinidade com outras bromeliáceas, os abacaxis, em suas formas selvagens ou não cultivadas, segundo Souza (2010), exibem características fantásticas para uso ornamental; os genótipos silvestres apresentam uma abundância de cores e formas, de se admirar pela beleza e originalidade.

Apenas três variedades estão sendo cultivadas comercialmente – *Ananas comosus* var. *erectifolius, Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus var. ananassoides*. Estas variedades abrem um novo nicho de mercado para agricultores familiares e para produtores de maior porte, incluindo exportadores. Comercializado na Europa há pelo menos uma década, o abacaxi ornamental ainda possui mercado restrito no Brasil (EMBRAPA, 2012).

A cultivar de abacaxi ornamental *Ananas comosus* var. *erectifolius* tem apresentado grande interesse para paisagistas e floricultores do Brasil e do exterior, por ser uma planta ornamental tropical, exótica e rústica (PASQUAL *et al.*, 2008). Ela pode se desenvolver em locais com alta taxa de iluminação, solo arenoso, clima tropical e em campo aberto, exibindo folhas eretas, rígidas, espessas, apresentando tonalidade púrpura e sem presença de espinhos, à exceção de um forte acúleo no ápice (BORGES *et al.*, 2003).

A cultivar *Ananas comosus var. bracteatu*s caracteriza-se por folhas largas, compridas com espinhos afiados, normalmente de tonalidade rosa ou

vermelha (SOUZA, 2007b). Nessa cultivar, dentre as variedades existentes, a "tricolor" se destaca como a mais demandada, tendo folhas com zonas de coloração diferente, com faixas longitudinais de cor branca-amarelada com matizes rosadas, e grande potencial ornamental (SANTOS, 2008).

O híbrido D *Ananas comosus* var. *bracteatus* x *A. comosus* var. *erectifolius* – PL 16), denominado de acesso D, foi previamente selecionado, pela equipe de melhoramento da Embrapa Mandioca e Fruticultura, como os mais indicados para a produção em vaso.

O Brasil é o único país que tem produzido comercialmente abacaxi ornamental. A produção, concentrada na região Nordeste, nos estados do Ceará e do Rio Grande do Norte, tem tido como prioridade o mercado externo (SOUZA, 2010). O estado do Ceará é o maior produtor e exportador de abacaxi ornamental como flor de corte, tendo com destino principal os mercados da Holanda, Estados Unidos da América, Portugal e Alemanha (CARVALHO *et al.*, 2009).

O abacaxi ornamental desenvolve-se de forma semelhante ao abacaxi comestível, e a propagação assexuada ou vegetativa é o método predominante na implantação de cultivos comerciais. Os propágulos podem ser adquiridos a partir de mudas formadas em várias partes da planta, tais como: coroa (brotação do ápice do fruto); filhote (brotação do pedúnculo); filhote rebentão (brotação da região da inserção do pedúnculo no caule); rebentão (brotação do caule aéreo ou subterrâneo) ou por mudas formadas em viveiros, a partir de gemas obtidas em seções do caule aéreo ou por cultura de tecidos (CARVALHO *et al.*, 2012).

Portanto, o estabelecimento de plantios de abacaxizeiros por meio de propágulos obtidos de forma vegetativa convencional pode gerar problemas, como diferentes tamanhos e épocas de florescimento, número limitado de rebentos e diminuição da qualidade fitossanitária dos materiais propagativos, ocasionados por pragas e doenças, especialmente a fusariose (MATOS, 2000). Quando o material propagativo é composto por gemas axilares e/ou meristemas, a partir da produção por cultura de tecidos, esses problemas podem ser minimizados. A propagação *in vitro* pode obter rapidamente a multiplicação do material, facilitar a obtenção de plantas mais homogêneas e ter um bom controle fitossanitário (BE e DEBERGH, 2006).

### 2.4 Micropopagação

O desenvolvimento de plantas ornamentais com base em técnicas de cultura de tecidos pode ser uma boa opção para atingir um amplo número de plantas, com qualidade genética e fitossanitária, em pouco tempo. Dessa forma, é possível abastecer a exigência dos produtores de flores e plantas ornamentais no acesso a mudas com boa qualidade, em quantidade suficiente (PASQUAL *et al.*, 2008).

De acordo com Pasqual et al., 2008:

O método de cultura de tecidos vegetais abrange um conjunto de técnicas, nas quais um explante (célula, tecido ou órgão) é isolado em condições assépticas, em meio nutritivo artificial. Este método tem como base o princípio da totipotencialidade das células, ou seja, "qualquer célula de organismo vegetal apresenta todas as informações genéticas necessárias à regeneração de uma planta completa".

Os plantios de abacaxi ornamental, geralmente, têm sido realizados com mudas propagadas vegetativamente (BORGES *et al.*, 2003). Contudo, a micropropagação pode ser uma opção viável de propagação vegetativa quando relacionada a outras técnicas, pois possibilita atingir alta taxa de multiplicação, maior qualidade fitossanitária e estabilidade genética, em curto espaço de tempo, sem intervalos ao longo de um ano (CORREIA *et al.*, 1999). O êxito da micropropagação está na capacidade em propagar a cultura em grande quantidade, a um menor custo e com baixo nível de mortalidade. Entretanto, quando aclimatizadas, as plantas cultivadas *in vitro* podem expressar pequena taxa de sobrevivência (HAZARIKA, 2006), o que pode deixar inviável as etapas da micropropagação.

No Brasil, de acordo com Carvalho *et al.* (2009), o uso de mudas micropropagadas de abacaxi ornamental é pequeno, pelo reduzido número de laboratórios, preço relativamente elevado e por ser um ramo de atividade que ainda pode ser considerado novo para algumas regiões. Ademais, o método essencial empregado hoje é baseado na proliferação de gemas axilares (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). É normal suceder ao mesmo tempo a proliferação de gemas axilares e a formação de gemas adventícias na base do explante, nesse método. Os

autores consideram que, os dois eventos quase não podem ser separados, porque os dois se devem aos efeitos da citocinina presente no meio de cultura sobre todo o tecido. Assim, eles destacam que, sob a integridade clonal, as gemas adventícias são aceitáveis como sistema de multiplicação, desde que o desenvolvimento de calos seja o menor possível.

O sistema de micropropagação no abacaxizeiro geralmente é mais prolongado que em outras espécies. Pois, para a obtenção de mudas adequadas para o plantio, são necessários de 9 a 12 meses, depois do início das culturas (MOREIRA *et al.*, 2003). Essa dificuldade pode ser revertida com novos estudos para diminuir o tempo de produção das mudas. Nesse sentido, Kiss *et al* (1995) propuseram um novo método de propagação rápida de abacaxizeiro, que tem como base o alongamento de brotos induzidos *in vitro*, por meio do estiolamento.

A micropropagação, além de altas taxas de multiplicação, necessita de tempo e a área muito menor, quando comparada com o método propagativo vegetativo *in vivo* (ALMEIDA *et al*, 2002).

A produção de mudas micropropagadas por gemas é um dos métodos mais eficientes e mais rápidos para obtenção de mudas para comercialização. Depois da fase de multiplicação, onde as mudas alcançam a altura igual ou superior a um centímetro (CORREIA, 2011), vem a fase de alongamento e enraizamento, fase muito importante, porém muito delicada, nela existem alguns entraves como possível oxidação, quando o explante libera exudados para o meio de cultura, tornando-o escurecido, esse tipo de escurecimento é o resultado da liberação de fenóis dos ferimentos proporcionada no processo de obtenção dos explantes (SANTOS *et al.*, 2001). Outro problema que ocorre no enraizamento *in vitro*, é que as raízes formadas podem não ser eficientes na absorção de água e nutrientes, quando as mudas são transferidas para o substrato (ALVES, 2008).

De acordo com Souza e Pereira (2007), o desenvolvimento do sistema radicular, a partir da formação de raízes adventícias em plantas propagadas vegetativamente, em condição *in vitro* ou *in vivo*, é um processo complexo que abrange fatores endógenos e exógenos, e que ainda não estão totalmente esclarecidos. A fase de aclimatização está relacionada à mudança da muda de um ambiente controlado, asséptico, rico em nutrientes e com elevada umidade, para um

ambiente não controlado, séptico e com baixa umidade. Esse processo pode causar perda e/ou baixa taxa de crescimento das plantas, e por isso é uma etapa crítica, que representa o principal estudo da micropropagação de muitas espécies (CARVALHO *et al.*, 2012).

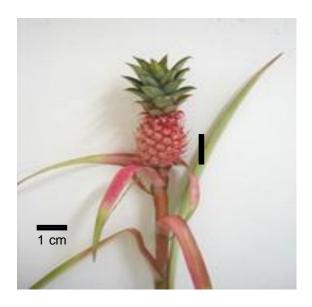
### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV) da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), em Fortaleza, Ceará e consistiu na obtenção de mudas micropropagadas de abacaxi ornamental.

A atividade foi conduzida em duas fases, sendo a primeira a de alongamento e enraizamento in vitro e a segunda a de aclimatização.

Foram utilizados como explantes brotações do híbrido *Ananas comosus* var. *bracteatus* x *Ananas comosus* var. *erectifolius* – PL 16 (denominado de acesso D) (Figura 1) estabelecidas e desenvolvidas *in vitro* no meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) (Tabela 3) adicionado de 0,1 mg/L<sup>-1</sup> de ácido naftalenoacético (ANA) e 1,0 mg/L<sup>-1</sup> de 6-benzilaminopurina (BAP).

**Figura 1** - Detalhe da infrutescência do abacaxizeiro ornamental - *Ananas comosus* var. *bracteatus* x *Ananas comosus* var. *erectifolius* – PL 16 (acesso D).



Fonte: Fernanda Vidigal Duarte Soreza.

**Tabela 3** – Composição química do meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962).

Componente	Fórmula	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )
MACRONUTRIENTES		
Nitrato de amônio	$NH_4NO_3$	1650
Nitrato de potássio	KNO₃	1900
Cloreto de cálcio	CaCL <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440
Sulfato de magnésio	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370
Fosfato de potássio	KH₂PO₄	170
Sódio EDTA	Na₂EDTA	37,25
MICRONUTRIENTES		
Sulfato de ferro	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	27,85
Sulfato de manganês	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	22,3
Sulfato de zinco	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8,6
Ácido bórico	H₃BO₃	6,2
Molibdato de sódio	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,25
Cloreto de cobalto	CoCL <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,025
Sulfato de cobre	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,025
lodeto de potássio	KI	0,83
VITAMINAS		
Ácido nicotínico	$C_6H_5NO_2$	0,5
Piridoxina HCI	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub> .HCl	0,5
Glicina	$C_2H_5NO_2$	2,0
Tiamina HCI	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> CIN <sub>4</sub> OS.HCI	0,100
OUTROS		
AGAR (Merck®)		7.000
SACAROSE	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	30.000

Fonte: Embrapa, 2005.

### 3.1 Alongamento e enraizamento

Para seleção dos explantes foram utilizadas brotações com aproximadamente 3,0 cm de altura.

O meio de cultura utilizado foi o MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), aferido a pH 5,8, adicionado de 0,1 mg/L de ANA, solidificado com ágar (Merck®) a 7,0 g L<sup>-1</sup>. Após o preparo, em cada frasco foram adicionados 30 mL de meio de cultura, sendo posteriormente autoclavado a 121 °C durante 15 minutos.

Com os frascos autoclavados iniciou-se os seguintes procedimentos: a organização da capela, com os frascos contendo o meio de cultura, pinças e bisturis imersos em álcool, papel esterilizado para apoiar os explantes e lamparina para esterilização dos instrumentos, para evitar qualquer tipo de contaminação.

Em seguida, foi feita a retirada das raízes e folhas mortas dos explantes (figura 2, A) e em seguida os explantes foram inseridos nos frascos autoclavados no meio de cultura (B) Foram colocados quatro explantes em cada frasco. Esses frascos foram dispostos na sala de crescimento com intensidade luminosa 30 µmolm<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, a 25±1 °C, e fotoperíodo de 16 horas.

Foram definidos cinco tratamentos, de acordo com a quantidade de dias de permanência na fase de alongamento e enraizamento *in vitro*, após a inoculação do explante no meio de cultura. Foram dispostos da seguinte forma: T1 (28 dias), T2 (35 dias), T3 (42 dias), T4 (49 dias), T5 (56 dias).

Passados os dias, de acordo com os tratamentos estabelecidos, as mudas foram avaliadas e medidos os seguintes parâmetros: altura da planta, diâmetro do colmo e comprimento da maior raiz, com a ajuda de um paquímetro digital; número de folhas e número de raízes por meio de contagem e massa fresca da muda, com o uso de balança digital e presença de broto.

**Figura 2** - Etapas de remoção de raízes e folhas mortas (A) e de inserção de 4 explantes por frasco no meio de cultura semissólido (B).

Fonte: Gislane Mendes

As mudas obtidas ao final da fase de alongamento e enraizamento foram identificadas individualmente, com objetivo de efetuar o rastreamento delas durante a fase aclimatização. O rastreamento foi feito com a orientação de uma tabela esquematizada, da bandeja utilizada na fase de aclimatização, essa tabela foi elaborada de acordo com o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 8 repetições, sendo a unidade experimental constituída por um frasco contendo quatro

explantes. Com isso, no final da fase de aclimatização foi possível saber exatamente a que tratamento e quais efeitos surgiram na muda rastreada.

### 3.2 Aclimatização

Na fase de aclimatização as mudas foram transferidas do frasco para uma bandeja com 162 células especificamente, sendo retiradas do frasco, lavadas para remoção do meio de cultura e inseridas na bandeja contendo substrato comercial HS Florestal (Tabela 4). As bandejas contendo as mudas, foram mantidas em casa de vegetação com 50% de sombreamento e irrigação por nebulização durante 60 dias.

As características avaliadas após a fase de aclimatização foram: altura da planta, número de folhas, diâmetro do colmo, comprimento da maior raiz, presença de broto e massa fresca e seca das partes aérea e radicular.

Tabela 4 - Características químicas e físicas do substrato HS Florestal.

Características químicas e físicas do substrato HS Florestal						
CRA 10 (%)*	51,35					
C org. (g kg <sup>-1</sup> )	147,5					
N TOTAL (g kg <sup>-1</sup> )	4,2					
C/N	35,2					
рН	5,0					
C.E (dS m <sup>-1</sup> )**	0,9					
Ca (mg L <sup>-1</sup> )	53,1					
Mg (mg L <sup>-1</sup> )	238,0					
K (mg L <sup>-1</sup> )	435,0					
P (mg L <sup>-1</sup> )	93,7					
CTC (mmol kg <sup>-1</sup> )***	475,3					
D.S (kg m <sup>-3</sup> )****	290,16					

<sup>\*</sup> CRA 10 – Capacidade de retenção de água à tensão 10 cm de coluna H2O. \*\*C.E-Condutividade elétrica. \*\*\*CTC- Capacidade de troca de cátions. \*\*\*\*D.S- Densidade seca. Fonte: EMBRAPA, 2013.

### **4 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### 4.1 Alongamento e enraizamento

Os dados referentes à altura da planta, ao número de folhas, ao diâmetro do colmo, ao número de raízes, ao comprimento da maior raiz, à presença de broto, à massa fresca da muda e à presença de raiz para as brotações de abacaxi ornamental acesso D, nos diferentes intervalos de tempo durante a fase de alongamento e enraizamento *in vitro*, constam na Tabela 5.

**Tabela 5** - Altura da planta (ATL - mm), número de folhas (NF), diâmetro do colmo (DC - mm), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (CMR - mm), porcentagem da presença de broto (PB), massa fresca da muda (MF - mg) e porcentagem da presença de raiz (PR) para as brotações de abacaxi ornamental acesso D, nos diferentes intervalos de tempo durante a fase de alongamento e enraizamento *in vitro*. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza-CE, 2015.

Características avaliadas										
Trat. *	ATL	NF	DC	NR	CMR	РВ	MF	PR		
T1	33,80	12,63 b	3,33 b	3,05 b	7,00 b	18,00	0,527 b	72,00 b		
T2	34,24	13,35ab	3,28 b	6,00 a	14,40 a	6,00	0,523 b	87,00 ab		
Т3	43,77	19,43 a	3,40 b	4,52 ab	11,16 ab	7,50	0,816 a	78,00 ab		
T4	37,55	14,53 b	4,09 a	6,33 a	16,35 a	3,00	0,592 ab	90,00 a		
T5	40,70	16,77ab	3,96 a	4,65 ab	15,19a	3,00	0,606 ab	90,00 a		
CV (%)	24,02	32,46	10,88	37,42	31,88	192,53	33,41	14,88		

<sup>\*</sup>Tratamento: tempo de permanência *in vitro:* T1 (28 dias), T2 (35 dias), T3 (42 dias), T4 (49 dias) e T5 (56 dias). Obs: medidas com mesma letra, não diferem estatisticamente.

Para as variáveis: altura da planta e porcentagem da presença de broto, não houve diferença significativa entre os tratamentos, segundo a estatística afirmase que o tempo não interfere nessas duas variáveis. Contudo, as brotações que permaneceram na fase de alongamento *in vitro* por apenas 28 dias apresentaram 18% de presença de broto, em comparação com as brotações que se desenvolveram durante 56 dias, com 3% de presença de brotos. Essa diferença pode ser explicada pela fase anterior, a de multiplicação, onde no meio de cultura há

presença de BAP. É possível que a concentração endógena dessa citocinina, nas brotações que foram mantidas por menos tempo *in vitro*, tenha estimulado a divisão celular e a quebra da dominância apical, resultando numa maior formação de brotos.

Avaliando as variáveis: número de folhas, diâmetro do colmo, número de raízes, comprimento da maior raiz, massa fresca da muda e porcentagem de presença de raiz, em função do tempo de cultivo *in vitro*, houve diferença significativa entre os tratamentos.

As brotações mantidas *in vitro* na fase de alongamento e enraizamento durante 42 dias, apresentaram 19,43 diferindo estatisticamente daquelas que permaneceram nessa fase por 28 dias (12,63 folhas), 49 dias (14,53 folhas) e 56 dias (16,77 folhas). Pasqual (2004) afirma que a divisão celular é estimulada pela presença de citocinina no meio de cultura. Assim possivelmente a produção de citocinina pelas raízes pode ter estimulado a formação de folhas nas brotações que permaneceram *in vitro* por 42 dias, principalmente em relação àquelas que ficaram apenas 28 dias, onde talvez as plantas não tenham tido tempo suficiente para formação adequada de raízes e, consequentemente, produção citocinina. Nos tratamentos posteriores observa-se que houve redução no número de folhas, essa diminuição pode ter sido devido ao aumento do tempo de permanência das culturas *in vitro* em meio de cultura contendo auxina, inibindo a produção de citocinina pelas raízes e assim favorecendo a senescência das folhas.

Na variável número de raízes, o melhor tratamento foi o T4 apresentando 6,33 raízes por brotação (Tabela 5). As brotações que foram mantidas *in vitro* por apenas 28 dias formaram apenas 3,05 raízes, provavelmente esses explantes não tiveram tempo para formação adequada de raízes. Grattapaglia e Machado (1990), já haviam demostrado que a formação das raízes *in vitro* possui 3 fases: indução, iniciação e alongamento, e dependendo da cultura, cada fase pode variar de 1 a 3 semanas e na terceira fase a presença de auxina pode inibir o crescimento radicular. Provavelmente, por esse motivo o tratamento 1 apresenta um baixo número de raízes, possivelmente nessas brotações apenas ocorreu a indução da formação de raízes.

Da mesma forma que a variável número de raízes, no tratamento 4 (49 dias), o comprimento de maior raiz teve com melhor resultado apresentando 16,35

mm de raiz. Esse comportamento também pode ser explicado por Grattapaglia e Machado (1990) quando esses autores mencionam que, dependendo da cultura, o processo de formação de raiz pode durar de 1 a 3 semanas e que após a fase de indução e iniciação, ocorre o alongamento das raízes, o que possivelmente ocorreu aos 49 dias.

Na variável massa fresca, as brotações que permaneceram *in vitro* aos 42 dias, apresentaram os maiores valores, 0,816 mg, diferindo estatisticamente das massas das brotações que ficaram nessa fase por menor tempo, 28 dias (0,527 mg) e 35 dias (0,523 mg). Figueiredo *et al* (2005) mencionam que o baixo peso de massa fresca pode ser explicado pela adição de apenas um regulador de crescimento (ANA) ao meio de cultura. Esses autores também ressaltam que, para obtenção de valores maiores de parte aérea, é necessária a adição de citocinina ao meio de cultura. Esses reguladores em conjunto promovem a divisão celular; e uma maior concentração de citocinina em relação a de auxina no mesmo meio de cultura induz, um maior desenvolvimento da parte aérea.

A maior porcentagem de presença de raiz, 90% foi constatada nas brotações que permaneceram na fase de alongamento e enraizamento *in vitro* por mais tempo, isto é 49 e 56. Isso se deve, provavelmente, ao fato de que como o meio de cultura continha auxina, os explantes mantidos por mais tempo apresentaram maior formação de raízes. Costa (2015) menciona que existe um balanço ideal para o controle do crescimento e da diferenciação na resposta *in vitro*.

### 4.2 Aclimatização

Os dados relativos à altura da planta, ao número de folhas ativas e inativas, número total de folhas, diâmetro do colmo, comprimento da maior raiz, à porcentagem de presença de broto, massa fresca da parte aérea e da parte radicular, massa fresca total, massa seca da parte aérea e da parte radicular e massa seca total e porcentagem de presença de raiz para as brotações de abacaxi ornamental acesso D após 60 dias na casa de vegetação na fase de aclimatização, constam na Tabela 6.

Nas variáveis: porcentagem da presença de broto, massa seca da parte aérea, massa seca da parte radicular e massa seca total, não houve diferença

significativa. Contudo, as brotações que permaneceram *in vitro* na fase de alongamento e enraizamento por 28 dias, apresentaram em média 12,86% de presença de brotos, enquanto que nos demais tempos de permanência nessa fase, a porcentagem de presença de broto variou de 0% a 4,29%. Essa diferença possivelmente se dá pelo tempo que as brotações permaneceram na fase anterior a de alongamento e enraizamento, isto é, na fase de multiplicação, na qual havia BAP adicionado no meio de cultura que pode ter estimulado uma maior formação de brotos nas fases de alongamento e enraizamento e de aclimatização. E como no T1, as culturas permaneceram *in vitro* por menor tempo, pode-se sugerir que na fase de aclimatização possivelmente ainda haja alguma concentração endógena de BAP na muda, aumentando também a presença de broto nessa fase.

**Tabela 6** - Altura da planta (ATL – mm), número de folhas ativas (NFA), número de folhas inativas (NFI), número total de folhas (NTF), diâmetro do colmo (DC - mm), comprimento da maior raiz (CMR - mm), porcentagem de presença de broto (PB), massa fresca parte aérea (MFPA - mg), massa fresca total (MFT - mg), massa seca parte aérea (MSPA - mg), massa seca parte radicular (MSPR - mg) e massa seca total (MST - mg) para as mudas de abacaxi ornamental acesso D, durante 60 dias na fase de aclimatização. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza-CE, 2015.

### Características avaliadas Tempo **MFPR ATL** NFA NFI NTF DC **CMR** PB **MFPA** MFT **MSPA MSPR MST** (dias) \* 28 62,27 ab 12,18 b 2,00 b 14,18 b 6,02 b 48,92 ab 12,86 1,68 b 0,13 ab 1,80 b 0,13 0.01 0,15 35 71,57 a 15,75 a 17,89 a 4,29 2,77 a 0,02 0,21 2,14 b 7,16 a 57,62 a 0,14 a 2,91 a 0,19 42 12.21 b 5,21 a 17,43 ab 5.81 b 0,00 1.28 b 0.07 bc 1,35 b 0,28 0,01 0,29 62.74 ab 25.15 c 4,29 1,52 b 0,01 0,15 49 54,31 b 13,57 ab 1,25 b 14,82 ab 6,25 ab 36,54 bc 0,08 abc 1,61 b 0,12 56 12,25 b 0,00 0.07 c 0,01 56,85 b 2,18 b 14,43 ab 5,96 b 38,71 bc 1,41 b 1,47 b 0,13 0,12 CV (%) 27,98 10,63 13,23 60,05 15,12 11,06 22,85 236,64 27,77 40,54 105,68 35,58 99,10

<sup>\*</sup> Tempo de permanência das brotações na fase de alongamento e enraizamento. Obs: Medidas com mesma letra não diferem estatisticamente.

As variáveis: altura da planta, número de folhas ativas e inativas, número de folhas total, diâmetro do colmo, comprimento da maior raiz, massa fresca da parte aérea e parte radicular e massa fresca total, após 60 dias de cultivo em casa de vegetação, mostraram uma diferença significativa.

Os maiores valores para a altura da planta (71,57 mm) foram constatados nas brotações mantidas na fase de alongamento e enraizamento *in vitro* por 35 dias, diferindo estatisticamente daquelas que se desenvolveram nessa fase por 49 dias (54,31 mm) e 56 dias (56,85 mm).

Os maiores valores para as variáveis número de folhas ativas e número total de folhas, foram observados no T2; 15,75 folhas por muda, indicando que 35 dias foi um tempo de permanência *in vitro* na fase de alongamento e enraizamento adequado para obtenção de maior número de folhas na aclimatização, podendo assim ter uma maior taxa fotossintética e consequentemente um melhor desenvolvimento.

As mudas oriundas do T3 apresentaram os maiores valores de folhas inativas, 5,21 folhas. As raízes formadas *in vitro* não são funcionais, as mudas transplantadas para aclimatização, necessitam formar novas raízes. Provavelmente, aos 42 dias, as mudas ainda não tiveram tempo suficiente para formação de novas raízes, e consequentemente produção de citocinina, podendo resultar em menor desenvolvimento da parte aérea, com a senescência das folhas. A partir dos 49 dias ocorre uma redução significativa da quantidade de folhas inativas, indicando que a planta pode ter iniciado a formação de raízes funcionais. Esse comportamento também é constatado no trabalho de Mayer (2008), com cultivo de Cymbidium Hort. (Orchidaceae) que em razão da estrutura anatômica ser frágil (diâmetro e sistema vascular reduzidos) das raízes *in vitro*, nas plantas aclimatizadas novas raízes foram formadas e as raízes que haviam sido formadas *in vitro* cessaram crescimento, sendo possivelmente pouco eficientes. Assim como Pierik (1990) mencionou que as raízes formadas *in vitro* são pouco funcionais e fracas.

Com relação à variável comprimento da maior raiz, as brotações mantidas in vitro na fase de alongamento e enraizamento por 35 dias, apresentaram os maiores valores médios, 57,62 mm, diferindo estatisticamente dos tratamentos

testados em maior tempo. As brotações que permaneceram *in vitro* por mais tempo, isto é, a partir de 35 dias, apresentaram uma redução significativa do comprimento, de 25,15 a 38,71 mm. É possível que a presença de auxina no meio de cultura possa ter inibido o crescimento das raízes ainda na fase de alongamento e enraizamento *in vitro*, e que na fase de aclimatização essas mudas precisaram adaptar-se ao novo ambiente.

Tanto para massa fresca da parte aérea quanto para massa fresca total, os maiores valores foram registrados nas mudas que foram oriundas de brotações que permaneceram *in vitro* na fase de alongamento e enraizamento por 35 dias, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos testados.

### 4.3 Delineamento experimental

No presente trabalho foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), após a inoculação dos explantes no meio de cultura de alongamento e enraizamento.

Foi feita a análise de variância e as médias obtidas comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de significância a 5%, no programa SISVAR.

**Tabela 7** - Resumo da análise de variância, relativo aos dados obtidos em experimento (delineamento inteiramente casualizado) com abacaxizeiro ornamental (acesso D) nos diferentes intervalos de tempo durante a fase de alongamento e enraizamento in vitro.

Fonte de					Quadrados médios				
variação	GL	ALT	NF	DC	NR	CMR	PB	MFP	PR
Tratamento	4	181,40 <sup>ns</sup>	76,81*	1,45**	17,16**	142,92**	382,50 <sup>ns</sup>	0,14*	648,00**
Resíduo	45	83,39	24,79	0,15	3,37	16,70	208,50	0,04	154,00
C.V. (%)		24,02	32,46	10,88	37,42	31,88	192,53	33,41	14,88
Média geral		38,01	15,33	3,61	4,91	12,82	7,50	0,61	83,40

**Tabela 8** - Resumo da análise de variância relativo aos dados obtidos em experimento (delineamento inteiramente casualizado) com abacaxizeiro ornamental (acesso D), após 60 dias na fase de aclimatização.

Fonte de				Quadra			
variação	GL	MFA	MFR	MFT	MAS	MSR	MST
Tratamento	4	2,49**	0,01**	2,74**	0,03 <sup>ns</sup>	0,01*	0,03 <sup>ns</sup>
Resíduo	30	0,23	0,00	0,26	0,03	0,00	0,03
C.V. (%)		27,77	40,54	27,98	105,68	35,58	99,10
Média geral		1,73	0,10	1,83	0,16	0,01	0,18

Fonte de		Quadrados médios						
variação	GL	ALT	NFA	NFI	NTF	DC	CMR	PB
Tratamento	4	309,29**	16,72**	16,44**	21,85*	2,02**	1076,76**	192,85 <sup>ns</sup>
Resíduo	30	42,81	3,04	2,35	5,66	0,47	89,40	102,85
C.V. (%)		10,63	13,23	60,05	15,12	11,06	22,85	236,64
Média geral		61,54	13,19	2,55	15,75	6,23	41,38	4,28

### 5. CONCLUSÕES

As mudas micropropagadas desenvolvidas na fase de alongamento e enraizamento *in vitro* no tratamento com o menor tempo de cultivo T1 (28 dias), não apresentam desenvolvimento adequado para serem transferidas para a fase de aclimatização. O tempo de permanência de 35 dias, é o mais viável comparado com os demais testados, resultando na permanência das brotações por menos tempo *in vitro*, consequentemente menor custo de produção.

### REFERÊNCIAS

ALMEIDA, W. A. B. de *et al.* Optimization of a protocol for the micropropagation of pineapple. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 2, p. 296-300, 2002.

ALMEIDA, E. Competitividade das exportações mundiais de plantas vivas e produtos de floricultura. **Análise econômica**, Porto Alegre, v 25, n. 47, p 189-212, set. 2007

ALVES, C. et al. A cultura de tecido na agricultura. In: JORNADA CIENTÍFICA DO CEFET. Bambuí, 2008. Disponível em: <a href="http://www.cefetbambui.edu.br/str/artigos\_aprovados/Ci%C3%AAncias%20Agrarias/14-PT-12.pdf">http://www.cefetbambui.edu.br/str/artigos\_aprovados/Ci%C3%AAncias%20Agrarias/14-PT-12.pdf</a>. Acesso em: 04 jan. 2015.

BE, L. V.; DEBERGH, P. C. Potential low-cost micropropagation of pineapple (*Ananas comosus*). **South African Journal of Botany**, v. 72, n. 2, p. 191-194. 2006.

BORGES, N. S. S.; CORREIA, D.; ROSSETTI, A. G. Influência do meio bifásico na multiplicação de gemas e no alongamento de brotos *in vitro* de *Ananas lucidus* Miller. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 9, n. 1, p. 37-44. 2003.

BRAINER, M. S. C. P.; OLIVEIRA, A. A. P. Perfil da floricultura no Nordeste Brasileiro. 2006, Fortaleza. In: CONGRESSO DA SOBER, 44., **Anais...** Fortaleza, 2006. 20 p. Disponível em: <a href="http://www.sober.org.br/palestra/5/978.pdf">http://www.sober.org.br/palestra/5/978.pdf</a>>. Acesso em: 04 jan. 2015.

BRUM, G. R; SILVA, A. B; PASQUAL, M. Efeito de diferentes concentrações do BAP e ANA na propagação *in vitro* da figueira (*Fícus carica, L.*). **Ciência & Agrotecnologia**, Lavras, Ed. Especial, p. 1403-1409, 2002.

CARVALHO, A. C. P. P. et al. Multiplicação in vitro de abacaxi ornamental por estiolamento e regeneração de brotações. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 103-108, 2009.

CARVALHO, A. C. P. P.; RODRIGUES, A. A. J.; SANTOS, E. O.; **Panorama da produção de mudas micropropagadas no Brasil**. Fortaleza: Embrapa, 2012.

CARVALHO, A. C. P. P. de *et al.* Estiolamento *In vitro* de Plantas: Alternativa para a Produção de Mudas Micropropagadas de Abacaxizeiro Ornamental. Fortaleza: Embrapa, 2012.

COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; LEAL, F. Morphology, anatomy and taxonomy. *In*: BARTHOLOMEW, D. P.; PAULL, R. E.; ROHRBACH, K. G. (Ed.). **The pineapple: botany, production and uses**. New York: CAB International Publishing, 2003. p. 13-32.

CORREIA, D. et al. Avaliacao da multiplicacao in vitro do abacaxi ornamental (Ananas lucidus Miller). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 1999. p. 1-2.

CORREIA, D. *et al.* **Produção de mudas in vitro e indução floral de abacaxizeiro ornamental.** Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. Disponível em: <a href="http://goo.gl/MgjAQ4">http://goo.gl/MgjAQ4</a> Acesso em: 6 jun. 2015.

COSTA, A. M. M. Fisiologia da aclimatação. *In:* TOMBOLATO, A. F. C. **Micropropagação de plantas ornamentais**, Campinas: Instituto agronômico, 1998. p. 63-67.

COSTA, N. L. **Bioestimulante como fator de produtividade da cana-de-açúcar.** 2010. Disponível em: <a href="http://www.clicnews.com.br/impressao.htm?117129">http://www.clicnews.com.br/impressao.htm?117129</a>. Acesso em: 18 jun. 2015.

CRESTANI, M. *et al.* Das Américas para o mundo - Origem, domesticação e dispersão do abacaxizeiro. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, jun. 2010.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Cultivo do abacaxi em Rondônia.** 2005. Disponível em: < http://goo.gl/N0hOmC>. Acesso em: 15 jun. 2015.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Abacaxi ornamental - Uma riqueza a ser explorada. **Abacaxi em foco,** n. 37, 2007. Disponível em: <a href="http://goo.gl/Y9ISLi">http://goo.gl/Y9ISLi</a>. Acesso em: 15 mar. 2015.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Mercado de abacaxi ornamental: Uma comparação entre dois grupos de consumidores. **Jornada científica**, 2010. Disponível em:< https://goo.gl/XMm9tm>. Acesso em: 15 mar. 2015.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **A nova face do melhoramento genético de abacaxi na Embrapa Mandioca e Fruticultura**. 2011a. Disponível em: < http://goo.gl/XFuKhX>. Acesso em: 15 mar. 2015.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Produção de mudas *in vitro* e indução floral de abacaxizeiro ornamental. **Infoteca**, mar. 2011b. Disponível em: < https://goo.gl/C3jNsq>. Acesso em: 15 mar. 2015.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Abacaxi ornamental** – alternativa econômica para a agricultura familiar. 2012. Disponível em: <a href="http://goo.gl/yzhLCM">http://goo.gl/yzhLCM</a>. Acesso em: 15 mar. 2015.

FOOD AND AGRICUTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Agricultural statistics database.** Rome: Wold Agricultural Information Center, 2011. Disponível em: <a href="http://goo.gl/twRkvJ">http://goo.gl/twRkvJ</a>. Acesso em: 04 jan. 2015.

FIGUEIREDO, M. A. et al. Enraizamento in vitro de abacaxi ornamental (Ananas lucidus Miller). In: CONGRESSO DOS PÓS-GRADUANDOS DA UFLA, 2005. Lavras. Anais... UFLA, 2005.

FIGUEIREDO, M de L. **Desenvolvimento de protocolos para propagação** *in vitro* **de três espécies de bromeliaceae nativas do Brasil.** 56 f. Tese (Doutorado em Agronomia) — Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

FRANÇA, C. A. M. de; MAIA, M. B. R. **Panorama do agronegócio de flores e plantas ornamentais no Brasil. Rio Branco.** *In:* CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 44., 2008. Rio Branco. Apresentação oral. Rio Branco, 2008.

GOMES, C. D. Estratégia para o aumento de participação no mercado de flores: Uma análise sob a ótica de agentes do agronegócio. 161 f. Dissertação (Mestrado em Administração) — Departamento de Gestão Estratégica, Marketing e Inovação, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. *In*: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/Embrapa CNPH, 1990. p. 99-169.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa CNPH, 1998. p. 183-260. v.1.

HAZARIKA, B. N. Morpho-physiological disorders *in vitro* culture of plants. **Scientia Horticulturae**, v. 108, n. 2, p. 105-120, 2006.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. da S. Panorama socioeconômico da floricultura no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental,** v. 17, n. 2, p.101-108, 2011

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. da S. **Balanço do comércio exterior da floricultura brasileira.** São Paulo: Hórtica Consultoria e Treinamento, 2013. 7 p.

KISS, E. *et al.* A novel method for rapid micropropagation of pineapple. **HortScience**, v. 30, n. 1, p. 127-129, 1995

MATHIAS, M. C.. Ceará creates international image. **HortiWorld.** FlowerTECH 2004, vol. 7/no. 7. Disponível em: < http://goo.gl/qwycO7 >. Acesso em: 1 maio 2015.

MATOS, A. P. de. Doenças e seu controle. *In:* REINHARDT, D. H.; SOUZA, L. F. da S.; CABRAL, J. R. S. (Org.). **Abacaxi, produção aspectos técnicos**. Brasília, DF; Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. p. 269-305.

MARTINS, T. da S. et al, Substratos comerciais e adubo de liberação lenta (NPK 16-08-12) na produção de porta-enxerto de cajueiro 'CCP 06', a pleno sol. ln: REUNIÃO NORDESTINA DE CIÊNCIA DE SOLOS, 2..., 2014. Disponível em: <a href="https://goo.gl/6QU0kB">https://goo.gl/6QU0kB</a>. Acesso em 10 jun 2015.

MAYER, J. L. S. *et al.* Anatomia comparada das folhas e raízes de Cymbidium Hort. (Orchidaceae) cultivadas ex vitro e *in vitro*. *Acta Bot. Bras.* [online]. 2008, v. 22, n. 2, p. 323-332. Disponível em: < http://goo.gl/ygeO4U>. Acesso em: 19 jun. 15.

MOREIRA, M. A. *et al.* Estiolamento na micropropagação do abacaxizeiro cv. Pérola. **Ciência & Agrotecnologia**, v. 27, n. 5, p. 1002-1006, 2003.

MURASHIGE T., SKOOG F. A. A revised medium for a rapid growth and bioassays with tobacco tissues cultures. **Plant Physiol**, v. *15*, *p*.: 473-479, 1962.

PANORAMA DA FLORICULTURA DO ESTADO DO CEARÁ 2013 **instituto agropolos do ceará**. Disponível em: < mdic/alice/2013;Instituto Agropolos do Ceará 2013>. Acesso em: 15 jun. 2015.

PASQUAL, M. **Propagação de plantas ornamentais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2004. 106 p.

PASQUAL, M. et al. Micropropagação do abacaxizeiro ornamental: Protocol for in vitromicropropagation of ornamental pineapple. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 045-049, 2008

PERASSOLI, E. (2004): Produção de flores está em expansão. **A Gazeta** – Mato Grosso, Cuiabá, Publicado em 30/08/2004. Terra e criação.

PEREIRA, C. M. M. A.; MELO, M. R.; DIAS, P. B. Cadeia de produção de rosas na região de Barbacena, estado de Minas Gerais. **Informações Econômicas**, v. 36, n. 7, p. 22-31, 2006.

PIERIK, R. L. M. **Cultivo** *in vitro* de las plantas superiores. 3. ed. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1990.

REIS, J. N. P. **Competitividade potencial da floricultura cearense.** Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará. 2008. Disponível em: <a href="http://goo.gl/bkDfpk">http://goo.gl/bkDfpk</a>>. Acesso em 20 maio 2015>

SANTOS, R. B. *et al.*. **Problemas no cultivo in vitro: cultura de tecidos**. Minas Gerais: UFLA, 2001. p. 73-79.

SANTOS, M. D. M. dos. Micropropagação do abacaxizeiro ornamental e avaliação da fidelidade genotípica dos propágulos. 2008. 108 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Botânica, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. **A expansão da floricultura brasileira**. 2014. Disponível em: <a href="http://goo.gl/KRJHSA">http://goo.gl/KRJHSA</a>>. Acesso em: 08 fev. 2015.

SOUZA, A. V.; PEREIRA, A. M. S. Enraizamento de plantas cultivadas *in vitro*. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.9, n.4, p.103-117, 2007.

SOUZA, F. V. D. et al. Caracterização morfológica de abacaxizeiros ornamentais. **Magistra**. Cruz das almas, v. 19, p. 319-325, 2007. Disponível em: <a href="http://goo.gl/gD5P6T">http://goo.gl/gD5P6T</a>>. Acesso em: 10 mar. 2015.

SOUZA, E. H., **Pré-melhoramento e avaliação de híbridos de Abacaxi e banana para fins ornamentais**.153 f. 2010. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2010.

TOMBOLATO, A. F. C. **Cultivo comercial de plantas ornamentais**. São Paulo: Instituto Agronômico Campinas, 2004. 211 p.

TSUBOI, N.; TSURUSHIMA, H. Introdução à história de flores e plantas ornamentais no Brasil. São Paulo: Comissão Editorial da História da Indústria de Flores e Plantas Ornamentais no Brasil, 2009. 276 p.