



GÉSSICA BEZERRA GURGEL

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE PLANTAS DE
ABACAXI (*Ananas comosus* L. Merrill) SOB
CULTIVO HIDROPÔNICO E CONVENCIONAL
ASSOCIADO AO ESTUDO MOLECULAR DO
FLORESCIMENTO**

LAVRAS - MG

2017

GÉSSICA BEZERRA GURGEL

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE PLANTAS DE ABACAXI (*Ananas
comosus* L. Merrill) SOB CULTIVO HIDROPÔNICO E
CONVENCIONAL ASSOCIADO AO ESTUDO MOLECULAR DO
FLORESCIMENTO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/ Fisiologia Vegetal, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Antonio Chalfun Júnior, PhD
Orientador

Prof. Dr. Nilton Nagib Jorge Chalfun
Coorientador

**LAVRAS – MG
2017**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Gurgel, Gessica Bezerra.

Aspectos fisiológicos de plantas de abacaxi (L. Merrill) sob cultivo hidropônico e convencional associado ao estudo molecular do florescimento / Gessica Bezerra Gurgel. - 2017.

92 p. : il.

Orientador: Antonio Chalfun Júnior.

Coorientador: Nilton Nagib Jorge Chalfun.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Abacaxizeiro. 2. Sistemas de Cultivo. 3. Biologia Molecular do Florescimento. I. Chalfun Júnior, Antonio . II. Chalfun, Nilton Nagib Jorge. III. Título.

GÉSSICA BEZERRA GURGEL

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE PLANTAS DE ABACAXI (*Ananas
comosus* L. Merrill) SOB CULTIVO HIDROPÔNICO E
CONVENCIONAL ASSOCIADO AO ESTUDO MOLECULAR DO
FLORESCIMENTO**

***PHYSIOLOGICAL ASPECTS OF PINEAPPLE PLANTS (*Ananas
comosus* L. MERRIL) UNDER HYDROPONIC AND CONVENTIONAL
CULTIVATION CONDITIONS ASSOCIATED TO THE MOLECULAR
STUDY OF FLOWERING***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/ Fisiologia Vegetal, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 22 de fevereiro de 2017.

Profa. Solange Aparecida Ságio, PhD

UFT

Dr. Cecílio Frois Caldeiras Júnior

Instituto Tecnológico Vale

Prof. Antonio Chalfun Júnior, PhD
Orientador

Prof. Dr. Nilton Nagib Jorge Chalfun
Coorientador

LAVRAS – MG

2017

Ao meu pai Francisco Nazareno (*in memoriam*) e à minha mãe Kalina Maria.

À minha família.

Ao meu namorado Flávio e amigos

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me dar força e persistência todos os dias para enfrentar os problemas deparados ao longo da vida e a sua infinita bondade em me ajudar colocando pessoas iluminadas em meu caminho.

Agradeço ao meu pai, que não está mais presente, mas foi quem me apoiou e estimulou na minha escolha pela área da natureza, que tem tanta complexidade. Além disso, agradeço à minha mãe, que sempre esteve ao meu lado em momentos bons e ruins, bem como meus irmãos Gelzelena e Nathan.

Agradeço ao meu antigo orientador e amigo Jeferson que me ensinou tanta coisa que usei neste trabalho, além de ter sido quem me recomendou o programa de mestrado na instituição.

Aos meus avós e tios que me mostram o lado alegre da vida e sabem me fazer sorrir despreziosamente.

Agradeço ao meu namorado que esteve ao meu lado, Flávio, que sabe me fazer sorrir mesmo quando estou muito triste e que com seu abraço consegue me acalmar e me fazer sentir bem.

Aos amigos que fiz no laboratório e que me ajudaram durante o percurso no mestrado, André, Pedro, Iasminy, Carlos, Rafaela, Kauane, José Diogo, Matheus, Bruno, Christiane, Amanda, Letícia, Rafael...

Aos amigos do setor de fisiologia vegetal e àqueles de outros laboratórios que caminharam junto comigo: Lermen, Fiorita, Jacqueline, Márcio, Débora, Raphael, Rafaela, Kamila, Suelen...

Aos amigos de fora da UFLA, Isabela que esteve comigo em momentos difíceis, me dando suporte, além de sua família que me acolheu tão bem; Cleyse e Alexandre, que mesmo distante se fizeram presentes.

Agradeço também aos professores que me ensinaram e ajudaram a desenvolver meus conhecimentos a respeito da fisiologia das plantas, em

especial ao meu orientador Antonio Chalfun que me deu a oportunidade de fazer o mestrado e ao Prof. Nilton Nagib que me ajudou no planejamento experimental e me coorientou.

Agradeço aos técnicos e servidores da UFLA que me ajudaram tanto, como o Lamartine, a Cidinha, o Joel, o Odorêncio e a Salete.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal/Agronomia da UFLA.

Agradeço à CAPES pela concessão da bolsa para realização do experimento.

Agradeço à banca por ter se disponibilizado a me avaliar e contribuir com meu trabalho.

Deixo meu agradecimento a todos aqueles que estiveram no meu caminho e me ajudaram de alguma forma, com uma palavra de carinho, uma crítica, um gesto amigo, uma ajuda, um conselho ou apenas tempo.

MUITO OBRIGADA!

“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”.

- Albert Einstein

RESUMO GERAL

O abacaxizeiro (*Ananas comosus* var. *comosus*) é uma espécie que possui vários entraves para sua produção, tais como demorado ciclo da cultura, baixa produção de mudas via fase propagativa, desuniformidade no florescimento natural e aparecimento de doenças como a fusariose. Assim, o uso da técnica de propagação *in vitro* se torna importante para produção de fontes vegetais em larga escala e com melhor qualidade fitossanitária. Porém, essas plantas devem passar por um processo de adaptação ao meio externo (aclimatização) para conseguirem sobreviver quando levadas para campo. O objetivo do primeiro trabalho foi determinar se as plantas não aclimatizadas conseguem sobreviver em condições hidropônicas e campo e comparar essas com as plantas aclimatizadas em cultivo hidropônico e campo. Neste trabalho, verificou-se que plantas não aclimatizadas conseguem sobreviver e se desenvolver em condição hidropônica, mas não conseguem em campo, as plantas em condição hidropônica não diferem do desenvolvimento de parte aérea das plantas em campo, mas possuem crescimento radicular superior. O uso de mudas melhores pode gerar plantas com potencial para se desenvolverem e florescerem mais rápido, apesar de que o processo de florescimento no abacaxi, assim como em outras espécies, ainda não é bem compreendido. Assim, o objetivo do segundo trabalho foi investigar a porcentagem de florescimento e atuação de genes relacionados à indução do florescimento como os genes da rota de produção do etileno *AcACS2* e *AcACO1*, além do gene integrador do florescimento *AcFT*, sob influência de 1-MCP (inibidor de ação do etileno) e Ethrel® (estimulador do florescimento) e seu efeito combinado um após 12 h da aplicação do outro. Nesse experimento, observou-se que o uso do 1-MCP, quando aplicado só, estimula o florescimento e, quando usado após o Ethrel®, atrasa o florescimento, mas não diminui a porcentagem de florescimento. O gene que foi diferencialmente expresso na folha de abacaxi até 24 h dos tratamentos em relação ao controle foi o *AcACO1*.

Palavras-chave: Mudas. Indução Floral. Inibição Floral.

GENERAL ABSTRACT

The production of pineapple (*Ananas comosus* var. *comosus*) presents many obstacles, such as delayed culture cycle, low seedling production via propagative phase, non-uniformity in its natural flowering and the emergence of diseases, such as fusariosis. Thus, the *in vitro* propagation technique gains importance for large-scale production of plant sources with better phytosanitary quality. However, these plants must undergo an adaptation process (acclimatization) in order to survive when taken to the field. The objective of the first paper was to determine if non-acclimatized plants can survive under hydroponic and field conditions, and to compare these to acclimatized plants in hydroponic and field cultivation. We verified that non-acclimatized plants can develop under hydroponic conditions, but not under field conditions; and that the development of the aerial part of plants under hydroponic conditions does not differ from that of plants in the field, but present superior root support. The use of better seedlings can generate plants with potential for quicker development and flowering, despite little understanding of the flowering process of pineapples as well as in other species. Therefore, the second work aimed at investigating the percentage of flowering, performance of genes related to the induction to flowering, such as genes from the ethylene production route, *AcACS2* and *AcACO1*, as well as the flowering integrating gene *AcFT*, under the influence of 1-MCP (inhibitor for ethylene performance) and Ethrel[®] (flowering stimulator), as well as its combined effect over 12 hours of the application of the other. In this experiment, the use of 1-MCP, when applied alone, stimulated flowering and, when used after the Ethrel[®], flowering was delayed. However, this does not decrease the percentage of flowering. The *AcACO1* gene was little expressed in the pineapple leaf up to 24 hours after treatments when compared to the control.

Keywords: Seedlings. Flowering induction. Flowering inhibition.

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE

- Figura 1 - Esquema de vias propostas para o florescimento do abacaxi. Componentes e interações que promovem o florescimento estão em azul e as que reprimem em vermelho.....32

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1

- Figura 1 - Valores para umidade relativa do ar e temperatura obtidos em campo, durante o período experimental.....52
- Figura 2 - Valores para umidade relativa do ar e temperatura obtidos em casa de vegetação, durante o período experimental.....52
- Figura 3 - Altura de plântulas de abacaxi aclimatizadas transplantadas para campo, aclimatizadas transplantadas para hidroponia (hidroc) e não aclimatizadas transplantadas para hidroponia (hidros) ao longo dos dias avaliados.....56
- Figura 4 - Contagem do número de folhas de plântulas de abacaxizeiro aclimatizadas transplantadas para a condição não protegida (campo), aclimatizadas transplantadas para hidroponia (hidroc) e não aclimatizadas transplantadas para hidroponia (hidros) ao longo dos dias avaliados.....58
- Figura 5 - Plantas de abacaxi sob as diferentes condições de cultivo.....59

ARTIGO 2

- Figura 1 - Esquema de composição dos tratamentos.....78
- Figura 2 - Indicativo de florescimento em abacaxi.79

Figura 3 -	Porcentagem de florescimento sob diferentes tratamentos ao longo do tempo após aplicação do produto.....	83
Figura 4 -	Expressão relativa do gene ACS2 sob diferentes tratamentos ao longo de 24h.....	85
Figura 5 -	Expressão relativa do gene ACO1 sob diferentes tratamentos ao longo de 24h.....	86
Figura 6 -	Expressão relativa do gene FT sob diferentes tratamentos ao longo de 24h.....	88

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1

- Tabela 1 - Análise dos nutrientes da mistura entre terra e areia lavada na proporção 1:1 e utilizadas para o cultivo em ambiente não protegido.....50
- Tabela 2 - Teores dos macronutrientes: Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K) e Cálcio (Ca) quantificados na folha D, em plantas de abacaxizeiro submetidos a diferentes condições de cultivo.57
- Tabela 3 - Medidas de largura da folha D, diâmetro basal, comprimento da raiz, área foliar, massa seca foliar e massa seca radicular de plantas aclimatizadas em condição de campo, aclimatizadas em condição de hidroponia (HidroC) e não aclimatizadas em condição de hidroponia (HidroS) aos 113 dias após o transplântio.....60
- Tabela 4 - Teor de clorofila a e b, carotenoides, açúcar solúvel total, amido, aminoácido e fotossíntese de plantas aclimatizadas e transplantadas para a condição de campo, aclimatizadas e transplantadas para hidroponia (HidroC) e não aclimatizadas transplantadas para hidroponia (HidroS)62

ARTIGO 1

- Tabela 1 - Análise dos nutrientes da mistura entre terra e areia lavada na proporção 2:1 e utilizadas para o cultivo em ambiente não protegido.....77

Tabela 2 - Tratamentos e horas de coleta de folha após aplicação dos produtos.....	79
Tabela 3 - Sequência dos genes utilizados no processo de análise de expressão	82

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	15
1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1 Importância econômica	19
2.2 O abacaxizeiro – Aspectos Biológicos.....	20
2.3 A produção de mudas <i>in vitro</i> e aclimatização	21
2.4 Cultivo hidropônico	23
2.5 Metabolismo do abacaxizeiro	25
2.6 Florescimento natural do abacaxizeiro	26
2.7 Indução e inibição artificial do florescimento em abacaxizeiro.....	27
2.8 Genes envolvidos no florescimento do abacaxi	29
REFERÊNCIAS	33
SEGUNDA PARTE – ARTIGOS	43
ARTIGO 1 - RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE PLANTAS DE ABACAXI (<i>Ananas comosus</i> L. Merrill) A DIFERENTES CONDIÇÕES DE CULTIVO, APÓS TRANSPLANTIO DE EXPLANTES CULTIVADOS <i>In vitro</i>	43
1 INTRODUÇÃO	47
2 MATERIAL E MÉTODOS	49
2.1 Local, Período Experimental e Material Vegetal.....	49
2.2 Tratamentos e Delineamento Experimental	51
2.3 Análises Realizadas.....	51
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4 CONCLUSÃO	65
REFERÊNCIAS	67
ARTIGO 2 - FLORESCIMENTO E ANÁLISE DE GENES RELACIONADOS À INDUÇÃO FLORAL	71
1 INTRODUÇÃO	75
2 MATERIAL E MÉTODOS	77
2.1 Local, Período Experimental e Material Vegetal.....	77
2.2 Tratamentos e Delineamento Experimental	78
2.3 Análises Realizadas.....	79
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
4 CONCLUSÃO	89
REFERÊNCIAS	91

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

O abacaxizeiro (*Ananas comosus* var. *comosus*) é uma planta tropical monocotiledônea, herbácea e perene, da família Bromeliaceae, que sempre se destacou na fruticultura tropical. Graças às características de seu fruto apreciado em todo o mundo, o abacaxi é cultivado em mais de 60 países e a sua rentabilidade apresenta grande demanda e importância econômica.

A propagação vegetativa do abacaxi é realizada através de mudas ou da produção de plântulas a partir da brotação de gemas contidas nos pedaços de talo ou haste da planta mãe. No entanto, esses tipos de propágulos podem ocasionar problemas como diferente tempo de florescimento para cada tipo de propágulo, lentidão no processo de propagação de mudas, baixo número de brotações de gemas, requerer intensa utilização de mão de obra e, nem sempre, gera materiais de qualidade.

A propagação *in vitro* é uma técnica de cultura de tecidos bem-sucedida uma vez que propicia vantagens sobre os métodos convencionais de propagação, permitindo a obtenção em curto espaço de tempo, em qualquer época do ano, de um grande número de plantas de boa qualidade fitossanitária e autenticidade varietal. No entanto o estabelecimento de mudas obtidas por esse processo requer que as mesmas passem por período de aclimatização que consiste em retirar a plântula da condição *in vitro* e transferi-la para casa de vegetação, tendo por objetivo superar as dificuldades que as plântulas obtidas por cultura de tecidos enfrentam quando há passagem de um estado heterotrófico para outro autotrófico que envolve a competência de diversos mecanismos fisiológicos e ainda a exposição ao ataque de microrganismos eventualmente patogênicos.

O uso de mudas mais uniformes e de boa qualidade pode beneficiar o florescimento, sendo que esse estágio fenológico no abacaxizeiro, quando ocorre

de maneira natural, se apresenta desuniforme. A passagem do estágio vegetativo para o de floração é de suma importância para as plantas de abacaxizeiro, uma vez que resulta na produção de frutos, que é a atividade fim ou objetivo maior da exploração econômica das fruteiras. A desuniformidade neste processo causa dificuldades relacionadas aos tratamentos culturais e promove colheita aleatória, contribuindo para o aumento no custo de produção. Superar essas adversidades consiste ainda, em distribuir a produção durante alguns meses, em função da procura de frutos.

O florescimento do abacaxizeiro pode ser induzido naturalmente por fatores endógenos e climáticos, ou artificialmente, com o uso de produtos químicos, em geral reguladores de crescimento vegetal. A indução artificial do florescimento é mais vantajosa por haver maior eficiência no emprego dos fatores de produção, inclusive uso racional da terra e concentração da colheita.

Entre os estimulantes utilizados para induzir a floração do abacaxizeiro, o ethephon (ácido 2-cloroetilfosfônico) é uma das substâncias mais difundidas entre os produtores para essa finalidade, principalmente o produto comercial Ethrel[®]. Porém, seu uso ainda requer mais estudos visando ao entendimento dos mecanismos envolvidos nesse processo.

O Ethrel[®] é uma substância que libera o etileno quando em contato com oxigênio e essa molécula para atuar na planta precisa se ligar a receptores presentes nas células. Atuando como competidor, o 1-MCP é uma substância sintética que atua competindo com o sítio de ligação dos receptores ao etileno, fazendo com que a ação do etileno esteja retardada.

Por ser de uma planta que requer tratamentos culturais cuidadosos e frequentes e apresentar alguns aspectos morfológicos e fisiológicos, cujo conhecimento facilitaria o manejo da produção de mudas e o entendimento dos mecanismos de seu florescimento, objetivou-se com a realização deste trabalho, avaliar os aspectos fisiológicos relacionados à produção de mudas de abacaxizeiro obtidas

in vitro, com cultivo continuado em condição de campo e o cultivo em solução hidropônica em casa de vegetação de plantas aclimatizadas e não aclimatizadas, bem como, através da investigação de componentes moleculares, analisar a indução do florescimento ao usar Ethrel[®] e 1-MCP sozinhos e combinados, um aplicado após 12 horas de aplicação do outro.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância econômica

O abacaxi é denominado rei dos frutos coloniais por possuir coroa e grande aceitação comercial, é uma infrutescência cujo lugar de origem é a América do Sul e o Brasil é um dos principais centros de diversidade genética (CRESTANI et al., 2010). Segundo o mesmo autor, a partir de trocas entre tribos indígenas, o abacaxi oriundo da América do Sul chegou a América Central, onde por meio das navegações se propagou para ilhas ao longo do continente africano até chegar à Ásia e se disseminar pelo continente europeu.

Atualmente, o abacaxizeiro é uma cultura plantada em mais de 60 países (CUNHA, 2005), estando o continente Asiático como o maior produtor de abacaxi, com 43,9% da produção mundial em 2014 enquanto o Brasil se encontrava em segundo lugar com 10% da produção (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2014), isso equivale à produção média de 2,5 Mt que faz com que o abacaxi seja uma fruta tropical de destaque no país, sendo essa produção destinada ao mercado interno. Dentro do país, o Nordeste é a região com a maior produção, 36,4%, seguida pela região Norte com 31,2% (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2016).

Além de ser uma planta muito valorizada por seu fruto poder ser consumido *in natura*, o abacaxi ainda pode ser utilizado na indústria de bebidas (MOREIRA; WANDERLEY; CRUZ-BARRO, 2006), na obtenção de goma e álcool etílico, na alimentação animal, ser consumida em sorvetes, sucos, doces, picolés e refrescos, servir de produto para polpa, xarope, geleia, doce e vinho além de seu valor ornamental (GRANADA; ZAMBIAZI; MENDONÇA, 2004). O abacaxi tem, também, grande importância econômica por absorver mão de obra do meio rural, gerando emprego e renda (TEIXEIRA et al., 2001),

principalmente em regiões semiáridas, além de empregar pessoas nas indústrias de beneficiamento do fruto (SOUZA; SOUZA, 2000).

2.2 O abacaxizeiro – Aspectos Biológicos

O abacaxizeiro é uma angiosperma monocotiledônea, herbácea e perene que pode atingir 1,5 m de altura (FERREIRA et al., 2011), pertencente à família *Bromeliaceae*, que contém 56 gêneros e 3.000 espécies (VERSIEUX; WENDT, 2007), gênero *Ananas*, espécie *Ananas comosus* var. *comosus* L. Merrill, sendo todas as cultivares comerciais pertencentes a esta espécie. As cultivares mais amplamente difundidas no país são a Pérola, seguida por Smooth Cayenne, Jupi e MD-2. Há ainda um aumento na produção de híbridos resistentes à fusariose como Imperial e Vitória (CUNHA, 2007).

A planta possui uma haste grossa e curta de onde saem folhas estreitas e rígidas, desse ponto também saem raízes adventícias que formam um sistema radicular fasciculado que chega a 30 cm (ZAMPERLINI, 2010). As folhas do abacaxi são classificadas de acordo com seu formato e posição, sendo denominada da mais externa para interna como A, B, C, D, E e F, dentre elas, a folha D é a mais importante do ponto de vista de análise, visto que ela é a mais jovem dentro das adultas e metabolicamente mais ativa (REINHARDT, 2000). Os frutos são pseudofrutos partenocárpicos formados por um aglomerado de gomos em um eixo central com uma coroa de folhas no topo e polpa branca, amarela ou laranja-avermelhada (SILVA; TASSARA, 2001), sendo esse tipo de infrutescência chamada sorose (LOPES NETO et al., 2015). Além disso, essa planta possui fruto caracterizado como não climatérico (DULL, 1971), diferentemente dos frutos climatéricos que possuem alta respiração (CHITARRA; CHITARRA, 1990).

O ciclo de vida do abacaxizeiro é dividido em três fases: a primeira é a fase vegetativa que vai do plantio à indução floral, correspondendo de 8 a 12

meses, a segunda é a fase reprodutiva que vai da diferenciação floral à colheita dos frutos e varia de acordo com a região, durando em média de cinco a seis meses, e a terceira, chamada de fase propagativa, que se relaciona à formação das mudas, se inicia dentro da segunda fase e se estende após ela, durando de 4 a 10 meses para obtenção de mudas filhotes e de dois a seis meses para obtenção de mudas tipo rebentão (REINHARDT, 2000; ZAMPERLINI, 2010).

Convencionalmente, o propágulo usado para o plantio de abacaxi advém da fase propagativa e podem ser de três tipos: rebentão, filhote e coroa. O rebentão se desenvolve a partir de gemas inseridas no caule da planta, dentre as mudas é aquela que produz frutos em menor tempo após o plantio, em torno de 10 a 18 meses. Outro tipo, mas não muito comum de ser usada é a muda tipo coroa, que possui ciclo maior que a muda tipo rebentão. Enquanto o filhote se origina do pedúnculo de um até dois anos após o plantio (ZAMPERLINI, 2010).

Essa variação no ciclo de vida da planta, entre um ano e meio a três anos, ocorre naturalmente pois o ciclo da planta pode variar conforme a quantidade de reservas armazenadas no material propagativo, pelo manejo, pelo ambiente, dentre outros fatores (ALMEIDA et al., 2002; REINHARDT, 2000).

Assim, bons resultados na colheita, começam na escolha dos propágulos para serem usados no plantio, pois o uso de mudas de baixa qualidade pode trazer problemas como baixo vigor ou contaminação por pragas e doenças (TEIXEIRA et al., 2001).

2.3 A produção de mudas *in vitro* e aclimatização

Em relação à produção convencional de abacaxi, por meio de propágulos advindos da fase propagativa do desenvolvimento do abacaxi, a cultura *in vitro* se torna uma importante ferramenta por produzir em torno de cinco mil plantas a partir de uma única muda (ZEPEDA; SAGAWA, 1981), por outro lado, o tempo para obtenção de mudas convencionalmente é grande, sendo

preciso entre 15 a 20 meses para produzir oito mudas por planta, aproximadamente (DEVI; MUJIB; KUNDU, 1997; MANICA et al., 1994). Para formar plântulas em cultura de tecido, é necessário adicionar às gemas retiradas de uma planta adulta reguladores de crescimento ao meio nutritivo usado, principalmente auxinas e citocininas (BARBOZA; CALDAS; SOUZA, 2004; DEWALD et al., 1988; GUERRA et al., 1999; MATHEWS; RANGAN, 1979).

A aclimatização é o processo de transferir as plântulas do cultivo *in vitro* para casa de vegetação para que essas se adaptem ao meio externo e diferente do que elas possuíam na cultura de tecidos com alta umidade e nutrição abundante. Apesar de mudanças serem necessárias, as folhas formadas durante a cultura de tecidos, além de possuírem a função de reserva de compostos orgânicos para a planta, podem ter a função de fotossintetizar até a formação de folhas novas nesse ambiente externo ao tubo do cultivo *in vitro* (LA VIÑA et al., 1999).

As plântulas provenientes da cultura de tecido possuem dificuldade quando expostas diretamente ao ambiente externo por ainda não conseguirem coordenar a perda hídrica, pois quando *in vitro*, as plântulas possuem tecidos diferentes já que estão submetidas à alta umidade do ar no ambiente interno do frasco usado para cultivo e à baixa quantidade luminosa (FUCHIGAMI; CHENG; SOELDNER, 1981; KHAN et al., 2003; PREECE; SUTTER, 1991), outro fator agravante é o cultivo em recipientes vedados sem passagem para trocas de gases que fazem as plântulas exibirem altas taxas transpiratórias (ZIV, 1995), pois nesse ambiente a abertura estomática permanece por muito tempo (PREECE; SUTTER, 1991), sendo necessária a aclimatização dessas plântulas ao meio externo em que as plântulas estarão sujeitas à perda de água.

Para o abacaxi, as plantas passam para a aclimatização quando se encontram entre 4 e 7 cm (SILVA et al., 1998; SOUZA JÚNIOR; BARBOZA; SOUZA, 2001). Independente da maneira que sejam manejadas sob cultivo *in vitro*, essas plantas são manejadas até alcançarem uma boa altura (25 cm) e bom

peso (100 g) para serem cultivadas comercialmente (CAMPOS, 2013; MOREIRA, 2001), sendo esse período em torno de 90 a 150 dias (BREGONCI, 2007; CATUNDA et al., 2008; SILVA et al., 1998; SOUZA JÚNIOR; BARBOZA; SOUZA, 2001).

Um aspecto importante da cultura de tecidos é a obtenção de material isento de doenças pois um dos entraves da produção do abacaxi é a perda causada por doenças como a fusariose, cujo agente patogênico é *Fusarium subglutinans*, considerada a principal doença na cultura (VENTURA; COSTA; CAETANO, 2009).

2.4 Cultivo hidropônico

Segundo Gomes (2013), o maior impedimento na produção de frutas está na produção de mudas de qualidade e em menor quantidade de tempo, sendo o uso de técnica hidropônica importante para essa produção.

Hidroponia é uma técnica de cultivo sem solo, realizados em água ou substratos inertes, portanto, a nutrição é feita pelo uso de solução com nutrientes essenciais ao crescimento e desenvolvimento da cultura (MARTINEZ; CLEMENTE, 2011).

Apesar do cultivo em água ser antigo, somente em 1930 é que foi desenvolvido o sistema comercial da forma que foi projetado pela Universidade da Califórnia, sendo somente em 1955, fundado um grupo especializado no assunto, a Sociedade Internacional de Cultivo Sem Solo. Somente na década de 60 é que houve o uso comercial da técnica em plantação de tomate no Canadá, usando-se gotejamento em serragem (ALVES et al., 2015).

O cultivo hidropônico possui como benefícios aumentar a eficácia no uso da mão de obra, diminuir gastos com insumos agrícolas e obter mudas em menor tempo, por permitir aumento de adubação nitrogenada, pelo ambiente não apresentar agentes patogênicos e pelas plantas transplantadas não possuem

raízes danificadas (CAMAÑES et al., 2009; CHALFUN; FAQUIN, 2008). Sendo assim, esse sistema tem sido testado em diversas plantas, seja florestal, ornamental ou frutífera, como os trabalhos em roseiras (LOCARNO, 2011), pera (SOUZA et al., 2015), citros (GOMES, 2013), uva (FERREIRA, 2013), goiaba (PECHE, 2012) e pêssego (MENDES, 2007).

Porém, a melhor composição de solução hidropônica depende da cultura a ser desenvolvida nesse meio, pois cada espécie possui necessidade nutricional diferente, além de depender de fatores como idade da planta e cultivar (FURLANI, 1999), sendo necessários estudos de adubação para saber sua necessidade ao longo do tempo quando cultivados em sistema hidropônico, pois só há estudos de resposta a nutrientes com base em adubação do solo como o trabalho de Souza (2012), porém, o modo de aplicação e localização dos fertilizantes altera o balanço nutricional e o desenvolvimento da cultura (GOMES, 2013).

Sabendo-se que o começo do estágio vegetativo e da floração são os períodos de maior demanda nutricional (MALAVOLTA, 2006), estudos são fundamentais para se produzir mudas de qualidade elevada e se obter boa produtividade.

Um sistema hidropônico recentemente desenvolvido por Chalfun e Faquin (2008), que consiste em plantas em tubetes contendo substrato inerte, em caixas rasas denominadas piscinas com solução nutritiva mantida por uma caixa d'água de 2.000 L que contém a solução. Esse sistema têm mostrado bons resultados para algumas culturas como para produção de mudas de pêssego e pera. Souza (2010) apresentou que as mudas nesse sistema tiveram crescimento mais rápido. Peche (2012) verificou em goiabeira resultado semelhante, com maior taxa em

emergência e antecipação de 128 dias de formação de mudas. Já Gomes (2013), trabalhando com citrus, verificou que o limoeiro “Cravo Santa Cruz” e o híbrido TSKx(LCRxTR)-059 não apresentaram melhor desenvolvimento quando semeados nessa condição, diferentemente das tangerineiras que apresentaram melhor desenvolvimento quando semeadas nessa condição, sendo o ponto de enxertia antecipado em 90 dias no sistema hidropônico comparado ao sistema convencional.

2.5 Metabolismo do abacaxizeiro

O abacaxi é uma planta que está inserida no grupo do metabolismo ácido das crassuláceas ou metabolismo MAC, dentro desse metabolismo ainda, as plantas podem ser classificadas em subtipos: plantas com enzima málica dependente de NADH, plantas com enzima málica dependente de NADP e plantas com enzima fosfoenolpiruvatocarboxiquinase (PEPCK), estando o abacaxi incluído nesse último grupo (ARAGÓN et al., 2012; WEISE; WIJK; SHARKEY, 2011).

Além disso, existe uma divergência sobre o metabolismo dessa planta, sendo classificada como uma planta CAM facultativa, quando as plantas se encontram em ambiente com menor radiação e temperatura, e com boa disponibilidade hídrica elas se comportariam como C3 e quando sob luminosidade excessiva, déficit hídrico ou altas temperaturas que tornam a absorção diurna do CO₂ menos favorável, essas plantas passam a apresentar o comportamento CAM (BORLAND et al., 1998; LÜTTGE, 2004; TAYBI; CUSHMAN; BORLAND, 2002; TING, 1985) ou CAM constitutiva, em que mesmo em condições ideais de crescimento, essa bromélia expressaria o metabolismo ácido crassuláceo (MEDINA et al., 1994; SAYED, 2001).

Quando o mecanismo CAM está sendo utilizado, o CO₂ é absorvido durante a noite e utilizado na carboxilação do fosfoenolpiruvato (PEP) pela ação

da enzima fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPcase), dando origem ao oxalacetato (OAA) (CHOLLET; VIDAL; O'LEARY, 1996). Por ação da Aspartato aminotransferase, o OAA é convertido a aspartato, que é rapidamente transportado para o vacúolo, juntamente com íons H^+ , causando a acidificação noturna típica das plantas CAM. Durante o dia, ocorre a descarboxilação do aspartato pela enzima PEPCCK e a fixação do CO_2 pela enzima Ribulose Bisfosfato Carboxilase Oxigenase (RUBISCO), reduzindo o teor desse ácido nos tecidos foliares (CUSHMAN; BOHNERT, 1999).

2.6 Florescimento natural do abacaxizeiro

O ciclo da cultura do abacaxi está em torno de 12 a 30 meses, quando se produz o fruto, sendo esse ciclo dividido em três etapas: fase vegetativa, fase reprodutiva e fase propagativa, destas, a fase reprodutiva é menos elástica, independentemente de o florescimento ter sido originado naturalmente ou artificialmente (CUNHA, 2009).

O florescimento pode acontecer de duas maneiras: natural, quando a planta está competente e é estimulada por fatores ambientais; e artificialmente quando há uso de reguladores químicos. Porém, independentemente do tipo de florescimento, são produzidos hormônios como auxina e etileno que vão atuar como estimuladores do florescimento (BURG; BURG, 1966). A produção de etileno ocorre por meio de uma ação sequencial das enzimas ACCsintase e ACCoxidase. No entanto, a floração natural do abacaxizeiro é um fenômeno que apresenta uma série de inconvenientes, não se associando consistentemente com um determinado fator climático. A diferenciação natural do florescimento dá-se, via de regra, entre o final do outono e o início do inverno, no ano subsequente ao do plantio, ainda que possa ocorrer em outras estações, a depender da região. Além disso, o florescimento natural muda anualmente, principalmente em áreas

de relevo mais acidentado e mais distante da linha do equador, variando a porcentagem que acontece naturalmente entre 20 e 80% (CUNHA, 2009).

Para que ocorra o processo de florescimento naturalmente, é necessário que haja fatores ambientais estimulantes como menor comprimento do dia e temperatura noturna baixa que crie uma diferença térmica diária, além de fatores internos à planta como tamanho, grau de desenvolvimento fisiológico e nutrição propícios à indução, sendo ainda um outro componente para diferenciação floral quando as condições ambientais de temperatura e comprimento do dia são praticamente constantes, a seca (MALÉZIEUX et al., 1994; RABIE; TUSTIN; WESSON, 2000).

As condições do meio ambiente que estimulam o florescimento estão relacionadas àquelas em que há menor fotoperíodo, e menor temperatura noturna, além da baixa luminosidade promovida pela presença de nebulosidade (GOWING, 1961; TEISSON, 1972). As exigências climáticas do abacaxizeiro são caracterizadas por sua grande sensibilidade às geadas e radiação solar muito intensa, sendo que temperaturas menores que 15 °C induzem o florescimento (BARTHOLOMEW; MALÉZIEUX, 1994).

2.7 Indução e inibição artificial do florescimento em abacaxizeiro

A produção de abacaxi brasileira tem como problema a sazonalidade, que concentra a oferta dessa infrutescência nos meses de novembro a janeiro, ocasionando queda de preço no mercado devido ao excesso de produto. Por outro lado, entre fevereiro e abril, há uma escassez de abacaxi no comércio que leva ao aumento no seu preço (ANTUNES; ONO; SAMPAIO, 2008). Esse desajuste de produção se dá pelo fato da necessidade em antecipar o florescimento do abacaxi para a condição climática mais favorável, porém formas de retardar o florescimento para ofertar essa fruta em épocas de preço mais elevado seria uma vantagem para o produtor.

Devido ao ciclo de vida longo e a desuniformidade no florescimento natural da cultura que causa retardo e maior custo na colheita dos frutos fizeram com que formas de uniformizar e acelerar o florescimento fossem estudadas, sendo a primeira substância empregada para induzir o florescimento artificialmente durante o século XIX, sendo somente na década de 20 descoberto que o etileno é que era o responsável pela floração (RODRIGUES, 1932).

Somente a partir de 1930 é que o etileno começou a ser usado para induzir o florescimento no abacaxi e a partir dessas descobertas, afirmou-se que o etileno é o principal hormônio responsável pela floração dessa cultura, mas não se sabe com precisão como ele atua nos processos fisiológicos de floração natural do abacaxi e em outras bromeliáceas (CUNHA, 2009). Trabalhos têm sido realizados para entender a regulação de enzimas produtoras do etileno como a ACC sintase que possui importante função quando ocorrem baixas temperaturas e há maior produção de etileno (TRUSOV; BOTELLA, 2006).

O Ethrel[®], cujo princípio ativo é o ethefon (ácido 2-cloretilfosfônico), é um estimulante do florescimento que se mantém estável na forma ácida, mas, quando aplicado nos tecidos do ápice vegetativo, permite a evolução do hormônio vegetal gasoso etileno (BERNARDES, 1990), além de tornar esse local mais responsivo à ação de hormônios como a auxina, porém nem sempre após a aplicação de ethefon há uma produção uniforme no florescimento (CUNHA 1989), pois fatores externos podem influenciar na atuação do produto como períodos de alta temperatura, principalmente à noite (MIN; BARTHOLOMEW, 1995; TURNBULL et al., 1999).

Sabe-se que o etileno é o principal hormônio envolvido no florescimento para a cultura, sendo assim, reguladores vegetais ou compostos químicos que interfiram na rota de produção desse composto têm sido estudados para retardar o florescimento de plantas com meristemas competentes ao florescimento durante os períodos de condição climática favorável ao florescimento natural da

cultura, como o uso do AVG, inibidor da ACCsintase, que sendo aplicado 4-5 vezes na dose de 500 mg.^{L-1} retardou o florescimento em sete semanas (WANG et al., 2007). Outros inibidores também usados são: ácido 2-(3-clorofenoxi) propiônico, paclobutrazol (ANTUNES; ONO; SAMPAIO, 2008), ácido giberélico, tebuconazol, cloreto de mepiquat e propaconazol (REINHARDT; CUNHA; COSTA, 2003). Outro inibidor usado em algumas culturas é o herbicida Diquat que atua na inibição da atuação da enzima ACCoxidase que atua na promoção da formação de etileno (KIRST et al., 2011).

Um importante inibidor de ação do etileno usado para partes vegetais pós-colheita é o 1-MCP, que atua competindo com o etileno pelo mesmo sítio receptor, sendo sua afinidade ao receptor dez vezes maior que o etileno, por isso sua eficiência é alta mesmo usando baixas concentrações (WATKINS; NOCK; WHITAKER, 2000). Porém, a ação contra o etileno não é duradoura porque novos sítios receptores são sintetizados, retomando a sensibilidade ao etileno (PINHEIRO; VILAS BOAS; MESQUITA, 2005). Apesar de ser considerado um inibidor de ação do etileno em material vegetal pós-colheita, Lima (2015) mostrou que ao ser aplicado em plantas de café, houve um estímulo ao florescimento.

2.8 Genes envolvidos no florescimento do abacaxi

O florescimento é um estágio que depende de uma complexa rede de interação entre fatores endógenos e exógenos à planta. Como fatores endógenos se encontra o estado nutricional da planta, o balanço hormonal, a idade e a maturidade da planta. Enquanto para fatores exógenos, para o abacaxi, os principais são: fotoperíodo e temperatura (RAINHA et al., 2013).

Em *A. thaliana*, verifica-se que há quatro rotas para o florescimento, uma é resultante da indução pelo fotoperíodo do gene regulado pelo ritmo circadiano CONSTANS (CO), que com o aumento de CO, ocorre um aumento

na expressão do FLOWERING LOCUS T (FT) que culminará na expressão do gene LEAFY (LFY) indutor do florescimento. Duas outras rotas denominadas autônoma e de vernalização, na qual o florescimento é inibido pela ação do gene FLOWERING LOCUS C (FLC) e seu clado, que reprimem a ação dos genes de integração floral. Por último, encontra-se a via da giberelina, indutora do florescimento (KIM et al., 2009).

Dentro dos hormônios importantes para o florescimento para o abacaxi, o etileno é um dos principais, diferentemente de outras espécies, juntamente com a giberelina. Sendo a aplicação exógena de produtos liberadores de etileno amplamente usado comercialmente para induzir o florescimento nessa cultura (CUNHA, 2005).

Para a produção de etileno, duas enzimas-chaves são necessárias: ACCsintase e ACCoxidase, no qual a ACCsintase produzirá ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) a partir de S-adenosil-metionina (SAM) e a ACCoxidase converterá o ACC em etileno (POEL et al., 2012), sendo assim, genes de produção de ACCsintase e ACCoxidase são ativados para poderem produzir essas proteínas e gerar etileno.

A ACCsintase é uma enzima decodificada por uma família multigênica que está presente no citosol e que requer um cofator para sua atuação. Há diversas isoformas dessa enzima em todos os vegetais, partilhando da mesma função como no tempo de florescimento, sendo essas reguladas tanto em nível transcricional como pós-transcricional. No abacaxi, há dois genes homólogos responsáveis por sua origem, o AcACS1 expresso em frutos e em folhas danificadas e o AcACS2 cuja funcionalidade já foi demonstrada no florescimento ao ser silenciado, acarretando atraso no florescimento (TRUSOV; BOTELLA, 2006; TSUCHISAKA et al., 2009).

O etileno em conjunto com fatores ambientais e outros hormonais, desencadeará estímulo ou inibição de genes que atuarão na indução ao

florescimento, sendo um gene importante para o processo o Flowering Locus T (FT) (RAINHA et al., 2013). O FT é um integrador floral formado por um conjunto de genes homólogos que possuem expressão diferente em partes vegetais diversas, sendo o AcFT expresso em polpa e não apresentando expressão em folhas, além disso, verifica-se que o AcFT, quando expresso em *Arabidopsis thaliana* transgênica, provoca a antecipação do florescimento (LV et al., 2012). Entretanto, trabalhos mostram que o FT é normalmente gerado em folhas, em que a proteína FT depois de formada é transportada através do floema para o ápice caulinar onde, através de fatores de transcrição, aciona genes de desenvolvimento floral (FOSTER et al., 2014; WICKLAND; HANZAWA, 2015).

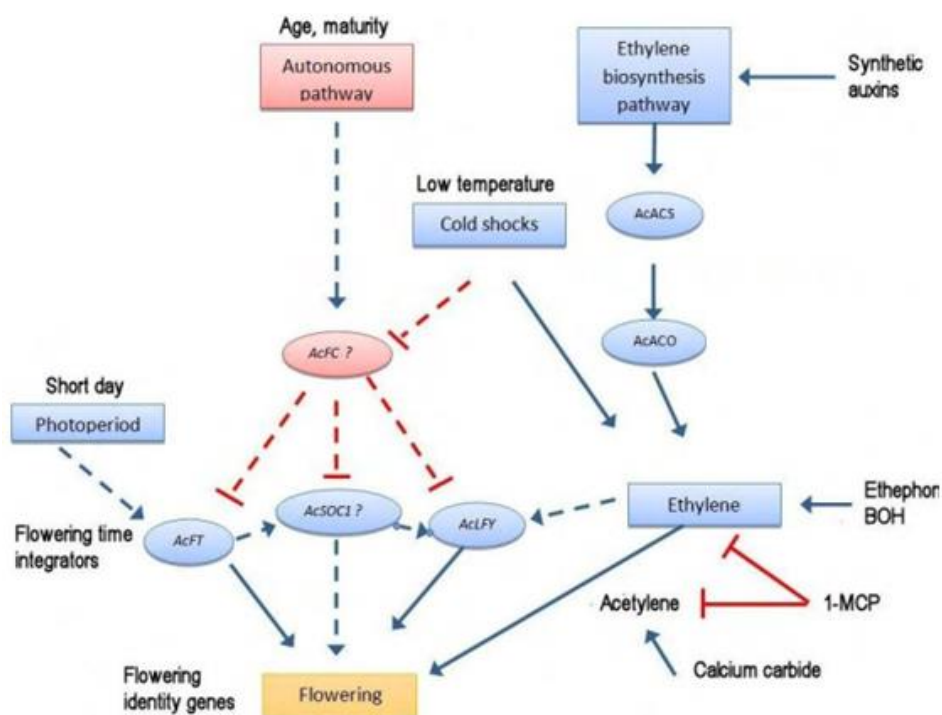
Diferentemente do abacaxi, em *A. thaliana*, o florescimento é regulado por uma complexa rede de *feedback*, no qual a ativação dos sinais do etileno reduz níveis de giberelina, causando um acúmulo de proteínas DELLA, por conta disso, o florescimento é atrasado, já que as proteínas DELLA causam uma inibição dos indutores LFY e SOC1 (ACHARD et al., 2007).

Pela rota da giberelina, o florescimento é induzido por inibição da proteína DELLA que inibe a produção do fator de transcrição GAMYB, responsável pelo estímulo da atividade do gene LEAFY, potente indutor do florescimento, assim como a proteína DELLA inibe a atuação do SOC1 (GOCAL et al., 2001). Outra forma de ação são por meio dos microRNAs, como o miR159, que segmenta o gene GAMYB, assim como proteínas GAMYB atuam, quando em grande quantidade, estimulando a atividade desses microRNAs (ACHARD et al., 2004).

A partir de vários trabalhos, Rainha et al. (2013) criou possíveis integrações das rotas descritas anteriormente. Primeiramente, entre os fatores do ambiente atuantes no florescimento estão o fotoperíodo, no qual quando é reduzido estimula o florescimento por incitar a expressão do gene FT do

abacaxi, e a baixa temperatura que atua inibindo o gene FC, repressor dos genes de integração floral. Outra via de florescimento é a hormonal que se dá pelo estímulo ao florescimento promovido pelo etileno, sendo assim, o surgimento desse hormônio pode ser via endógena ou exógena, aplicando-se auxina, estimulador de síntese de etileno, ethephon e carbureto de cálcio (FIGURA1).

Figura 1 - Esquema de vias propostas para o florescimento do abacaxi. Componentes e interações que promovem o florescimento estão em azul e as que reprimem em vermelho.



Legenda: Linhas pontilhadas representam proposições de conexões no florescimento do abacaxi. 1-MCP (1-metilciclopropeno), AcACS (ACC Synthase); AcACO (ACO Oxidase); AcFC (FLOWERING LOCUS C); AcFT (FLOWERING LOCUS T); AcLFY (LEAFY); AcSOC1 (SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1), BOH (2-hidroxiethylhidrazina) (RAINHA et al., 2013)

REFERÊNCIAS

- ACHARD, P. et al. Modulation of floral development by a gibberellin-regulated microRNA. **Development**, Cambridge, v. 131, n. 14, p. 3357-3365, June 2004.
- _____. The plant stress hormone ethylene controls floral transition via DELLA-dependent regulation of floral meristem-identity genes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 104, n. 15, p. 6484–6489, Mar. 2007.
- ALMEIDA, O. A. de et al. Influência da irrigação no ciclo do abacaxizeiro cv. Pérola em área de tabuleiro costeiro da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 431–435, ago. 2002.
- ALVES, R. V. et al. A tecnologia social e a forma de geração de ervas a partir do concentrado proveniente da dessalinização. **Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas**, Santa Maria, v. 19, n. 1, p. 237-245, jan./abr. 2015.
- ANTUNES, A. M.; ONO, E. O.; SAMPAIO, A. C. Efeito do paclobutrazol no controle da diferenciação floral do abacaxizeiro cv. Smooth cayenne. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 290-295, jun. 2008.
- ARAGÓN, C. et al. The physiology of ex vitro pineapple (*Ananas comosus* L. Merrill var MD-2) as CAM or C3 is regulated by environmental conditions. **Plant Cell Reports**, Alemanha, v. 31, n. 4, p. 757-769, Dec. 2012.
- BARBOZA, S. B. S. C.; CALDAS, L. S.; SOUZA, L. A. C. Micropropagation of pineapple hybrid PExSC-52 and cultivar Smooth Cayenne. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 8, p. 725-733, ago. 2004.
- BARTHOLOMEW, D. P.; MALÉZIEUX, E. Pineapple. In: SCHAEFFER, B.; ANDERSON, P. **Environmental physiology of fruit crops: sub-tropical and tropical crops: volume 2**. USA: CRC Press, 1994. p. 243-291.
- BERNARDES, M. S. **Efeito de métodos químicos de indução de copa no desenvolvimento da seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg. cv. RRIM 600)**. 1990. 192 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1990.
- BORLAND, A. M. et al. Inducibility of crassulacean acid metabolism (CAM) in *Clusia* species; physiological/biochemical characterisation and intercellular

localization of carboxylation and decarboxylation processes in three species which exhibit different degrees of CAM. **Planta**, Berlin, v. 205, n. 3, p. 342-351, May 1998.

BREGONCI, I. S. **Aclimação e adubação de mudas micropropagadas do abacaxizeiro ‘Gold’ no sul do estado do Espírito Santo**. 2007. 109 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2007.

BURG, S. P.; BURG, E. A. Auxin-induced ethylene formation: its relation to flowering in the pineapple. **Science**, New York, v. 152, n. 726, p. 1269, May 1966.

CAMAÑES, G. et al. Ammonium transport and CitAMT1 expression are regulated by N in Citrus plants. **Planta**, Berlin, v. 229, n. 2, p. 331, Jan. 2009.

CAMPOS, S. R. F. **Normas de produção e comercialização de mudas de abacaxi**. Palmas: SFA, 2013. 15 p.

CATUNDA, P. H. A. et al. Brassinosteróide e substratos na aclimatização do abacaxizeiro ‘Imperial’. **Acta Science Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 3, p. 345-352, set. 2008.

CHALFUN, N. N. J.; FAQUIN, V. **Hidromudas**: processo de produção de porta enxertos e mudas frutíferas, florestais e ornamentais enxertadas em hidroponia. (BRN.PI 0802792-7). Rio de Janeiro: INPI, 2008.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças**. Lavras: ESAL/FAEP, 1990. 320 p.

CHOLLET, R.; VIDAL, J.; O’LEARY, M. H. Phosphoenol pyruvate carboxylase: a ubiquitous, highly regulated enzyme in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Califórnia, v. 47, n. 1, p. 273-298, June 1996.

CRESTANI, M. et al. Das Américas para o mundo: origem, domesticação e dispersão do abacaxizeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 6, p. 1473–1483, jun. 2010.

CUNHA, G. A. P. Applied aspects of pineapple flowering. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 4, p. 499–516, jan. 2005.

_____. Eficiência do ethephon, em mistura com hidróxido de cálcio e uréia, na floração do abacaxi. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 1, n. 1, p. 51–54, 1989.

_____. **Equipe técnica de abacaxi comemora 30 anos de atividades e realizações**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2007. 20 p.

CUNHA, G. A. P. Fisiologia da floração do abacaxizeiro. In: CARVALHO, C. A. L. et al. **Tópicos em ciências agrárias**: volume 1. Cruz das Almas: UFRB, 2009. p. 57-65.

CUSHMAN, J. C.; BOHNERT, H. J. Crassulacean acid metabolism: molecular genetics. **Annual Review of Plant Biology**, Califórnia, v. 50, n. 1, p. 305-332, June 1999.

DEVI, Y. S.; MUJIB, A.; KUNDU, S. C. Efficient regenerative potential from long term culture of pineapple. **Phytomorphology**, Índia, v. 47, n. 3, p. 255-259, July 1997.

DEWALD, M. G. et al. Production of pineapple plants *in vitro*. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 7, n. 7, p. 535-537, Dec. 1988.

DULL, G. G. The pineapple: general. In: HULME, A. C. **The biochemistry of fruits and their products**: volume 2. Londres: Academic Press, 1971. p. 303-324.

FERREIRA, E. A. et al. Abacaxi. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 32, n. 264, p. 7-16, out. 2011.

FERREIRA, F. T. **Produção de videira pelos sistemas hidropônico e convencional**. 2013. 69 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Food and agricultural commodities production**. New York: FAOSTAT, 2014. Disponível em:

<<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acesso em: 28 fev. 2016.

_____. **Perspectivas Agrícolas 2015-2024**. Paris: OCDE/FAO, 2015.

Disponível em: <[http://www.keepeek.com/Digital-Asset-](http://www.keepeek.com/Digital-Asset-Management/oecd/agriculture-and-food/oecd-fao-agricultural-outlook-)

[Management/oecd/agriculture-and-food/oecd-fao-agricultural-outlook-](http://www.keepeek.com/Digital-Asset-Management/oecd/agriculture-and-food/oecd-fao-agricultural-outlook-)

2015_agr_outlook-2015-en#.WJs8GoWcHIU#page102>. Acesso em: 8 fev. 2017.

FOSTER, T. M. et al. Key flowering genes including FT-like genes are up-regulated in the vasculature of apple dwarfing rootstocks. **Tree Genetics & Genomes**, Alemanha, v. 10, n. 1, p. 189-202, Feb. 2014.

FUCHIGAMI, L. H.; CHENG, T. Y.; SOELDNER, A. Abaxial transpiration and water loss in aseptically cultured plum. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Estados Unidos, v. 106, n. 4, p. 519-522, 1981.

FURLANI, P. **Instruções para o cultivo de hortaliças de folhas pela técnica de hidroponia NFT**. Campinas: Instituto Agronômico, 1999. 30 p.

GOICAL, G. F. W. et al. GAMYB-like Genes, Flowering and Gibberellin Signaling in Arabidopsis. **Plant Physiology**, Estados Unidos, v. 127, n., p. 1682–1693, Dec. 2001.

GOMES, W. de A. **Produção de mudas de porta-enxertos e sistemas de condução de plantas borbulheiras cítricas em hidroponia**. 2013. 93 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

GOWING, D. P. Experiments on the photoperiodic response in pineapple. **American Journal of Botany**, Estados Unidos, v. 48, n. 1, p. 16-21, Jan. 1961.

GRANADA, G. G.; ZAMBIAZI, R. C.; MENDONÇA, C. R. B. Abacaxi: produção, mercado e subprodutos. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 22, n. 2, p. 405–422, jul./dez. 2004.

GUERRA, M. P. et al. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 9, p. 1557-1563, set. 1999.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**: pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. Rio de Janeiro: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2016.

KHAN, P. S. et al. Growth and water relations of *Paulownia fortunei* under photomixotrophic and photoautotrophic conditions. **Biologia Plantarum**, República Tcheca, v. 46, n. 2, p. 161-166, Mar. 2003.

KIM, D. H. et al. Vernalization: winter and the timing of flowering in plants. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, Califórnia, v. 25, n. 1, p. 277-299, Aug. 2009.

KIRST, H. S. K. et al. Diquat e uréia no manejo da floração natural do abacaxizeiro pérola. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 4, p. 1048-1054, dez. 2011.

LA VIÑA, G. et al. Effects of CO₂ and sugars on photosynthesis and composition of avocado leaves grown in vitro. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 37, n. 7/8, p. 587-595, 1999.

LIMA, A. A. **Ethylene regulation under different watering conditions and its possible involvement in coffee (*Coffea arabica* L.) flowering**. 2015. 149 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

LOCARNO, M. **Propagação de roseiras em sistema hidropônico**. 2011. 75 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

LOPES NETO, J. J. et al. Estudo botânico, fotoquímico e avaliação de atividades biológicas no fruto de *Ananas comosus* var. *Comosus* (L.) Merrill (Bromeliaceae). **Gaia Scientia**, Paraíba, v. 9, n. 1, p. 164-171, 2015.

LUTTGE, U. Ecophysiology of crassulacean acid metabolism (CAM). **Annals of Botany**, Inglaterra, v. 93, n. 6, p. 629-652, June 2004.

LV, L. et al. Isolation and characterization of a flowering locus T homolog from pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr). **Gene**, Holanda, v. 505, n. 2, p. 368-373, Sept. 2012.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Ceres, 2006. 631 p.

MALÉZIEUX, E. et al. Predicting pineapple harvest date in different environments, using a computer simulation model. **Agronomy Journal**, Estados Unidos, v. 86, n. 4, p. 609-617, Mar./Apr. 1994.

MANICA, I. et al. Indução do florescimento e produção do abacaxizeiro cv. Smooth cayenne. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 81-86, jan. 1994.

MARTINEZ, H. E. P.; CLEMENTE, J. M. **O uso do cultivo hidropônico de plantas em pesquisa**. Viçosa: UFV, 2011. 76 p.

MATHEWS, V. H.; RANGAN, T. S. Multiple plantlets in lateral bud and leaf explant in vitro cultures of pineapple. **Scientia Horticulturae**, Holanda, v. 11, n. 4, p. 319-328, Dec. 1979.

MEDINA, E. et al. Light conditions during growth as revealed by $\delta^{13}C$ values of leaves of primitive cultivars of *Ananas comosus*, an obligate CAM species. **Functional Ecology**, Inglaterra, v. 8, n. 3, p. 298-305, June 1994.

MENDES, D. A. R. **Produção e nutrição de mudas de pessegueiro em hidroponia**. 2007. 46 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

MIN, X. J.; BARTHOLOMEW, D. P. Temperature affects ethylene metabolism and fruit initiation and size of pineapple. **Acta Horticulturae**, The Hague, n. 425, p. 329-338, 1995.

MOREIRA, B. A.; WANDERLEY, M. D. G. L.; CRUZ-BARRO, M. A. V. da. **Bromélias: importância ecológica e diversidade. Taxonomia e morfologia**. São Paulo: Instituto de Botânica, 2006. 11 p.

MOREIRA, M. A. **Produção e aclimação de mudas micropropagadas de abacaxizeiro: ananas comosus (L) Merrill cv. Pérola**. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

PECHE, P. M. **Produção de mudas de goiabeira em sistema hidropônico e convencional**. Lavras, 2012.

PINHEIRO, A. C. M.; VILAS BOAS, E. V. de B.; MESQUITA, C. T. Ação do 1-metilciclopropeno (1-MCP) na vida de prateleira da banana 'Maçã'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 25-28, abr. 2005.

POEL, B. V. et al. Targeted systems biology profiling of tomato fruit reveals coordination of the yang cycle and a distinct regulation of ethylene biosynthesis during postclimacteric ripening. **Plant Physiology**, Estados Unidos, v. 160, n. 3, p. 1498-1514, Sept. 2012.

PREECE, J. E.; SUTTER, E. G. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In: DEBERG, P. C.; ZIMMERMAN, R. H.

Micropropagation. London: Kluwer Academic Publishers, 1991. p. 71-93.

RABIE, E. C.; TUSTIN, H. A.; WESSON, K. T. Inhibition of natural flowering occurring during the winter months in 'Queen' pineapple in Kwazulu Natal, South Africa. **Acta Horticulturae**, The Hague, n. 529, p. 175-184, May 2000.

RAINHA, N. et al. The molecular mechanisms of flowering: is pineapple flowering totally understood? **Newsletter of the Pineapple Working Group**, Oxford, n. 20, p. 16-23, July 2013.

REINHARDT, D. H. A planta e o seu ciclo. In: REINHARDT, D. H.; SOUZA, L. F.; CABRAL, J. R. S. (Org.). **Abacaxi produção**: aspectos técnicos. Brasília: Embrapa, 2000. p. 13-14.

REINHARDT, D. H.; CUNHA, G. A. P.; COSTA, J. T. A. Natural flowering in pineapple: inhibition by growth regulators. **Fruits**, Estados Unidos, v. 58, n. 1, p. 27-37, Jan. 2003.

RODRIGUES, A. G. Smoke and ethylene and pineapple flowering. **Journal of Agriculture University of Puerto Rico**, Porto Rico, v. 16, n. 1, p. 5-6, 1932.

SAYED, O. H. Crassulacean acid metabolism 1975–2000, a check list. **Photosynthetica**, República Checa, v. 39, n. 3, p. 339-352, Sept. 2001.

SILVA, A. B. et al. Aclimação de brotações de abacaxi (*Ananas comosus* L.) produzidas *in vitro*: ação de agromix, húmus e kelpak®. **Revista da Universidade de Alfenas**, Alfenas, v. 4, n. 2, p. 107-110, Jan. 1998.

SILVA, S.; TASSARA, H. Abacaxi. In: SILVA, S.; TASSARA, H. **Frutas no Brasil**. 5. ed. São Paulo: Editora das Artes, 2001. p. 25-27.

SOUZA JÚNIOR, E. E.; BARBOZA, S. B. S. C.; SOUZA, L. A. C. Efeito de substratos e recipientes na aclimação de abacaxizeiro [*Ananas comosus* (L.) Merrill] cv. Pérola. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiás, v. 31, n. 2, p. 147-151, jul./dez. 2001.

SOUZA, A. das G. et al. Massa seca e acúmulo de nutrientes em mudas enxertadas de pereira em sistema hidropônico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 37, n. 1, p. 240–246, jan./mar. 2015.

SOUZA, A. das G. **Produção de mudas enxertadas de pereira e pessegueiro em sistema hidropônico**. 2010. 91 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

SOUZA, B. A. M. **Marcha de absorção de nutrientes e crescimento do abacaxizeiro 'vitória' irrigado**. 2012. 112 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, 2012.

SOUZA, J. da S.; SOUZA, L. F. da S. Aspectos socioeconomicos. In: SILVA, J. M. DE M. (Ed.). **Abacaxi produção: aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa, 2000. 77 p.

TAYBI, T.; CUSHMAN, J. C.; BORLAND, A. M. Environmental, hormonal and circadian regulation of crassulacean acid metabolism expression. **Functional Plant Biology**, Austrália, v. 29, n. 6, p. 669-678, Jan. 2002.

TEISSON, C. Studies on internal browning of pineapple. **Fruits**, Estados Unidos, v. 27, n. 9, p. 603-612, 1972.

TEIXEIRA, J. B. et al. **Produção de mudas de abacaxi de alta qualidade através de micropropagação**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 26 p.

TING, I. P. Crassulacean acid metabolism. **Annual Review of Plant Physiology**, Califórnia, v. 36, n. 1, p. 595-622, June 1985.

TRUSOV, Y.; BOTELLA, J. R. Silencing of the ACC synthase gene ACACS2 causes delayed flowering in pineapple [*Ananas comosus* (L.) Merr.]. **Journal of Experimental Botany**, Inglaterra, v. 57, n. 14, p. 3953-3960, Oct. 2006.

TSUCHISAKA, A. et al. A combinatorial interplay among the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate isoforms regulates ethylene biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. **Genetics**, Estados Unidos, v. 183, n. 3, p. 979-1003, Nov. 2009.

TURNBULL, C. G. N. et al. Routes of ethephon uptake in pineapple (*Ananas comosus*) and reasons for failure of flower induction. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 18, n. 4, p. 145-152, Dec. 1999.

VENTURA, J. A.; COSTA, H.; CAETANO, L. C. S. 'Vitoria' pineapple: fusariose resistant cultivar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 1-2, dez. 2009.

VERSIEUX, L. M.; WENDT, T. Bromeliaceae diversity and conservation in Minas Gerais state, Brazil. **Biodiversity and Conservation**, Nova York, v. 16, n. 11, p. 2989-3009, Mar. 2007.

WANG, R. H. et al. Delaying natural flowering in pineapple through foliar application of avilglycine, an inhibitor of ethylene biosynthesis. **HortScience**, Estados Unidos, v. 42, n. 5, p. 1188-1191, Aug. 2007.

WATKINS, C. B.; NOCK, J. F.; WHITAKER, B. D. Responses of early, mid and late season apple cultivars to postharvest application of 1-methylcyclopropene (1-MCP) under air and controlled atmosphere storage conditions. **Postharvest Biology and Technology**, Holanda, v. 19, n. 1, p. 17-32, May 2000.

WEISE, S. E.; WIJK, K. J. V.; SHARKEY, T. D. The role of transitory starch in C3, CAM, and C4 metabolism and opportunities for engineering leaf starch accumulation. **Journal of Experimental Botany**, Inglaterra, v. 62, n. 9, p. 3109-3118, July 2011.

WICKLAND, D. P.; HANZAWA, Y. The flowering locus T/terminal flower 1 gene family: functional evolution and molecular mechanisms. **Molecular Plant**, Inglaterra, v. 8, n. 7, p. 983-997, July 2015.

ZAMPERLINI, G. P. **Crescimento e desenvolvimento fotoquímico do processo fotossintético em abacaxizeiro 'Vitória'**. 2010. 60 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2010.

ZEPEDA, C.; SAGAWA, Y. *In vitro*-propagation of pineapple. **HortScience**, Berlin, v. 16, n. 4, p. 495-495, Dec. 1981.

ZIV, M. *In vitro* acclimatization. In: AITKEN-CHRISTIE, J.; KOZAI, T.; SMITH, M. A. L. **Automation and environmental control in plant tissue culture**. New Zealand: Springer Science, 1995. p. 493-516.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

**ARTIGO 1 - RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE PLANTAS DE ABACAXI
(*Ananas comosus* L. MERRIL) A DIFERENTES CONDIÇÕES DE
CULTIVO, APÓS TRANSPLANTIO DE EXPLANTES CULTIVADOS *In vitro***

**Formatação do artigo baseada na NBR 6022 (ABNT, 2003), conforme
orientação do Manual de Normalização da UFLA.**

RESUMO

O abacaxi é uma planta bastante popular e cultivada no Brasil. A produção desta se dá por meio da propagação assexuada de mudas como rebentão, coroa, filhote, filhote-rebentão, seccionamento do caule e cultura de tecido. Uma das maiores limitações para a produção dessa espécie no Brasil é uma doença, conhecida como fusariose, responsável por ocasionar grandes perdas para o produtor. Uma das formas de contornar tal situação é o uso de material proveniente da cultura de tecidos, que deve ser aclimatizado antes de ser comercializado. O objetivo deste trabalho foi avaliar se as plantas não aclimatizadas sobrevivem e desenvolvem em ambiente hidropônico e em campo, bem como comparar o desenvolvimento dessas com plantas aclimatizadas nas mesmas condições. Para isso, foram cultivadas vinte plantas aclimatizadas em campo e vinte em condição hidropônica, assim como vinte plantas não aclimatizadas em condição hidropônica e vinte em campo. As variáveis utilizadas foram: comprimento de altura e de raiz, largura da folha D, diâmetro basal, teores de clorofila, açúcares solúveis totais, amido, aminoácidos e quantidade de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K) e cálcio (Ca) em folhas, massa seca de raiz e parte aérea, contagem do número de folhas, bem como determinação de área foliar e fotossíntese. Verificou-se que as plantas não aclimatizadas conseguiram sobreviver e se desenvolver somente no ambiente de cultivo hidropônico, as plantas sob hidroponia apresentaram melhor qualidade nutricional (N,P,K) e crescimento radicular, mas pior teor de cálcio. As plantas aclimatizadas não diferiram estatisticamente nas variáveis relacionadas à parte aérea em diferentes condições de cultivo e apresentaram resultado superior às plantas não aclimatizadas em hidroponia. As plantas aclimatizadas em hidroponia apresentaram maior crescimento radicular que as plantas aclimatizadas em campo.

Palavras-chave: Hidroponia. Campo. Plantas não aclimatizadas. Plantas aclimatizadas.

ABSTRACT

Pineapple is a very common plant cultivated in Brazil. The production of this occurs by asexual propagation of seedlings such as ground sucker, crown, slip, aerial sucker, sectioning of stem and tissue culture. One of the main constraints for the production of this species in Brazil is a disease, called fusariose, responsible for causing large losses the farmers. One way to improving the situation is the use of tissue culture material, which must be acclimatized before being marketed. The purpose of this work was to evaluate if the non-acclimatized plants survive and develop in hydroponic and field conditions, as well as to compare their development with acclimatized plants under the same conditions. For this, twenty acclimatized plants were grown in the field and twenty in hydroponic condition, as well twenty non-acclimatized plants in hydroponic condition and twenty in the field. The parameters investigated were: shoot and root length, width of D leaf, basal diameter, chlorophyll content, total soluble sugars, starch, amino acids, nitrogen (N), phosphorous (P), potassium (K) and calcium (Ca) amount in leaves, dry root and shoot weight, number of leaves, determination of leaf area and photosynthesis. It was verified that the non-acclimatized plants were able to survive and develop only in the hydroponic cultivation condition, plants under hydroponic treatment presented the better nutritional (N,P,K) quality and root growth, but a lower calcium level. Acclimatized plants didn't differ statistically in the variables related to the shoot in different cultivation conditions and they presented superior results to plants non-acclimatized in hydroponic. The acclimatized plants in hydroponics showed higher root growth than the acclimatized plants in the fields.

Keywords: Hydroponics. Field. Non-acclimatized plants. Acclimatized plants.

1 INTRODUÇÃO

O abacaxizeiro é uma das fruteiras tropicais mais cultivadas no Brasil, além de ser uma excelente fonte de renda tanto pela comercialização do fruto *in natura* como pela sua industrialização. Segundo a Food and Agriculture Organization of the United Nations (2015), dentre as frutas tropicais no Brasil, a de maior destaque é o abacaxi pelo seu volume produzido, estando a produção média na última década em 2,5 Mt. No entanto, sucesso da cultura do abacaxi depende, entre outros fatores, da qualidade da muda utilizada pelos agricultores.

A planta de abacaxi pode ser propagada de vários modos, principalmente pelas formas assexuadas, apesar de haver também propagação por sementes, mas só é usada com fins de melhoramento genético. Quanto às formas de produção de mudas, estas podem ser obtidas através do caule seccionado, por mudas convencionais e por cultura de tecido (REINHARDT; CUNHA, 1999). Este último apresenta vantagens em relação aos demais pelo alto vigor e uniformidade; ausência de pragas e doenças; mudas enraizadas e prontas para serem cultivadas no campo; disponibilidade de acordo com a demanda em termos de época e local de plantio, fatores que são de grande importância para o sistema produtivo, devido à produção de mudas com elevada qualidade e quantidade, além de ser livre de patógenos (GUERRA et al., 1999). Porém, esse tipo de planta possui preço mais elevado devido aos custos para sua produção, fazendo com que não seja muito usada comercialmente (TEIXEIRA et al., 2001; SILVA; TARSITANO; BOLIANI, 2005), por isso, é necessário uma maior quantidade de pesquisas de plantas micropropagadas e sua aclimatização para reduzir os custos de produção.

Neste sentido, um dos desafios, é a sobrevivência e o crescimento de plantas micropropagadas, após sua remoção do meio de cultivo *in vitro*. Como as plantas na cultura de tecido ficam sob umidade elevada do ar e não possuem contato com micro-organismos, quando são levadas para ambiente externo ao

cultivo *in vitro*, não conseguem sobreviver ou possuem baixo crescimento, sendo preciso passar por aclimatização, processo que demanda maior quantidade de tempo em relação às mudas convencionais (LAKSO et al., 1986). Uma vez que, na fase de aclimatização, as plantas provenientes da cultura de tecido são transferidas para ambientes com umidade relativa do ar mais baixa e temperatura variável, para que possam ser conduzidas em um substrato diferente e consigam sobreviver e desenvolver em campo (SILVA et al., 1995).

Diante do exposto, objetivou-se com a realização deste trabalho, avaliar os aspectos fisiológicos relacionados à produção de mudas de abacaxizeiro obtidas *in vitro*, com cultivo continuado em condição não protegida e o cultivo em solução hidropônica em casa de vegetação de plantas aclimatizadas e não aclimatizadas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local, Período Experimental e Material Vegetal

O experimento foi conduzido na Universidade Federal de Lavras/MG, sendo a parte hidropônica instalada na casa de vegetação do departamento de solos e a parte de campo foi instalado na área experimental do setor de fisiologia vegetal.

O material utilizado foi obtido de explantes cultivados *in vitro* a partir do meristema vegetativo de mudas de abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill) da cultivar Pérola tipo filhote, procedentes de Monte Alegre/MG. Para a cultura dos tecidos meristemáticos, foram utilizados frascos de vidro de 350 mL com tampa de plástico contendo filtro para trocas gasosas. O meio de cultura utilizado foi o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado 0,5 mg/L de BAP, 0,25 mg/L de ANA (ácido naftalenoacético Sigma[®]) e posteriormente 0,05 μ M de ANA com a finalidade de fortalecer o enraizamento.

O processo de aclimatização iniciou-se em 23/06/2016 quando as plantas mediam entre 5 e 6 cm, sendo transferidos para bandeja de polietileno de 162 células com substrato inerte tipo vermiculita. Posteriormente, as plantas foram conduzidas para a casa de vegetação com 70% de sombreamento por 30 dias, permanecendo por igual período a 50% e 20% de sombreamento, totalizando três meses sem uso de nutrientes, pois durante os três primeiros meses após o plantio, as plantas são pouco exigentes em nutrientes por possuírem reserva e poucas raízes (MANICA, 1999). Em 22/08/2016, o experimento foi instalado com plantas aclimatizadas e as não aclimatizadas transplantadas para diferentes condições de cultivo que consistiram em campo e cultivo hidropônico.

Para a condição de campo, as plantas aclimatizadas e não aclimatizadas foram colocadas em vasos de polietileno com capacidade para 8 litros contendo

terra e areia na proporção de 1:1. As análises dos nutrientes da mistura estão apresentadas na Tabela 1. As adubações de plantio e de cobertura foram realizadas conforme Faquin, Vale e Furtini Neto (2010), adicionando-se por planta 2,67 g $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$; 8,99 g Superfosfatotriplo; 1,02 g KCl; 2,11 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,12 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,03 g H_3BO_3 ; 0,04 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 0,09 g $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; enquanto que para adubação de cobertura foi adicionado, por planta, 2,67 g $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ e 1,02 g KCl. As plantas foram regadas diariamente no final da tarde (17h e 18h), com a finalidade de favorecer a captura noturna de CO_2 .

Tabela 1 - Análise dos nutrientes da mistura entre terra e areia lavada na proporção 1:1 e utilizadas para o cultivo em ambiente não protegido

pH	K	P	Ca	Mg	Al	M.O.
	mg/dm ³		cmol/dm ³			dag/kg
5,6	24	1,13	1,5	0,2	0,1	2,11

Fonte: Dados do Autor (2016)

Para o cultivo hidropônico, as plantas aclimatizadas e os explantes foram colocados em tubetes de polietileno com capacidade para 250 mL, contendo substrato inerte do tipo vermiculita fina, e submersos em caixas rasas de fibra (piscina), ligadas a um reservatório de água com capacidade para 2.000 L de solução nutritiva. O pH da solução foi mantido em torno de 5,5, e a Condutividade Elétrica (CE) mantida em 1,5 mS/cm (CHALFUN; FAQUIN, 2008).

O experimento foi mantido por 113 dias, sendo as plantas conduzidas para o laboratório de fisiologia molecular de plantas para partição e realização de medidas destrutivas. A folha D foi retirada, pesada e armazenada a -80 °C para determinação de clorofila. Enquanto o restante da folha foi pesado e seco

para determinação de componentes bioquímicos no laboratório de nutrição e metabolismo de plantas.

2.2 Tratamentos e Delineamento Experimental

O experimento foi conduzido com os seguintes tratamentos: Plantas aclimatizadas em campo, plantas não aclimatizadas em campo, plantas aclimatizadas em hidroponia e plantas não aclimatizadas em hidroponia. Sendo cada tratamento composto por 20 repetições biológicas em delineamento inteiramente casualizado em campo e em hidroponia.

Para a análise fotossintética, utilizou-se somente as plantas aclimatizadas para comparação dos ambientes. Foram usadas cinco plantas aleatórias para a medição por meio do aparelho Infra Red Gas Analyzer, sendo fixado o fluxo para 500 $\mu\text{mol/s}$ e a radiação em 800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Enquanto para as análises bioquímicas e medidas de crescimento e desenvolvimento foram usadas as 20 repetições biológicas.

Todos os dados obtidos na realização deste trabalho foram analisados pelo *software* estatístico SISVAR (FERREIRA, 2014) através de análise de variância e regressão para os dados distribuídos no tempo. As médias foram comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$) regressão linear.

2.3 Análises Realizadas

Em ambas as condições de cultivo, foram instalados medidores de temperatura e umidade do modelo Datalogger HT-500, cujos valores obtidos durante o período experimental estão apresentados nas Figura 1 e Figura 2.

Figura 1 - Valores para umidade relativa do ar e temperatura obtidos em campo, durante o período experimental.

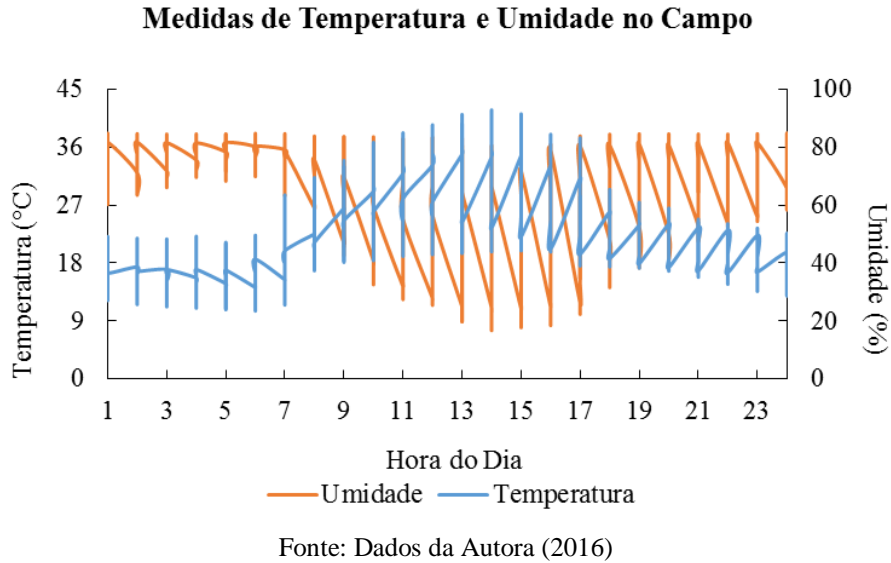
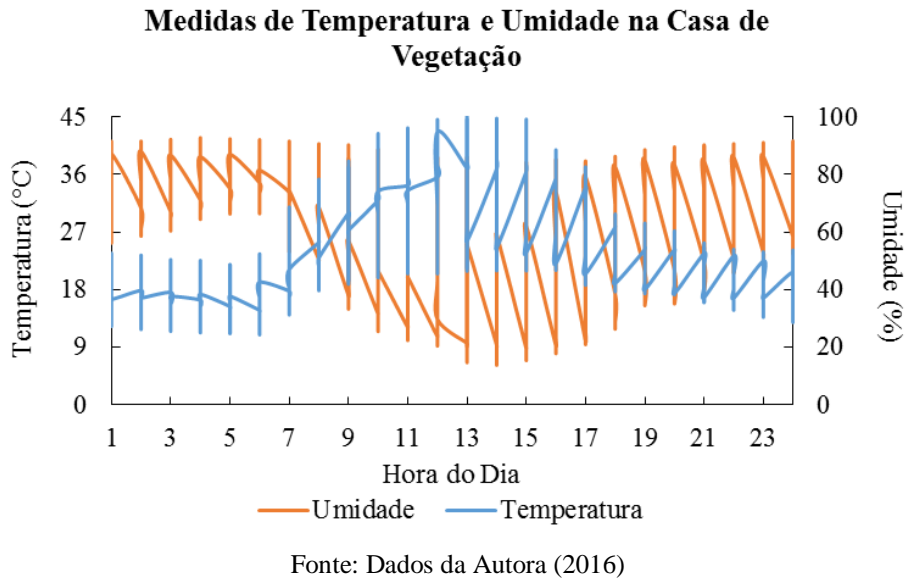


Figura 2 - Valores para umidade relativa do ar e temperatura obtidos em casa de vegetação, durante o período experimental.



Após 55 dias de transplântio, foram realizadas entre 7h e 8h as medições das taxas fotossintéticas com o auxílio do analisador portátil de trocas gasosas infravermelho – IRGA (Licor modelo Li-6400XT). As medidas fotossintéticas foram feitas na folha D.

Foram realizadas medições de altura, diâmetro da folha D e diâmetro basal, com auxílio de paquímetro digital, e o número de folhas aos 0, 55, 85, 99 e 113 dias após o transplântio (DAT). Aos 113 DAT, as plantas foram coletadas, medidas e particionadas em folhas e raiz, sendo posteriormente secas em estufa com circulação forçada de ar a 65 °C durante 72 horas. No mesmo período, foram coletados 10 discos de 1 cm de diâmetro de amostras de folhas, que foram posteriormente pesados para a quantificação indireta de área foliar, que foi calculada pelo método do disco.

Para as análises bioquímicas foram utilizadas a folha D, que foi imediatamente armazenada a -80 °C até o dia das análises. As demais folhas, foram secas em estufa e moídas para quantificação de nutrientes, aminoácidos, açúcares solúveis totais e amido.

Para a medição dos teores de clorofila a e b, e de carotenoides, foi macerado 0,1 g do material previamente congelado em 5 mL de acetona 80%. O volume final foi completado para 10 mL, sendo realizadas as leituras espectrofotométricas a 645 e 663 nm e, para os teores de carotenoides, foram realizadas leituras a 445 nm, conforme metodologia de Lichtenthaler e Buschmann (2001).

Os carboidratos foram extraídos da massa seca de folhas pela homogeneização de 200 mg de massa seca em 5 mL de tampão fosfato de potássio, 100 mM, pH 7,0, seguido de banho-maria por 30 minutos a 40 °C. O homogenato foi centrifugado a 5.000 g por 10 minutos, 20 coletando-se o sobrenadante. O processo foi repetido por duas vezes e os sobrenadantes, combinados. Para extração do amido, o *pellet* foi, novamente, ressuspendido

com 8 mL do tampão acetato de potássio 200 mM, pH 4,8. Em seguida foram adicionadas 16 unidades da enzima amiloglucosidase, incubando-se em banho-maria a 40 °C por duas horas. Após a centrifugação a 5.000 g por 20 minutos, o sobrenadante foi coletado e o volume completado para 15 mL. Para a quantificação do amido, sacarose e açúcares solúveis totais foi utilizado o método da Antrona (DISCHE, 1962).

Para a quantificação de aminoácidos, adotou-se o procedimento proposto por Cocking e Yemm (1955). Para tal, foi colocado 1 mL do mesmo extrato para quantificar açúcares, adequadamente diluído com água ou do padrão glicina (0-200 nmol), em tubos de ensaio e adicionado 0,5 mL de tampão citrato 0,2 M pH 5,0, 0,2 mL do reativo de ninhidrina 5 % em metilcelosolve (éter monometílico de etilenoglicol), mais 1 mL de KCN 2 % (v/v) em metilcelosolve, sendo a solução de KCN preparada em água, a partir de uma solução 0,01 M de KCN. Os tubos de ensaio foram cobertos e colocados em banho-maria a 100 °C por 20 minutos. Em seguida, aos tubos foram acrescentados 1,3 mL de etanol 60% (v/v) e submetidos à agitação. Após 5 min, a absorvância do padrão, das amostras e do extrato foram medidas a 570 nm.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

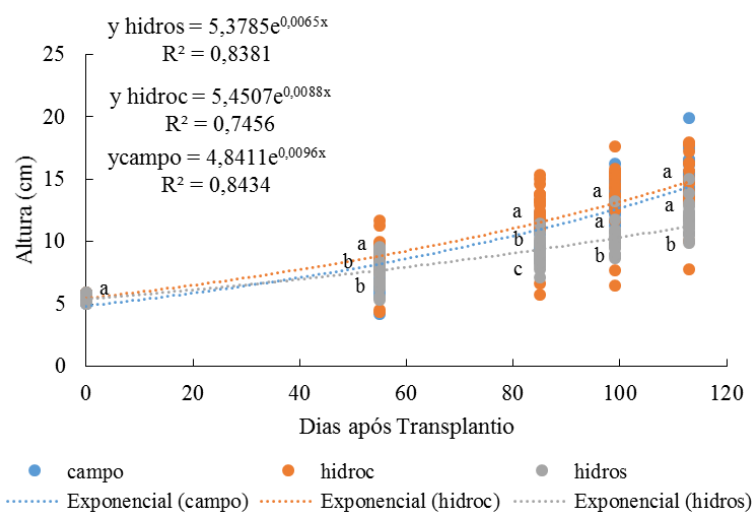
Apesar de pertencerem a uma mesma espécie, as plantas se adaptam morfológica e fisiologicamente de formas diferentes quando em diferentes condições ambientais (LARCHER, 2000). Experimentos foram realizados com plantas ainda *in vitro* sob conceito de aclimatização almejando obter plantas mais bem adaptadas para as condições ambientais como diminuindo a umidade do ar onde estão os explantes, aumentando a radiação e variando a temperatura no ambiente em que esses explantes se encontram (ALBERT, 2004; CALVETE et al., 2002; KODYM; ZAPATA-ARIAS, 1999).

Neste trabalho, verificou-se que as plantas que passaram por processo de aclimatização possivelmente tiveram seu desenvolvimento favorecido por já haverem, na ocasião, superado as adversidades impostas pela transferência do cultivo *in vitro*. Além disso, as plantas não aclimatizadas não sobreviveram quando estavam submetidas à condição de campo, apresentando as plantas em dois dias após o plantio manchas despigmentadas conforme Figura 5-B. Uma possibilidade para as plantas não aclimatizadas em campo não sobreviverem é que essas plantas ainda não possuem estratégias de regulação transpiratória, e no ambiente de campo, a irrigação era realizada uma vez ao dia, enquanto na condição hidropônica havia maior quantidade de água disponível para essas plantas. Outra possível explicação é a radiação maior no campo que na casa de vegetação, sendo quantificada pelo o IRGA aos 55 dias, entre 7 e 8 horas da manhã no campo em média $743,7 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, enquanto na casa de vegetação era $586,9 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, o que pode ter causado o branqueamento devido aos danos por fotoinibição e foto-oxidação.

Em relação à altura, pode-se observar na Figura 3 que as plantas aclimatizadas e transplantadas para hidroponia não diferiram estatisticamente das plantas cultivadas em condição de campo aos 113 dias após transplantio, sendo a partir de 85 dias após o transplantio que as plantas em campo

apresentaram taxa de crescimento superior às plantas aclimatizadas em hidroponia, sendo uma possível causa a deficiência de cálcio nas plantas em hidroponia (TABELA 2), pois deficiências nutricionais afetam mais a parte aérea que a raiz (MARSCHENER, 1995), ou também o estresse causado por alta temperatura devido ao uso do plástico transparente na estufa que fez com que a temperatura nesse ambiente chegasse a temperaturas acima de 40 °C ao meio-dia (FIGURA 3), além disso, quando plantas crescem em ambiente com elevada temperatura pode favorecer a deficiência de cálcio (NAPIER; COMBRINK, 2005).

Figura 3 - Altura de plântulas de abacaxi aclimatizadas transplantadas para campo, aclimatizadas transplantadas para hidroponia (hidroc) e não aclimatizadas transplantadas para hidroponia (hidros) ao longo dos dias avaliados.



*Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre os tratamentos através do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

Fonte: Dados da Autora (2016)

Tabela 2 - Teores dos macronutrientes: Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K) e Cálcio (Ca) quantificados na folha D, em plantas de abacaxizeiro submetidos a diferentes condições de cultivo.

Tratamento	N	P	K	Ca
	-----g/kg-----			
Hidroc	30,3	1,9	26,3	2,5
Campo	20	2,4	23,0	7,6
Hidros	31,0	4,3	26,9	3,6

Fonte: Dados da Autora (2016)

As plantas que foram transferidas para hidroponia sem passar por aclimatização apresentaram medidas inferiores em relação às demais, o que pode ter sido por ainda terem que se adaptar a esse ambiente.

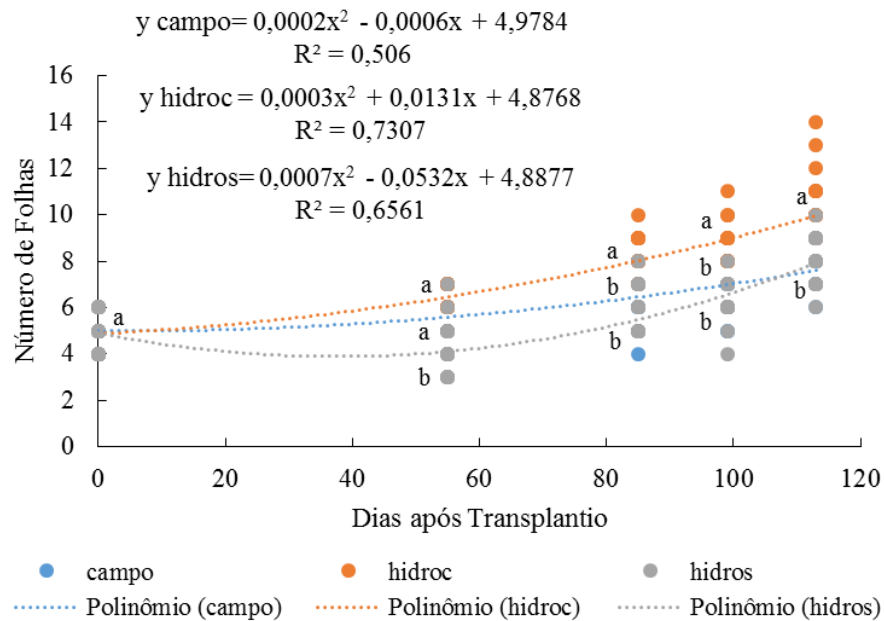
Sabendo-se que a altura ideal para comercialização de mudas de abacaxi é 25 cm (CAMPOS, 2013), através das equações de regressão mostradas na Figura 3, prevê-se que para alcançar esse comprimento de parte aérea, as plantas de abacaxi em condição não protegida precisem de 167 dias, enquanto as plantas aclimatizadas em hidroponia, 207 dias, e as plantas não aclimatizadas em hidroponia são aquelas que apresentam maior tempo para alcançar a altura desejada com 304 dias.

Quanto ao número de folhas, percebeu-se que as plantas em condição hidropônica (aclimatizadas e não aclimatizadas) cultivadas em casa de vegetação, possuíram maior incremento em folhas ao longo do tempo, que plantas em campo (Figura 4 e Figura 5 F, G e H). O investimento em número de folhas pode estar relacionado primeiramente com a condição hidropônica, uma vez que nessa condição, o suprimento de água e a aquisição de nutrientes não são fatores limitantes. Além disso, dentro da casa de vegetação, houve uma menor densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos quando comparadas às plantas que foram expostas à condição de campo, sendo assim, o

investimento em estruturas especializadas a realizarem fotossíntese pode estar relacionado á adaptação para superar a limitação da disponibilidade de luz.

Nota-se também que as plantas não aclimatizadas em condição hidropônica apresentou decréscimo até os 60 DAT na quantidade de folhas para posterior incremento, como pode ser visto na Figura 4 e Figura 5(A, D) sendo a perda devido aos danos à estrutura fotossintética foliar, apresentando manchas foliares, mas com posterior recuperação através de crescimento de folhas novas.

Figura 4 - Contagem do número de folhas de plântulas de abacaxizeiro aclimatizadas transplantadas para a condição não protegida (campo), aclimatizadas transplantadas para hidroponia (hidroc) e não aclimatizadas transplantadas para hidroponia (hidros) ao longo dos dias avaliados.



*Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre os tratamentos através do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$)

Fonte: Dados da Autora (2016)

Figura 5 - Plantas de abacaxi sob as diferentes condições de cultivo.



Legenda: A- Plantas aclimatizadas e não aclimatizadas recém transplantadas no hidroponia; B- plantas não aclimatizadas recém transplantadas no campo; C- plantas aclimatizadas recém transplantadas no campo; D- Plantas aclimatizadas e não aclimatizadas aos 77 DAT na hidroponia; E- Plantas aclimatizadas aos 77 DAT no campo; F- Vista superior de plantas não aclimatizadas em condição hidropônica aos 113DAT; G- Vista superior de plantas aclimatizadas em condição hidropônica aos 113DAT; H- Vista superior de plantas aclimatizadas em campo aos 113DAT; I- Vista lateral de plantas não aclimatizadas em condição hidropônica aos 113DAT; J- Vista lateral de plantas aclimatizadas em condição hidropônica aos 113DAT; K- Vista lateral de plantas aclimatizadas em campo aos 113DAT

Fonte: Dados da Autora (2016)

Em relação às medidas de largura da folha D e de diâmetro basal, notou-se que não houve diferença estatística entre as plantas aclimatizadas (TABELA 3) em diferentes condições e elas foram superiores às plantas sem aclimatização.

Tabela 3 - Medidas de largura da folha D, diâmetro basal, comprimento da raiz, área foliar, massa seca foliar e massa seca radicular de plantas aclimatizadas em condição de campo, aclimatizadas em condição de hidroponia (HidroC) e não aclimatizadas em condição de hidroponia (HidroS) aos 113 dias após o transplântio.

Tratamento	Largura Folha Dcm.....	Diâmetro Basal	Comprimento Raiz	Área Foliar dm ³	Massa Seca Foliarg.....	Massa Seca Radicular
Campo	2,6 a	1,5 a	10,1 c	1,9 a	1,21 a	0,38 b
HidroC	2,7 a	1,5 a	19,1 a	1,8 a	1,28 a	0,51 a
HidroS	2,3 b	1,1 b	14,7 b	1,2 b	0,64 b	0,24 c
CV	14,3	14,1	24,6	33,0	33	35,0

Fonte: Dados da Autora (2016)

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre os tratamentos através do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (P<0,05)

Para massa seca foliar e área foliar, não foi observada diferença estatística significativa entre os tratamentos campo e HidroC, sendo esses tratamentos superiores ao tratamento HidroS. Essa ausência de diferença entre as plantas aclimatizadas pode ser devido a diferentes formas de adaptação ao meio, em que as plantas aclimatizadas em hidroponia priorizaram o aumento em número de folhas e as plantas em campo aumentaram o crescimento em altura conforme a Figura 3 e 4.

No que diz respeito ao comprimento das raízes, as plantas aclimatizadas e com cultivo hidropônico apresentaram medidas estatisticamente superiores, bem como maior peso seco para este órgão, como mostrado na Tabela 3. Talvez, o maior crescimento radicular em condições hidropônicas tenha sido devido ao uso do substrato que gera menor impedimento mecânico que o solo ao

crescimento radicular (EPSTEIN; BLOOM, 2006), sendo a uniformidade e quantidade de raízes uma característica importante para a produção de mudas por estas serem responsáveis pela absorção de água e nutrientes, além de dar sustentação às plantas (NHUT; HUONG; KHIEM, 2004).

O meio em que a planta se desenvolve é importante, pois nele as plantas possuem adaptação à quantidade de radiação para acertar seu aparelho fotossintético, de modo que ela consiga ser eficiente em relação à luz. Essa adaptação é observada pelo crescimento da planta (ENGEL; POGGIANI, 1991) apresentando os vegetais desenvolvidos sob abundante radiação estrutura e composição química próprias para diminuir a radiação que chega ao cloroplasto (TAIZ; ZEIGER, 2013). Para isso, as folhas alteram sua morfologia e composição, adaptativamente, respondendo à luz do meio. Sendo assim, além de influenciar a fotossíntese, a quantidade de luz disponível também influencia a concentração de pigmentos fotossintéticos, como foi verificada neste trabalho.

As maiores taxas fotossintéticas foram observadas para as plantas aclimatizadas e cultivadas em campo, como pode ser observado na Tabela 4. A radiação solar é um limitante para a fotossíntese quando outros fatores não sejam limitantes (BLACK; ONG, 2000; RAWSON, 1993). Assim, caso tenha água e nutrientes em abundância, o incremento em biomassa possui como fator limitante a luminosidade que chega à parte aérea (BLACK; ONG, 2000).

Tabela 4 - Teor de clorofila a e b, carotenoides, açúcar solúvel total, amido, aminoácido e fotossíntese de plantas aclimatizadas e transplantadas para a condição de campo, aclimatizadas e transplantadas para hidroponia (HidroC) e não aclimatizadas transplantadas para hidroponia (HidroS)

Tratamento	Clorofila a $\mu\text{g.ml}^{-1}$	Clorofila b $\mu\text{g.ml}^{-1}$	Carotenóides $\mu\text{g.ml}^{-1}$	Açúcar Solúvel Total $\mu\text{mol.gMF}^{-1}$	Amido $\mu\text{mol.gMF}^{-1}$	Aminoácido $\mu\text{mol.gMF}^{-1}$	Fotossíntese $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$
Campo	3,9 a	1,8 a	1,9 a	54,7 a	10,2 a	26,3 b	6,6
HidroC	2,4 b	1,6 ab	1,0 b	37,6 b	7,0 b	47,1 a	1,3
HidroS	2,6 b	1,2 b	1,6 ab	29,5 b	5,5 b	43,1 a	–
CV	16,8	22,7	32,6	30,4	30,4	27,5	26,3

Fonte: Dados da Autora (2016)

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre os tratamentos através do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$)

As plantas cultivadas em campo apresentaram maiores valores de clorofila a, b e carotenoides (TABELA 4). A clorofila a é o pigmento utilizado para realizar a fotoquímica, ou seja, o primeiro estágio do processo fotossintético, enquanto os demais pigmentos auxiliam na absorção de luz e na transferência da energia radiante para os centros de reação, sendo assim chamados de pigmentos acessórios (STREIT et al., 2005). Neste caso, as médias obtidas para os teores de pigmentos para o cultivo não protegido, está de acordo com as maiores taxas de fotossíntese obtidas para essa condição (TABELA 4), um fator a ser levado em consideração é a menor quantidade de clorofila em plantas sob cultivo hidropônico que pode ser causada pela deficiência em cálcio, pois sob deficiência de cálcio ocorre perda de clorofila (NAPIER; COMBRINK, 2005).

Assim como para massa seca da folha e fotossíntese, os teores de açúcares solúveis totais e amido foram significativamente superiores para as plantas em campo (TABELA 4), isso pode ser devido à quantidade de nutrientes (TABELA 2) ser inversamente proporcional à quantidade de carboidratos produzidos (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

O produto final da fotossíntese é o carboidrato, composto importante para uso no metabolismo geral, composição de novas moléculas orgânicas que podem servir para formar compostos metabólicos ou estruturais, caso a síntese seja maior que o consumo, os carbonos podem ser armazenados como amido (DELUCIA et al., 1985) para servir de estoque de energia (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Em relação aos níveis de aminoácidos, verificou-se que as plantas mantidas em cultivo hidropônico apresentaram maiores teores desses compostos (TABELA 4), o que está de acordo com o maior teor de nitrogênio verificado para essa condição de cultivo (TABELA 2). A disponibilidade de nutrientes na solução hidropônica, especialmente o nitrogênio, provavelmente contribuiu para sua maior absorção pelas raízes e conseqüentemente sua redução de aminoácidos que podem ser transportados para os drenos da planta. Porém, há relato também que teores de aminoácidos elevados indicam estresse nutricional (COMETTI et al., 2004), e foi observada baixa concentração de cálcio nas plantas nessa condição (TABELA 2).

4 CONCLUSÃO

A condição hidropônica permitiu a sobrevivência de plântulas não aclimatizadas e seu desenvolvimento.

As plantas aclimatizadas não possuíram diferença em relação ao incremento de parte aérea quando em diferentes condições e as plantas em hidroponia apresentaram resultado superior em relação ao incremento radicular das plantas em campo.

REFERÊNCIAS

- ALBERT, L. H. B. **Aspectos morfoanatômicos de mudas de abacaxizeiro ‘Smooth Cayenne’ micropropagadas**. 2004. 54 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.
- BLACK, C.; ONG, C. Utilisation of light and water in tropical agriculture. **Agricultural and Forest Meteorology**, Holanda, v. 104, n. 1, p. 25-47, July 2000.
- CALVETE, E. O. et al. Análises anatômicas e da biomassa em plantas de morangueiro cultivadas in vitro e ex vitro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 4, p. 649-653, dez. 2002.
- CAMPOS, S. R. F. **Normas de produção e comercialização de mudas de abacaxi**. Viçosa: UFV, 2013. 15 p.
- CHALFUN, N. N. J.; FAQUIN, V. **Hidromudas: processo de produção de porta enxertos e mudas frutíferas, florestais e ornamentais enxertadas em hidroponia**. (BRN.PI 0802792-7). Rio de Janeiro: INPI, 2008.
- COCKING, E. C.; YEMM, E. W. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, Inglaterra, v. 80, p. 209, Jan. 1955.
- COMETTI, N. N. et al. Composts nitrogenados e açúcares solúveis e tecidos de alface orgânica, hidropônica e convencional. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 4, p. 748-753, out./nov. 2004.
- DELUCIA, E. H. et al. Photosynthetic inhibition after long-term exposure to elevated levels of atmospheric carbon dioxide. **Photosynthesis Research**, Holanda, v. 7, n. 2, p. 175-184, Jan. 1985.
- DISCHE, Z. Color reactions of carbohydrates. In: WHISTLER, R. L.; WOLFROM, M. L. **Methods in carbohydrate chemistry**: volume 1. New York: Academic Press, 1962. p. 477-512.
- ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 3, n. 1, p. 39-45, 1991.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. O meio da nutrição das plantas. In: _____. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2. ed. Londrina: Editora Planta, 2006. Cap. 2, p. 17-40.

FAQUIN, V.; VALE, F. R.; FURTINI NETO, A. E. **Cultivo de plantas em ambiente controlado: solução nutritiva, hidroponia e em vasos com solo**. Lavras: UFLA, 2010. 1 Apostila.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 2, p. 109-112, mar./abr. 2014.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Perspectivas Agrícolas 2015-2024**. Paris: OCDE/FAO, 2015. Disponível em: <http://www.keepeek.com/Digital-Asset-Management/oecd/agriculture-and-food/oecd-fao-agricultural-outlook-2015_agr_outlook-2015-en#.WJs8GoWcHIU#page102>. Acesso em: 8 fev. 2017.

GUERRA, M. P. et al. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 9, p. 1557-1563, set. 1999.

KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Natural light as an alternative light source for the in vitro culture of banana (*Musa acuminata* cv. 'Grande Naine'). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Holanda, v. 55, n. 2, p. 141-14, Nov. 1999.

LAKSO, A. N. et al. Carbon dioxide enrichment for stimulation of growth of in vitro-propagated grapevines after transfer from culture. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Estados Unidos, v. 111, n. 4, p. 634-638, 1986.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima Artes e Textos, 2000. 531 p.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. In: RAHMAN, M. S. et al. **Current protocols in food analytical chemistry**. New york: John Wiley & Sons, 2001. F.4.3.1-8

MALÉZIEUX, E. et al. Predicting pineapple harvest date in different environments, using a computer simulation model. **Agronomy Journal**, Estados Unidos, v. 86, n. 4, p. 609-617, Mar./Apr. 1994.

MANICA, I. **Abacaxi**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 1999. 510 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plant**. 2. ed. Londres: Academic Press, 1995. 889 p.

MELO, B. et al. Doses de Ethephon e comprimentos de folhas D sobre algumas características do abacaxizeiro, cv Smooth Cayenne no triângulo mineiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 1, p. 7-13, jan./mar. 2007.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Suécia, v. 15, n. 3, p. 473-497, July 1962.

NAPIER, D. R.; COMBRINK, N. J. J. Aspects of calcium nutrition to limit plant physiological disorders. In: INTERNATIONAL PINEAPPLE SYMPOSIUM, 5., 2005, Áfria do Sul. **Proceedings...** Áfria do Sul: [s.n.], 2005. p. 107-116.

NHUT, D. T.; HUONG, N. T. D.; KHIEM, D. V. Direct microtuber formation and enhanced growth in the acclimatization of in vitro plantlets of taro (*Colocasia esculenta* spp.) using hydroponics. **Scientia Horticulturae**, Holanda, v. 101, n. 1, p. 207-212, May 2004.

RAWSON, H. M. Radiation effects on rate of development in wheat grown under different photoperiods and high and low temperatures. **Functional Plant Biology**, Austrália, v. 20, n. 6, p. 719-727, 1993.

REINHARDT, D. H. R. C.; CUNHA, G. A. P. da. Métodos de propagação. In: CUNHA, J. R. S.; SOUZA, L. F. da S. (Ed.). **O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. p. 105-138.

SILVA, A. T. et al. Aclimação de plantas provenientes da cultura in vitro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 49-53, jan. 1995.

SILVA, M. C. A.; TARSITANO, M. A. A.; BOLIANI, A. C. Análises técnica e econômica da cultura da bananeira 'maçã' (*Musa* spp.) na região noroeste do

estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 139-142, abr. 2005.

STREIT, N. M. et al. The chlorophylls. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 748-755, maio/jun. 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TEIXEIRA, J. B. et al. **Produção de mudas de abacaxi de alta qualidade através de micropropagação**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 26 p.

**ARTIGO 2 - FLORESCIMENTO E ANÁLISE DE GENES
RELACIONADOS À INDUÇÃO FLORAL**

**Formatação do artigo baseada na NBR 6022 (ABNT, 2003), conforme
orientação do Manual de Normalização da UFLA.**

RESUMO

O florescimento é o processo mais importante comercialmente para muitas culturas, inclusive do abacaxi, uma vez que o produto final é o fruto. Porém, essa espécie apresenta grande entrave quanto ao florescimento natural, já que é muito variável, sendo necessário o uso de substâncias indutoras do florescimento, como as estimuladoras de síntese de etileno ou que se decomponha nesse regulador vegetal. Outro fator importante que também deve ser levado em consideração é a sazonalidade da produção devido ao uso de indutor de florescimento que concentra a produção durante os meses mais favoráveis para o crescimento do fruto, tornando-se necessário o uso de inibidores do florescimento como substâncias que inibam a ação do etileno para melhor escalonar a produção, como por exemplo, o 1-MCP. O objetivo desse trabalho foi avaliar o florescimento a partir do uso de 1-MCP (inibidor de ação do etileno), Ethrel[®] e suas combinações com a aplicação de um após 12h de aplicação do outro, bem como na sua influência nos genes *AcACO1*, *AcACS2* e *AcFT*. O delineamento usado foi inteiramente casualizado, constituído de cinco tratamentos: Controle, 1-MCP, Ethrel[®], 1-MCP+Ethrel[®] e Ethrel[®]+1-MCP, nos quais foram realizadas coletas da folha D das três repetições biológicas para cada tratamento por horário de coleta para determinação de diferença na expressão relativa de genes às 0h, 6h, 12h e 24h de aplicação dos tratamentos. Foi observado que o 1-MCP, quando aplicado sozinho, estimulou a porcentagem de florescimento em relação ao controle. Para os genes, foi constatado que somente o gene *AcACO1* apresentou diferença de expressão, para os tratamentos Ethrel[®] e 1-MCP+Ethrel[®], essa diferença já foi detectada a partir das 6h de aplicação do produto, enquanto que para o 1-MCP, houve somente um pico às 12h de aplicação do produto. Os genes *AcACS2* e *AcFT* não apresentaram diferença de expressão ao longo das horas após aplicação e em relação ao controle.

Palavras-chave: 1-MCP. Ethrel[®]. Expressão Gênica.

ABSTRACT

Flowering is the most commercially important process for many crops, including pineapple, because the final product is the fruit. However, this species presents a big problem with natural flowering, considering that it is very variable, it has been necessary the use substances that induce flowering, like the compounds that stimulate ethylene synthesis or decompose itself in this plant regulator. Another important factor that should also be taken in consideration is the production seasonality due to the use of flowering inducer that concentrates the production during more favorable months for fruit development, making the use of inhibitors of the flowering necessary, like the substances that inhibit the action of ethylene to better dispatch the production, such as 1-MCP. The purpose of this work was to evaluate the flowering when it was applied 1-MCP (ethylene action inhibitor), Ethrel[®] and its combinations with the application of one after 12h of application of the other, as well as its influence on the *AcACO1*, *AcACS2* and *AcFT* genes. A completely randomized design was used, consisting of five treatments: Control, 1-MCP, Ethrel[®], 1-MCP + Ethrel[®], Ethrel[®] + 1-MCP, the leaf D of three biological replicates for each treatment per harvest time were collected to determine the relative expression of genes at 0h, 6h, 12h and 24h of application of the products. It was observed that 1-MCP, when applied alone, stimulated the percentage of flowering in relation to control, dif. For the genes, it was verified that only the *AcACO1* gene showed difference in expression. Ethrel[®] and 1-MCP+ Ethrel[®] treatments showed difference since 6h after the product application and 1-MCP treatment had just one peak at 12h after the application of the product. The *AcACS2* and *AcFT* genes didn't show any difference in expression among the hours after application of products and their in relation to the control.

Keywords: 1-MCP. Ethrel[®]. Gene expression.

1 INTRODUÇÃO

O florescimento é uma das principais etapas durante o desenvolvimento das plantas, pois para as plantas é o período de reprodução e para os humanos de comercialização. Para o abacaxi, assim como outras frutíferas, o florescimento é importante por ser a etapa que gerará os frutos, produto final do cultivo do abacaxizeiro.

O florescimento é resultante de vários fatores e processos integrados dentro da planta e advindo da relação dela com o ambiente, pois as plantas tendem a se reproduzir quando estão competentes e em épocas que sejam mais adequadas para sua multiplicação, sendo os principais fatores ambientais para o abacaxizeiro o fotoperiodismo, o termoperiodismo e o balanço hídrico (CUNHA, 2005).

O abacaxizeiro é uma planta que possui florescimento desuniforme variando de 20 a 80% dependente do ano, isso porque, além de depender do ambiente, há influência da idade e do tamanho da planta. Essa desuniformidade resulta em gastos excessivos com tratamentos culturais, fazendo com que sejam necessárias técnicas para uniformizar esse processo, um deles já muito usado comercialmente é a aplicação de produtos químicos estimuladores ou produtores de etileno como o etefon, etileno, ácido α -naftaleno acético, ácido indolbutírico, carbureto de cálcio e acetileno (CUNHA, 2005; MANICA et al., 1994).

Por outro lado, devido ao uso de estimuladores artificiais do florescimento, esse processo fica concentrado em poucos meses e acarreta em produção sazonal de frutos no Brasil. Sendo assim, estudos feitos com substâncias retardadoras de florescimento, como o uso de 1-MCP (inibidor de ação do etileno), são realizados para uniformizar a produção ao longo do ano usando substâncias retardadoras em conjunto com substâncias estimuladoras do

florescimento, para que o fruto possa ser comercializado em épocas de baixa produção (KIRST et al., 2011),.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi de avaliar o florescimento e a resposta de genes relacionados à indução do florescimento após aplicação de Ethrel®, 1-MCP ou combinação desses dois.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local, Período Experimental e Material Vegetal

O trabalho foi realizado na área experimental do setor de Fisiologia Vegetal da UFLA, no município de Lavras. A planta estudada foi abacaxi cultivar Pérola, sendo as mudas usadas tipo filhote, procedentes de Monte Alegre/MG. Essas mudas foram tratadas com inseticida Actara 250 WG e fungicida Cercobin 700, colocando-se as mudas em caixas plásticas de verdura perfurada, imergindo 15 cm na solução, mantendo por 5 min, sendo deixadas ao ar livre para secar e depois plantadas em vasos de polietileno de 8 litros com mistura 2 terra: 1 areia, sendo a terra analisada conforme a Tabela 1.

Tabela 1 - Análise dos nutrientes da mistura entre terra e areia lavada na proporção 2:1 e utilizadas para o cultivo em ambiente não protegido.

pH	K	P	Ca	Mg	Al	M.O.
	mg/dm ³		cmol/dm ³			dag/kg
5,6	24	1,13	1,5	0,2	0,1	2,11

Fonte: Dados da Autora (2016)

As plantas foram adubadas em plantio com superfosfato triplo na quantidade de 3 g por planta, sendo feita adubação de cobertura a cada 2 meses com 20g de (NH₄)₂SO₄ e 5,172 g de KCl por planta. As plantas eram molhadas diariamente no fim da tarde, entre as 16h e 17h.

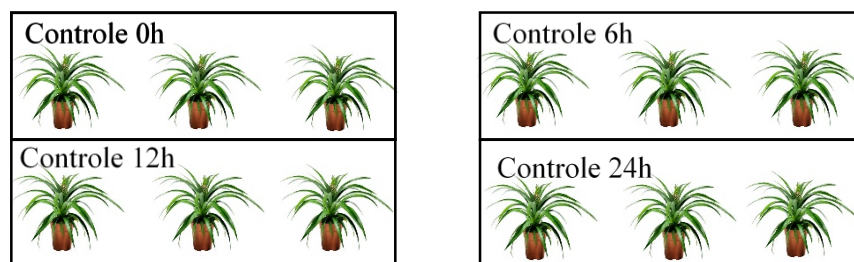
Com sete meses de plantio, as plantas foram levadas para a casa de vegetação do setor de Fisiologia Vegetal da UFLA, para ficar duas semanas sem irrigação, antes de adicionar o produto do tratamento, já que o produto pode sofrer diluição quando as plantas estão molhadas, perdendo sua eficiência.

Após seis dias da aplicação do produto, as plantas envasadas foram retiradas da casa de vegetação e levadas para o ambiente desprotegido permanecendo aí até o fim do experimento.

2.2 Tratamentos e Delineamento Experimental

O experimento foi delineado inteiramente casualizado, com três repetições biológicas para cada horário de coleta em cada tratamento (FIGURA 1).

Figura 1 - Esquema de composição dos tratamentos.



Fonte: Dados da Autora (2016)

Na casa de vegetação, as plantas receberam 50 mL das soluções no centro da roseta foliar conforme os tratamentos: Controle, aplicou-se somente água; Ethrel®, usou-se Ethrel 720 na dose de 500 mg/l com ureia e hidróxido de cálcio; 1-MCP, adicionou-se Harvista na concentração de 50 mg do i.a./L com o adjuvante Break thru a 0,035% v/v. Após 12 horas, parte das plantas que tinham recebido 1-MCP, receberam Ethrel®, bem como as parte das plantas que receberam Ethrel®, depois de 12h receberam 1-MCP (TABELA 2).

Tabela 2 - Tratamentos e horas de coleta de folha após aplicação dos produtos.

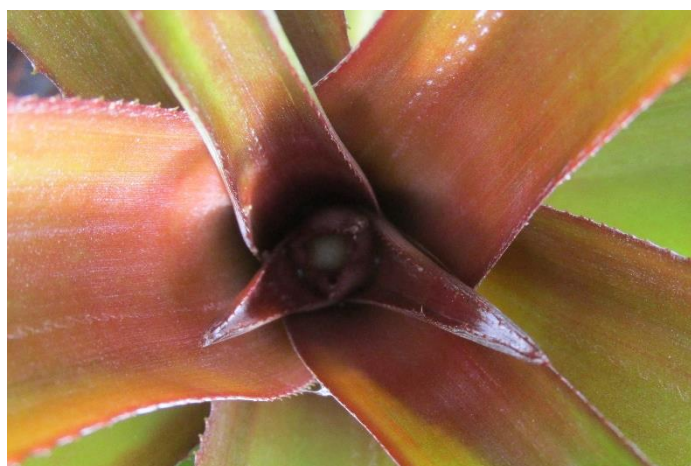
Tratamentos	Hora de coleta após aplicação do produto			
	0h	6h	12h	24h
Controle	7h	13h	19h	7h
Ethrel	7h	13h	19h	7h
1-MCP	7h	13h	19h	7h
Ethrel+1-MCP	19h	1h	7h	19h
1-MCP+Ethrel	19h	1h	7h	19h

Fonte: Dados da Autora (2016)

2.3 Análises Realizadas

Após seis dias, as plantas envasadas foram retiradas da casa de vegetação e levadas para o ambiente desprotegido e 42 dias depois, começou-se a observar as plantas e anotar quantas plantas floresceram ao longo do tempo, quando aparecia no centro da roseta um ponto branco era indicativo do florescimento (FIGURA 2).

Figura 2 - Indicativo de florescimento em abacaxi.



Fonte: Dados da Autora (2016)

Conforme os tratamentos descritos anteriormente, retirou-se a folha D de cada planta nos horários de coleta indicados anteriormente após a aplicação do produto. Logo após a retirada da folha D, as folhas foram lavadas com água destiladas, secas com papel toalha e cortadas a parte basal e branca com bisturi e armazenada em tubo falcon de 15 mL, mantendo em N₂ líquido. Usou-se somente a parte basal e branca da folha por ser a parte mais metabolicamente ativa para fazer extração de RNA.

O material coletado foi macerado com N₂ líquido em graal com pistilo e armazenado em eppendorf de 2 mL e armazenado a -80 °C para depois ser extraído o RNA pelo protocolo de macroextração CTAB. Depois, esse material foi transferido para tubos falcon de 50 mL com 3 mL de material e adicionado 15 mL de tampão de extração composto por CTAB a 2%, NaCl a 2 M, EDTA a 25 mM, TrisHCl a 100 mM e PVP 2%, e 300 µl de β-mercaptoetanol, dando vórtex por 1 min em seguida. Depois, os tubos foram levados ao banho-maria por 65 °C por 20 minutos. Sendo adicionado 15 mL de clorofórmio e homogeneizado por 1min e centrifugado por 10min a 11.000 rpm e 4 °C. Posteriormente, o sobrenadante foi transferido para novos tubos falcon de 50 mL com mais 15 mL de clorofórmio, sendo o material homogeneizado por 1 min e centrifugado da mesma maneira que o anterior. O sobrenadante retirado é colocado em novos tubos falcon de 50 mL com cloreto de lítio a 12 M para concentração final de 2,5 M e deixado os tubos a -20 °C para precipitar o material genético por *overnight*, sendo centrifugado então por 30min a 13.200 rpm a 4 °C. O sobrenadante coletado é então descartado e o *pellet* homogeneizado com 1 mL de cloreto de lítio a 2,5M e transferido para eppendorf de 1,5 mL. O eppendorf com a solução é centrifugado a 13.200 rpm, 4 °C por 15min. Após, descartou-se o sobrenadante e se lavou o *pellet* com etanol 70% e centrifugar por 10min a 11.000 rpm e 4 °C. Finalmente, o sobrenadante

foi descartado e seco o *pellet* para depois ser suspenso com água miliQ autoclavada e armazenado a -80 °C.

A qualidade e quantidade de RNA nas amostras foram medidas pelo espectrofotômetro Nanovue® (NanoVue GE Healthcare) com 1,5 µl de alíquota, sendo observadas as relações $A_{230/260}$ e $A_{280/260}$, consideradas boas quando entre 1,8 e 2,2. Enquanto que para a integridade do RNA, as amostras foram alíquotadas em gel de agarose a 1% com 2 µl de corante Gel Red Nucleic Acid Gel Stain e visualizado por meio do fotodocumentador UV-transilluminator (UVITEC FireReader XS D-77Ls-20).

A seguir, o RNA extraído tem que ser purificado pela eliminação de DNA residual, para isso, pôs-se em tubos de 0,5 mL, 5 µl de RNA e completado com 22 µl de água livre de RNase. Para cada amostra, adicionou-se 2,5 µl de Buffer e 0,5 µl de DNase, misturando levemente os componentes do tubo. Incubou-se os tubos a 37 °C por 30min para atuação enzimática. Sendo a enzima inativada depois com a adição de 2,5 µl de DNase Inactivation Reagent, misturando bem e incubando a temperatura ambiente por 5 min e centrifugando a 10.000 g por 1,5 minutos. 18 µl foram transferidos para novos tubos de 0,2 mL e estocados a -80 °C. Após o procedimento, o material foi medido a qualidade e quantidade como descrito anteriormente por meio do espectrofotômetro NanoVue e gel de agarose a 1%.

As amostras tratadas foram alíquotadas para 1 µg de RNA, completando-se o volume para 10 µl de água livre de RNase. Foi adicionado a esse material, 2 µl de 10x Reverse Transcriptase Buffer, 2 µl de 10x RT *random primer*, 0,8 µl de mix de dNTP, 1 µl de MultiScribe™ Reverse Transcriptase e 4,2 µl de água livre de RNase e DNase. Logo após, as amostras foram homogeneizadas e levadas ao termociclador para passar por ciclos de temperatura para produção de cDNA (25 °C por 10min, 37 °C por 120min e 85 °C por 5min).

Por fim, a expressão dos genes foi analisado por meio da técnica de RT-qPCR, sendo os genes analisados o AcACS2, AcACO1 e AcFT. Para o processo, recolheu-se 1,5 µl de cDNA, 0,3 µl de cada *primer*, cuja sequência está apresentada na Tabela 3, segundo o gene estudado, 7,5 µl de SYBR® Green e 5,4 µl de água livre de RNase. Para cada tratamento e cada horário de coleta, foram usadas três repetições biológicas e três replicatas técnicas, sendo os tubos de polipropileno de 0,1 mL depois levados para o termociclador Rotor-Gene Q Real-Time PCR da Qiagen para passar por ciclos de temperatura: 95 °C por 5min seguido por ciclos de 95 °C por 5s e 60 °C por 10s e por fim resfriando a 4 °C.

Tabela 3 - Sequência dos genes utilizados no processo de análise de expressão

Gene	Sequência
ACT-FW	5' GCCAGGTCATCACCATTTGG 3'
ACT-RV	5' TGAATACCCGCAGCTTCCA 3'
GADPH-FW	5' TCTCCATCTCCATTTTCGTCTCA 3'
GAPDH-RV	5' ATCCCGATCTTAATCTTCCCCAT 3'
FT-FW	5' CGCGATTTTGCCGAGCT 3'
FT-RV	5'CCGGACTCTCTCTGGCAATTAA 3'
ACO1-FW	5' CTGGGAGAGCACCTTCTTCGT3'
ACO1-RV	5'TTCCTTCATCACGTTCCCTGTAGTGG3'
ACS2-FW	5' ACGAGTTATACGGCGCAATCA 3'
ACS2-FW	5' TCGCAGTTCGGGTCCTCTT 3'

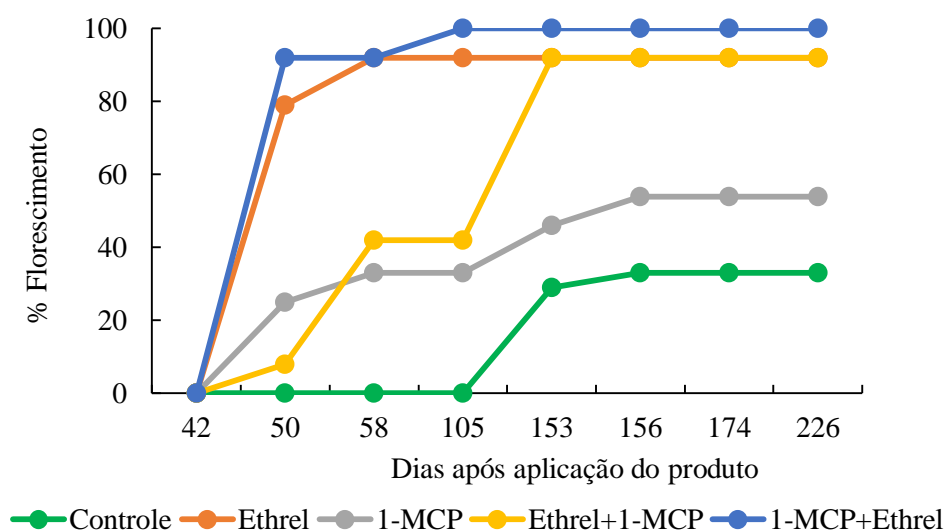
Fonte: Dados da Autora (2016)

A análise de expressão relativa foi calculada pelo método $\Delta\Delta CT$ de acordo com Pfaffl (2001), usando-se como genes de referência Actina e GAPDH.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observando-se o florescimento do abacaxi ao longo do tempo após a aplicação dos produtos, verifica-se que a aplicação de Ethrel[®] estimulou o florescimento em mais de 90%, independentemente da aplicação conjunta com o inibidor de ação do etileno, 1-MCP. Para a aplicação de 1-MCP, verificou-se que, diferentemente do esperado, houve um estímulo no florescimento em relação ao controle, mas não chegando a 50% de florescimento. Enquanto que quando ele foi aplicado após a aplicação de Ethrel[®], houve atraso da indução de florescimento em relação aos tratamentos só com a aplicação de Ethrel[®] ou com sua aplicação após a aplicação do inibidor, conforme Figura 3.

Figura 3 - Porcentagem de florescimento sob diferentes tratamentos ao longo do tempo após aplicação do produto.



Fonte: Dados da Autora (2016)

Esse estudo mostra que o Ethrel 720[®] atua na promoção do florescimento antecipando e uniformizando o florescimento, mesmo quando se aplica o 1-MCP 12 horas após o uso do estimulante, havendo aí somente um atraso no florescimento, fato explicado pelo uso de 1-MCP após 6 e 12 horas atuar inibindo respostas à produção do etileno, sendo somente a partir de 24 horas de aplicação da fonte de etileno é que há síntese autocatalítica do etileno, e a partir daí o uso do 1-MCP não tem mais efeito (GOLDING et al., 1998).

Além disso, verifica-se que quando aplicado Ethrel 720[®] e ele após o inibidor, esse não possuiu efeito inibitório, pois entre 40 e 50 dias após a indução floral, mais de 80% das plantas haviam florescido, mesmo período descrito por Cunha (2005), enquanto para o uso do 1-MCP e ele após o Ethrel[®], esse período foi retardado, sendo só com a adição do 1-MCP a porcentagem do florescimento não atingiu 50%.

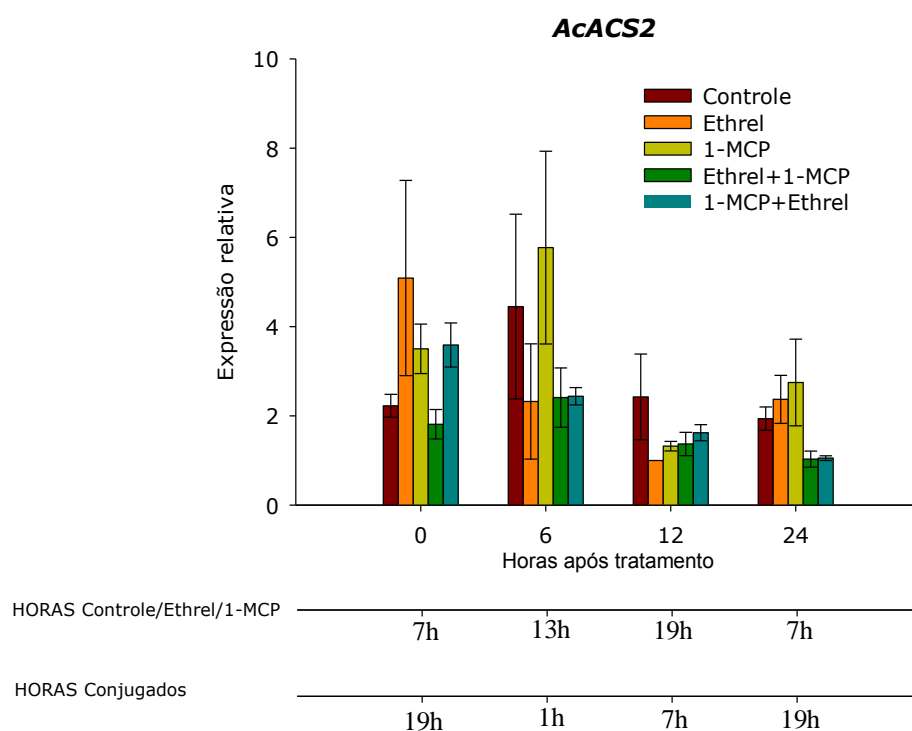
Quando o 1-MCP é aplicado após o Ethrel[®], há um retardo no florescimento, não afetando a porcentagem de florescimento, sendo uma possível explicação a síntese de novos receptores que retomam a sensibilidade ao etileno (PINHEIRO; VILAS BOAS; MESQUITA, 2005), e a planta retoma os níveis de produção de etileno.

Para o gene *AcACS2*, observou-se que esse gene apresenta variação ao longo do dia, como observado pelo tratamento controle, sendo essa variação encontrada também por Espinosa et al. (2017) quando foi aplicado Ethrel[®] e somente água (tratamento controle).

Pode-se perceber que nenhum tratamento difere mais de duas vezes do tratamento controle, o que indica que não houve diferença entre os tratamentos em relação ao controle ao longo das horas, como mostrado na Figura 4. Uma possível explicação é que o ACC pode estar conjugado em três formas diferentes que regulam os níveis de etileno, podendo estar presente como 1-malonil-ACC,

γ -glutamil-ACC e jasmonil-ACC (POEL; STRAETEN, 2014), sendo assim, os níveis de ACC já presentes são suficientes para atividade da ACC oxidase.

Figura 4 - Expressão relativa do gene ACS2 sob diferentes tratamentos ao longo de 24h.

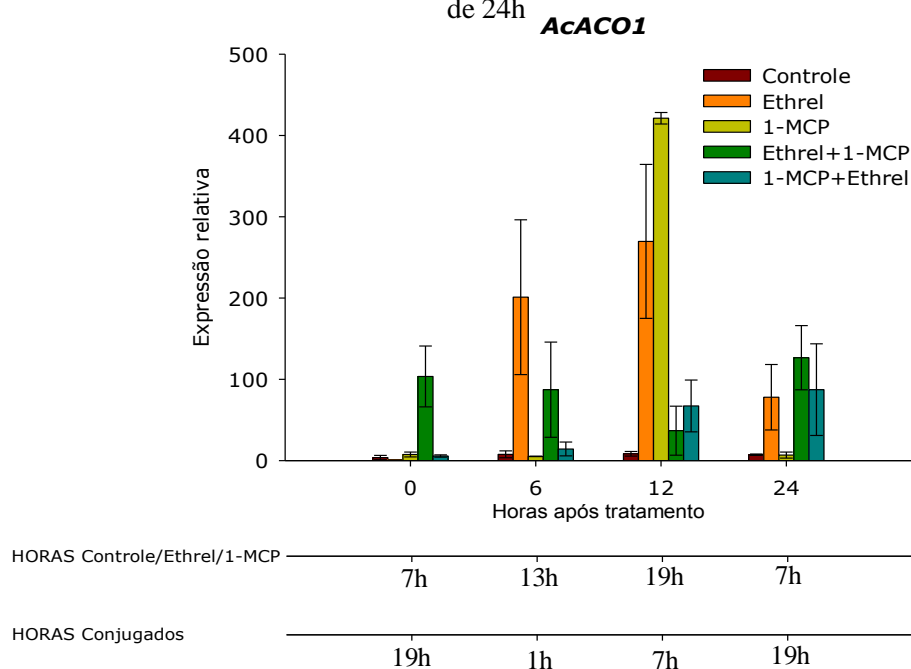


Fonte: Dados da Autora (2016)

Para o gene ACO1, conforme visto na Figura 5, pode-se observar que, para o tratamento controle, a expressão foi baixa em todos os horários, enquanto que para o tratamento com Ethrel[®], a expressão desse gene foi elevada das 6h às 24h após a aplicação do produto, como encontrado por Espinosa et al. (2017), pois após aplicação de etephon há liberação de etileno endógeno, sendo essa

enzima necessária para produção do etileno (LI et al., 2016). Conforme outros trabalhos, verifica-se que a resposta ao etileno é rápida apesar de ser necessário 4 a 6h para que o produto possa penetrar na planta (CUNHA, 2005).

Figura 5 - Expressão relativa do gene *ACO1* sob diferentes tratamentos ao longo de 24h



Fonte: Dados da Autora (2016)

Para o tratamento com 1-MCP, a expressão relativa não diferiu do controle até às 12h após a aplicação, sendo esse o único pico de expressão, como encontrado por Lima (2015) em café, no qual com o uso de 1-MCP, plantas de café aumentaram a expressão de genes relativos a proteínas da rota do etileno, como as oxidases do ACC.

Respostas controversas quanto ao 1-MCP têm sido detectadas por ser esse um inibidor de ação do etileno, mas possui diferentes respostas em

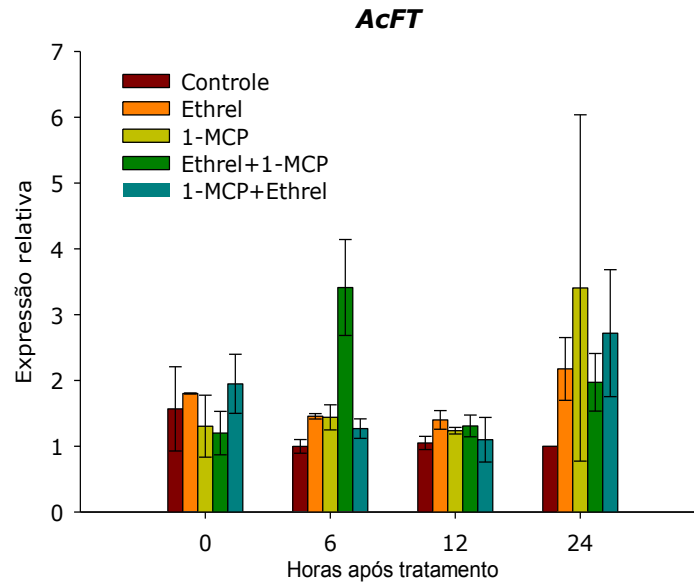
diferentes espécies e partes vegetais, como em material pós-colheita como estimulante ou retardante de período de prateleira (CIN et al., 2006; KU; WILLIS; BEN-YEHOSHUA, 1999). A resposta do 1-MCP em relação ao florescimento pode ser devido ao aumento da sensibilidade em resposta ao etileno quando há redução na quantidade de receptores de etileno (KEVANY et al., 2007; LI et al., 2016). Porém, após as 12 horas do pico de expressão do 1-MCP, a expressão relativa do gene ACO1 tende a retomar os níveis anteriores.

Para o tratamento com Ethrel[®] anterior ao uso do 1-MCP, observa-se que, desde o momento de coleta, o nível de expressão relativa foi alto, já que corresponde à 12h de aplicação de Ethrel[®], apresentando redução com 12h de aplicação de 1-MCP, retomando o aumento na expressão, sendo uma possível explicação para essa redução a neutralização do etileno exógeno aplicado (PHILOSOPH-HADAS et al., 2005).

Para o tratamento de aplicação inversa ao anterior, observou-se que a expressão desse gene aumentou a partir das 6h após a aplicação do Ethrel[®] como mostrado em Figura 5.

Em relação à expressão do gene FT, não foi verificada diferença de expressão gênica entre o controle e os tratamentos conforme Figura 6, sendo uma possibilidade dessa baixa expressão esse gene não ser expresso em folhas, já Liu e Fan (2016) detectaram três genes FT para o abacaxi, e outros trabalhos com FT mostram que essa família gênica é expressa diferentemente em tecidos diversos. Além disso, o gene FT é um integrador floral de sinais que atuam diferentemente de acordo com fatores internos e externos à planta como fotoperíodo, temperatura, idade, hormônios e compostos metabólicos, demorando para ser responsivo (FORNARA; MONTAIGU; COUPLAND, 2010).

Figura 6 - Expressão relativa do gene FT sob diferentes tratamentos ao longo de 24h.



HORAS Controle/Ethrel/1-MCP

7h

13h

19h

7h

HORAS Conjugados

19h

1h

7h

19h

Fonte: Dados da Autora (2016)

4 CONCLUSÃO

O uso do Ethrel[®] só e após o 1-MCP estimulou o florescimento em relação ao controle, além de aumentar após 6h de aplicação do produto a expressão relativa do gene *AcACO1*.

O 1-MCP estimulou o florescimento em comparação ao tratamento controle, bem como estimulou a expressão do gene *AcACO1* às 12h após a aplicação do produto.

Quando foi aplicado o 1-MCP após o Ethrel[®] houve atraso no florescimento, mas não houve alteração na porcentagem de florescimento, além de reduzir a expressão do gene *AcACO1* às 12h de aplicação do produto.

Todos os tratamentos possuíram resultado diferencialmente expresso e maior expressão gênica que o controle em relação ao gene *AcACO1*, mas não tiveram resultados diferencialmente expressos para os genes *AcACS2* e *AcFT*.

REFERÊNCIAS

- CIN, V. D. et al. The ethylene biosynthetic and signal transduction pathways are differently affected by 1-MCP in apple and peach fruits. **Postharvest Biology and Technology**, Holanda, v. 42, n. 2, p. 125-133, Nov. 2006.
- CUNHA, G. A. P. Applied aspects of pineapple flowering. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 4, p. 499–516, jul. 2005.
- ESPINOSA, M. E. Á. et al. Early histological, hormonal, and molecular changes during pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merrill) artificial flowering induction. **Journal of Plant Physiology**, Alemanha, v. 209, p. 11-19, Fev. 2017.
- FORNARA, F.; MONTAIGU, A. de; COUPLAND, G. SnapShot: control of flowering in arabidopsis. **Cell**, Estados Unidos, v. 141, n. 3, p. 550-550, Apr. 2010.
- GOLDING, J. B. et al. Application of 1-MCP and propylene to identify ethylene-dependent ripening processes in mature banana fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Holanda, v. 14, n. 1, p. 87-98, Apr. 1998.
- KEVANY, B. M. et al. Ethylene receptor degradation controls the timing of ripening in tomato fruit. **The Plant Journal**, Inglaterra, v. 51, n. 3, p. 458-467, Aug. 2007.
- KIRST, H. S. K. et al. Diquat e uréia no manejo da floração natural do abacaxizeiro pérola. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 4, p. 1048-1054, dez. 2011.
- KU, V. V. V.; WILLIS, R. B. H.; BEN-YEHOSHUA, S. 1-Methylcyclopropene can differentially affect the postharvest life of strawberries exposed to ethylene. **HortScience**, Estados Unidos, v. 34, n. 1, p. 119-120, Feb. 1999.
- LI, Y. H. et al. Molecular Cloning and Characterization of Four Genes Encoding Ethylene Receptors Associated With Pineapple (*Ananas comosus* L.) Flowering. **Frontiers in Plant Science**, Suíça, v. 7, p. 710, May 2016.
- LIMA, A. A. Ethylene regulation under different watering conditions and its possible involvement in coffee (*Coffea arabica* L.) flowering. 2015. 149 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

LIU, C.; FAN, C. De novo transcriptome assembly of floral buds of pineapple and identification of differentially expressed genes in response to ethephon induction. **Frontiers in Plant Science**, Suíça, v. 7, p. 203, Feb. 2016.

MANICA, I. et al. Indução do florescimento e produção do abacaxizeiro cv. Smooth cayenne. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 81-86, jan. 1994.

PFÄFFL, M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. **Nucleic Acids Research**, Inglaterra, v. 29, n. 9, p. 2002-2007, May 2001.

PHILOSOPH-HADAS, S. et al. Efficiency of 1-MCP in neutralizing ethylene effects in cut flowers and potted plants following simultaneous or sequential application. **Acta Horticulturae**, Holanda, v. 669, p. 321-328, 2005.

PINHEIRO, A. C. M.; VILAS BOAS, E. V. de B.; MESQUITA, C. T. Ação do 1-metilciclopropeno (1-MCP) na vida de prateleira da banana 'Maçã'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Joticabal, v. 27, n. 1, p. 25-28, abr. 2005.

POEL, B. V.; STRAETEN, D. V. D. 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in plants: more than just the precursor of ethylene! **Frontiers in Plant Science**, Suíça, v. 5, n. 640, p. 71-81, Nov. 2014.