



**PRODUÇÃO E ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS
MICROPROPAGADAS DE ABACAXIZEIRO**
Ananas comosus (L) Merrill cv. PÉROLA

MARIA APARECIDA MOREIRA

2001

MARIA APARECIDA MOREIRA

**PRODUÇÃO E ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS
MICROPROPAGADAS DE ABACAXIZEIRO *Ananas comosus* (L)
Merril cv. PÉROLA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, área de concentração
Fitotecnia, para obtenção do título de 'Doutor'.

Orientadora:

Profª. Janice Guedes de Carvalho

MINAS GERAIS – BRASIL

2001

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Moreira, Maria Aparecida

Produção e aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro *Ananas
comosus* (L) Merrill cv. Pérola/ Maria Aparecida Moreira. -- Lavras : UFLA, 2001.
81 p. : il.

Orientadora: Janice Guedes de Carvalho.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Abacaxi. 2. Cultivo. 3. Muda. 4. Cultura de tecido. 5. Propagação. 6.
Nutrição mineral. 7. Substrato. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-634.77435

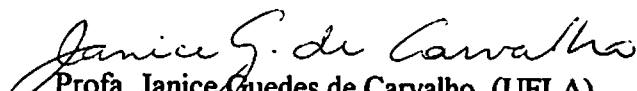
MARIA APARECIDA MOREIRA

**PRODUÇÃO E ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS
MICROPROPAGADAS DE ABACAXIZEIRO *Ananas comosus* (L)
Merril cv. PÉROLA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, área de concentração
Fitotecnia, para obtenção do título de 'Doutor'.

Aprovada em 01 de junho de 2001.

Prof. Moacir Pasqual (UFLA)
Pesq. Luís Eduardo Correa Antunes (EPAMIG)
Pesq. Miralda Bueno de Paula (EPAMIG)
Prof. José Darlan Ramos (UFLA)


Profª. Janice Guedes de Carvalho (UFLA)

(Orientadora)

Lavras
Minas Gerais – Brasil

Concedei-nos Senhor,

Serenidade necessária para aceitar as coisas que não podemos modificar

Coragem para modificar aquelas que podemos

E sabedoria para distinguir umas das outras.

**Ao meu irmão Geraldo
À minha avó Ana Emília
Sempre presentes...**

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais pelo apoio sempre constante.

À profa. Janice Guedes de Carvalho e Prof. Moacir Pasqual pela orientação sempre com muita liberdade.

À CAPES pela ajuda financeira

Aos laboratoristas Vantuil e Claret pela boa vontade e eficiente ajuda nos trabalhos.

Ao amigo Alexandre dos Anjos Sobrinho pela contribuição na condução dos experimentos.

Aos meus filhos Flávio, Eliza e Andréa.

À Giovanna que chegou durante o curso e se tomou meu maior incentivo.

Aos pesquisadores Miralda, Luis Eduardo e ao Prof. Darlan pela correção final.

A todos os amigos do laboratório pelo agradável e sempre sereno convívio.

E a minha querida amiga Elda o meu carinho e agradecimento especial.

SINCEROS AGRADECIMENTOS.

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract.....	ii
CAPÍTULO 1	
1 Introdução geral.....	1
2 Referencial teórico.....	2
2.1 Aspectos gerais do abacaxizeiro.....	2
2.2 Aspectos botânicos e cultivares.....	4
2.3 Aspectos nutricionais.....	7
2.4 Métodos de propagação.....	9
2.4.1 Propagação vegetativa	10
2.4.2 Micropropagação.....	11
3 Referências bibliográficas.....	15
CAPÍTULO 2	
Micropropagação do abacaxizeiro cv. Pérola	
Resumo.....	18
Abstract.....	19
1 Introdução.....	20
2 Referencial teórico.....	20
2.1 Micropropagação.....	20
2.2 Metodologia.....	21

2.3 Explantes e meios nutritivos utilizados.....	21
2.4 Estiolamento 'in vitro'	23
3 Material e métodos.....	25
4 Resultados e discussão.....	28
5 Conclusões.....	42
6 Referências bibliográficas.....	43

CAPÍTULO 3

Aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola....

Resumo.....	46
Abstract.....	47
1 Introdução.....	48
2 Referencial teórico.....	49
2.1 Aclimatização de mudas micropropagadas.....	49
2.2 Substratos.....	51
2.3 Adubação.....	55
3 Material e métodos.....	57
4 Resultados e discussão.....	62
5 Conclusões.....	77
6 Referências bibliográficas.....	78

RESUMO

MOREIRA, M. A. Produção e aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro *Ananas comosus* (L) Merrill cv. Pérola. Lavras: UFLA, 2001. 81p. (Tese - Doutorado em Agronomia).

O presente trabalho teve como objetivo estudar alguns fatores envolvidos na produção de mudas micropropagadas de abacaxizeiro. Foram realizados três experimentos no Laboratório de Cultura de Tecidos da UFLA e dois em casa de vegetação. Em todos os experimentos utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado. Foi utilizada a técnica do estiolamento das brotações, onde foram testados três tipos de meio e tempo no escuro. Para a característica comprimento de brotos estiolados o melhor meio foi MS sem reguladores de crescimento quando os brotos permaneceram por 80 dias no escuro. Para a recuperação das brotações estioladas foram novamente testados tipos de meio e retirada do ápice, onde o meio MS suplementado com 1,8mg/L de ANA e 2,0mg/L de BAP promoveu maior brotação quando retirou-se o ápice das brotações estioladas. Ainda no laboratório testou-se a suplementação hormonal do meio MS no crescimento das mudas micropropagadas, onde o meio MS sem reguladores de crescimento promoveu maior comprimento, maior número de folhas e maior peso de matéria seca e fresca. Na fase de aclimatização foram realizados dois experimentos visando o estudo de substratos e a resposta à adubação NPK. Foram utilizadas combinações de terra, esterco bovino, plantmax e composto orgânico como substratos. Para adubação foram utilizados os níveis de 0, 25, 50 e 100% da adubação básica recomendada para vaso, aplicados no início e 45 dias de aclimatização. Os resultados obtidos permitiram concluir que a adição de matéria orgânica teve importância significativa no desenvolvimento das mudas e a mistura de terra, esterco e plantmax foi adequada para o desenvolvimento de raízes e parte aérea. As mudas responderam bem à adubação feita no início da aclimatização. O nível de 100% da adubação foi superior para as características avaliadas.

Comitê Orientador: Janice Guedes de Carvalho (orientadora) – UFLA, Lavras – MG, Moacir Pasqual – UFLA, Lavras – MG.

ABSTRACT

MOREIRA, M. A. Micropropagated plantlets production and acclimatization of pineapple *Ananas comosus* (L) Merrill cv. Pérola. Lavras: UFLA, 2001. 81p. (Thesis - Doctorate in Agronomy).

It was aimed to study some involved factors in the production of micropropagated plantlets of pineapple. Three experiments were carried out in the Laboratory of Tissue Culture of Federal University of Lavras and two in the greenhouse. The etiolated technique of shoots was used where three medium types and time in the darkness were tested. For the variable size shoots etiolated, MS without growth regulators was best medium when the shoots stayed for 80 days in the darkness. For the etiolated shoots recovery, types of medium and removed of the apex were tested where the medium MS supplemented with 1,8mg/L of ANA and 2,0mg/L of BAP promoted higher shoots number when removed the apex of the etiolated shoots. Still in the laboratory, the effects of growth regulators of the MS medium was tested in the growth of the micropropagated plants, where the MS medium without growth regulators, improved higher length, number leaves and weight of dry and fresh matter. In the acclimatization phase two experiments were carried out seeking the study of the substrates and the answer to the fertilizer NPK. Combination of soil, bovine manure, plantmax and compost organic were used as substrates. For fertilizer were used levels of 0, 25, 50 and 100% of the basic fertilizer recommended for vase, applied in the beginning and in 45 days of acclimatization. The obtained results allowed to conclude that the addition of organic was very important for plants development and soil, manure and plantmax combinations was adequated for roots and aerial part development. The plants answered well to the fertilizer used in the beginning of the acclimatization. The level of 100% of the fertilizer was superior for the appraised characteristics.

Guidance Committee: Janice Guedes de Carvalho – UFLA (Major Professor) and Moacir Pasqual – UFLA.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil, com sua grande diversidade de clima e solo apresenta condições climáticas adequadas para produção de frutas tropicais. O abacaxizeiro é uma planta tropical originária de clima quente e seco, originalmente cultivada como planta rústica pouco exigente. Entretanto, em termos de exploração econômica, é uma cultura que merece tratamentos culturais cuidadosos e freqüentes para que se obtenha boa rentabilidade.

A produção brasileira de abacaxi, no período de 1995-1997, foi crescente, tanto em área plantada, quanto em rendimento. O Estado de Minas Gerais ocupou nesse período a liderança nacional em relação à área e ao volume de produção. Entretanto, o setor não apresenta padrões qualitativos capazes de aumentar a competitividade do produto em relação a mercados consumidores mais exigentes.

O grande problema da cultura no Brasil é a doença chamada fusariose ou gomose (*Fusarium subglutinans*), que pode provocar grandes perdas na produção e comprometer toda a exploração. Como essa doença se dissemina através de mudas contaminadas, pode-se afirmar que o primeiro passo para o sucesso da cultura é a aquisição ou a produção de mudas sadias.

A cultura de tecidos é uma técnica de grande importância, pois proporciona a produção de milhares de mudas a partir de uma única gema em pequeno intervalo de tempo e espaço e totalmente livres de doenças e pragas. No Brasil, ainda é restrita a utilização desse tipo de muda como um processo de produção de mudas sadias, sendo utilizada para multiplicação de variedades melhoradas.

Neste trabalho, o primeiro objetivo foi a produção de mudas micropropagadas de abacaxi cv. Pérola, utilizando-se a técnica do estiolamento *in vitro* como alternativa de aumento da taxa de multiplicação. O segundo

objetivo foi verificar o comportamento dessas mudas na aclimatização, visando determinar níveis e época de adubação e o melhor substrato nessa fase.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais

O abacaxizeiro é originário da região compreendida entre 15°N e 30°S de latitude e 60°W de longitude, o que inclui as zonas central e sul do Brasil, o nordeste da Argentina e o Paraguai (Baker e Collins, 1939; Camargo, 1943 citados por Cunha e Cabral, 1999).

É uma planta tropical, originalmente cultivada em terras recém desmatadas sendo, por isso, considerada uma planta rústica e também por apresentar características morfológicas, anatômicas e fisiológicas que lhe permitem sobreviver em condições ambientais adversas. Mas a produção econômica do abacaxizeiro requer tratos culturais cuidadosos e freqüentes (Cunha, 1999a).

Atualmente, o continente asiático tem se mostrado o principal produtor dessa fruta, sendo responsável por 51,70% (6,615 milhões de toneladas anuais). O continente americano se destaca como segundo produtor, seguido do continente africano. As outras regiões apresentam produção irrisória devido, principalmente, às condições climáticas desfavoráveis que limitam o desenvolvimento da cultura (Tabela 1.1) (FAO, 1998).

Considerando-se os países produtores, observa-se que cerca de 57,75% da produção mundial de abacaxi se concentram em apenas cinco países (Tabela 1.2). A Tailândia produz 15,63% do total (2.000 milhões de toneladas), sendo o maior produtor. Brasil, Filipinas, Índia e China também merecem destaque por sua produção. Outro aspecto a ser considerado, é o crescimento da cultura, que pode ser observado na Tabela 1.2, onde Brasil, China, Colômbia e Indonésia apresentaram os maiores crescimentos (FAO, 1998).

TABELA 1.1. Desempenho da cultura do abacaxi nos continentes e no mundo, no período 1979-81 e em 1997.

Continentes	Produção (1000t)				Variação Percentual
	1979/81	%	1997	%	
África	1681	17,18	2010	15,71	19,57
Ásia	5575	56,98	6615	51,70	18,65
Américas	2382	24,35	4016	31,19	68,60
Oceania	144	1,47	151	1,18	4,86
Europa	2	0,02	2	0,02	0,0
Mundo	9784	100	12794	100	30,76

Fonte: FAO (1998).

TABELA 1.2. Desempenho da cultura do abacaxi nos principais países produtores, no período 1979-81 e em 1997.

País	Produção (1000t)				Variação Percentual
	1979-81	%	1997	%	
Tailândia	2857	29,20	2000	15,63	-30,0
Brasil	589	6,02	1937	15,14	228,86
Filipinas	861	8,80	1452	11,35	68,64
Índia	548	5,60	1100	8,60	100,73
China	299	3,06	899	7,03	200,67
Nigéria	600	6,13	800	6,25	33,33
Indonésia	207	2,12	538	4,21	159,90
Colômbia	119	1,22	329	2,57	176,47
México	530	5,42	301	2,35	-43,21
Outros	3174	32,44	3438	26,87	8,32
Mundo	9784	100,00	12794	100,00	30,76

FAO (1998).

No Brasil, o abacaxizeiro é cultivado em quase todos os estados, sendo que 83% da produção nacional se concentram nos estados da Paraíba (24,67%), Minas Gerais (24,03%), Pará (19,27%), Rio Grande do Norte (5,4%), Bahia (5,37%) e Espírito Santo (4,27%). A Tabela 1.3 mostra a produção brasileira nas regiões fisiográficas. Mesmo se tratando de uma cultura de grande demanda no mercado mundial de frutas e de alta rentabilidade, o abacaxi não tem lugar de destaque no cenário agrícola brasileiro, apresentando um consumo per capita baixo (5,6 frutos/ano) e apenas 0,3% do valor da renda agrícola das culturas produzidas no país (Souza, Cardoso e Torres Filho, 1999).

A produtividade é considerada baixa (25 a 35t/ha) quando comparada com outros países (50 a 60t/ha) devido a fatores como problemas fitossanitários, práticas culturais inadequadas, organização incipiente dos produtores e fatores ambientais adversos (Oliveira, 1999). Entretanto, existem as faixas ótimas dos fatores ambientais onde o abacaxizeiro se desenvolve melhor e apresenta boa produção, tornando sua exploração economicamente viável. As regiões localizadas entre os paralelos 25°N e 25°S são consideradas favoráveis, podendo ser estendidas, o que demonstra a capacidade de adaptação do abacaxizeiro ao meio ambiente quando submetido a um sistema de cultivo adequado (Green, 1963 citado por Cunha, 1999b).

TABELA 1.3. Produção brasileira de abacaxi nas regiões fisiográficas, em 1997.

Região Fisiográfica	Área colhida (ha)	Produção (mil frutos)	Rendimento médio (frutos/ha)	Participação na produção (%)
Norte	11.095	249.235	22.464	19,31
Nordeste	22.630	561.884	24.829	43,52
Centro-Oeste	2.953	52.301	17.711	4,05
Sudeste	18.103	422.209	23.323	32,70
Sul	433	5.382	12.430	0,42
Brasil	55.214	1.291.011	23.382	100,00

2.2 Aspectos botânicos e cultivares

O abacaxizeiro é uma planta monocotiledônea, herbácea da família *Bromeliaceae*, cujo gênero mais importante é o *Ananas*, onde estão incluídos o abacaxi *Ananas comosus* (L.) Merrill e outras espécies que são utilizadas para produção de fibras ou para ornamentação.

O abacaxizeiro é uma frutífera tropical que se adapta melhor em altitudes de até 100m onde apresenta ciclo menor, maiores produções e melhor qualidade de fruto (Silva e Sanábio, 1996). A temperatura ideal para o cultivo está entre 21 a 31°C, sendo que o ideal para o crescimento e desenvolvimento da planta está entre 25 a 30°C.

É uma cultura que pode suportar períodos mais secos, devido à disposição de suas folhas em forma de canaletas que podem captar e armazenar água em seu interior (Silva e Sanábio, 1996). Do ponto de vista de qualidade e sanidade do fruto, é interessante que as últimas semanas de sua formação ocorra em tempo seco e em temperaturas não muito altas.

As raízes atingem pouca profundidade no solo, sendo que 97% do sistema radicular de uma planta de doze meses da variedade Pérola, se encontram na faixa de 0 - 20cm (Inforzato, Giacomelli e Rochelle, 1968), tornando o cultivo mecânico para controle de plantas daninhas um risco em potencial às raízes.

O fruto é composto, do tipo sorose, formado de 100 a 200 frutinhos simples do tipo baga, inseridos sobre uma haste central, em disposição espiralada e intimamente soldados entre si. No ápice existe um tufo de folhas denominado coroa. A casca é formada pela reunião das brácteas e sépalas das flores que dão origem aos frutinhos (Medina, 1987).

As cultivares mais plantadas no mundo, atualmente, são classificadas nos grupos Cayenne, Spanish, Queen, Pernambuco e Perolera de acordo com um conjunto de caracteres comuns tais como: porte da planta, número de filhotes e rebentões, comprimento da folha, presença de espinhos na folha, comprimento do pedúnculo, cor das folhas, peso e forma do fruto, cor da casca e da polpa, forma dos frutinhos e sabor dos frutos (Py, Lacoueilhe e Teisson, 1984).

No grupo Pernambuco se destaca a cultivar Pérola, também denominada 'Pernambuco' ou 'Branco de Pernambuco', que tem crescimento ereto, folhas com 65cm de comprimento e com espinhos, pedúnculo longo (30cm), grande número de mudas tipo filhote (4-8), susceptível a fusariose e certa tolerância à murcha causada pela cochonilha. Não apresenta boas características para industrialização e sua forma cônica e coloração esverdeada da casca não atendem aos padrões exigidos para exportação. O fruto tem forma cônica, coroa grande, peso de 1 a 1,5Kg, possui polpa branca, muito suco, pouco ácido (Silva e Sanábio, 1996), 14,8° Brix e acidez titulável de 6,4 (Cabral; Matos e Cunha, 1987).

O grupo Cayenne é considerado o principal grupo de abacaxizeiro cultivados no mundo e suas variedades apresentam características consideradas adequadas à industrialização e ao mercado internacional. A principal variedade é Smooth Cayenne denominada no Brasil de caicna, liso, havaiana ou ananás. Tem crescimento semi-ereto, folhas com até 1,0m de comprimento e com apenas dois a três pares de espinhos na extremidade, pedúnculo curto (15cm), poucas mudas tipo filhote, predominando mudas tipo rebentão, susceptível à fusariose e à cochonilha. O fruto tem forma cilíndrica, com peso de 1,5 a 2,5Kg, possui polpa amarela, coloração externa alaranjada, elevado teor de açúcar e média acidez (Silva e Sanábio, 1996), 13,5° Brix e acidez titulável de 10,2 (Cabral; Matos e Cunha, 1987).

2.3 Aspectos nutricionais

O potássio é o elemento mais exigido pela cultura, seguido pelo nitrogênio e fósforo. Há grande diferença entre as quantidades extraídas, em função de condições como: variedade, clima, solo, adubação e manejo da cultura (Tabela 1.4). A exportação de nutrientes pelo fruto e coroa é relativamente pequena em relação ao total absorvido, sendo importante a devolução dos restos culturais representados pelas folhas e talos que produziram os frutos, como retorno de apreciável quantidade de nutrientes absorvidos, além de matéria orgânica (Paula, Mesquita e Nogueira, 1998).

Durante os primeiros seis meses após plantio, a absorção de nutrientes é pequena (7% do total) e o máximo ocorre no período de 6 a 18 meses, quando as plantas já estão bem estabelecidas (Folleth Smith e Bourke, citados por Malavolta, 1974).

Com relação à reação do solo, o abacaxizeiro tem preferência por solos ácidos havendo, portanto, algumas variações à faixa de pH considerada mais indicada. Paula et al. (1991), estudando o efeito de calagem na produção do abacaxizeiro, não encontrou aumento na produção, no entanto foi obtida uma melhor utilização de potássio pelas plantas cultivadas em solos ácidos e pobres em cálcio e magnésio. Para a variedade Smooth Cayenne, a faixa ótima de pH é de 5,5 a 6,0; para a Red Spanish é de 4,5 a 5,5. Acima dessas faixas pode ocorrer deficiência de micronutrientes, como ferro (Fe) e zinco (Zn) (Py, 1969).

✓ É importante observar que o cálculo para a calagem deve fornecer doses de corretivos que não elevem o pH acima das faixas consideradas ideais para a cultura. Igualmente importante, é assegurar uma relação potássio:magnésio:cálcio (K:Mg:Ca), que melhor atenda à nutrição do abacaxizeiro. Segundo Martin-Prével (1961), para condições da Guiné, a distribuição percentual pode ser 30 a 60% de K, 30 a 65% de Mg e 0 a 17% de Ca, necessitando ser testada para outras condições edafo-climáticas.

TABELA 1.4. Nutrientes extraídos pela cultura do abacaxi (kg/ha).

N	P	K	Ca	Mg	S	Obs.	N:P:K
67	8,3	198	-	-	-	8t/ha colheita	1:0,12:2,95
350	52,8	942	175	-	-	18375 pl/ha	1:0,15:2,7
107	38,0	347	95	44	-	25000pl/ha	1:0,35:3,2
83	12,2	364	-	-	-	12500pl/ha	1:0,14:4,38
123	14,6	156	-	-	-	100t/ha colheita	1:0,11:1,27
308	29,5	730	-	-	-	20t frutos/ha	1:0,09:2,3
355	32,5	509	236	115	40	50000 pl/ha	1:0,09:1,4
317	13,6	1257	-	-	-	50000pl/ha (Pérola)	1:0,04:4,0
300	14,3	444	-	-	-	50000pl/ha (Cayenne)	1:0,047:1,5

Fonte: Vários autores, citados por Paula, Mesquita e Nogueira, 1998.

Com relação à adubação, a Comissão de Fertilidade do solo do Estado de Minas Gerais (1999) estabeleceu como adubação básica para o abacaxizeiro as doses de 9g de N, 3g de P_2O_5 e 15g de K_2O por planta, para solos com baixos níveis de fósforo e potássio. Essa adubação é feita, aplicando-se todo o fósforo, 1/3 do nitrogênio e 1/3 do K_2O no plantio e o restante dividido em duas doses.

É importante que, além das exigências nutricionais da planta, fatores como capacidade de suprimento de nutrientes pelo solo, nível tecnológico adotado na exploração, destino da produção e rentabilidade da cultura sejam devidamente considerados para a definição das quantidades de fertilizantes a serem aplicadas na cultura do abacaxi. As variações que podem ocorrer nesse conjunto de fatores evidenciam que a recomendação deve ter abrangências regionais. Na maioria dos países produtores, incluindo o Brasil, verifica-se que a adubação nitrogenada tem variado de 6 a 10g de N/planta, a fosfatada de 1 a 4g de P_2O_5 /planta e a potássica de 4 a 15g de K_2O /planta (Souza, 1999).

Como fontes de nitrogênio, as formas amoniacais são as mais indicadas. A pulverização com uréia pode ser usada como adubação complementar, empregando-se soluções de uréia a 4% contendo também cloreto de potássio a 2% (Malavolta et al., 1974). Como fonte de fósforo, deve-se dar preferência aos

solúveis como o superfosfato simples, duplo ou triplo, o fosfato mono ou diamônico. Para o potássio, podem ser usados o sulfato de potássio e o cloreto de potássio, sendo o sulfato a forma mais indicada (Paula, Mesquita e Nogueira, 1998).

Os adubos químicos podem ser aplicados nas axilas das folhas basais do abacaxizeiro com a ajuda de colheres, ou com funil acoplado a um tubo plástico rígido. Podem também ser aplicados no solo junto às plantas. Independentemente do modo de aplicação, deve-se evitar que o adubo caia nas folhas superiores, causando a queima; ou no olho ou roseta da planta podendo causar a morte (Souza, 1985).

Quanto à época de aplicação da adubação, normalmente tem sido recomendado um parcelamento muito grande, o que tem concorrido para onerar as despesas de mão de obra com a cultura. Nas aplicações com intervalos de dois em dois meses, são necessárias quantidades superiores a duas vezes as recomendações mensais. Deve-se evitar intervalos superiores a três meses entre duas aplicações de adubos, para evitar saltos de desenvolvimento na planta e procurar manter um crescimento contínuo e uniforme das mudas, com exceção em locais onde ocorre seca prolongada. As curvas de absorção de nutrientes mostram pouca exigência da planta para nitrogênio nos três primeiros meses após plantio, período em que a planta tem reservas na muda e poucas raízes (Manica et al., 1983 citados por Manica, 1999).

2.4 Métodos de propagação

Na cultura do abacaxizeiro, a qualidade da muda tem influência tão forte no estado sanitário, desenvolvimento, produção e rendimento das plantações, que a obtenção e a utilização de material de plantio com vigor e sanidade superiores, podem ser considerados fatores decisivos para se alcançar sucesso econômico no cultivo dessa fruteira (Reinhardt, 1998).

2.4.1 Propagação vegetativa

O abacaxizeiro é uma planta de propagação, predominantemente vegetativa, por meio de mudas. A propagação por sementes só ocorre quando há polinização cruzada entre variedades e/ou espécies diferentes, tendo aplicação exclusiva na pesquisa para obtenção de novas variedades. Em plantios comerciais, não há produção de sementes devido a autoesterilidade das flores e à formação partenocárpica do fruto (Reinhardt, 1998).

A propagação vegetativa é feita através de mudas denominadas coroa (~~sobre o fruto~~), filhote ou mudas do cacho (~~abaixo do fruto~~), filhote-rebentão (~~inserção do pedúnculo no talo~~) e rebentão (~~base do talo~~). Esses tipos de propágulos podem ocasionar problemas como: 1) cada propágulo requer um tempo determinado para florescimento, criando dificuldades na hora da colheita se as plantas vierem de diferentes tipos de propágulos; 2) a propagação por coroas, filhotes ou rebentões é um processo lento e, além disso, coroas são vendidas com o fruto o que inviabiliza o seu uso; 3) o plantio de material para produzir propágulos é limitante, por exemplo, para o Smooth Cayenne que produz poucos filhotes (Py, Lacoueilhe e Teisson, 1984). Há que considerar, ainda, que esse processo requer intensa utilização de mão de obra, dispende muito tempo, produz um pequeno número de mudas e gera material de qualidade sanitária duvidosa (Fauth et al., 1994).

Os filhotes são freqüentemente utilizados para plantio por estarem disponíveis em maior quantidade, principalmente na cv. Pérola. Para a cv. Smooth Cayenne, os rebentões são os mais utilizados devido ao baixo número de filhotes formados. A muda tipo coroa confere à cultura um ciclo mais longo, ao passo que mudas tipo rebentão, em função da maior quantidade de reservas nutritivas, confere à planta maior velocidade de crescimento. O filhote, de ciclo de duração intermediária, é o tipo de muda mais utilizado devido a sua maior disponibilidade, no caso da cv. Pérola (Reinhardt, Souza e Cunha, 1996).

Outro método de obtenção de mudas, ainda pouco utilizado, é a propagação a partir do talo que consiste na produção de plântulas a partir da

brotação de gemas contidas nos pedaços do talo ou haste da planta mãe. É um método que pode produzir até 90% de mudas sadias, pois permite observar a parte interna do talo e desta forma eliminar toda seção que apresente sintomas de fusariose (Silva e Sanábio, 1996).

A escassez de mudas de boa qualidade e o custo elevado resumem a atual situação do material de plantio no Brasil. Reinhardt (1998) cita outras razões da escassez de mudas como: induções florais feitas em períodos quentes e secos, desprezo pela muda tipo rebentão e coroa (nem sempre disponível para o produtor), prolongado período de deficiência hídrica. Além disso, a qualidade da muda disponível é, em geral, bastante precária devido ao baixo vigor das plantas-mães e o manejo deficiente das mudas durante seu desenvolvimento na planta.

A baixa disponibilidade e o aumento da demanda por mudas resultaram no aumento do custo da muda, que se tornou o insumo mais caro na produção de abacaxi. No entanto, essa situação pode ser mudada se o produtor recorrer a alguns cuidados fundamentais no manejo da cultura como: manejo adequado da plantação e das mudas convencionais e aumento da produção de mudas em viveiros (Reinhardt, 1998).

A produção de mudas de abacaxizeiro, no Estado de Minas Gerais, está em fase inicial. A adoção do método de multiplicação pelo seccionamento de talo, por exemplo, está atrasada por causa da predominância do tradicionalismo dos produtores mineiros e sua falta de percepção aos benefícios resultantes do plantio de mudas de boa qualidade. Outros fatores que muito têm contribuído para dificultar a adoção desse método como rotina de produção de mudas são, a necessidade de implantação de infraestrutura física, a falta de recursos humanos treinados e a falta de disponibilidade dos produtores (Rios, 1998).

2.4.2 Micropropagação

A cultura de tecidos é uma parte da biotecnologia que reúne várias técnicas na busca de produtos de origem vegetal de melhor qualidade, incluindo

sementes e mudas, além de produtos extraídos das plantas. No Brasil, a fruticultura já tem sido beneficiada pelo uso da cultura de meristemas e da micropropagação. A decisão de se utilizar técnicas da biotecnologia em qualquer programa de pesquisa ou produção comercial, bem como a escolha das técnicas adequadas, dependerá dos objetivos e das características da espécie (Caldas e Grattapaglia, 1986).

A propagação vegetativa *in vitro*, também denominada de micropropagação devido ao tamanho dos propágulos utilizados, é a aplicação mais prática da cultura de tecidos e aquela de maior impacto. Consiste no cultivo asséptico de parte do vegetal (explante), em condições de laboratório, sobre um meio nutritivo artificial. É uma das principais aplicações da cultura de tecidos, especialmente para aquelas plantas que são de difícil propagação pelos métodos convencionais. Esta técnica já é usada comercialmente, permitindo a obtenção de milhares de plantas, todas geneticamente uniformes. Significativos progressos neste sentido têm sido verificados em várias espécies frutíferas, propagadas vegetativamente por enxertia e nas quais a micropropagação tem possibilitado a multiplicação rápida de porta-enxertos e/ou de cultivares-copa (Hoffman et al., 1996).

A utilização da micropropagação em âmbito comercial já é realidade em diversos países do mundo. A maioria dos laboratórios comerciais surgiram agregados a viveiros como iniciativa dos próprios produtores de mudas. Hoje essa atividade comercial concentra-se principalmente na limpeza clonal e na multiplicação de espécies herbáceas e arbustivas, e em segundo plano as lenhosas, com destaque para multiplicação de porta-enxertos de frutíferas de clima temperado e árvores-elite de essências florestais de rápido crescimento (Grattapaglia e Machado, 1998).

Os estágios da micropropagação, segundo Murashige (1974), podem ser divididos em: I – seleção de explantes, desinfestação e cultivo em meio nutritivo; II – multiplicação dos propágulos; III – enraizamento em meio nutritivo e transplântio das plantas para substrato ou solo. Esse esquema não

precisa ser necessariamente seguido, permitindo alterações conforme as peculiaridades de cada espécie.

Considerando que a fusariose é a doença mais importante do abacaxizeiro e se propaga basicamente por mudas contaminadas, todas as possibilidades de multiplicação desta frutífera por mudas sadias devem ser consideradas (Silva e Sanábio, 1996), como por exemplo, a técnica do cultivo *in vitro*. A utilização desse tipo de muda ainda é restrita no Brasil, porque o número de laboratórios é pequeno e o preço da muda é alto, inviabilizando o seu uso. Por enquanto, as mudas originadas desta tecnologia devem ser utilizadas como matrizes a serem multiplicadas em sistema de viveiro (Silva e Sanábio, 1996).

A micropropagação do abacaxizeiro tem sido utilizada, prioritariamente, em apoio a programas de melhoramento com objetivo de obtenção de variedades e híbridos resistentes à fusariose, permitindo a multiplicação rápida de clones selecionados (Eloy et al., 1993; Matos et al. 1988). Diferentes taxas de regeneração têm sido observadas de acordo com a metodologia utilizada. Segundo Mathews e Rangan (1979), o cultivo de gemas axilares, extraídas de mudas tipo coroa, possibilitou a obtenção de mais de uma planta por gema.

Qualquer que seja a técnica de cultura de tecidos utilizada, as plantas obtidas necessitam passar por um período de aclimatização e crescimento, até atingirem o tamanho adequado para o plantio definitivo no campo, quando merecem uma avaliação de seu comportamento.

Com esse objetivo, Vesco et al. (2000), utilizaram a técnica da cultura de tecidos para a micropropagação de 17 acessos de abacaxizeiro pertencentes as cvs. Pérola, Smooth Cayenne, Amarelo e Amarelinho, para avaliações de padrões fenotípico e genotípico em diferentes fases de cultivo *in vitro*, aclimatização e cultivo a campo. Com os resultados obtidos concluíram, que o cultivo *in vitro* permite a produção de mudas isentas de fusariose no primeiro ciclo de produção e permite a obtenção de mudas tipo filhote também sadias,

que quando transplantadas para áreas isentas dessa doença, resultam em ganhos de 30% em relação aos cultivos feitos com mudas infectadas.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CABRAL, J.R.S.; MATOS, A.P. de.; CUNHA, G.A.P. da. Caracterização morfológica agrônoma de germoplasma de abacaxi. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9., 1987, Campinas. *Anais...* Campinas: SBF, 1987. v.1, p.35-40.
- CALDAS, L.S.; GRATTAPAGLIA, D. Aplicações da biotecnologia na fruticultura: presente e futuro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Cruz das Almas - BA, v.8, n.3, p.7-17, 1986.
- COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. *Recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação*. Viçosa - MG, 1999. 359p.
- CUNHA, G.A.P. da. Implantação da cultura. In: CUNHA, G.A.P.; CABRAL, J.R.S.; SOUZA, L.F. da S. *O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia*. Brasília: EMBRAPA, 1999a. p.139-167.
- CUNHA, G.A.P. da. Aspectos agroclimáticos. In: CUNHA, G.A.P. CABRAL, J.R.S.; SOUZA, L.F. da S. *O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia*. Brasília: EMBRAPA, 1999b. p.53-66.
- CUNHA, G.A.P.; CABRAL, J.R.S. Taxonomia, espécies, cultivares e morfologia. In: CUNHA, G.A.P. CABRAL, J.R.S.; SOUZA, L.F. da S. *O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia*. Brasília: EMBRAPA, 1999. p.17-51.
- ELOY, A.M.M.; CABRAL, J.R.S.; SOUZA, A. da S.; MATOS, A.P. de; ALMEIDA, W.A.B. de. Propagação *in vitro* do abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merr.). In: ENCONTRO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 1., 1993, Brasília. *Programas e resumos...* Brasília, 1993.
- FAO. Site: FAO (1998). Disponível e, <URL: <http://apps.fao.org/lim500/nphwrap.pl?Production,Crops.PrimaryeDomain=SU>> Acesso em 11 maio 1998.
- FAUTH, A.; TOFOL, M.; SILVA, A.L.; MARASCHIN, M. Aclimação de mudas de abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merril) resistentes à fusariose, cultivados *in vitro*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Cruz das Almas, v.16, n.2, p.7-12, set. 1994.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, 1998. v.1.

- HOFFMANN, A.; CHALFUN, N.N.J.; ANTUNES, L.E.C.; RAMOS, J.D.; PASQUAL, M.; SILVA, C.R. de R. e. **Fruticultura comercial – propagação de plantas frutíferas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1996. 319p.
- INFORZATO, R.; GIACOMELLI, E.J.; ROCHELLE, L.A. Sistema radicular do abacaxizeiro aos 4, 8 e 12 meses, plantado no início da estação seca em solo latossolo vermelho escuro-orto. **Bragantia**, Campinas, v.27, n.11, p.135-41, mar. 1968.
- MALAVOLTA, E.; HAAG, H.P.; MELLO, F.A.F. de; BRASIL SOBRINHO, M.O.C. **Nutrição mineral e adubação de plantas cultivadas**. São Paulo: Pioneira, 1974. 727p.
- MANICA, I. **Abacaxi**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 1999. 501p. (Fruticultura Tropical, 5)
- MARTIN-PREVEL, P. Potassium, calcium et magnesium dans la nutrition de l'ananas en Guiné; II- Influence sur le rendement commercialisable. **Fruits**, Paris, v.16, n.3, p.113-23, Mar. 1961.
- MATHEWS, V.H.; RANGAN, T.S. Multiple plantlets in lateral bud and leaf explant *in vitro* culture of pineapple. **Science Horticultural**, Amsterdam, v.11, n.4, p.519-28, 1979.
- MATOS, A.P. de; CABRAL, J.R.S.; SOUZA, A. da S.; FUKUDA, W.M.G.; SANTOS FILHO, H.P.; DANTAS, J.L.L. O uso da cultura de tecidos no Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura. **ABCTP Notícias (Associação Brasileira de Cultura de Tecidos de Plantas)**, v.8, p.2-5, 1988.
- MEDINA, J.C. **Abacaxi**. 1: cultura. In: INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Frutas Tropicais 2: abacaxi**. Campinas, 1987. p.1-132.
- MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue culture. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.25, p.135-166, 1974.
- OLIVEIRA, S.L. de. Apresentação. In: CUNHA, G.A.P. da; CABRAL, J.R.S.; SOUZA, L.F. da S. **O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia**. EMBRAPA, Brasília, p.15. 1999.
- PAULA, M.B. de.; CARVALHO, V.D.de.; NOGUEIRA, F.D.; SOUZA, L.F. da S. Efeito da calagem, potássio e nitrogênio na produção e qualidade do fruto do abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.26, n.9, p.1337-1343, set. 1991.

- PAULA, M.B. de.; MESQUITA, H.A. de; NOGUEIRA, F.D. Nutrição e adubação do abacaxizeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.19, n.195, p.33-39, 1998.
- PY, C. **La piña tropical (L'ananas)**. Barcelona: Blume, 1969. 278p.
- PY, C.; LACOUËLHE, J.J.; TEISSON, C. **L'ananas: sa culture e ses produits**. Paris: Maisonneuve e Larose, 1984. p.21-35.
- REINHARDT, D.H.R.C. Manejo e produção de mudas de abacaxi. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.19, n.195, p.13-19, 1998.
- REINHARDT, D.H.R.C.; SOUZA, L.F. da S.; CUNHA, G.A.P. da. Manejo do abacaxi 'Pérola' para produção de rebentões. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 18, n.3, p.319-327, 1996.
- RIOS, J.N.G. Profissionalização: a solução para o cultivo do abacaxi. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.19, n.195, p.1-2, 1998.
- SILVA, C.R. de R. e.; SANÁBIO, D. **Cultura do abacaxizeiro informações básicas**. Lavras - MG.: UFPA, 1996. (Boletim Técnico, 9).
- SOUZA, L.F. da S. **Adubação do abacaxizeiro**. Cruz das Almas: EMBRAPA/CNPMPF, 1984. 23p. (Apostila do 2^o Curso Intensivo Nacional de Fruticultura, Cruz das Almas, 1985).
- SOUZA, L.F. da S. Correção de acidez e adubação. In: CUNHA, G. A. P. da; CABRAL, J.R.S.; SOUZA, L.F. da S. **O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia**. Brasília: EMBRAPA, 1999. p. 169-202.
- SOUZA, J. da S.; CARDOSO, C.E.L.; TORRES FILHO, P. Situação da cultura no mundo e no Brasil e importância econômica. In: CUNHA, G.A.P. da; CABRAL, J.R.S.; SOUZA, L.F. da S. **O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia**. Brasília: EMBRAPA, 1999. p.403-428.
- VESCO, L.L.D.; PESCADOR, R.; BELO, A.; FEUSER, S.; OLIVEIRA, E.N. de.; BRANCHER, A.; ZAFFARI, G.R.; NODARI, R.O.; GUERRA, M.P. Qualidade genotípica de mudas e performance a campo de plantas micropropagadas de abacaxizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.22, n.1, p.80-85, 2000.

CAPÍTULO 2

MICROPROPAGAÇÃO DO ABACAXIZEIRO cv. PÉROLA

Resumo: Objetivou-se produzir mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola a partir da técnica do estiolamento e posterior recuperação de brotos estiolados. Dois experimentos foram realizados, utilizando o delineamento inteiramente casualizado. No primeiro, os talos utilizados como explante foram obtidos de brotos que já se encontravam estabelecidos *in vitro*, dos quais foram retiradas as folhas. Foi utilizado o meio MS suplementado com $0,1\text{mg.L}^{-1}$ de ANA e $0,5\text{mg.L}^{-1}$ de BAP, meio MS suplementado com $1,8\text{mg.L}^{-1}$ de ANA e $2,0\text{mg.L}^{-1}$ de BAP e MS sem reguladores de crescimento. O estiolamento foi induzido colocando-se os explantes em tubos de ensaio de $150 \times 25\text{mm}$ (contendo os referidos meios de cultura), no escuro por 20, 40 e 80 dias. Após esse tempo, os brotos estiolados foram retirados dos tubos para avaliações do comprimento e número de brotações estioladas. Para a variável número de brotos, o melhor meio foi o MS + $1,8\text{mg.L}^{-1}$ de ANA e $2,0\text{mg.L}^{-1}$ de BAP, onde se obteve uma média de 10,78 brotações aos 49,3 dias no escuro, porém essas brotações tiveram um comprimento menor que 1,0cm. Para a variável comprimento de brotos estiolados, o meio MS, sem reguladores de crescimento, foi significativamente melhor quando os explantes foram mantidos por 80 dias no escuro, apresentando um comprimento médio de 10,86cm. No segundo experimento, os brotos estiolados foram colocados horizontalmente em placas contendo os três meios de cultura utilizados para o estiolamento e foi testado também a retirada e a não retirada do ápice, totalizando 6 tratamentos. As avaliações foram feitas 45 dias após a inoculação dos explantes. Para a variável número total de brotos o meio MS suplementado com $1,8\text{mg.L}^{-1}$ de ANA e $2,0\text{mg.L}^{-1}$ de BAP promoveu o melhor resultado correspondendo a 10,61 brotações, conseguido com a retirada do ápice, visto que sem a sua retirada, os meios tiveram o mesmo comportamento. No terceiro experimento, testaram-se o efeito dos meios citados acima e as concentrações de ágar, 0, 3,5 e $7,0\text{g.L}^{-1}$, no desenvolvimento das mudas até a obtenção do tamanho estabelecido para a aclimatização. O meio MS sem reguladores de crescimento favoreceu o número de folhas, a altura da planta e a matéria fresca e seca das mudas micropropagadas.

Palavras chaves: cultura de tecidos, propagação, bromeliaceae

PINEAPPLE MICROPROPAGATION cv. PÉROLA

Abstract: It was aimed to produce micropropagated plantlets of pineapple cv. Perola basin in etiolated technique and subsequent recovery of etiolated shoots. Two experiments were accomplished. In the first, the stalks used as explants were obtained from shoots established *in vitro* from where leaves were removed. The used medium was MS supplemented with $0,1\text{mg.L}^{-1}$ of ANA and $0,5\text{mg.L}^{-1}$ of BAP, medium MS supplemented with $1,8\text{mg.L}^{-1}$ of ANA and $2,0\text{mg.L}^{-1}$ of BAP and MS without growth regulators. The etiolated was induced putting the explants in tubes of $150 \times 25\text{mm}$, containing referred culture medium, in the darkness for 20, 40 and 80 days. After that time, etiolated shoots were removed from the tubes for evaluations of the length and number of etiolated shoots. For the variable shoots number, best medium was MS + $1,8\text{mg.L}^{-1}$ of ANA and $2,0\text{mg.L}^{-1}$ of BAP, where was obtained an average of 10,78 shoots for the 49,3 days in the darkness, however those shoots had a smaller size than 1,0cm. For the variable size etiolated shoots, the MS medium without growth regulators, was significantly better when explants were maintained for 80 days in the darkness, presenting size of 10,86cm. In the second experiment, the etiolated shoots were put horizontally in plates containing the three culture medium used for the etiolated. Also, the retreat or not of the apex was tested, totaling therefore 6 treatments. The evaluations were made 45 days after the inoculation of the explants. For the variable total number shoots, the MS medium supplemented with $1,8\text{mg.L}^{-1}$ of ANA and $2,0\text{mg.L}^{-1}$ of BAP achieved the best result, corresponding to 10,61 shoots gotten with the retreat of the apex, without it the medium had behavior same. In the third experiment were tested, the medium effect (mentioned above) and the concentrations of agar 0, 3,5 and $7,0\text{g.L}^{-1}$, in the development of the plantlets until they reach the ideal size for the acclimatization. The MS medium without growth regulators favored the number leaves, size and the fresh and dry matter of the micropropagated plantlets.

Key words: tissue culture, propagation, Bromeliaceae

1 INTRODUÇÃO

A produção de mudas de abacaxizeiro em laboratório, através da cultura de tecidos vegetais, permite obter milhares de mudas a partir de uma única gema, em pequeno espaço e tempo, livres de pragas e doenças. A utilização desses tipos de mudas, no Brasil, ainda é restrita porque há poucos laboratórios e o preço da muda é relativamente elevado.

No entanto, considerando-se que a fusariose é uma doença que se transmite quase que por mudas contaminadas, toda técnica de produção de mudas sadias deve ser considerada.

Um sistema eficiente de propagação *in vitro* pode permitir um aumento rápido de material para propagação. Além disso, variações que podem ocorrer na cultura de tecidos podem ser utilizadas como fonte de variabilidade genética para criar variedades, pois a maioria das variedades de abacaxizeiro são mutantes que foram selecionados e propagados.

A metodologia para a micropropagação do abacaxizeiro consiste, basicamente, em desfolhar as mudas e, em ambiente asséptico, retirar as gemas dos talos obtidos para obtenção das brotações.

O objetivo geral foi a obtenção de mudas micropropagadas de abacaxi cv. Pérola, com objetivo específico de aumentar a taxa de multiplicação *in vitro*, através do estiolamento das brotações e posterior recuperação dos brotos estiolados.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Micropropagação

Durante os últimos anos, alguns métodos para aumentar o material propagativo de abacaxizeiro têm sido desenvolvidos, visto que o aumento do número de propágulos é necessário devido à densidade de plantio ser muito alta. O 'Smooth Cayenne' é plantado no Havai com 60000 a 80000 plantas por

hectare e em regiões onde cultivares sem espinhos são plantadas e a densidade é de 15000 a 35000 plantas por hectare (Py e Tisseau, 1965).

Um sistema eficiente de propagação *in vitro* pode permitir um aumento rápido de material para propagação. Produzir plantas diretamente de gemas axilares ou terminais foi principalmente conseguido por Aghion e Beauchesne (1960). Outros trabalhos foram feitos posteriormente, como a regeneração de plantas através de brotos apicais cultivados em meio sólido (Sita, Singh e Iyer, 1974), produção de vários brotos diretamente de gemas (Mapes, 1973 citado por Moore, DeWald e Evans, 1992), sendo que resultados similares foram conseguidos por Teo, (1974), Pannetier e Lanaud, (1976).

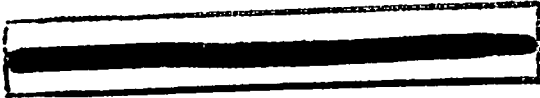
Algumas estimativas de produção de plantas são citadas. Segundo Drew (1980), partindo-se de 30 explantes viáveis, com uma taxa de multiplicação de 50 plantas/explante e três subculturas sucessivas, pode-se obter 1.250.000 plantas num período de 6 a 8 meses. Através do cultivo de gemas axilares de uma coroa, podem ser obtidas 5000 plantas em 12 meses, desde que haja formação de gemas múltiplas nos explantes (Zepeda & Sagawa, 1981).

2.2 Metodologia

A metodologia utilizada para a micropropagação do abacaxizeiro consiste, basicamente, em desfolhar as mudas, desinfestar os talos obtidos com hipoclorito de sódio, retirar as gemas em ambiente asséptico, desinfestar novamente as gemas e colocá-las em tubos de ensaio, contendo meio nutritivo para que ocorra a brotação.

2.3 Explantes e meios nutritivos utilizados

Normalmente, gemas axilares dormentes de coroa são excelentes explantes primários. Folhas apicais e mudas obtidas *in vitro* são também bons materiais para produção de calos, dos quais pode-se regenerar mudas (Mathews



e Rangan, 1981). Outros explantes são utilizados como gemas apicais e axilares de coroa (Mathews e Rangan, 1979), de filhotes (Sita, Singh e Iyer, 1974), gemas laterais (Zepeda e Sagawa, 1981), sincápio (Wakasa, 1979 citado por Kiss et al., 1995) e calos (Rao et al. 1981 e Wee, 1979 citados por Kiss et al., 1995).

Em quase todos os trabalhos o meio MS (Murashige e Skoog, 1962) tem sido utilizado. Vários reguladores de crescimento têm sido testados para iniciação e manutenção no meio de cultura, especialmente utilizando-se a combinação de auxina e citocinina (Moore, DeWald e Evans, 1992; Pescador e Koller, 1992; Cabral, Cunha e Rodrigues, 1984).

Algumas substâncias, como água de coco e caseína hidrolizada têm sido adicionadas ao meio (Zepeda e Sagawa, 1981; Aghion e Beauchesne, 1960), mas não são necessárias se os reguladores de crescimento estiverem presentes.

Os reguladores de crescimento têm o objetivo principal de suprir as possíveis necessidades dos teores endógenos de hormônios nos explantes, estimulando respostas como alongamento ou multiplicação da parte aérea (Altman e Goren, 1977). A determinação da concentração de reguladores de crescimento a ser utilizada é um fator importante, visto que as concentrações de citocinina podem variar bastante em função da espécie e do tipo de explante e que concentrações excessivas de auxinas podem induzir a formação de calos, mesmo quando adicionadas em concentrações acima de alguns décimos de miligrama (Grattapaglia e Machado, 1998).

O estado físico do meio de cultura tem influência na multiplicação de partes aéreas e, para o abacaxizeiro, Mathews e Rangan (1979) obtiveram igual, ou melhor, eficiência utilizando meio líquido. No entanto, o uso de meios líquidos ou semi-sólidos pode provocar vitrificação das plantas, observada por Debergh, Harbaqui e Lemeur (1981) em culturas de *Cynara scolymus*.

O protocolo para micropropagação do abacaxizeiro é resumido por Moore, DeWald e Evans (1992), indicando que os melhores explantes são gemas axilares de coroas e filhotes em meio MS suplementado com 3% de

sacarose, 0,8% de ágar, 0,57mM inositol, 1,2 μ M de tiaminaHCl, 10,8 μ M de ANA e 8,8 μ M de BAP.

Na micropropagação do abacaxizeiro, o tempo para o estabelecimento e proliferação de brotos é considerado longo. DeWald et al. (1988), trabalharam com três cultivares (PR-1-67, Perolera e Smooth Cayenne), selecionando três brotos de cada cultivar, os quais foram acompanhados por 13 meses de subculturas para determinar a produção de plantas por broto. A produção de plântulas começou nove meses depois do isolamento do explante. As três cultivares responderam diferentemente, com o Perolera, produzindo 829 plantas após 5 meses, o PR-1-67 produzindo 754 plantas e Smooth Cayenne 181 plantas, no mesmo período. O número de plântulas produzidas dobrou a cada subcultura mensal, do 11^o ao 13^o mês. Aproximadamente 25 plantas maiores que 2,5cm podiam ser colhidas a cada subcultura depois do 13^o mês. Estas três cultivares continuaram proliferando 4 anos após o início do trabalho.

2.4 Estiolamento *in vitro*

A micropropagação do abacaxizeiro é normalmente mais demorada que outras espécies, pois a produção de plantas não é conseguida antes de 9 a 12 meses depois do início das culturas. Mas esse obstáculo pode ser superado com novos estudos para reduzir esse tempo. Nesse sentido, Kiss et al. (1995) propuseram novo método de propagação rápida do abacaxi, baseado no alongamento de brotos induzidos *in vitro*, através do estiolamento.

O estiolamento é o desenvolvimento de brotos, ramos ou partes destes em ausência de luz, o que causa o crescimento, geralmente alongado e com coloração amarela ou branca devido à ausência de clorofila (Hartmann e Kester, 1990).

Alguns estudos têm aplicado a técnica do estiolamento para enraizamento de estacas onde são citados efeitos morfológicos e fisiológicos envolvidos nesse processo. Essas técnicas, ainda pouco estudadas no Brasil, possivelmente permitirão a obtenção de melhores resultados na propagação de

plantas nativas exóticas difíceis de enraizar, do que a simples utilização de auxinas em estacas (Biasi, 1996).

Os efeitos morfológicos incluem, a coloração branca, alongamento dos internódios e aumento da suculência, proporcionando decréscimo na barreira mecânica dos tecidos do caule devido a menor lignificação, suberificação e espessura das paredes celulares (Maynard e Bassuk, 1996). O estiolamento atrasa a lignificação dos tecidos, e essa redução das propriedades mecânicas dos tecidos é responsável pela facilidade de enraizamento provocada nas brotações estioladas (Bassuk e Maynard, 1987 citados por Biasi, 1996).

Os efeitos fisiológicos incluem, o metabolismo e transporte de auxina, alterações na sensibilidade dos tecidos à auxina e alterações no conteúdo de compostos fenólicos. Acredita-se que a luz diminui a eficiência do AIA (ácido indolacético) sem mudar o seu conteúdo. No caso de enraizamento de estacas, estas, quando bem iluminadas, requerem um maior acúmulo de auxina para estimularem a iniciação radicular (Maynard e Bassuk, 1988). O estiolamento pode favorecer o enraizamento, porque a degradação do AIA é maior na presença de luz, onde cerca de 80% do conteúdo é destruído após 24 horas de iluminação, enquanto apenas 56% é degradado após 48 horas no escuro (Kawase, 1965), além disso, foi demonstrado que, em tecidos estiolados, a presença de compostos fenólicos inibidores do AIA-oxidase, são mais abundantes (Konish e Galston, 1964 citados por Biasi, 1996).

Em cultivos *in vitro*, Economou e Read (1987), encontraram maior porcentagem de enraizamento em brotações de azaléa cultivadas sob menor irradiação, e uma alta correlação foi encontrada entre a atividade da peroxidase e a habilidade de enraizamento das brotações.

O estiolamento foi utilizado por Kiss et al. (1995) com o objetivo de obter brotações *in vitro* de abacaxizeiro. Brotos da cv. Smooth Cayenne produzidos *in vitro* foram colocados em meio MS adicionado de ANA (10 μ M) e mantidos a 28°C no escuro por 30 a 40 dias, depois de retiradas todas as folhas. Esse processo promoveu o estiolamento dos brotos e a indução de novas gemas, onde foi obtido uma média de 2,6 brotos/explante com um comprimento

médio de 7,74cm e 6 a 9 nós/broto aos 30 a 35 dias. Depois de estiolados, os brotos foram colocados em placas de Petri, no sentido horizontal, contendo meio de cultura N6 suplementado pelos reguladores de crescimento cinetina ($25\mu\text{M}$) ou BAP ($20\mu\text{M}$), conseguindo dessa maneira, após 4 a 6 semanas, uma taxa de regeneração de 13 a 15 plantas por explante, aumentando a taxa de multiplicação *in vitro*. Com esse mesmo objetivo, Moreira, Pasqual e Anjos Sobrinho (1997), usando brotos cortados, sem folhas, de plantas já estabelecidas *in vitro* da cv. Primavera, verificaram que houve estiolamento dos brotos até 10,26cm aos 45 dias de incubação no escuro.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras. Foram realizados três experimentos correspondentes às fases de multiplicação, alongamento.

O material propagativo, plantas já estabelecidas *in vitro*, utilizado nos experimentos foi obtido do Centro Nacional de Pesquisa de Fruticultura e Mandioca (CNPMPF), em Cruz das Almas- BA. Esse material foi submetido a várias repicagens para meio de multiplicação.

O meio de cultura básico utilizado nos experimentos foi o MS (Murashige e Skoog, 1962) suplementado com reguladores de crescimento de acordo com os tratamentos. Para o preparo dos meios, foram utilizadas soluções estoques preparadas com água destilada e armazenadas em frascos escuros em geladeira, bem como os reguladores de crescimento. O pH dos meios foi ajustado para 5,8, com adição de NaOH 0,5 e 0,1N, e quando necessário, HCl 0,1N, antes da adição do ágar. Após o preparo, os meios foram autoclavados à pressão de 1,5 atm e à temperatura de 120°C durante 20 minutos.

Os experimentos foram realizados em câmara de fluxo laminar, desinfestada com álcool a 70%. Os instrumentos (pinças, bisturis e placas de Petri) foram autoclavados e flambados durante o uso. Como recipientes de

cultivo, foram utilizados frascos e tubos de ensaio cobertos com tampa plástica translúcidas e seladas com filme de PVC. Após a inoculação dos explantes, os tubos ou frascos foram levados para sala de crescimento, com luminosidade em torno de $47\mu\text{mol.m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, temperatura de $27\pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas, onde permaneceram até a época das avaliações.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado para todos os experimentos, sendo os tratamentos comparados através do teste de Scott-Knott para os fatores qualitativos, e por análise de regressão, para fatores quantitativos. As análises estatísticas dos resultados foram realizadas com uso do software SISVAR, de acordo com as características de cada experimento.

Experimento 1: Estiolamento de brotos de abacaxizeiro cv. Perola

Brotações de abacaxizeiro cv. Pérola estabelecidas *in vitro* foram selecionadas e colocadas em meio de cultura MS antes de serem submetidas aos tratamentos. Esta seleção foi feita em função do tamanho, de maneira que, depois de retiradas as folhas, fossem obtidos talos de $\pm 1,0\text{cm}$ de comprimento.

Em condições assépticas, foram retiradas as folhas e raízes dos brotos, e colocadas em tubos de ensaio de $150\times 25\text{mm}$, contendo os meios de cultura, de acordo com os tratamentos.

Os tratamentos consistiram de: meio MS suplementado com $1,8\text{mg.L}^{-1}$ de ANA e $2,0\text{mg.L}^{-1}$ de BAP (1); MS com $0,1\text{mg.L}^{-1}$ de ANA e $0,5\text{mg.L}^{-1}$ de BAP (2) e o meio MS sem reguladores de crescimento (3). O estiolamento foi induzido, colocando-se os talos nos tubos, contendo os referidos meios, no escuro por 20, 40, 80 dias. Os tubos foram levados para sala de crescimento envoltos em papel alumínio para indução do estiolamento.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado com 9 tratamentos em 5 repetições e 3 brotos /repetição, totalizando 135 explantes.

Ao término de cada tempo, os brotos estiolados foram retirados dos tubos para avaliações do número de brotações e comprimento.

Experimento 2: Indução à brotação das gemas de brotos estiolados in vitro de abacaxizeiro cv. Pérola.

Brotações estioladas de abacaxi cv. Pérola foram colocadas em meio MS e levadas ao escuro para promover o estiolamento, segundo o procedimento do experimento anterior. Depois de estiolados, os brotos foram retirados dos tubos e submetidos aos tratamentos para indução de brotação das gemas.

Os brotos estiolados, com ± 12 cm, foram retirados dos tubos e colocados horizontalmente em placas de Petri, contendo meio de cultura, e levadas para sala de crescimento onde permaneceram por 45 dias, quando foram feitas as avaliações.

Os meios de cultura testados foram: MS sem reguladores de crescimento (1), MS suplementado com $1,8\text{mg.L}^{-1}$ de ANA e $2,0\text{mg.L}^{-1}$ de BAP (2), MS suplementado com $0,1\text{mg.L}^{-1}$ de ANA e $0,5\text{mg.L}^{-1}$ de BAP (3). Outro fator testado foi a retirada do ápice, visto que em testes preliminares essa técnica proporcionou maior brotação.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado com 3 repetições e 3 plantas por parcela.

As variáveis analisadas foram: número total de brotações, número de brotações na base, número de brotações no ápice e número de brotações entre o ápice e a base.

Experimento 3 - Efeito da suplementação hormonal do meio MS no crescimento in vitro de mudas de abacaxizeiro cv. Pérola.

Com o objetivo de promover maior desenvolvimento das mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola foi montado o experimento onde se testou os meios: MS (1), MS + $0,1\text{mg.L}^{-1}$ de ANA + $0,5\text{mg.L}^{-1}$ de BAP (2) e MS + $1,8\text{mg.L}^{-1}$ de ANA + $2,0\text{mg.L}^{-1}$ de BAP (3) em diferentes concentrações de ágar: A= 0; B=3,5 e C=7,0g.L⁻¹.

Mudas micropropagadas, de aproximadamente 80mg de matéria fresca, foram colocadas em tubos de ensaio, contendo o meio de cultura e mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 24 a 27°C. Para o meio de cultura sem ágar, foi utilizada ponte de papel de filtro como suporte para os explantes.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 4 repetições e 3 plantas por parcela, em esquema fatorial totalizando 9 tratamentos. As avaliações foram feitas após 45 dias, onde se avaliou: número de brotações, comprimento, número de folhas, peso de matéria fresca e peso de matéria seca totais.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1: Estiolamento de brotos de abacaxizeiro cv. Perola.

Para as duas variáveis analisadas, houve interação significativa entre o tipo de meio utilizado e o tempo de permanência no escuro (Tabela 2.1).

A perda de explantes (8,15%) foi devida a contaminações por fungo e estiolamento das folhas. É importante observar essa perda, porque, para que se obtenha um melhor resultado de estiolamento dos brotos, as folhas devem ser arrancadas uma a uma e não cortadas, pois nesse caso haverá estiolamento dos resíduos de folhas, prejudicando o estiolamento dos talos.

Para a variável número de brotos (Tabela 2.2), os três meios utilizados tiveram comportamento semelhante aos 20 dias no escuro. Aos 40 e 80 dias no escuro, os meios tiveram comportamentos diferentes, sendo que, aos 40 dias o meio 1 foi superior, apresentando um número médio de 10,26 brotações, e aos 80 dias, o meio 2 promoveu uma brotação média de 8,19, sendo superior aos demais. O meio 3 foi inferior, independente do período no escuro, apresentando um máximo de 2,49 brotações.

TABELA 2.1. Resumo da análise de variância para comprimento e número de brotações estioladas *in vitro* de abacaxizeiro cv. Pérola submetidos a condições de escuro. UFLA, Lavras – MG, 2001.

FV	GL	QM e significância	
		Comprimento	Número Brotos
Meios	2	84.136183*	77.279709*
Dias no escuro	2	58.759185*	38.970736*
Meios*Dias escuro	4	41.011185*	34.784136*
Erro	36	0.660372	2.507810
Total	44		
CV (%)		38.66	34.28

TABELA 2.2. Número médio de brotos estiolados de abacaxi cv. Pérola submetidos a condições de escuro. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Tempo (dias)	Meios de cultura		
	1	2	3
20	4,39 a	2,36 a	2,49 a
40	10,26 c	6,33 b	2,29 a
80	3,96 b	8,19 c	1,26 a

Médias seguidas por letras diferentes, na horizontal, diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Observou-se, que os meios de cultura 1 e 2 proporcionaram brotações estioladas menores que 1,0cm de comprimento que podem ser recuperadas em tubos de ensaio, contendo meio MS com ou sem reguladores de crescimento em sala de crescimento a 25°C e fotoperíodo de 16 horas de luz.

Apesar do meio MS suplementado com 1,8mg.L⁻¹ de ANA e 2,0mg.L⁻¹ de BAP ter induzido uma maior brotação, verificou-se uma expressiva presença de calos neste meio. Provavelmente, a concentração da auxina utilizada foi elevada, visto que o ácido indolacético (ANA) é uma auxina que se adicionada

em concentrações acima de alguns décimos de miligrama, tende a formação de calos (Grattapaglia e Machado, 1998). O meio suplementado com $0,1\text{mg.L}^{-1}$ de ANA + $0,5\text{mg.L}^{-1}$ de BAP, apesar de induzir um número menor de brotações, não promoveu a formação de calos.

Quando se utilizou o meio MS suplementado com $1,8\text{mg.L}^{-1}$ de ANA e $2,0\text{mg.L}^{-1}$ de BAP, o número médio máximo de brotações (10,78) foi conseguido aos 49,3 dias e para o meio MS suplementado com $0,1\text{mg.L}^{-1}$ de ANA e $0,5\text{mg.L}^{-1}$ de BAP o número médio máximo de brotos (8,19) foi obtido aos 80 dias no escuro (Figura 2.1). Estes resultados foram superiores aos obtidos por Kiss et al. (1995), mesmo sendo menor a concentração de ANA no meio 2 devido, provavelmente, a adição de BAP nos meios, pois este regulador está diretamente envolvido na indução de brotações.

Para a variável comprimento de brotos estiolados, o meio MS sem fitoreguladores foi significativamente melhor (Tabela 2.3), apresentando um comprimento médio de 10,86cm quando os explantes foram mantidos por 80 dias no escuro (Figura 2.2). Quando mantidos durante 20 dias no escuro, os três meios tiveram estatisticamente o mesmo comportamento.

O comprimento dos brotos estiolados é uma variável importante, pois está diretamente relacionada com o número de nós que serão recuperados em novas brotações, quando colocados em condições de luz. Brotos estiolados de $\pm 12,0\text{cm}$ apresentaram aproximadamente 10 a 12 nós. Para a cv. Smooth cayenne, os brotos estiolados atingiram comprimento de 6 a 10cm, com 6 a 9 nós por broto, depois de mantidos por 30 a 35 dias no escuro (Kiss, 1995).

Para a cv. Perola, o tempo de estiolamento foi maior em relação a cvs. Primavera (Moreira, Pasqual e Anjos Sobrinho, 1997) e Smooth Cayenne (Kiss et al., 1995).

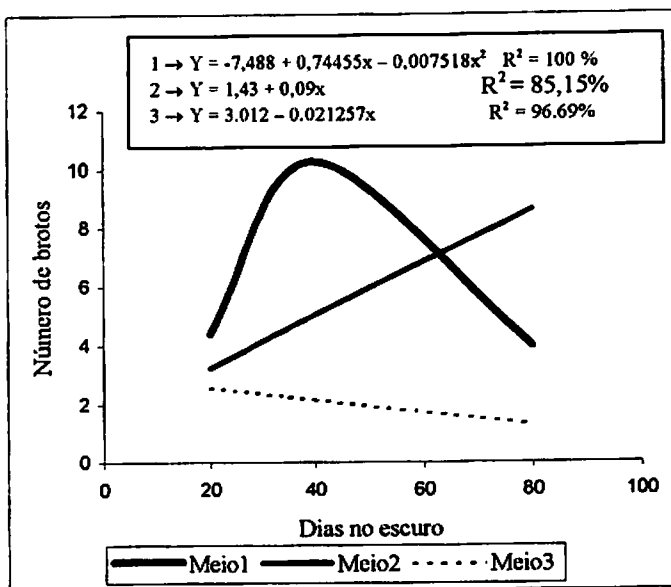


FIGURA 2.1. Número médio de brotações estioladas de abacaxi cv. Pérola em diferentes meios de cultura, em função do tempo no escuro. UFLA, Lavras-MG, 2001.

TABELA 2.3. Comprimento médio de brotos estiolados de abacaxi cv. Pérola submetidos a condições de escuro. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Tempo	Meios de cultura		
	1	2	3
20	0,30 a	0,65 a	1,01 a
40	0,52 a	0,72 a	2,60 b
80	0,84 a	1,36 a	10,86 b

Médias seguidas por letras diferentes, na horizontal, diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

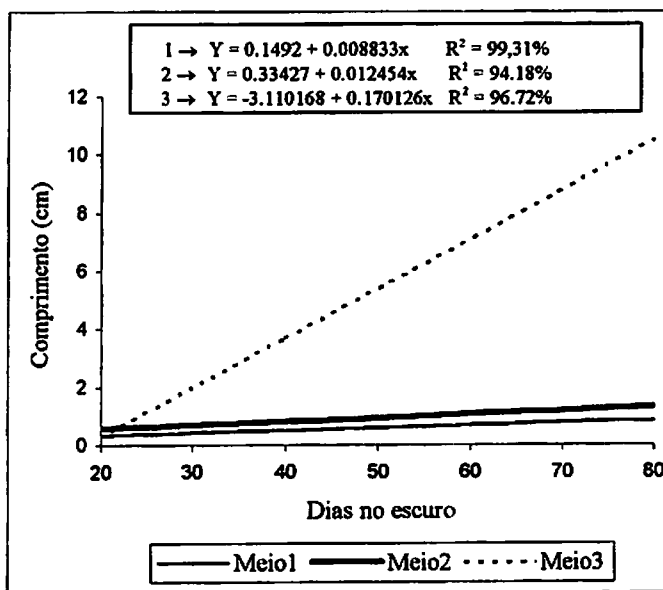


FIGURA 2.2. Comprimento médio de brotos estiolados de abacaxi cv. Pérola em meio MS em função do tempo no escuro. UFLA, Lavras – MG, 2001.

Experimento 2: Indução à brotação das gemas de brotos estiolados *in vitro* de abacaxizeiro cv. Pérola

As variáveis analisadas, número de brotos totais (NBT), número de brotos no ápice (NBA), número de brotos na base (NBB) mostraram interação significativa entre a retirada do ápice e os meios utilizados. Somente para a variável número de brotos entre o ápice e a base (NBAB), a significância foi apenas para a retirada do ápice (Tabela 2.4).

TABELA 2.4. Resumo da análise de variância para número de brotações obtidas de brotos estiolados *in vitro* de abacaxizeiro cv. Pérola. UFLA, Lavras-MG, 2001.

FV	GL	QM e significância			
		NBT	NBA	NBB	NBAB
Meios	2	27,333939*	1,886067*	8,864339*	0,632906
Ápice	1	86,636672*	0,612356	12,201800*	27,676800*
Meios*Ápice	2	20,044539*	4,703089*	5,870117*	0,487350
Erro	12	1,261150	0,177044	0,478267	0,524761
Total	17				
CV		22,43	25,91	32,13	47,21

Para a variável número total de brotos (NBT), os meios apresentaram o mesmo comportamento quando se manteve o ápice. O contrário aconteceu quando se procedeu a retirada do ápice, onde os meios foram significativamente diferentes (Tabela 2.5), evidenciando-se que o fato dos explantes terem sido colocados horizontalmente, não foi suficiente para a quebra da dominância apical. O meio MS suplementado com $1,8\text{mg.L}^{-1}$ de ANA e $2,0\text{mg.L}^{-1}$ de BAP apresentou a maior média de brotações (10,61), porém com calos em todos os nós. A segunda maior média de brotações (8,10) foi obtida com o meio MS suplementado com $0,1\text{mg.L}^{-1}$ de ANA e $0,5\text{mg.L}^{-1}$ de BAP (Figura 2.3).

Para número de brotos no ápice e na base, os meios tiveram o mesmo comportamento quando foi deixado o ápice e foram diferentes, quando foi retirado o ápice (Tabela 2.5), onde os meios 2 e 3 mostraram-se superiores (Figura 2.4 e Figura 2.5).

Para a variável número de brotos entre o ápice e a base, a significância foi apenas para a retirada do ápice onde se obteve uma média de 2,77 brotações com a retirada do ápice, significativamente diferente de 0,29 brotações obtidas entre o ápice e a base quando foi deixado o ápice.

TABELA 2.5. Número de brotações *in vitro* em brotos estiolados de abacaxizeiro cv Pérola, em função da retirada do ápice e do meio de cultura. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Meios	NBT		NBA		NBB		NBAB	
	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
1	2.33 a	2.88 a	1.66 a	0.00 a	0.99 a	0.55 a	0.00 a	2.33 a
2	2.77 a	10.61c	1.22 a	2.44 b	1.33 a	4.82 c	0.22 a	2.66 a
+3	3.33 a	8.10 b	1.00 a	2.55 b	1.66 a	3.55 b	0.66 a	3.33 a

Médias seguidas por letras diferentes, na vertical, diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

O meio MS suplementado com $1,8\text{mg.L}^{-1}$ de ANA e $2,0\text{mg.L}^{-1}$ de BAP mostrou-se mais eficiente para indução de brotações nos brotos estiolados, em número, porém com formação de uma grande massa de calos, observada em quase todos os nós. No meio MS suplementado com $0,1\text{mg.L}^{-1}$ de ANA e $0,5\text{mg.L}^{-1}$ de BAP, as brotações foram menores (em torno de 100mg), sem formação de calos e mais individualizadas, o que facilitou a repicagem.

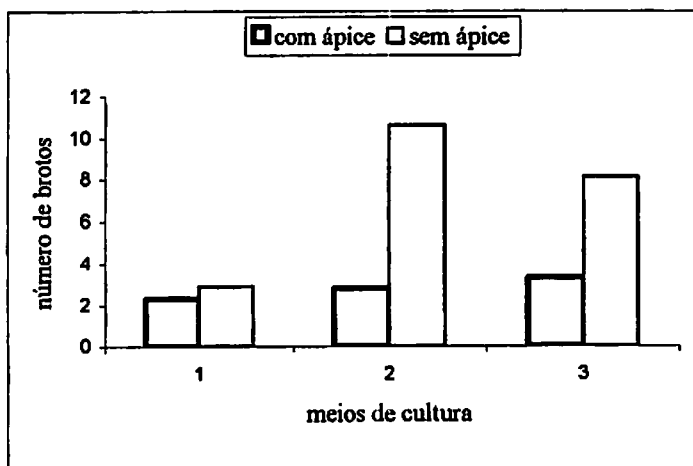


FIGURA 2.3. Número total de brotações em brotos estiolados de abacaxizeiro cv. Pérola. UFLA, Lavras-MG, 2001.

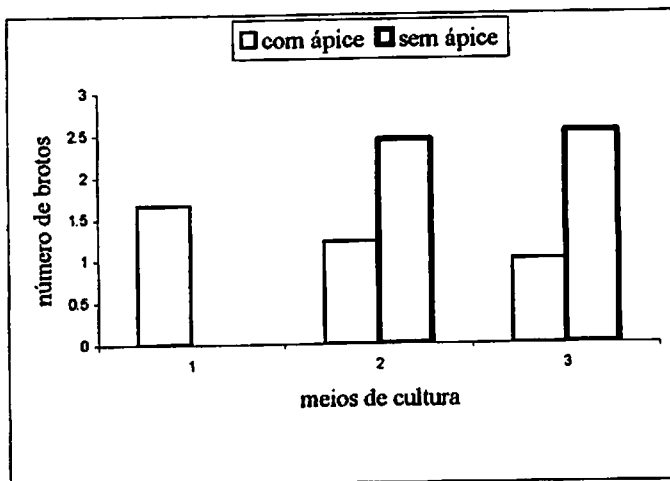


FIGURA 2.4. Número de brotações no ápice em brotos estiolados de abacaxizeiro cv. Pérola. UFLA, Lavras-MG, 2001.

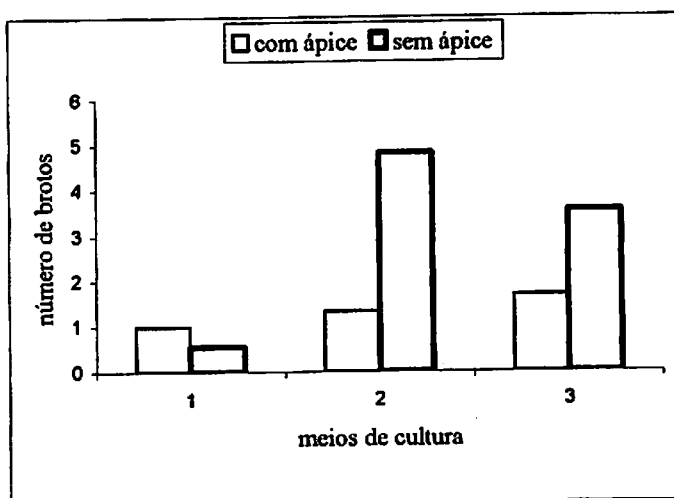


FIGURA 2.5. Número de brotações na base de brotos estiolados de abacaxizeiro cv. Pérola. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Nesse experimento, observou-se a dificuldade de quebrar a dominância apical dos brotos estiolados para que ocorressem brotações entre os nós. Devido a isso, pode-se propor a individualização de cada nó e a colocação em meio MS suplementado com $0,1\text{mg.L}^{-1}$ de ANA e $0,5\text{mg.L}^{-1}$ de BAP, já que foi observada a falta de brotação em alguns nós. Uma outra aplicação da técnica do estiolamento pode ser aplicada em gemas na fase de isolamento, o que poderia compensar a demora das brotações (em torno de 9 meses), e a taxa de contaminação que é muito alta.

Experimento 3: Efeito da suplementação hormonal do meio MS no crescimento *in vitro* de mudas de abacaxizeiro cv. Pérola.

O resumo da análise de variância se encontra na Tabela 2.6 onde se verifica a significância dos fatores estudados para as variáveis analisadas. Para matéria fresca total, número e altura de planta houve interação significativa entre os fatores. Para matéria seca e número de folhas, apenas o meio utilizado apresentou efeito significativo. O comportamento de cada um dos meios utilizados dentro da concentração de ágar está representado na Tabela 2.7

O meio MS sem reguladores de crescimento mostrou-se mais eficiente para se obter melhor desenvolvimento das plantas, onde o máximo de comprimento das plantas foi obtido nesse referido meio (Figura 2.6). É um fator importante, porque as plantas para serem aclimatizadas precisam passar por uma fase de alongamento quando as brotações formadas são muito pequenas, o que ocorre no abacaxizeiro.

Para a variável número de brotos, o melhor meio foi o MS suplementado com $1,8\text{mg.L}^{-1}$ ANA e $2,0\text{mg.L}^{-1}$ de BAP, verificando que o máximo de brotações ocorreu na ausência de ágar (Figura 2.7). Apesar do referido meio promover maior brotação verificou-se a formação de calos, indesejáveis nesta fase, provavelmente devido à concentração de auxina utilizada. Segundo Grattapaglia e Machado (1998), esse regulador em excesso tende a formação de calos. Foi observada, também, a vitrificação das mudas

onde as folhas apresentaram-se coriáceas e quebradiças, fato comum aliado ao uso de meios líquidos (Debergh, Harbaqui e Lemeur, 1981), mas nesse trabalho apenas o meio MS suplementado com 1,8mg.L⁻¹ ANA e 2,0mg.L⁻¹ de BAP apresentou vitrificação e calos. Os meios, MS com suplementação de 0,1mg.L⁻¹ de ANA e 0,5mg.L⁻¹ de BAP e MS sem reguladores de crescimento, apesar de apresentarem menor brotação, não apresentaram formação de calos e vitrificação em nenhuma concentração de ágar.

TABELA 2.6. Resumo da análise de variância para altura de planta (AP), número de brotos (NB), número de folhas (NF), matéria fresca (MF) e seca (MS) de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola em função do meio de cultura e concentração de ágar utilizados. UFLA, Lavras-MG, 2001.

FV	GL	QM e significância				
		AP	NB	NF	MF	MS
Meio	2	18,515186*	9,179269*	16,725625*	111153,491*	312,017569*
Ágar	2	0,810086*	6,954419*	0,331825	31158,3669	56,689053
Meio*ágar	4	0,575315*	2,804607*	0,773613	55834,8986*	188,628803
Erro	27	0,142779	0,082638	1,239012	11380,00361	73,556947
Total	35					
CV			14,19	10,98	33,26	33,90

TABELA 2.7. Peso de matéria fresca (MF), comprimento (CB) e número de brotações (NB) obtidas *in vitro* de abacaxizeiro cv. Pérola. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Meio	MF(mg)			CB (cm)			NB		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
1	293.20 a	570.05 b	219.95 a	4.58 b	4.54 c	3.38 b	1.0 a	1.08 a	1.0 a
2	220.20 a	206.45 a	205.90 a	2.23 a	2.38 b	2.20 a	2.74 b	1.66 b	1.49 b
3	374.15 a	361.45 a	434.97 b	1.97 a	1.72 a	1.78 a	4.66 c	1.74 b	1.91 b

Médias seguidas por letras diferentes, na vertical, diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

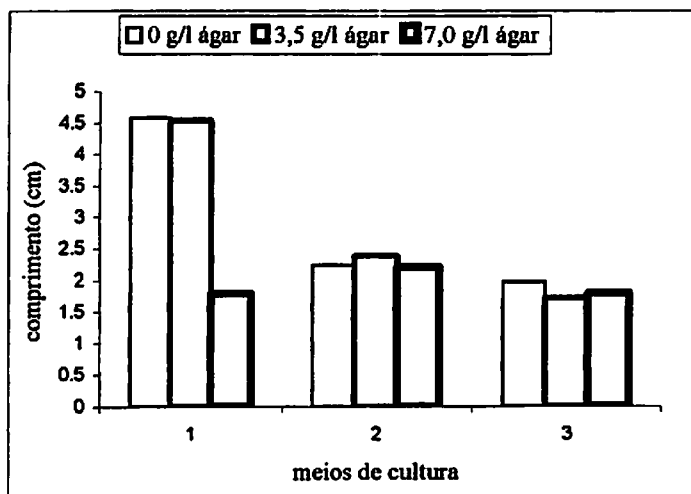


FIGURA 2.6. Comprimento das brotações obtidas *in vitro* de abacaxizeiro cv Pérola em função do meio de cultura e concentração de ágar. UFLA, Lavras-MG, 2001.

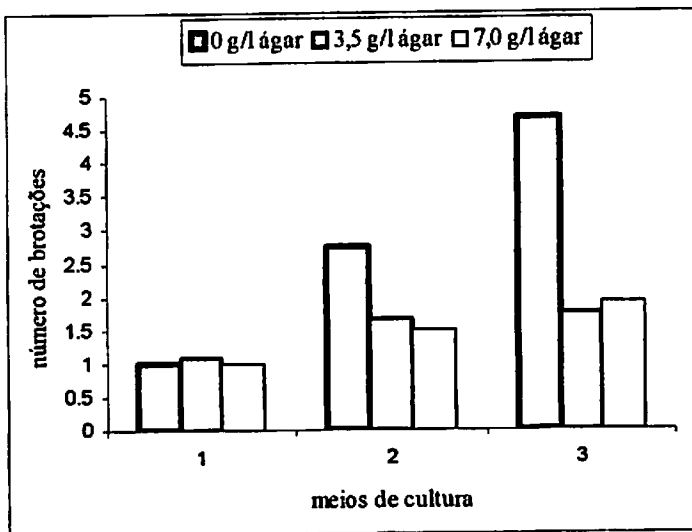


FIGURA 2.7. Número médio de brotações obtidas *in vitro* de abacaxizeiro cv Pérola em função do meio de cultura e concentração de ágar. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Para peso de matéria fresca, o uso do meio MS, solidificado com $3,5\text{g.L}^{-1}$ de ágar foi superior aos demais (Figura 2.8), evidenciando a dispensa de reguladores de crescimento na fase de alongamento. Os meios semi-sólido e líquido não apresentaram vitrificação, podendo ser utilizados, seguindo a tendência geral do uso de meios líquidos, sem agitação, pela redução do custo e maior agilidade na preparação do meio.

Para as variáveis peso de matéria seca (Figura 2.9) e número de folhas (Figura 2.10), apenas o meio de cultura utilizado foi significativo, obtendo-se os melhores resultados com meio MS sem reguladores.

Pelos resultados obtidos para produção de mudas micropropagadas de abacaxizeiro, é importante observar as fases e o objetivo a que se propõe. Para a fase de multiplicação, é necessário que o meio MS seja suplementado por reguladores de crescimento, em concentrações que permitam a multiplicação

sem a formação de calos. Para a cv. Pérola, o meio suplementado com $0,5\text{mgL}^{-1}$ de BAP e $0,1\text{mg.L}^{-1}$ de ANA atendeu a esses objetivos. Para a fase de alongamento, ou seja, quando as mudas estão sendo preparadas para a aclimatização, o uso de reguladores é dispensável.

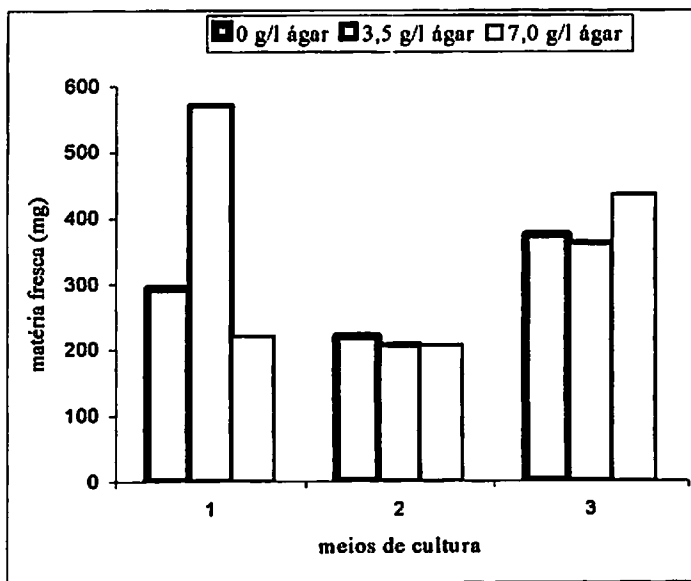


FIGURA 2.8. Peso de matéria fresca de brotações obtidas *in vitro* de abacaxizeiro cv Pérola em função do meio de cultura e concentração de ágar. UFLA, Lavras-MG, 2001.

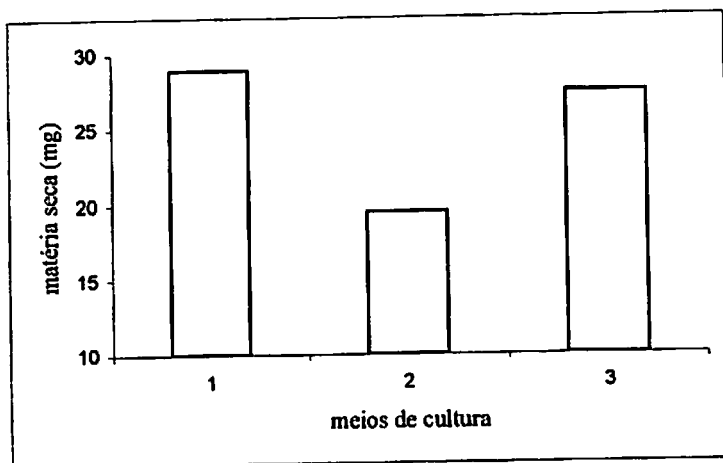


FIGURA 2.9. Peso de matéria seca de brotações de abacaxizeiro cv Pérola em função do meio de cultura e concentração de ágar. UFLA, Lavras-MG, 2001.

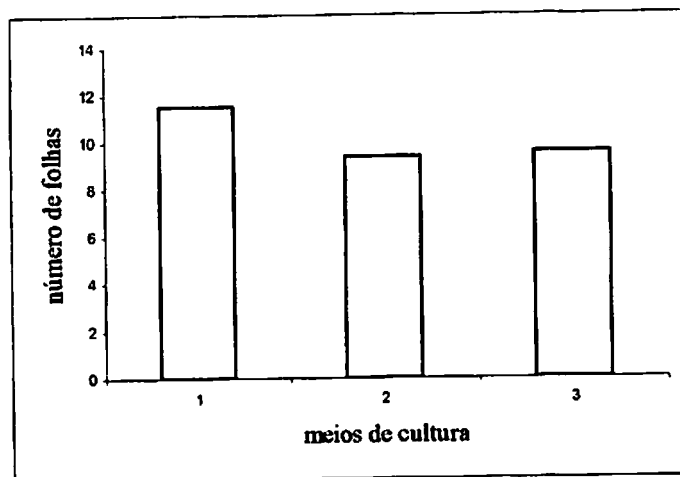


FIGURA 2.10. Número de folhas de brotações de abacaxizeiro cv Pérola em função do meio de cultura e concentração de ágar. UFLA, Lavras-MG, 2001.

5 CONCLUSÕES

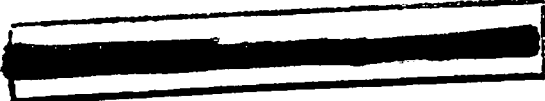
- Para o estiolamento das brotações, o meio de cultura MS suplementado com $1,8\text{mg.L}^{-1}$ de ANA e $2,0\text{mg.L}^{-1}$ de BAP proporcionou maior taxa de multiplicação. Para a variável comprimento de brotos estiolados, o meio MS sem reguladores de crescimento, proporcionou maior comprimento das brotações quando os explantes ficaram por 80 dias no escuro.

- Para a brotação dos segmentos estiolados, o meio MS suplementado com $1,8\text{mg.L}^{-1}$ de ANA e $2,0\text{mg.L}^{-1}$ de BAP promoveu maior brotação quando foi retirado o ápice dos brotos estiolados.

- Para o desenvolvimento das mudas micropropagadas, o meio MS sem reguladores, promoveu maior comprimento, maior número de folhas e maior peso de matéria seca e fresca.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGHION, D.; BEAUCHESNE, G. Utilisation de la technique de culture stérile d'organes pour obtenir des clones d'ananas. *Fruits*, Paris, v.15, n.5, p.464-466, Sept./Oct. 1960.
- ALTMAN, A.; GOREN, R. Horticultural and physiological aspects of *Citrus* bud culture. *Acta horticultrae*, n.78, p.51-60, 1977.
- BIASI, L.A. Emprego do estiolamento na propagação de plantas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.26, n.2, p.309-314, maio/ago. 1996.
- CABRAL, J.R.S.; CUNHA, G.A.P.; RODRIGUES, E.M. Micropropagação do abacaxizeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 5., 1983, Florianópolis. Anais... Florianópolis: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1984. v.5, p.124-127.
- DEBERGH, P.C.; HARBAOUI, Y.; LEMEUR, R. Mass propagation of globe artichoke (*Cynara scolymus*): evaluation of different hypothesis to overcome vitrification, with special reference to wather potential. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.53, p.181-187, 1981.
- DeWALD, M.G.; MOORE, G.A.; SHERMAN, W.B.; EVANS, M.H. Production of pineapple plants *in vitro*. *Plant Cell Reporter*, Berlin, v.7, n.7, p.535-538, Mar. 1988.
- DREW, R.A. Pineapple tissue culture unequaled for rapid multiplication. *Queesland Agricultural Journal*, Brisbane, v.106, n.5, p.447-451, Sept./Oct. 1980.
- ECONOMOU, A.S.; READ, P.E. Light treatments to improve efficiency of *in vitro* propagation systems. *HortScience*, Alexandria, v.22, n.5, p.751-754, Oct. 1987.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: EMBRAPA-SPI / EMBRAPA-CNPQ, 1998. p.183-260.
- HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E. *Propagation de plantas – principios y practicas*. México, D. C.: Continental, 1990. 760p.
- KAWASE, M. Etiolation and rooting in cuttings. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.18, p.1066-1076, 1965.



KISS, E.; KISS, J.; GYULAI, G.; HESZKY, L.E. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. *HortScience*, Alexandria, v.30, n.1, p.127-129, Feb. 1995.

\ MAYNARD, B.K.; BASSUK, N.L. Effects of stock plant etiolation, shading, banding, and shoot development on histology and cutting propagation of *Carpinus betulus* L. *fastigiata*. *Journal of American society for Horticultural Science*, Alexandria, v.121, n.5, p.853-860, Sept. 1996.

\ MAYNARD, B.K.; BASSUK, N.L. Etiolation and banding effects on adventitious root formation. In: DAVIS, T.R. *Adventitious root formation in cuttings*. Portland, 1988. v.2, p.29-46.

MATHEWS, V.H.; RANGAN, T.S. Growth and regeneration of plantlets in callus cultures of pineapple. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v.14, p.227-234, 1981.

MATHEWS, V.H.; RANGAN, T.S. Multiple plantlets in lateral bud and leaf explant *in vitro* culture of pineapple. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v.11, n.4, p.519-528, 1979.

MOORE, G.A.; DeWALD, M.G. e EVANS, M.H. Micropropagation of pineapple (*Ananas comosus* L.). In: BAJAJ, Y.P.S. (ed.). *High-Tech and micropropagation II*. New York: Springer-Verlag, 1992. p.461-470. (Biotechnology in Agriculture and Forestry, 18)

MOREIRA, M.A.; ANJOS SOBRINHO, A. dos.; SILVA, A.B. da.; PASQUAL, M. Indução ao estiolamento *in vitro* de abacaxi cv. Primavera. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 6., 1997, Belém. *Resumos...* Belém: Sociedade Brasileira de Fisiologia vegetal, 1997. p.415.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised media for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiology Plantarum*, Copenhagen, v.15, n.3, p.473-497, 1962.

PANNETIER, C.; LANAUD, C. Divers aspects de l'utilisation possible des cultures *in vitro* pour la multiplication végétative de l'*Ananas comosus* L. Merr. variété 'Cayenne lisse'. *Fruits*, Paris, v.31, n.12, p.739-750, Dec. 1976.

PESCADOR, R.; KOLLER, O.C. Propagação *in vitro* do abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merrill) cv. Pérola. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Cruz das Almas, v.14, n.2, p.1-4, 1992.

PY, C.; TISSEAU, M.A. *L'ananas*. Maisonneuve e Larose, Paris, 1965. 298p.

SITA, L.G.; SINGH, R.; IYER, C.P. A. Plantlets through shoot-tip culture in pineapple. **Current Science**, Bombay, v.43, n.22, p.724-725, Nov. 1974.

TEO, C. Clonal propagation of pineapple (*Ananas comosus*) by tissue culture. **Planter**, Kuala Lumpur, v.50, p.58-59, Aug. 1974.

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

CAPÍTULO 3

ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS MICROPROPAGADAS DE ABACAXIZEIRO cv. PÉROLA

Resumo: Nesse trabalho foram estudados os efeitos de substratos e adubação em mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola em fase de aclimatização. Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação utilizando mudas de aproximadamente 2g. No primeiro experimento foram testadas proporções de substratos com terra, esterco bovino, plantmax e composto orgânico. As avaliações foram feitas 90 dias após o plantio, o que permitiu concluir que a matéria orgânica tem efeito significativo no desenvolvimento das mudas, e o substrato contendo terra (40%), esterco (30%) e plantmax (30%) forneceu os melhores resultados para o desenvolvimento das raízes e parte aérea. Neste experimento o peso máximo de matéria fresca foi de 13,78g. No segundo experimento foram testados épocas e níveis de adubação (0, 25, 50 e 100% da adubação recomendada para vaso, constituída de 300mg de N, 200mg de P e 200mg de K por quilo de substrato). A adubação foi feita no plantio e 45 dias após o plantio, quando as mudas já estavam aclimatizadas. As avaliações foram feitas 90 dias após o plantio. O máximo de rendimento para altura de planta (23,18cm), peso de matéria fresca (24,57g) e peso de matéria seca (2102,4mg) da parte aérea foi conseguido com 100% da adubação recomendada utilizada no plantio. Para as variáveis analisadas de raiz, as plantas adubadas aos 45 dias apresentaram maior comprimento e maior peso de matéria fresca, sem significância para peso de matéria seca.

Palavras chaves: substrato, nutrição mineral, abacaxi, cultura de tecidos.

ACCLIMATIZATION OF MICROPROPAGATED PLANTLETS OF PINEAPPLE cv. PEROLA

Abstract: In this work the effects of substrata and manuring in micropropagated plantlets of pineapple cv. Perola in acclimatization phase, were studied. Two experiments were accomplished in greenhouse using plantlets of approximately 2g. In the first experiment proportions of substrate were tested with soil, bovine manure, plantmax and organic compost. The evaluations were made 90 days after the planting and it allowed to conclude that the organic matter has significant effect in the development plantlets and the substrate, containing soil (40%), manure (30%) and plantmax (30%) supplied best results for roots and aerial part development. In this experiment the maximum weight of fresh matter of 13,78g. In the second experiment time and manuring levels (0, 25, 50 e 100% of the manuring recommended for vase, constituted of 300mg of N, 200mg of P and 200mg of K for kilo of substratum) were tested. The manuring was made in the planting and 45 days after the planting, when the plantlets were already acclimatized. The evaluations were made 90 days after the planting. The maximum of efficiency for plant height (23,18cm), fresh matter weight (24,57g) and dry matter weight (2102,4mg) of the aerial part was gotten with 100% of the recommended manuring, used in the planting. For the analyzed variables of root, the plants fertilized on the 45 days presented higher length, weight of fresh matter without significance for dry matter weight.

Key words: substrate, mineral nutrition, pineapple, tissue culture.

1 INTRODUÇÃO

A fase de aclimatização das plantas micropropagadas consiste em retirar a planta da condição *in vitro* e transferi-la para casa de vegetação, com o objetivo de superar as dificuldades que as plantas enfrentam quando ocorre a mudança de ambiente. Isso pode se tornar um fator limitante na cultura de tecidos, devido à perda de vigor e a morte das plantas causadas pelo dessecação que ocorre em plantas que são transferidas, das condições *in vitro*, para casa de vegetação. Além da perda excessiva de água, a mudança do metabolismo heterotrófico para autotrófico é outro fator envolvido que deve ser considerado.

As mudas provenientes do cultivo *in vitro* são pequenas (menos de 5cm) quando transplantadas, necessitando aumentar o seu tamanho para serem utilizadas. Além disso, as raízes formadas *in vitro* não são funcionais quando transplantadas, e por causa disso, novas raízes precisam se desenvolver e se tornarem aptas para absorver água do solo. A fase de aclimatização é necessária para que a planta se adapte à nova condição de ambiente e se desenvolva antes de ser levada a campo.

A utilização de mudas de boa qualidade é, sem dúvida, um importante fator de sucesso na implantação de pomares. Dentre os fatores que interferem nas características da muda, está a fertilidade do substrato, envolvendo características como nutrientes, água, aeração, reação do solo, microorganismos, textura e temperatura que, num estado ótimo, conferem a fertilidade desejável. A escolha de um substrato adequado é uma das técnicas estudadas no sentido de não se perder plantas na fase de aclimatização.

A adubação é outro fator envolvido diretamente no desenvolvimento das mudas. Mesmo sendo semelhantes os princípios que regem a nutrição e adubação de mudas e de plantas adultas, algumas particularidades na prática de adubação de mudas devem ser consideradas, como o volume do substrato disponível e o tempo de permanência da muda no recipiente. As recomendações de adubação para propagação do abacaxizeiro referem-se à adubação para canteiros para produção de mudas oriundas de seccionamento de talo.

O primeiro objetivo deste trabalho foi determinar uma combinação de substratos para aclimatização e o segundo objetivo foi determinar níveis e época de adubação para mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aclimatização de mudas micropropagadas

A fase de aclimatização de plantas micropropagadas consiste em retirar a planta da condição *in vitro* e transferi-la para a casa de vegetação, com o objetivo de superar as dificuldades enfrentadas quando ocorre a mudança de ambiente, podendo-se tornar um fator limitante na cultura de tecidos. O sucesso desta técnica requer que as plantas que se desenvolveram heterotroficamente, sob condições de alta umidade, posteriormente se desenvolvam autotroficamente em condições de moderada ou baixa umidade (Zimmerman, 1988). Diante desses fatores é necessário que as plantas micropropagadas passem por um período de aclimatização antes de serem transferidas para condições de campo.

Para muitas espécies, a aclimatização é considerada uma fase crítica da micropropagação, sendo um dos maiores obstáculos à aplicação prática dos métodos de cultura de tecidos na propagação de plantas devido à grande diferença entre as duas condições ambientais (Read e Fellman, 1985). A perda de vigor e a subsequente morte devida ao dessecação são dois sérios problemas que ocorrem com plantas que são transferidas das condições *in vitro* para a casa de vegetação (Sutter e Hutzell, 1984).

A perda de água é maior em mudas produzidas *in vitro* do que em mudas já aclimatizadas devido à pequena quantidade de cera epicuticular e ao lento mecanismo de fechamento e abertura dos estômatos. A quantidade de cera epicuticular encontrada em plantas sob condições *in vitro* chega a ser 25% do total encontrado em plantas sob casa de vegetação, embora a presença de cera epicuticular não seja um indicativo suficiente da sobrevivência das plantas na

aclimatização (Sutter, 1988 e Preece e Sutter, 1991). Esses autores afirmam que a alta umidade no interior dos frascos é um dos principais fatores que provocam alterações significativas na estrutura e funcionamento dos tecidos, levando à incapacidade das mudas em controlar as perdas de água. A redução da umidade relativa aumenta a capacidade de resposta dos estômatos, a deposição de ceras epicuticulares e reduz o murchamento após a transferência para o solo.

A baixa sobrevivência de determinadas espécies não se deve apenas a perda excessiva de água. Segundo Marin e Gella (1988), a mudança do metabolismo heterotrófico para autotrófico é outro fator envolvido que deve ser considerado. Segundo Serret et al. (1996) citados por Hoffmann (1999), explantes ou plantas *in vitro* apresentam fotossíntese modificada devido a fatores como: baixa irradiância, altos níveis de sacarose e baixo teor de CO₂ disponível que podem afetar a taxa de sobrevivência 'ex vitro'. Entretanto, fornecendo condições físicas (luz e CO₂ principalmente), as plantas podem desenvolver o metabolismo autotrófico (Kozai, Koyama e Watanabe, 1988).

Há vários métodos que podem ser empregados para aclimatização de mudas micropropagadas, os quais podem ser agrupados em três classes: a) métodos que aproximam as condições *in vitro* das condições naturais; b) métodos que aproximam as condições naturais daquelas *in vitro* e c) métodos que favorecem o crescimento das mudas após a aclimatização.

Na primeira classe, incluem-se técnicas como redução da umidade relativa do ar dentro do recipiente de cultura (Wardle, Dobbs e Short, 1983), uso de substratos alternativos ao ágar (vermiculita, areia ou substratos comerciais), de modo a proporcionar raízes mais ramificadas e de melhor qualidade para tolerar a aclimatização (Leite, 1995). O favorecimento de trocas gasosas através do selamento permeável dos recipientes (Serret et al. 1997, citados por Hoffmann, 1999), o aumento de CO₂ associado ao aumento de intensidade luminosa e a redução de sacarose, são outras técnicas incluídas nessa classe (Serret et al., 1996 citados por Hoffmann, 1999; Fujiwara, Kozai e Watanabe, 1988).

A segunda classe inclui o uso de ambientes com elevada umidade relativa do ar (acima de 90%) que favorece a aclimatização, sendo necessária, entretanto, a redução gradativa da mesma após o período crítico inicial (Marin e Gella, 1988; Corsato, 1993). O sombreamento do local onde as plantas estão sendo aclimatizadas e a manutenção da sanidade do local e das mudas são técnicas simples incluídas nessa classe.

Nos métodos que favorecem o crescimento das mudas, após a aclimatização, estão incluídas técnicas como: enraizamento 'ex vitro' ou 'in vivo' (Pasqual e Lopes, 1991; Biasi, 1996), a escolha do substrato adequado (Normah, Nor-Azza e Alliudin, 1995), o uso de micorrizas (Corsato, 1993) e o uso de inoculantes de bactérias fixadoras de nitrogênio, no caso de leguminosas.

Segundo Howard (1987), as mudas provenientes do cultivo *in vitro* são de pequeno tamanho (menos de 5cm) quando transplantadas, de modo que necessitam aumentar, entre 10 a 20 vezes, o seu tamanho para serem utilizadas. Além disso, as raízes formadas *in vitro* não são funcionais quando transplantadas e por causa disso novas raízes têm que se desenvolver e se tornarem aptas para absorver água do solo (Cailloux, 1984). Isto é especialmente importante quando a micropropagação é apenas o primeiro estágio da produção do porta-enxerto ou da planta.

2.2 Substratos

A utilização de mudas de boa qualidade é, sem dúvida, um importante fator de sucesso na implantação de pomares. A qualidade da muda de frutíferas é definida pelas suas condições internas e características externas, sendo que as primeiras estão ligadas às características genéticas, pouco se alterando com as condições do meio ambiente e/ou tratamentos aplicados, enquanto que as características externas podem sofrer influência significativa do meio e dos tratamentos que lhe são aplicados. Dentre os fatores que interferem nas características da muda, está a fertilidade do substrato, envolvendo

características como nutrientes, água, aeração, reação do solo, microorganismos, textura e temperatura que, num estado ótimo, conferem a fertilidade desejável (Souza, 1983).

A escolha de um substrato adequado é uma das técnicas estudadas no sentido de não se perder plantas na fase de aclimatização. O substrato é um fator importante e os mais utilizados são a vermiculita, perlita, areia, turfa, casca de eucalipto ou *Pinus* curtida, palha de arroz carbonizada e pó de carvão, cujas proporções variam conforme a espécie. É comum adicionar fertilizante granulado ao substrato para suprir as necessidades iniciais da cultura, e dependendo do tempo necessário para completar o crescimento, podem ser feitas adubações com soluções nutritivas em cobertura, via irrigação ou por aplicações foliares (Grattapaglia e Machado, 1990).

Na opção por um determinado material como substrato, objetiva-se otimizar as condições ambientais para o desenvolvimento da planta em uma ou mais etapas da propagação. Se utilizado um material adequado e as demais condições também forem satisfeitas, o desenvolvimento da muda será satisfatório, tendo-se como resultado a obtenção de uma planta com capacidade de expressar futuramente o potencial produtivo da cultivar. Por outro lado, o uso de materiais inadequados, além da sua ineficiência nos métodos de propagação, originará plantas com problemas de desenvolvimento e com reflexos negativos sobre a futura produção.

Em linha geral, um bom substrato é aquele que: a) é firme e denso o suficiente para manter a estrutura de propagação em condições até a germinação ou enraizamento; b) não encolhe ou expande com a variação da umidade; c) retém água em quantidade suficiente; d) é suficientemente poroso para permitir a drenagem da água e a aeração; e) está livre de invasoras, nematóides ou outros patógenos; f) não apresenta um nível excessivo de salinidade e g) permite a esterilização por vapor (Hoffmann et al. 1996).

Alguns autores sugerem métodos para calcular a proporção dos componentes a fim de se obter um substrato adequado ao crescimento das plantas. No entanto é muito difícil propor um método seguro, principalmente

em função de não se empregar a mesma metodologia para análises dos materiais orgânicos, que inclusive podem sofrer alterações durante a estocagem (Rac, 1985, citado por Sousa, 1994).

Os materiais orgânicos podem ser utilizados como componentes de substratos. Dois aspectos devem ser considerados no seu emprego: a) podem causar excesso ou deficiência de nutrientes devido a não quantificação precisa dos nutrientes existentes na matéria orgânica; b) deve-se dar preferência a materiais orgânicos bem curtidos, não sendo aconselhável o uso de resíduos em fermentação ou com elevada relação C/N (Hoffmann et al., 1996).

O húmus ou a matéria orgânica do solo não é apenas uma fonte de nutrientes. Talvez, tão ou mais importantes, sejam as notáveis propriedades de natureza coloidal decorrentes de sua estrutura orgânica complexa, aliada a uma fina subdivisão de partículas (Raij, 1991).

Como colóide orgânico tem a habilidade de adsorver cátions existentes na solução do solo, podendo depois transferi-los às raízes ou efetuar trocas, caso ocorra uma concentração de íons diferentes ou uma variação de pH. Apresenta uma elevada capacidade de troca de cátions, com uma média de 300meq/100g, 30 vezes maior que a da caulinita mineral de argila que predomina nos solos brasileiros (Kiehl, 1985), elevando também a capacidade de troca de cátions notadamente nos solos altamente intemperizados ou arenosos (Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1989).

Também corrige a toxidez, pela propriedade que possui em fixar, complexar ou quelar certos elementos encontrados em quantidades acima do normal (Kiehl, 1985).

A matéria orgânica corrige ainda a falta ou excesso de aeração e drenagem através da agregação e estruturação de solos arenosos e argilosos (Kiehl, 1985). Em solos pobres e com drenagem deficiente, raízes de bananeira apresentam-se delgadas, curtas, em pequeno número e desprovidas de radículas (Moreira, 1987).

Deve-se ressaltar também, a melhoria da friabilidade de esboroamento (Kiehl, 1985). Composições à base de terra, areia grossa lavada, casca de arroz

carbonizada e esterco de galinha permitem a obtenção de mudas vigorosas, sem esboroamento do torrão o que facilita o transporte e plantio no campo, com possibilidades de altos índices de pegamento e crescimento inicial superior em campo (Sousa, 1994).

Portanto, são vários os processos pelos quais a adição de matéria orgânica modificam o solo e baseando-se nos inúmeros benefícios da matéria orgânica ao solo e, conseqüentemente, à planta, é que são desenvolvidos trabalhos relativos à composição de substratos para produção de mudas.

Sousa (1994) encontrou aumento em várias características de mudas de bananeira obtidas por cultura de meristema, quando utilizou 45% de esterco de galinha em relação à não utilização do esterco na composição de substratos. O esterco curtido de gado adicionado ao substrato proporcionou maior crescimento de mudas de mamoeiro (Muller, Reis e Muller, 1979). Para formação de mudas de maracujazeiro, tem-se resultados superiores ao acrescentar doses de 100, 200 e 300l de esterco de curral por m³ de solo (Peixoto, 1986).

Os estercos de galinha são os mais ricos em nutrientes que os de outros animais domésticos, pois contém menor umidade que os demais, dejeções sólidas e líquidas misturadas e geralmente são provenientes de aves criadas com rações concentradas (Kiehl, 1985). No entanto, os materiais são escolhidos em função de sua disponibilidade e propriedades físicas (Souza, 1983).

Para mudas micropropagadas de abacaxizeiro, testes com mistura de substratos têm comportamento semelhante quanto ao índice de sobrevivência das plantas, sendo que uma mistura de solo/xaxim/turfa e solo/xaxim/areia/húmus proporcionam maior crescimento das plantas sem afetar o índice de sobrevivência (Fauth et al., 1994). Este índice pode chegar próximo a 100% para plantas maiores que 3,0cm, sendo que plantas menores podem alcançar o mesmo nível de crescimento depois de 2 meses (Moore, DeWald e Evans, 1992).

2.3 Adubação

O nitrogênio e o fósforo são os nutrientes que mais frequentemente proporcionam respostas positivas no crescimento das plantas e também das mudas frutíferas, não significando, porém, que estes nutrientes tenham maior importância que os demais, mas sim, que são exigidos em elevadas quantidades. Assim como é preconizado na adubação de qualquer planta, também na produção de mudas, objetiva-se alcançar um estado nutricional equilibrado, com reflexos positivos no crescimento da muda e na sua qualidade final.

Mesmo sendo semelhantes os princípios que regem a nutrição e adubação de mudas e de plantas adultas, algumas particularidades na prática de adubação de mudas devem ser consideradas como: a) competição por nutrientes no caso de sementeiras, devido a alta densidade de plantas; b) o sistema radicular das mudas em fase inicial é pouco desenvolvido, com pequeno volume de solo explorado, recomendando-se uma boa distribuição dos nutrientes no substrato; c) a previsão do tempo de permanência da muda no recipiente, já que este permite um volume de solo muito restrito; d) o desequilíbrio nutricional, principalmente no caso de adubação nitrogenada; e) a alta sensibilidade às concentrações elevadas de nutrientes, no caso de adubações foliares (Hoffmann et al., 1996).

Devido a necessidade da fase de aclimatização das mudas micropropagadas, é importante determinar a época de resposta à adubação para evitar perdas e também determinar os níveis de adubação.

A deficiência de nutrientes pode ocorrer, podendo ser observados sintomas na raiz e na parte aérea, e também aumento na relação de matéria seca de raiz/parte aérea (Marschener, 1995). A deficiência nutricional pode afetar o crescimento, morfologia e distribuição do sistema radicular no substrato. Este efeito é típico, quando ocorre deficiência principalmente de nitrogênio, menos para o fósforo e normalmente ausente com outros nutrientes, exceto o magnésio. Um aumento no fornecimento de nitrogênio aumenta o desenvolvimento de raízes e parte aérea, sendo maior o desenvolvimento da

parte aérea, causando com isso uma típica queda na relação matéria seca de raiz/parte aérea (Marschener et al., 1986 citados por Marschener, 1995).

Para a adubação de solo em recipientes para produção de mudas deve-se considerar o volume do substrato disponível e o tempo de permanência da muda no recipiente. Hartmann, Kester e Davies Jr (1990) sugerem que se aplique um fertilizante de liberação lenta com um fertilizante líquido aplicado periodicamente.

Para ensaios em casa de vegetação, pode-se fornecer os nutrientes nas seguintes doses (ppm): N-300, P-200, K-150, Ca-75, Mg-15, S-50, B-0,5, Cu-1,5, Fe-5, Mo-0,1 e Zn-5, sendo dispensada a calagem quando o pH estiver entre 6,0 e 6,5 (Malavolta, 1980).

Os aspectos nutricionais de plantas adultas de abacaxizeiro como exigências, época de aplicação e fontes de adubo foram citados no capítulo 1. As recomendações para mudas de abacaxizeiro são escassas, visto que a propagação é feita por mudas retiradas da planta-mãe e plantadas diretamente no campo.

A recomendação de adubação para propagação do abacaxizeiro refere-se à produção de mudas oriundas de seccionamento de talo, onde é recomendado o uso de 100g de superfosfato simples/m² de canteiro, seguida de 4 adubações com uréia após o início da formação de raízes (Chalfoun, 1983). Outra recomendação indica a aplicação de uréia e sulfato de potássio (ambos na dosagem de 10g/m² de canteiro) quando as plantas atingirem 5cm de altura, cerca de 6 a 8 semanas após plantio, podendo esta aplicação ser repetida caso constate-se a necessidade (ITAL, 1987). Reinhardt (1982) indica a utilização de 20g/m² de superfosfato triplo aos 7-14 dias antes do plantio, seguida de aplicações foliares de nitrogênio (uréia a 0,1%) e potássio (sulfato de potássio a 0,5%). A aplicação de adubos em cobertura com nitrogênio e potássio pode proporcionar maior eficiência se for realizada após o enraizamento inicial.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Com a finalidade de determinar o substrato adequado para aclimatização das mudas, foram testadas algumas combinações de substrato. Paralelamente foi feito outro experimento para verificar a resposta à adubação de mudas micropropagadas, com o objetivo de determinar época e dosagem de adubação NPK.

Os experimentos foram realizados em casa de vegetação, dotada de sistema de nebulização intermitente, com controle de umidade e ventilação. A temperatura no interior da casa de vegetação oscilou entre 26 a 31°C. Os recipientes utilizados estão descritos em cada experimento e foram mantidos sobre bancadas de tela.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado para todos os experimentos, sendo os tratamentos comparados através do teste de Scott-Knott para os fatores qualitativos, e por análise de regressão, para fatores quantitativos. As análises estatísticas dos resultados foram realizadas com uso do software SISVAR, de acordo com as características de cada experimento.

Experimento 1: Efeito de substratos na aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola.

Foram utilizadas mudas micropropagadas de abacaxizeiro Pérola, que se encontravam em frascos contendo meio MS.

As mudas foram selecionadas por peso (em torno de 2,0g), lavadas para retirar o excesso de meio de cultura nas raízes, levadas para casa de vegetação e plantadas em bandeja de isopor, com 72 células de 120cm³, contendo os substratos de acordo com os tratamentos.

Cada substrato teve na sua composição básica, diferentes proporções de solo de subsuperfície, esterco bovino, plantmax e composto orgânico (produzido no departamento de fitotecnia da UFLA). Na Tabela 3.1 estão

representadas as proporções dos componentes utilizadas e na Tabela 3.2 estão apresentados os resultados da análise química do solo.

O solo utilizado foi misturado com areia na proporção de 2:1, depois de ser peneirado para eliminar torrões e outras impurezas, constituindo a mistura padrão para todas as misturas onde se utilizou solo.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com 11 tratamentos, 4 repetições e 3 plantas por parcela (12 plantas por tratamento), totalizando 132 plantas.

As avaliações foram feitas 90 dias após o plantio das mudas, quantificando-se as seguintes variáveis:

- altura da planta: distância, em cm, entre o colo da planta e extremidade da folha de maior comprimento.

- comprimento de raiz: distância, em cm, do colo da planta até a extremidade da raiz de maior comprimento.

- peso de matéria fresca de raiz e parte aérea: as raízes, livres do substrato, foram cortadas rente ao colo e pesadas. Foi pesada também a parte aérea. Essas duas pesagens foram feitas com as três plantas da parcela, que forneceram os valores médios a serem submetidos à análise estatística.

- peso de matéria seca de raiz e parte aérea: após a pesagem de matéria fresca, o material foi acondicionado em sacos de papel e seco em estufa à $\pm 60^{\circ}\text{C}$ até atingir peso constante.

- número de folhas: contagem do número total de folhas desprezando-se as folhas rente ao colo que se encontravam tombadas.

TABELA 3.1. Proporção dos materiais utilizados na constituição do substrato para aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Tratamento	Materiais (%)			
	Terra	Esterco Bovino	Plantmax	Composto
1	-	-	100	-
2	100	-	-	-
3	-	100	-	-
4	-	-	-	100
5	50	-	50	-
6	50	50	-	-
7	50	-	-	50
8	40	30	30	-
9	40	-	30	30
10	40	30	-	30
11	25	25	25	25

Experimento 2: Resposta à adubação NPK de mudas micropropagadas de abacaxi cv. Pérola em fase de aclimatização.

As mudas foram micropropagadas em meio MS suplementado com reguladores de crescimento e posteriormente transferidas para frascos contendo meio MS sem reguladores.

Com peso em torno de 2,0g, as mudas foram retiradas dos frascos, lavadas para retirar o excesso de meio de cultura nas raízes, levadas para casa de vegetação e plantadas em vasos. A irrigação foi feita manualmente e as mangueiras de nebulização sobre os vasos foram desligadas para evitar excesso de água e com isso, perda de nutrientes.

Como substrato, foi utilizado solo de subsuperfície, cuja análise teve os resultados mostrados na Tabela 3.2. Esse solo foi peneirado e misturado com

areia na proporção de 2:1 e colocado em vasos com capacidade para 1Kg, depois da adição do fósforo nas quantidades de acordo com os tratamentos.

A adubação básica utilizada foi: 300mg de N, 200mg de P e 200mg de K por kg de solo (baseada na adubação para ensaios em casa de vegetação, segundo Malavolta, 1980), utilizando-se como fontes o sulfato de amônio, superfosfato simples e cloreto de potássio respectivamente.

Os fatores testados foram: época de adubação (no plantio e 45 dias após o plantio) e níveis de adubação (0, 25, 50, e 100% da adubação básica) constituindo, portanto, 8 tratamentos.

O nitrogênio e o potássio foram aplicados em pequenos sulcos ao redor da muda.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 4 repetições e 3 plantas/ parcela, totalizando 96 plantas.

As avaliações foram feitas após 90 dias e as variáveis analisadas foram peso de matéria fresca e peso de matéria seca de raiz e parte aérea, tamanho da planta, comprimento de raiz, número de folhas e relação matéria seca raiz/parte aérea. O procedimento para obtenção desses dados foi o mesmo utilizado no experimento anterior.

TABELA 3.2. Análise físico-química do solo utilizado na composição básica dos substratos. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Atributo	Unidade	Valor	Interpretação
PH em água (1:2,5)	mg/dm ³	6.4	Acidez fraca
P (Fósforo Mehlich I)	mg/dm ³	2.0	Baixo
K (potássio Mehlich I)	cmolc/dm ³	20.0	Baixo
Ca	cmolc/dm ³	2.3	Médio
Mg	cmolc/dm ³	0.2	Baixo
Al	cmolc/dm ³	0.0	Baixo
H + Al (acidez potencial)	cmolc/dm ³	1.7	Baixo
SB (Soma de bases)	cmolc/dm ³	2.6	Médio
T (CTC efetiva)	cmolc/dm ³	2.6	Médio
T (CTC a pH 7,0)	cmolc/dm ³	4.3	Baixo
m (saturação por alumínio)	%	0.0	Baixo
V (saturação por bases)	%	60.0	Médio
B (água quente)	mg/dm ³	0.39	Médio
Zn (DTPA)	mg/dm ³	1.3	Alto
Cu (DTPA)	mg/dm ³	0.6	Médio
Mn (DTPA)	mg/dm ³	16.4	Alto
Fé (DTPA)	mg/dm ³	23.0	Alto
S-sulfato	mg/dm ³	15.2	Alto
Ca/T	%	54.1	
Mg/T	%	4.7	
K/T	%	1.2	
Ca/Mg		11.5	
Ca/K		44.8	
Mg/K		3.9	
Matéria orgânica	dag/kg	1.1	Baixo
Areia	%	70.0	
Argila	%	24.0	
Silte	%	6.0	

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1: Efeito de substratos na aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola.

O abacaxizeiro é uma planta que, em comparação com outras frutíferas, não apresentou sérios problemas na aclimatização, pois a perda de plantas nessa fase, devido a fatores como dessecamento, não foi observada nesse trabalho, resultando em altas taxas de sobrevivência. A perda foi de 8,33%, aleatoriamente em algumas repetições, onde notou-se apodrecimento do colo da planta devido talvez, ao excesso de umidade, já que as plantas foram mantidas sob nebulização constante em casa de vegetação.

A mudança do metabolismo heterotrófico para autotrófico parece ser um fator não significativo na aclimatização do abacaxizeiro, já que as plantas mostraram desenvolvimento vegetativo satisfatório. Técnicas de enraizamento (Pasqual e Lopes, 1991; Biasi, 1996) também são dispensáveis. No entanto, na escolha do substrato adequado, houve concordância com Normah, Nor-Azza e Allidium (1995) e Grattapaglia e Machado (1990) que indicam essa técnica para favorecer o crescimento das mudas na aclimatização, visto que os substratos utilizados mostraram diferença significativa para todas as variáveis analisadas (Tabela 3.3 e Tabela 3.4).

Para todas as variáveis analisadas, o substrato que mostrou os piores resultados foi o substrato 2, ou seja, o substrato terra sem nenhum componente orgânico. Isso evidencia a necessidade de se ter mistura de substratos, principalmente um componente orgânico, para o bom desenvolvimento de mudas micropropagadas de abacaxizeiro durante a aclimatização.

TABELA 3.3. Resumo da análise de variância para comprimento (CR), matéria fresca (MFR), matéria seca (MSR) de raiz, número de folhas (NF), altura de planta (AP), matéria fresca (MFA), matéria seca (MSA) de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv Pérola em fase de aclimatização.

FV	GL	QM e significância						
		CR	MFR	MSR	NF	AP	MFA	MSA
Trat	10	6.91714*	1.3085*	11533.2*	21.2623*	22.0944*	35.2709*	267804.2*
Erro	33	1.390817	0.14385	2895.54	1.107666	0.97427	2.388869	58277.37
Total	43							
CV(%)		9.75	25.72	27.93	7.13	7.94	18.79	29.33

Para o melhor desenvolvimento das raízes, os substratos 2, 3, 7, 11 mostraram piores resultados para peso de matéria seca e os demais mostraram-se melhores. Para peso de matéria fresca com os substratos 1, 4, 5, 8, foram obtidos os melhores resultados, e 2, 3, 11 foram os piores. Para o comprimento de raízes, o substrato 2 foi inferior aos demais que tiveram comportamento semelhante.

Esses resultados evidenciam a necessidade de se ter proporções adequadas de componentes no substrato para o adequado desenvolvimento das raízes, visto que o substrato exerce influência significativa na arquitetura do sistema radicular, no estado nutricional das plantas e no movimento de água no sistema solo-planta-atmosfera.

TABELA 3.4. Valores médios de altura da planta (AP), comprimento de raiz (CR), número de folhas (NF), matéria seca de raiz (MSR) e parte aérea (MSA), matéria fresca de raiz (MFR) e parte aérea (MFA) de mudas obtidas *in vitro* de abacaxizeiro cv. Pérola, em função de diferentes substratos. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Substrato	Variáveis						
	AP (cm)	CR (cm)	NF (u)	MFA (g)	MFR (g)	MSA (mg)	MSR (mg)
1	9.00 a	12.12 b	13.08 b	5.63 a	2.17 c	510.92 a	191.57 b
2	8.26 a	8.90 a	10.16 a	3.33 a	0.65 a	385.68 a	107.88 a
3	11.32 b	11.17 b	14.62 b	7.55 b	0.84 a	782.38 b	123.91 a
4	15.63 d	12.46 b	17.16 d	13.78 d	1.85 c	1148.61 b	231.30 b
5	11.95 b	13.91 b	15.49 c	4.57 a	1.82 c	505.80 a	205.59 b
6	14.42 d	13.12 b	16.99 d	9.20 c	1.54 b	973.34 b	233.37 b
7	13.30 c	12.67 b	16.33 c	7.90 b	1.14 b	931.22 b	172.66 a
8	15.22 d	13.09 b	17.99 d	10.83 c	2.49 c	1112.12 b	268.48 b
9	11.46 b	12.27 b	13.45 b	8.14 b	1.40 b	771.59 b	207.82 b
10	13.22 c	11.69 b	13.49 b	9.57 c	1.33 b	1041.24 b	248.45 b
11	13.01 c	11.62 b	13.50 b	10.01 c	0.94 a	889.43 b	128.56 a

Médias seguidas por letras distintas, na vertical, diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Apesar das mudas de abacaxizeiro micropropagadas serem de fácil enraizamento é importante observar o desenvolvimento das raízes na fase de aclimatização, visto que as raízes formadas *in vitro* não são funcionais quando transplantadas e por isso novas raízes devem ser formadas (Cailloux, 1984).

Vários substratos utilizados nesse experimento mostraram valores estatisticamente iguais para as variáveis analisadas relativas à raiz. No entanto, nota-se que os substratos 1, 4, 5 e 8 tiveram melhores resultados para todas as características avaliadas, tendo estatisticamente comportamentos semelhantes.

A escolha de um ou outro, segundo Souza (1983), pode ser feita em função da disponibilidade.

As variáveis analisadas relativas à parte aérea foram favorecidas pelo uso da matéria orgânica, pois para todas as variáveis, o substrato 2 teve o pior desempenho. Os substratos 1 e 5 também mostraram piores desempenhos para peso de matéria fresca e seca.

Para as variáveis, altura de planta (Figura 3.1) e número de folhas (Figura 3.2), os melhores substratos foram: substratos 6, 8 e 4. Os piores resultados foram obtidos com os substratos 2 para número de folhas e 2 e 1 para altura das plantas.

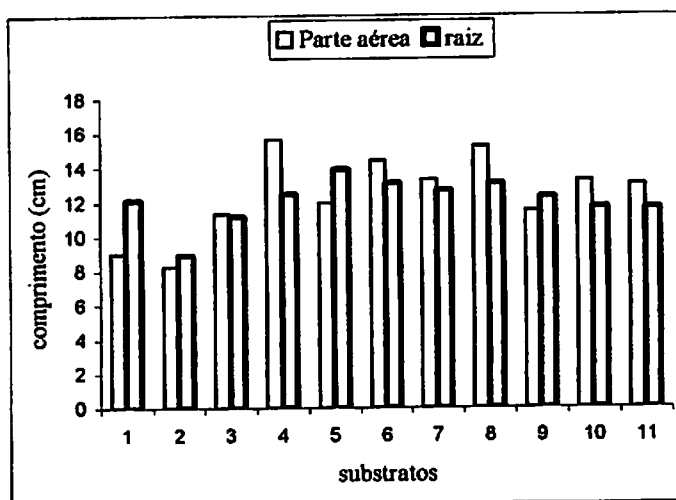



FIGURA 3.1. Altura de mudas obtidas *in vitro* de abacaxizeiro cv. Pérola, em função de diferentes substratos. UFLA, Lavras-MG, 2001.



O número de folhas é característica importante, e possivelmente mudas com maior número de folhas têm maiores índices de pegamento no campo, pois as folhas são as estruturas responsáveis pela captação de energia solar e produção de matéria orgânica através da fotossíntese (Souza, 1994). O esterco com terra ou com terra e plantmax e o composto superaram as demais composições, o que pode ser atribuído, provavelmente, à riqueza de nutrientes e à boa capacidade de retenção de água.

Os menores pesos de matéria fresca (Figura 3.3) e seca (Figura 3.4) foram obtidos com os substratos 1, 2, e 5, observando-se com isso, que os substratos terra e plantmax não foram eficientes para essas duas variáveis. Os melhores substratos foram os substratos 8 e 4 para peso de matéria seca, embora, estatisticamente foram iguais aos demais e o substrato 4 para peso de matéria fresca.

Considerando que as mudas foram plantadas com peso em torno de 2,0g, consideradas pequenas e precisam aumentar seu tamanho em torno de 10 a 20 vezes, os resultados obtidos foram satisfatórios, visto que foi considerado apenas o substrato, sem adição de adubação mineral. Com o substrato 4, foi obtido um aumento de aproximadamente 6,5 vezes o peso de matéria fresca inicial e com o substrato 8, obteve-se 5,5 vezes, além de estar incluído entre os melhores substratos para as variáveis altura de planta e número de folhas.

Embora não tenha sido objetivo desse trabalho a determinação de nutrientes no substrato, pode-se inferir que a matéria orgânica utilizada melhorou o teor de nutrientes do solo, visto que tiveram grande influência nas características avaliadas. Devendo-se ressaltar que não só a fonte de nutrientes da matéria orgânica é importante, mas também as notáveis propriedades de natureza coloidal que a matéria orgânica confere ao solo.

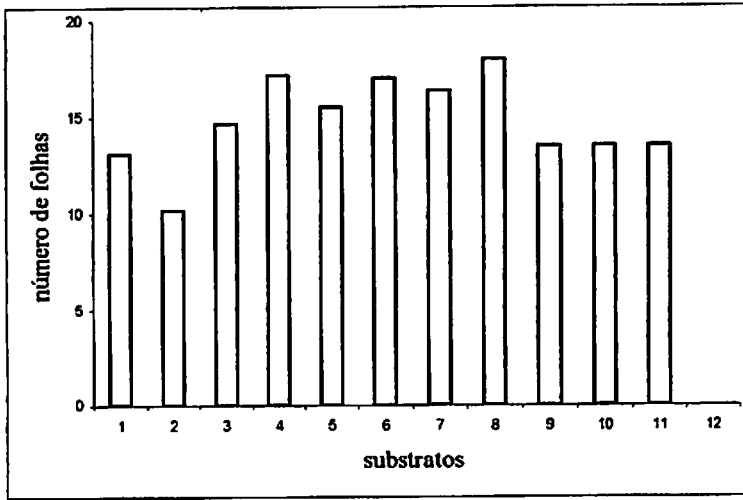


FIGURA 3.2. Número de folhas de mudas obtidas *in vitro* de abacaxizeiro cv. Pérola, em função de diferentes substratos. UFLA, Lavras-MG, 2001.

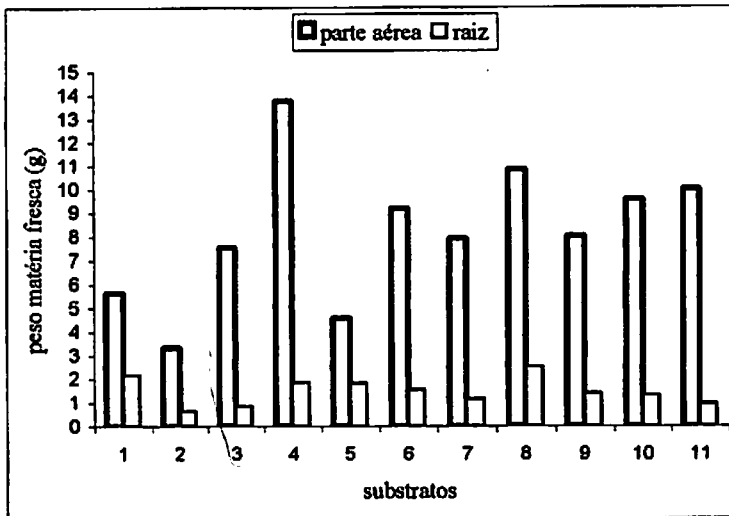


FIGURA 3.3. Peso de matéria fresca de mudas obtidas *in vitro* de abacaxizeiro cv. Pérola, em função de diferentes substratos. UFLA, Lavras-MG, 2001.

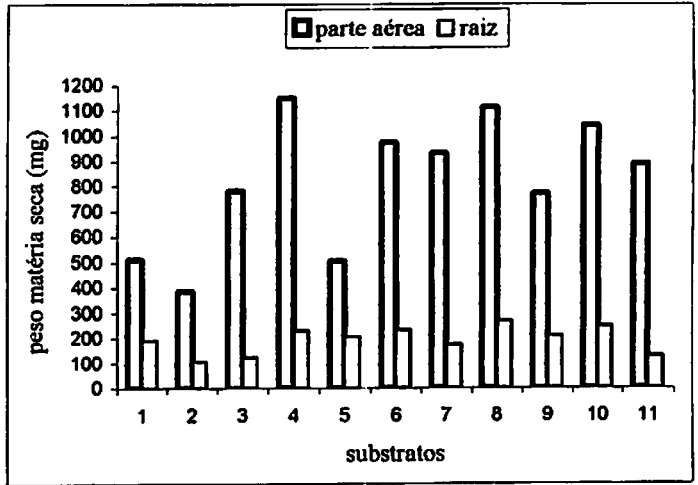


FIGURA 3.4. Peso de matéria seca de mudas obtidas *in vitro* de abacaxizeiro cv. Pérola, em função de diferentes substratos. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Experimento 2: Resposta à adubação NPK de mudas micropropagadas de abacaxi cv. Pérola em fase de aclimatização

As significâncias estatísticas para as variáveis analisadas, relativas à parte aérea, estão apresentadas na Tabela 3.5. Houve interação significativa entre os fatores estudados para todas as variáveis de parte aérea analisadas, com exceção do número de folhas, onde apenas a adubação foi significativa.

Para a variável altura de planta, a época de aplicação da adubação foi estatisticamente igual para os níveis de 0, 25 e 50% da adubação básica. O nível de 100% da adubação básica foi superior para a adubação de plantio apresentando uma média 23,18cm de altura (Tabela 3.6). Um comportamento semelhante foi observado para as variáveis peso de matéria fresca e seca da parte aérea, sendo que com o nível de 100% utilizado no plantio, obteve-se a média de 24,57g para matéria fresca e 2102,44mg para peso de matéria seca (Tabela 3.6).

TABELA 3.5. Resumo da análise de variância para altura de planta (AP), número de folhas (NF), matéria fresca (MFA) e matéria seca (MSA) de parte aérea de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv Pérola, em função da adubação NPK.

FV	GL	QM e significância			
		AP	NF	MFA	MSA
Adub. (A)	3	59.0280*	21.2389*	102.684*	539217.0460*
Época (E)	1	28.7282*	3.23215	131.301*	499272.7646
A*E	3	21.4286*	3.93901	149.742*	680102.0054*
Erro	24	4.015765	2.26081	10.6192	185494.530
Total	31				
CV(%)		11.14	11.52	27.41	31.95

TABELA 3.6. Altura de planta (AP), peso de matéria fresca (MFA) e seca (MSA) da parte aérea de abacaxizeiro micropropagado cv. Pérola, em função da adubação NPK, em fase de aclimatização. UFLA, Lavras-MG, 2001.

	AP (cm)		MFA (g)		MSA (mg)	
	Pós-plantio	Plantio	Pós-plantio	Plantio	Pós-plantio	Plantio
0	15.09 a	13.12 a	9.54 a	6.02 a	1241.62 a	775.095 a
25	17.83 a	18.69 a	11.44 a	10.95 a	1250.67 a	1399.81 a
50	17.82 a	20.73 a	10.06 a	14.10 a	1242.43 a	1615.18 a
100	17.41 a	23.18 b	8.40 a	24.57 b	1158.54 a	2102.44 b

Médias seguidas por letras distintas, na horizontal, diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Para a variável número de folhas, apenas a os níveis de adubação foi significativo, registrando-se o máximo de folhas quando foi utilizada 86,76% da adubação, com média de 14,5 folhas (Figura 3.5).

Pelos resultados obtidos para as variáveis de parte aérea verificou-se que o abacaxizeiro tem excelente performance na aclimatização, permitindo que se façam adubações no plantio, ou seja, logo no início da aclimatização, além disso, a taxa de sobrevivência foi satisfatória, onde o índice de perda de plantas foi de 9,3%.

É sensato supor que plantas em fase de aclimatização não respondam a adubação, pois, obrigatoriamente, necessitam passar por um período de adaptação quando são transferidas para o ambiente de aclimatização devido ao estresse que as plantas sofrem com essa mudança de ambiente. Além disso, necessitam de transformações no seu metabolismo para que se tornem autotróficas (Marin e Gella, 1988) devido a taxa de fotossíntese ser alterada em condições *in vitro*, e principalmente devido ao fato das raízes formadas *in vitro* não serem funcionais quando transplantadas para substratos (Cailloux, 1984). Diante desses fatores é que se justifica a fase de aclimatização.

Outro fator a ser considerado, é quanto a perda de água pelas plantas micropropagadas que nessa fase é crítica. Para que se proceda a ensaios de adubação é necessário que se utilize vasos sem furos para que não se perca nutrientes por lixiviação. Mas por outro lado, plantas micropropagadas, em fase de aclimatização, precisam de umidade relativamente alta.

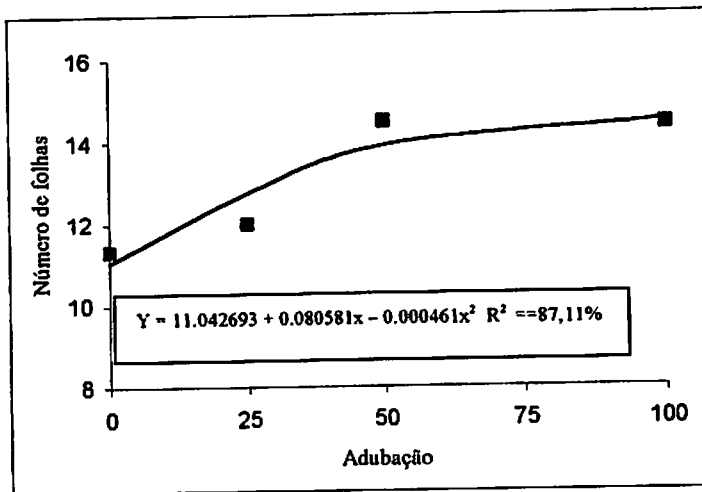


FIGURA 3.5. Número de folhas de abacaxizeiro micropropagado cv. Pérola, em função da adubação NPK, em fase de aclimatização. UFLA, Lavras-MG, 2001.

As mudas micropropagadas de abacaxizeiro tiveram ótimo comportamento quanto ao dessecamento, considerando-se que foram mantidas em casa de vegetação, desligando-se o sistema de nebulização sobre as plantas, mantendo-se apenas irrigação manual diária sobre os vasos e nebulização no restante da casa de vegetação.

Pelos resultados obtidos, em relação a características de parte aérea, pode-se concluir que as mudas micropropagadas respondem à adubação logo no início da aclimatização.

Para altura da planta (Figura 3.6), matéria fresca (Figura 3.7) e seca da parte aérea (Figura 3.8), as adubações de plantio foram significativamente superiores quando se utilizou 100% da adubação recomendada para plantio em vasos, o que pode-se supor que essa dosagem de adubação pode ser aumentada, pois a relação peso de matéria seca raiz/parte aérea pode ser indicativo de deficiência nutricional. As mudas adubadas no plantio apresentaram menor relação peso de matéria seca raiz/parte aérea (Tabela 3.8). Isso devido ao fato

da parte aérea ser mais afetada por deficiências de nutrientes do que o sistema radicular, refletindo na relação matéria seca raiz/parte aérea (Marschener, 1995).

Segundo Howard (1987), as mudas provenientes do cultivo *in vitro* necessitam aumentar entre 10 a 20 vezes o seu tamanho durante a aclimatização, para serem utilizadas. Nesse trabalho, as mudas de abacaxizeiro aumentaram em torno de 12 vezes o peso de matéria fresca no espaço de tempo considerado no experimento, o que está de acordo com afirmações do referido autor.

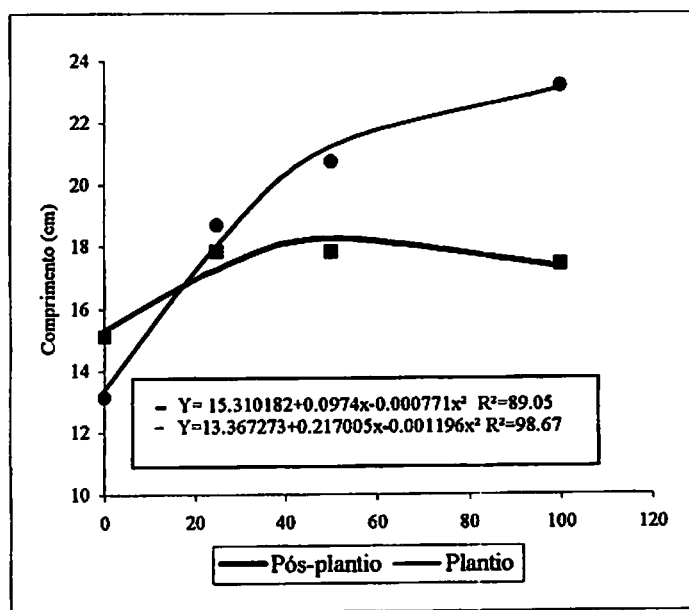


FIGURA 3.6. Altura de mudas de abacaxizeiro micropropagado cv. Pérola, em função da adubação NPK, em fase de aclimatização. UFLA, Lavras-MG, 2001.

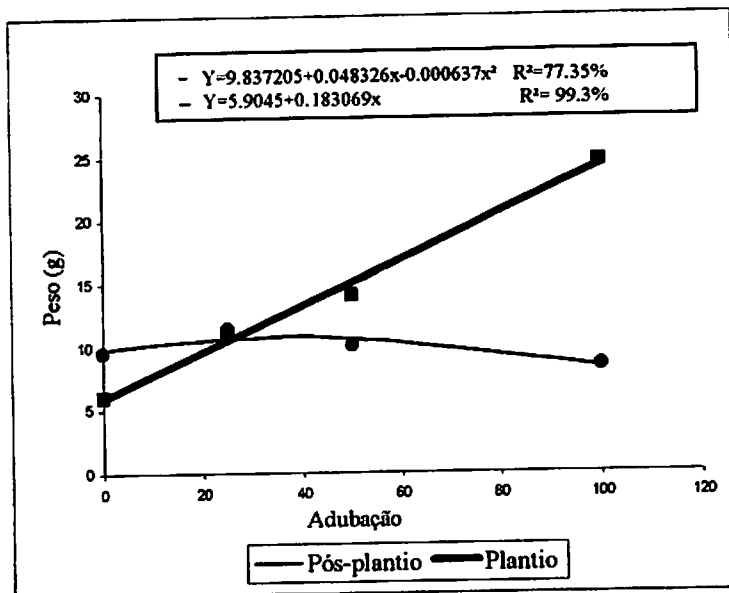


FIGURA 3.7. Peso de matéria fresca da parte aérea de mudas de abacaxizeiro micropropagado cv. Pérola, em função da adubação NPK, em fase de aclimatização. UFLA, Lavras-MG, 2001.

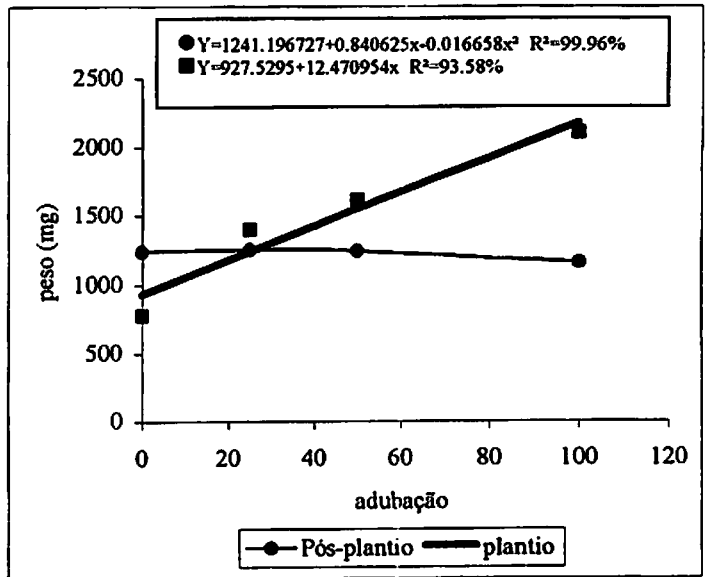


FIGURA 3.8. Peso de matéria seca de parte aérea de mudas de abacaxizeiro micropropagado cv. Pérola, em função da adubação NPK, em fase de aclimatização. UFLA, Lavras-MG, 2001.

As variáveis analisadas para características de raiz mostraram comportamento diferente da parte aérea no que diz respeito à significância dos fatores estudados. Para comprimento de raiz (C) e relação de matéria seca raiz/parte aérea (R/A), apenas a época mostrou significância. Para peso de matéria fresca da raiz, os dois fatores estudados mostraram significância sem interação entre eles. Para peso de matéria seca, não houve significância para os fatores estudados (Tabela 3.7).

Na adubação de cobertura (45 dias após plantio), as plantas apresentaram raízes com comprimento significativamente maior e também, maior peso de matéria fresca em comparação com as plantas adubadas no plantio (Tabela 3.8). A adubação de cobertura foi feita 45 dias após plantio, e pelos resultados obtidos com relação à raiz, verifica-se que as raízes tiveram maior desenvolvimento na ausência de nutriente devido à necessidade de maior

exploração do substrato, afetando o crescimento, morfologia e distribuição do sistema radicular no substrato. No entanto, para peso de matéria seca não houve efeito significativo para os fatores estudados. Segundo Marschener (1995), em condições ótimas de suprimento de nutriente, principalmente o nitrogênio, as raízes se tornam mais ramificadas e superficiais.

A tabela 3.8 mostra a significância da relação matéria seca raiz/parte aérea onde a adubação de cobertura proporcionou às plantas um maior valor, ao contrário das plantas adubadas no plantio, que estando em condições ótimas de nutrientes teve um valor menor. Nessas condições, há um maior desenvolvimento de raiz e parte aérea, sendo maior o desenvolvimento da parte aérea, causando com isso uma típica queda na relação matéria seca de raiz/parte aérea (Marschener, 1995).

O peso de matéria fresca da raiz também foi significativamente maior nas mudas onde a adubação foi feita 45 dias após plantio (Tabela 3.8) onde o máximo foi obtido com 100% da adubação recomendada (Figura 3.9).

Com esses resultados, pode-se afirmar que as plantas micropropagadas de abacaxizeiro devem ser adubadas logo no início da aclimatização.

TABELA 3.7. Resumo da análise de variância para comprimento (C), matéria fresca (MFR), matéria seca (MSR) de raiz e relação de matéria seca de Raiz/Parte aérea (R/A) de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv Pérola, em função da adubação NPK.

FV	GL	QM e significância			
		C	MFR	MSR	R/A
Adub.(A)	3	7,429161	0,11719*	4856,98592	0,000722
Época (E)	1	192,3250*	0,55915*	6040,378828	0,012880*
A*E	3	0,81562	0,03424	3641,139061	0,001329
Erro	24	3,75797	0,02078	2684,282772	0,000563
Total	31				
CV(%)		15,41	28,96	31,49	18,93

TABELA 3.8. Comprimento (C), peso de matéria fresca (MF) de raiz e relação peso de matéria seca de raiz/parte aérea (R/A) de abacaxizeiro micropropagado cv. Pérola, em função da adubação NPK, em fase de aclimatização. UFLA, Lavras-MG, 2001.

Época	C (cm)	MF (g)	MS (mg)	R/A
Pós-plantio	15,02 b	0,63 b	178,26 a	0,14 b
Plantio	10,12 a	0,36 a	150,79 a	0,10 a

Médias seguidas por letras distintas, na vertical, diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

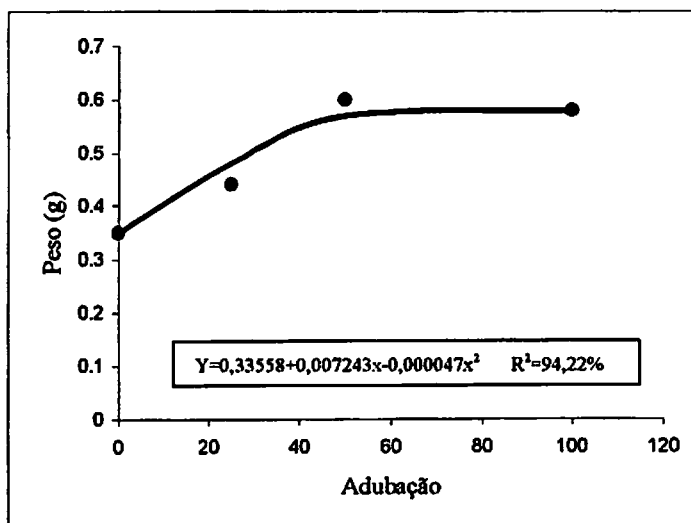


FIGURA 3.9. Peso de matéria fresca de raiz de mudas de abacaxizeiro micropropagado cv. Pérola, em função da adubação NPK, em fase de aclimatização. UFLA, Lavras-MG, 2001.

5 CONCLUSÕES

- Os dados obtidos no experimento 1 mostraram que a adição de matéria orgânica tem importância significativa no desenvolvimento de plantas micropropagadas. A mistura de terra, esterco e plantmax é adequada para o desenvolvimento de raízes e parte aérea.

- Pelos resultados obtidos no experimento 2 pode-se concluir que as plantas micropropagadas respondem à adubação de plantio efetuada no início da fase de aclimatização. O nível de 100% da adubação recomendada para vaso foi superior para características avaliadas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIASI, L.A. Avaliação do desenvolvimento inicial de porta-enxerto e de mudas de videira obtidos através de diferentes métodos de propagação. Piracicaba: ESALQ, 1996. 177p. (Tese - Doutorado em Agronomia).
- CAILLOUX, M. Plant tissue culture: rapid propagation, induced mutation, and the potencial role of protoplast techniques. In: VOSE, P.B.; BLIXT, S.G. Crop breeding. New York, 1984. p.311-46. .
- COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. Recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 4ª Aproximação. Lavras, 1989. 179p.
- CORSATO, C.E. Comportamento fisiológico do morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) micropropagado e aclimatado na presença de fungos endomicorrízicos. Piracicaba: ESALQ, 1983. 48p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas).
- CHALFOUN, S.M. Produção de mudas de abacaxizeiro. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.9, n.102, p.3-6, jun. 1983.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (eds). Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas. Brasília: ABCTP/EMBRAPA, 1990. p.99-169.
- FAUTH, A.; TOFOL, M.; SILVA, A.L.; MARASCHIN, M. Aclimação de mudas de abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill) resistentes à fusariose, cultivados *in vitro*. Revista Brasileira de Fruticultura, Cruz das Almas, v.16, n.2, p.7-12, set. 1994.
- FUJIWARA, K.; KOZAI, T.; WATANABE, I. Development of a photoautotrophic tissue culture system for shoots and/or plantlets at rooting and acclimatization stages. Acta Horticulturae, Wageningen, n.230, p.153-158, 1988.
- HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JR., F.T. Plant propagation: principles and practices. 5.ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1990. 647p.
- HOFFMANN, A. Enraizamento e aclimatização de mudas micropropagadas dos porta-enxertos de macieira 'Marubakaido' e 'M-26'. Lavras: UFLA, 1999. 240p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).

- HOFFMANN, A.; CHALFUN, N.N.J.; ANTUNES, L.E.C.; RAMOS, J.D.; PASQUAL, M.; SILVA, C.R. de R. e. **Fruticultura comercial - propagação de plantas frutíferas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1996. 319p.
- HOWARD, B.H. Propagation. In: ROM, R.C.; CARLSON, R.F. **Rootstocks for fruit crops**. New York: Wiley InterScience, 1987. p.29-77
- INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Abacaxi: cultura, matéria prima, processamento e aspectos econômicos**. 2.ed. Campinas, 1987 (Frutas Tropicais, 2).
- KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1985. 492p.
- KOZAI, T.; KOYAMA, Y.; WATANABE, I. Multiplication of potato plantlets *in vitro* with sugar free media under high photosynthetic photon flux. *Acta Horticulturae*, Wageningen, n.230, p.121-127, 1988.
- LEITE, G.B. **Efeito de reguladores de crescimento, substratos, sacarose e intensidade luminosa na micropropagação de pereira (*Pyrus communis* L.) cv. Bartlet e do clone OH x 97**. Pelotas: UFPEL, 1995. 50p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia).
- MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Ceres, 1980. 251p.
- MARIN, J. A.; GELLA, R. Is desiccation the cause of the poor survival rate in the acclimatization of micropropagated *Prunus cerasus* L. *Acta Horticulturae*, Wageningen, n.230, p.105-112, 1988.
- MARSCHENER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889p.
- MOORE, G.A.; DeWALD, M.G.; EVANS, M.H. Micropropagation of pineapple (*Ananas comosus* L.). In: BAJAJ, Y.P.S. (ed). **High-Tech and micropropagation II**. New York: Springer-Verlag, 1992. p.461-470. (Biotechnology in Agriculture and Forestry, 18)
- MOREIRA, R. S. **Banana: teoria e prática de cultivo**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 335p.
- MULLER, C. H.; REIS, G. G. dos.; MULLER, A. A. **Influência do esterco no crescimento e no acúmulo de nutrientes em mudas de mamão Havai (*Carica papaya*)**. Belém: CPATU, 1979. 14p. (Comunicado Técnico, 30)

- NORMAH, M. N.; NOR-AZZA, A. B.; ALIUDIN, R. Factors affecting *in vitro* shoot proliferation and *ex vitro* establishment of mangosteen. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.43, n.3, p.291-294, Mar. 1995.
- PASQUAL, M.; LOPES, P.A. Efeitos da concentração e tempo de incubação em ácido indolbutírico sobre o enraizamento e posterior desenvolvimento de brotos de *Pyrus calleryana* L. obtidos *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.26, n.7, p.975-980, jul. 1991.
- PEIXOTO, J.R. Efeito da matéria orgânica, do superfosfato simples e do cloreto de potássio na formação de mudas do maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *Favicarpa* Deneger). Lavras: ESAL, 1986. 101p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia)
- PREECE, J.E.; SUTTER, E.G. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R.H. (eds). **Micropropagation**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p.71-93.
- RAIJ, B. Van. **Fertilidade do solo e adubação**. Piracicaba: Ceres/Potafos, 1991. 343p.
- READ, P.E.; FELLMAN, C.D. Accelerating acclimation of *in vitro* propagated woody ornamentals. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.166, p.15-20, 1985.
- REINHARDT, D.H.R.C. Propagação do abacaxizeiro: método usual e por secções do caule. In: SIMPOSIO BRASILEIRO SOBRE ABACAXICULTURA, 1., 1982, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: CAVJ/UNESP/CNPq/CAPEs, 1982. p.47-59.
- SOUSA, H. U. de. Efeito da composição e doses de superfosfato simples no crescimento e nutrição de mudas de bananeira (*Musa* sp) cv. Mysore obtidas por cultura de meristemas. Lavras: ESAL, 1994. 75p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia)
- SOUZA, M. de. Nutrição e adubação para produzir mudas de frutíferas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.9, n.102, p.40-43, jun.1983
- SUTTER, E. Stomatal and cuticular water loss from apple, cherry, and sweetgum plants after removal from *in vitro* culture. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.113, n.2, p.234-238, Mar. 1988.
- SUTTER, E.G.; HUTZELL, M. Use of humidity tents and antitranspirants in the acclimatization to tissue-cultured plants to the greenhouse. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.23, n.4, p.303-312, 1984.

WARDLE, K.; DOBBS, E.B.; SHORT, K.C. *In vitro* acclimatization of aseptically cultured plantlets to humidity. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.108, n.3, p.386-389, May 1983

ZIMMERMAN, R.H. Micropropagation of woody plants: post tissue culture aspects. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.227, p.489-499, 1988.

